

© 2007 р. А.В. Мотрич, О.Г. Ушенко, С.Г. Гумінецький,
Ф.В. Гринчук*, П.М. Григоришин*

Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича, Чернівці,

*Чернівецький державний медичний університет, Чернівці

ВИЗНАЧЕННЯ АЛЬБУМІН/ГЛОБУЛІНОВОГО КОЕФІЦІЄНТУ ПЛАЗМИ КРОВІ ЗДОРОВИХ І ХВОРИХ ПАЦІЄНТІВ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ

Приведені результати застосування аналітичного методу абсорбційного спектрального аналізу до плазми крові людини у двохкомпонентному наближенні, вважаючи, що основний внесок в характер спектрів поглинання плазми в УФ-області вносять білки: альбуміни та глобуліни. На прикладі плазми крові донорів доведено правомірність такого наближення. Встановлено, що значення альбумін/глобулінового коефіцієнта можна використати як оптичний тест для діагностики гострого апендициту та холециститу, а також кишкової непрохідності в момент госпіталізації і для оцінки ефективності лікування у післяопераційний період.

The resulted results of application of an analytical method absorbing spectral analysis to plasma of blood of the person in two-component approximation, considering, that the basic contribution to character of spectra of absorption of plasma in ultraviolet sector spectrum are brought with fibers: albumin and globulin. By the example of plasma of blood of donor's legitimacy of such approximation is shown. It is established, that value albumin/globulin factor can serve as the optical test for diagnostics sharp appendicitis and cholecystitis, and also intestinal impassability at the moment of hospitalization and for an estimation of efficiency of treatment during the postoperative period.

Вступ

У працях [1,2] наведені результати досліджень змін УФ-спектрів поглинання плазми венозної крові хворих на гострі хірургічні захворювання органів черевної порожнини, зокрема на апендицит, холецистит і кишкову непрохідність як в момент госпіталізації, так і в післяопераційний період. За контрольні дані взято УФ-спектри поглинання здорових людей (донорів). При цьому основна увага звертається на якісні зміни величини оптичної густини D для характерної довжини хвилі $\lambda=280$ нм. Щоб кількісно оцінити зміни концентрацій основних органічних складових плазми крові, а саме білків: альбумінів та глобулінів, необхідно використати також значення оптичної густини ще для однієї характерної довжини хвилі, в якості якої можна вибрати $\lambda=230$ нм, на яку припадає згідно даних [3,4] короткохвильовий максимум у спектрах поглинання білків.

Мета даної роботи полягала у використанні двохкомпонентного наближення для абсорбційного спектрального аналізу плазми венозної крові як донорів, так і хворих на гострий апен-

дицит, холецистит та кишкову непрохідність у день госпіталізації і в післяопераційний період; визначити величину альбумін/глобулінового коефіцієнту у всіх вказаних випадках.

Об'єкти та методика досліджень

Об'єктом досліджень була плазма венозної крові 16 донорів, 12 хворих на гострий апендицит, 11 хворих на гострий холецистит, 6 хворих на кишкову непрохідність. Досліджувалися спектри коефіцієнту пропускання τ в спектральному інтервалі $\lambda=220\div 320$ нм через кожні 5 нм із наступним розрахунком оптичної густини за формулою $D=-\lg(\tau)$. Вибір спектрального діапазону обумовлений тим, що електричні спектри поглинання всіх органічних складових плазми крові знаходяться в області $\lambda<320$ нм [3,4]. Вимірювання проводилися на свіжих зразках (до 3-х діб), які до початку досліджень зберігалися при низькій температурі (біля 0°C). Зразки надано кафедрі хірургії та очних хвороб Чернівецького державного медичного університету.

