

Методики

УДК 616.36-002.12/.15-07:616.15-003.829.3-073.584

О.О.Ястремська, Я.М.Романишин

Новий метод оцінки глюкуроніл-кон'югуючої функції гепатоцитів

Исследовали спектрофотометрическую характеристику сыворотки крови у больных с гипербилирубинемией. Установлено, что у больных с механической желтухой в сыворотке крови преобладает билирубиндиглюкуронид, имеющий максимум поглощения после диазотирования билирубина при длине волны 540 нм; у больных с паренхиматозной желтухой снижен уровень билирубиндиглюкуронида в сыворотке крови и максимальное значение экстинкции после диазотирования билирубина отмечается при длине волны 400 нм. Если у больных с гипербилирубинемией после диазотирования билирубина сыворотки крови значение коэффициента отношения величины экстинкции при длине волны 400 нм к величине экстинкции при длине волны 540 нм будет ниже единицы, то диагностируется механическая желтуха, а если значение этого показателя будет выше единицы — паренхиматозная желтуха. С помощью предложенного метода можно оценить глюкуронил-конъюгирующую функцию гепатоцитов, проводить дифференциальную диагностику желтух.

Вступ

Незважаючи на значну кількість клініко-лабораторних методів досліджень, великі труднощі та високий відсоток розходження діагнозів виникають при розпізнаванні гострого вірусного гепатиту та механічної жовтяниці [1—3]. Особливу увагу привертають способи оцінки функціонального стану печінки, в основі яких лежить вивчення глюкуроніл-кон'югуючої активності гепатоцитів. Однак відсутні високоспецифічні методи вивчення монота диглюкуронідів білірубину в сироватці крові, за якими можна було б оцінити глюкуроніл-кон'югуючу функцію гепатоцитів [2, 4]. Зважаючи на те, що структурні особливості молекули білірубину знаходять своє відображення в спектрі поглинання у видимій частині світла, ми поставили мету вивчити глюкуроніл-кон'югуючу активність гепатоцитів за спектральною характеристикою білірубину сироватки крові хворих на гіпербілірубінемію [5, 6].

Методика

Дослідження проведено на сироватці крові 125 хворих із синдромом жовтяниці у віці від 17 до 70 років. У 60 хворих був вірусний гепатит, у 52 — жовчокам'яна хвороба, у 13 — механічна жовтяниця внаслідок неопластичного процесу. Діагноз підтверджували клінічними, лабораторними, інструментальними дослідженнями та гістологічним вивченням видалених тканин при хірургічному лікуванні. Контрольні дослідження здійснено у 30 практично здорових осіб у віці від 8 до 45 років.

Сироватку крові хворих з гіпербілірубінемією розводили ізотонічним розчином хлориду натрію у співвідношенні 1:10 і провадили запис на спектрофотометрі фірми «ЛОМО» (СРСР) у діапазоні довжини хвилі від 400 нм до 750 нм. Після завершення запису до 4,0 мл розведеної сироватки крові додавали 1,0 мл діазосуміші і через 10 хв здійснювали повторний запис спектральної характеристики.

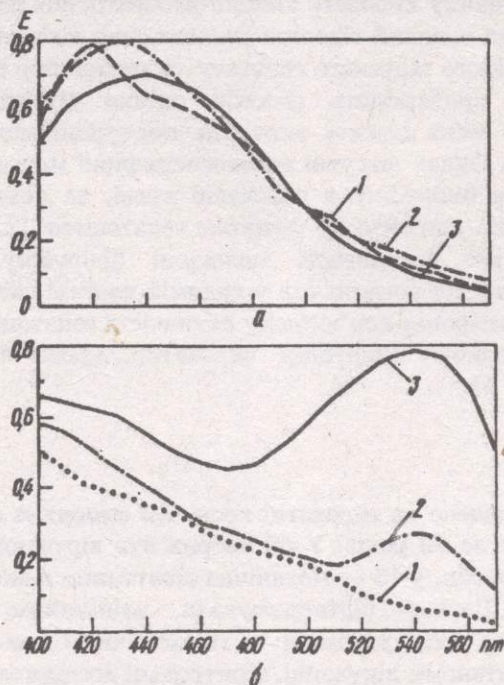
Результати та їх обговорення

При записі розведеної нативної сироватки крові було отримано три типи спектрофотометричних (СФ) кривих (див.рисунк, а):

I — з максимумом поглинання світла в діапазоні довжини хвилі від 417 нм до 425 нм; II — від 417 нм до 460 нм; III — від 420 нм до 460 нм.