Для кількісного визначення концентрації альбумінів C_A та глобулінів C_G у плазмі крові вико-

ристовувався аналітичний метод абсорбційного спектрального аналізу в наближенні двохкомпонентної суміші. Таке наближення до плазми крові є фізично обґрунтованим, оскільки згідно літературних даних [3,5] плазма крові в нормі на 90–91% складається із води, в якій розчинені альбуміни ($C_A=4,0-5,0\%$) і глобуліни ($C_G=2,0-3,0\%$), а інші складові (вільні амінокислоти, фібриноген, неорганічні мікроелементи) в суміші не перевищують 1,0-1,5%. Видно, що відношення C_A/C_G , яке називається у медицині альбумін/глобуліновим коефіцієнтом, в нормі знаходиться в межах 1,8–2,0.

За методикою абсорбційного аналізу двохкомпонентної суміші використовуємо виміряні значення її оптичної густини для двох характерних довжин хвиль: в нашому випадку $\lambda_1=230$ нм, $\lambda_2=280$ нм. Відповідні рівняння мають вигляд:

$$\begin{aligned} D_{\lambda_1} &= \varepsilon_A^{\lambda_1} \cdot C_A \cdot l + \varepsilon_G^{\lambda_1} \cdot C_G \cdot l, \\ D_{\lambda_2} &= \varepsilon_A^{\lambda_2} \cdot C_A \cdot l + \varepsilon_G^{\lambda_2} \cdot C_G \cdot l, \end{aligned} \quad (1)$$

де $\varepsilon_A^{\lambda_1}, \varepsilon_A^{\lambda_2}$ – значення величини екстинкції для альбумінів для вказаних характерних довжин хвиль, а $\varepsilon_G^{\lambda_1}, \varepsilon_G^{\lambda_2}$ – відповідно для глобулінів, $l=1$ см – товщина кювети.

Звідси знаходимо концентрації:

$$\begin{aligned} C_G &= \frac{D_{280} \cdot \varepsilon_A^{230} - D_{230} \cdot \varepsilon_A^{280}}{(\varepsilon_G^{280} \cdot \varepsilon_A^{230} - \varepsilon_G^{230} \cdot \varepsilon_A^{280}) \cdot l}, \\ C_A &= \frac{D_{230} - C_G \cdot \varepsilon_G^{230} \cdot l}{\varepsilon_A^{230} \cdot l}. \end{aligned} \quad (2)$$

Зі співвідношень (2) видно, що необхідно знати величини екстинкції для вибраних λ_1 і λ_2 . Нами вони знайдені шляхом дослідження залежностей $D=f_1(C_A)$ і $D=f_1(C_G)$ для λ_1 та $D=f_2(C_A)$ і $D=f_2(C_G)$ для λ_2 окремо для набору розчинів глобулінів і набору розчинів альбумінів з відомими концентраціями. Тангенси кутів нахилу вказаних залежностей дають нам значення екстинкції:

$$\begin{aligned} \varepsilon_A^{\lambda_1} &= 208 \text{ (см \%)}^{-1}, \quad \varepsilon_G^{\lambda_1} = 113 \text{ (см \%)}^{-1}, \\ \varepsilon_A^{\lambda_2} &= 5,0 \text{ (см \%)}^{-1}, \quad \varepsilon_G^{\lambda_2} = 7,8 \text{ (см \%)}^{-1}. \end{aligned}$$

Дослідження плазми крові донорів

З метою підвищення точності вимірювань значень D плазма в області $\lambda=250-320$ нм розбавлялася дистильованою водою у співвідношенні 1:100, 1:200 або 1:500, а в області $\lambda=220-250$ нм використовувалися розчини 1:500, 1:600 і 1:1000.

Отримані розчини у кварцовій кюветі для досліджень поміщалися в центрі сферичного фотометра. Відносна похибка вимірювань D при вказаних умовах експерименту не більше 0,5% [6]. Згідно формули (2), для розрахунку концентрацій C_A і C_G , із кожного спектру поглинання взято значення D для $\lambda_1=230$ нм та $\lambda_2=280$ нм. З метою приведення цих значень до однієї концентрації, виміряна величина D_{λ_1} домножується на 5 або 6, або 10 у відповідності до ступеня розбавлення плазми в області $\lambda=220-250$ нм, а для отримання реальних значень C_A і C_G їх розраховані величини збільшувалися відповідно до кратності розведення. Результати подібних досліджень і розрахунків наведені в таблиці 1. В ній біля номера донора вказаний ступінь розбавлення, а саме: для перших п'яти донорів розбавлення для обох спектральних інтервалів однакове і становить 1:500, для інших донорів верхні цифри відповідають розбавленню для області $\lambda=220-250$ нм, а нижня – для $\lambda=250-320$ нм.