Перший тип СФ-кривої був характерний для хворих із важкою формою гострого вірусного гепатиту, другий — для хворих із легким перебігом гострого вірусного гепатиту, а третій — для хворих на механічну жовтяницю незалежно від її генезу. Отже, СФ-криві запису сироватки крові на механічну жовтяницю практично не відрізнялися від другого типу СФ-кривих хворих на легку форму гострого вірусного гепатиту. Це вказує на неможливість диференціальної діагностики жовтяниць за результатами СФ-кривих нативної сироватки.

Вивчення спектральної характеристики сироватки крові після додавання діазосуміші (діазотування білірубіну) показало, що у хворих на вірусний гепатит СФ-криві характеризувалися високим максимумом поглинання світла при довжині хвилі 400 нм і незначним максимумом поглинання при 540 нм (у хворих на легку форму гострого вірусного гепатиту), або він був зовсім відсутній у хворих на важку форму вірусного гепатиту. У хворих на механічну жовтяницю СФ-криві характеризувалися високим максимумом



Спектрофотометричні криві запису нативної розведеної сироватки (а) крові та сиворотки після діазотування в ній білірубіну (б) хворих на гіпербілірубінемію.

поглинання світла при довжині хвилі 540 нм, який завжди перевищував величину екстинкції при довжині хвилі 400 нм (див. малюнок, б).

З метою диференціальної діагностики паренхіматозної та механічної жовтяниць, нами запропоновано розрахунок коефіцієнта відношення значення екстинкції при довжині хвилі 400 нм до значення екстинкції при 540 нм після діазотування білірубину сироватки крові та виміру екстинкції на цих довжинах хвиль на фотоелектроколориметрі КФК-3. Як видно з наведених (див. вивід) результатів, коефіцієнт у хворих на механічну жовтяницю значно нижчий порівняно з даною величиною у хворих на гострий вірусний гепатит.

*Відношення екстинкцій діазотованої сироватки крові
при довжині хвилі 400 і 540 нм у хворих на жовтяницю:*

Хворі:	Відношення екстинкцій
на вірусний гепатит (n=60)	1,45±0,12 P<0,001
на механічну жовтяницю різного генезу (n=65)	0,68±0,04

Значення екстинкції сироватки крові при довжині хвилі 540 нм після діазотування в ній білірубину відповідає концентрації у крові білірубину диглюкуроніду. Отже, запропонованим методом можна оцінювати глюкуроніл-кон'югуючу функцію гепатоцитів, проводити диференціальну діагностику жовтяниць. Новий спосіб диференціальної діагностики жовтяниць характеризується високою специфічністю, є високочутливим і дозволяє протягом 1—2 тиж від початку жовтяниці поставити правильний діагноз у 100 % випадків (патент України № 6281 від 09.12.94 р.).

O.O.Yastremska, Ya.N.Romanishin

A NEW METHOD FOR ASSESSING A GLUCURONYL-CONJUGATIVE FUNCTION OF HEPATOCYTES

Patients with obstructive jaundice have shown the prevalence of bilirubin diglucuronide in the blood serum. This pigment has maximum absorption after the process of binitrogenization, the wavelength being 540 nm. The level of bilirubin diglucuronide in the blood serum of patients with hepatocellular jaundice was reduced. The maximum extinction after binitrogenization is registered when the wavelength is 400 nm. This method may be used for assessing a glucurohyl-conjugative function of hepatocytes.

Medical Institute,
Lviv Ministry of Public Health of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Elias E.* Clinical and biochemical diagnosis of jaundice // *Bailliere's clin. Gastroent.* — 1989. — 3, № 2. — P. 357—385.
2. *Lau W.V., Leung J.W., Li A.K.* Management of hepatocellular carcinoma presenting as obstructive jaundice // *Am. J.Surg.* — 1990. — 160, № 3. — P. 280—282.
3. *Schmid R.* Direct-reacting bilirubin, bilirubin glucuronid in serum, bile and urine // *Science.* — 1956. — 124. — P. 76—77.
4. *Schmid R.* Jaundice and bilirubin metabolism // *Arch. Int. M.* — 1958. — 101. — P. 125—129.
5. *Van Hootegen P., Fevery J., N.Blanckaert.* Serum bilirubins in hepatobiliary disease: Comparison with other liver function tests and changes in the postobstructive period // *Hepatology.* — 1985. — 5, № 1. — P. 112—117.
6. *Vink K.L.J., Schaurman W., Van Gansewinkel R.* Direct spectrophotometry of bilirubin in serum of the newborn, with use of caffeine reagent // *Clin. Chem.* — 1988. — 34, № 1. — P. 67—70.

Львів. мед. ін-т
М-ва охорони здоров'я

Матеріал надійшов
до редакції 12.07.95