Аналіз наведеного в таблиці 1 цифрового матеріалу свідчить про оптимальність розбавлення для області $\lambda=220-250$ нм 1:600, а для області $\lambda=250-320$ нм 1:100. За таких умов розбавлення

Таблиця 1. Значення концентрацій C_A і C_G для донорів

№ донора	D_{λ_1}	D_{λ_2}	$C_G, \%$	$C_A, \%$	C_A/C_G
1(1:500)	3,44	0,137	5,34	5,37	1,005
2(1:500)	2,81	0,112	4,37	4,38	1,002
3(1:500)	2,58	0,114	5,11	3,42	0,67
4(1:500)	3,73	0,170	7,90	4,67	0,59
5(1:500)	3,55	0,115	2,92	6,95	2,38
6(1:1000)	16,6	0,57	3,36	6,15	1,83
7(1:600)	8,0	0,364	6,76	4,02	0,595
8(1:600)	7,81	0,323	5,32	4,62	0,868
9(1:600)	7,88	0,334	5,69	4,49	0,790
10(1:600)	13,76	0,504	3,41	4,76	1,40
11(1:600)	15,62	0,57	3,83	5,43	1,42
12(1:600)	16,54	0,586	3,71	5,94	1,60
13(1:600)	16,91	0,586	3,53	6,21	1,76
14(1:600)	16,81	0,546	2,79	6,57	2,35
15(1:600)	18,33	0,607	3,27	7,04	2,15
16(1:600)	19,07	0,615	3,08	7,50	2,43

отримані відношення C_A/C_T найкраще співпадають з літературними даними, близькими до 1,8-2,0. Це стосується і реальних значень концентрацій C_A і C_T згідно тих же даних для здорових людей. Тому надалі всі дослідження вже для хворих пацієнтів проводилися саме при таких розбавленнях плазми крові.

Дослідження величини коефіцієнта C_A/C_T плазми крові хворих пацієнтів

Згідно даних праці [1] пацієнтів для кожної із досліджених хвороб можна розбити на дві групи: перша група – пацієнти, в яких в день госпіталізації оптична густина в області $\lambda_2=280$ нм практично не відрізняється від контрольних значень для донорів (катаральні форми апендициту та холециститу і у випадку кишкової непрохідності без некрозу кишки); друга група – пацієнти із переважно більшими значеннями D , порівняно з контролем (деструктивні форми апендициту та холециститу, випадки кишкової непрохідності з некрозом кишки). Тому надалі при аналізі результатів будемо дотримуватися саме такого розподілу хворих пацієнтів на групи.

Нами досліджено УФ-спектри поглинання плазми венозної крові п'яти хворих на гострий деструктивний апендицит і семи хворих на катаральний апендицит, шести хворих на гострий деструктивний холецистит і п'яти хворих на катаральний холецистит, по три хворих на кишкову непрохідність відповідно з некрозом кишки та без некрозу. Дослідження проводилися як в день госпіталізації, так і в післяопераційний період (до семи днів після операції у випадку апендициту та холециститу і до 10 днів після операції для кишкової непрохідності). Такі терміни визначено згідно даних клінічних досліджень, які показали, що за такий час в більшості випадків, якщо немає ускладнень, хворий практично одужанує.

В таблицях 2, 3 наведені результати розрахунку величини альбумін/глобулінового коефіцієнту C_A/C_T в плазмі крові на різних етапах процесу лікування відповідно у хворих на деструктивний апендицит і катаральний апендицит, в таблицях 4, 5 аналогічно для хворих на холецистит, а в таблиці 6 – на кишкову непрохідність.

Із цифрових даних таблиць випливає, що динаміка зміни значень C_A/C_T у післяопераційний період в кожного пацієнта є індивідуальною, проте спостерігаються наступні загальні особливості:

Таблиця 2. Динаміка зміни відношення C_A/C_T хворих на деструктивний апендицит

хворий період	С-1	Р-1	Г-1	С-2	Р-1	3-1	С-3
До операції	2,029	1,973	1,453	2,030	2,158	2,514	1,847
1-й день після операції	1,239	1,588	1,562	–	1,579	–	–
2-й день після операції	–	–	–	1,467	–	1,458	1,611
3-й день після операції	1,450	1,332	1,525	1,877	1,357	–	–
4-й день після операції	1,348	–	–	–	–	1,613	2,043
5-й день після операції	–	1,371	1,687	1,473	1,935	1,872	–
6-й день після операції	1,749	–	–	–	1,953	1,922	1,847
7-й день після операції	1,829	1,386	1,593	1,503	–	–	1,916

Таблиця 3. Динаміка зміни відношення C_A/C_T хворих на катаральний апендицит

хворий період	К-1	У-1	Л-1	Б-1	М-1
До операції	0,677	1,151	0,306	0,675	0,791
1-й день після операції	–	0,773	0,409	–	–
2-й день після операції	0,715	–	–	0,674	1,003
3-й день після операції	–	0,856	1,130	–	–
4-й день після операції	0,986	–	–	–	1,447
5-й день після операції	–	1,041	1,488	1,287	–
6-й день після операції	1,336	–	–	–	1,311
7-й день після операції	1,451	1,154	1,623	1,715	1,308

Таблиця 4. Динаміка зміни відношення C_A/C_T хворих на деструктивний холецистит

хворий період	Р-1	Ш-1	Р-3	К-2	К-3	К-4
До операції	1,054	1,014	0,839	1,056	0,989	1,058
1-й день після операції	–	–	–	1,107	–	–
2-й день після операції	1,435	1,298	0,959	–	0,997	1,063
3-й день після операції	–	–	–	1,091	1,361	–
4-й день після операції	1,454	1,436	0,959	–	–	–
5-й день після операції	–	–	1,113	1,216	1,264	1,244
6-й день після операції	1,794	1,575	–	–	–	–
7-й день після операції	–	1,624	1,160	1,574	1,370	1,543

Таблиця 5. Динаміка зміни відношення C_A/C_T хворих на катаральний холецистит

хворий період	В-1	Г-2	Т-1	Л-2	Ш-2
До операції	1,731	1,821	2,005	1,930	2,443
1-й день після операції	1,370	–	–	–	1,991
2-й день після операції	–	1,511	1,425	1,419	–
3-й день після операції	1,675	1,892	–	–	1,874
4-й день після операції	2,347	–	–	–	–
5-й день після операції	–	–	1,461	1,336	2,178
6-й день після операції	–	1,803	–	1,860	–
7-й день після операції	1,611	–	2,086	–	–

Таблиця 6. Динаміка зміни відношення C_A/C_T хворих на кишкову непрохідність

хворий період	Без некрозу кишки			З некрозом кишки		
	Б-2	Т-2	Ф-1	К-5	Б-3	К-6
До операції	1,599	1,730	2,056	0,750	1,004	0,757
1-й день після операції	2,296	–	–	–	–	–
2-й день після операції	–	2,254	2,277	–	1,330	0,981
3-й день після операції	2,182	–	–	0,910	–	–
4-й день після операції	–	–	2,630	1,063	1,737	–
5-й день після операції	3,788	1,984	–	–	–	1,298
6-й день після операції	–	–	–	–	1,997	–
7-й день після операції	1,927	2,013	2,317	1,284	–	1,679
8-й день після операції	2,271	–	1,879	–	2,002	1,954
9-й день після операції	–	2,092	–	–	–	–
10-й день після операції	1,564	–	1,612	1,528	2,002	1,959

- У випадку деструктивного апендициту та холециститу величина C_A/C_T в момент госпіталізації значно нижча від норми (дуже часто навіть менше одиниці). Водночас у випадку катаральної форми апендициту та холециститу вона, як правило, така ж як у донорів, а для деяких пацієнтів навіть вища (наприклад, у Ш-2, таблиця 5).
- У випадку деструктивного апендициту та холециститу величина C_A/C_T в післяоперацій-

ний період в основному зростає, наближаючись до норми на 6-7 день після операції. Виключення складає хвора Р-3, у якої на 7-й день після операції значення $C_A/C_T=1,16$ (таблиця 4), що свідчить про необхідність більш тривалого лікування.

- У випадку катаральної форми апендициту та холециститу значення C_A/C_T у перші дні після операції частіше всього спадають, а потім зростають, наближаючись до норми на 6-7 день після операції.
- У випадку кишкової непрохідності з некрозом кишки динаміка зміни значення C_A/C_T аналогічна деструктивним формам апендициту та холециститу, а у випадку кишкової непрохідності без некрозу кишки чіткої закономірності в змінах C_A/C_T не простежується. Очевидно, це можна пояснити незначною кількістю досліджених в цьому випадку пацієнтів (всього три).

Всі встановлені закономірності пояснюються тим, що при виникненні у черевній порожнині запального процесу при деструктивних формах вказаних захворювань, як і в перші дні після операції у випадку катаральних форм, концентрація глобулінів у плазмі крові в більше чи менше зростає в залежності від індивідуальних особливостей пацієнта [7].

Висновки

За величиною значень відношення C_A/C_T та особливостях його зміни в післяопераційний період пацієнти кожної із хвороб можуть бути розділені на дві групи: із заниженими відносно контролю значеннями C_A/C_T (деструктивні форми) та із завищеними, або нормальними значеннями C_A/C_T (катаральні форми апендициту та холециститу, кишкова непрохідність без некрозу кишки). Вказаний факт може застосовуватися для диференціальної діагностики гострих деструктивних захворювань по відношенню до звичайних форм захворювань.

Нормалізація значень відношення C_A/C_T плазми венозної крові на 7-10 день після операції, паралельно з даними клінічних спостережень, вказує на завершення процесу одужання досліджуваних хворих, тому вказаний фактор може використовуватися як своєрідний оптичний тест, який свідчить про ефективність лікування та одужання пацієнта.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Guminestskij S.G., Polianski I.J., Motrich A.V., Grinchuk F.W.* Spectrophotometric properties of vein blood plasma in UV-zone patients with urgent surgical pathology of abdominal region organs // Proc. SPIE. – 2006. – **6254**. – P.485-489.
2. *Гумінецький С.Г., Мотрич А.В.* Спектрофотометричні дослідження біологічних об'єктів // Науковий вісник ЧНУ. Вип. 261: Фізика.Електроніка. – Чернівці: ЧНУ, 2005. – С. 37-43.
3. *Демченко А.П.* Ультрафіолетовая спектрофотометрия и структура белков. – Киев: Наук. думка, 1981.
4. *Пішак О.В., Гумінецький С.Г., Пішак В.П., Григорішин П.М.* Поглинаючі та різсіюючі властивості білків плазми крові і сечі // Буковинський медичний вісник. – 1998. – **2**, №1. – С.137-144.
5. *Приезжев А.В., Тучин В.В., Шубочкин Л.П.* Лазерная диагностика в биологии и медицине. – М.: Наука, 1989.
6. *Guminietsky S.G., Gayka O.R., Kokoshuk G.I., Grigoriushin P.M.* Absorption spectra of the main organic components of haulm urine in the absence of proteins // Proc. SPIE. – 1999. – **3904**. – P.579-589.
7. Патент України. UA 77018. Спосіб спектрофотометричної діагностики запально-деструктивних захворювань в черевній порожнині / Полянський І.Ю., Ніцович Б.М., Гумінецький С.Г., Гринчук Ф.В., Бродовський С.П. // Бюл. №4, 2004.