

© З.С. Скірак, 2014

УДК: 616.36-002-099:578.828.6-06:612.398.131]-092.9

З.С. СКИРАК

ОСОБЛИВОСТІ ЗВ'ЯЗУВАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ СИРОВАТКОВОГО АЛЬБУМІНУ В ОРГАНІЗМІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ПРИ ГОСТРОМУ ТОКСИЧНОМУ ТЕТРАХЛОРЕТАНОВОМУ ГЕПАТИТІ*Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра пропедевтики внутрішньої медицини та фтизіатрії, Тернопіль*

В умовах експерименту на білих щурах досліджено зв'язувальну функцію сироваткового альбуміну та її зв'язок з біохімічними показниками гепатотоксичності при гострому токсичному тетрахлорметановому гепатиті в динаміці патологічного процесу. Показано, що на другу добу зв'язувальна функція сироваткового альбуміну знижується в умовах досліджуваної патології, а до сьомої зростає, проте не досягає рівня контрольної групи. Кореляційний аналіз (друга доба експерименту) зв'язувальної функції сироваткового альбуміну виявив вірогідний кореляційний зв'язок середньої сили з концентрацією загального білка, альбумінів сироватки крові і негативний з активністю аланіламінотрансферази, лужної фосфатази й гамаглутамінтранспептидази сироватки крові. На сьому добу кореляційні зв'язки посилюються. При цьому виникає сильний негативний зв'язок між зв'язувальною функцією сироваткового альбуміну і концентрацією глобулінів, активністю аланіламінотрансферази та гамаглутамінтранспептидази сироватки крові.

Ключові слова: гострий токсичний тетрахлорметановий гепатит, токсичний гепатит, печінка

Вступ. Гострі токсичні ураження печінки є актуальною проблемою гастроентерології. Захворюваність охоплює найбільш працездатний вік і має тенденцію до зростання [1, 5, 7]. Значна увага науковців приділяється вивченню патогенетичних ланок при даній патології. Разом з тим слід відзначити, що патогенез токсичних пошкоджень печінки, зокрема гострого токсичного тетрахлорметанового гепатиту (ГТТГ), до кінця не розкритий і вимагає подальших досліджень [2, 8].

Тому актуальним залишається поглиблене вивчення патогенезу цього недугу з використанням сучасних експериментальних моделей.

Зокрема, нез'ясованим залишається вплив інтоксикації на зв'язувальну функцію сироваткового альбуміну (ЗФСА), яка відіграє ключову роль у механізмах детоксикації організму.

Мета дослідження. З'ясувати особливості ЗФСА та його взаємозв'язок з біохімічними показниками гепатотоксичності в динаміці ГТТГ.

Матеріали та методи. Експеримент виконано на нелінійних білих щурах-самцях масою 200-300 г. Усі тварини були розділені на три групи. Першу (контрольна) склали 20 інтактних практично здорових тварин, другу – 16 щурів із ГТТГ, яких виводили з експерименту на другу добу від його початку, третю – 14 тварин з аналогічно змодельованою патологією, яких виводили на сьому добу від початку експерименту. ГТТГ визваний чотирихлористим вуглецем моделювали таким чином: тетрахлорметан вводили внутрішньоочередово однократно з розрахунку 2 г/кг маси тіла у вигляді 50 % розчину на оливковій олії [4].

Евтаназію білих щурів здійснювали методом тотального кровопускання з серця в умовах тіопентал-натрієвого наркозу. Досліди на експериментальних білих щурах проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів

на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2000) та узгоджених з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose) (Страсбург, 1985) [3].

Комісією з питань біоетики ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського (протокол № 2 від 21.04.2010 р.) порушень морально-етичних норм при виконанні даної науково-дослідної роботи не виявлено.

У сироватці крові біохімічними методами визначали активність аспартатамінотрансферази (АсАТ), аланіламінотрансферази (АлАТ), лужної фосфатази (ЛФ), концентрації загального білірубину і загального білка, концентрацію глобулінів та альбуміну в сироватці крові тварин, тимолову пробу, гамаглутамінтранспептидази (ГТТП); ЗФСА – за методикою С.І. Чегера (1975 р.). Отримані числові величини оброблені статистично. Вірогідність змін середніх величин визначали за критерієм Манна-Уїтні [6].

Результати досліджень та їх обговорення. ГТТГ супроводжувався порушенням ЗФСА та інших біохімічних показників (табл. 1). Так, вже на 2-у добу величина ЗФСА зменшувалася на 26,1 %, що виявилось статистично вірогідним ($p < 0,001$). При цьому вміст загального білка у сироватці крові знизився на 20,6 % ($p < 0,001$). Суттєво зменшувалася частка альбумінів сироватки крові – на 27,5 % ($p < 0,001$). На цьому тлі істотно зростав вміст глобулінів сироватки крові (на 48,2 %, $p < 0,001$). Виявлені відхилення вмісту альбумінів і глобулінів сироватки крові призводили до істотного зниження альбуміно-глобулінового коефіцієнта (55,7 %, $p < 0,001$).

Таблиця 1

Динаміка біохімічних показників при гострому токсичному тетрахлорметановому гепатиті (M±m)

Показник	Контрольна група (n=20)	Щурі з гострим токсичним тетрахлорметановим гепатитом (термін спостереження)	
		2-а доба (n=16)	7-а доба (n=14)
ЗФСА, од. щільн.	0,635±0,036	0,469±0,012**	0,519±0,008* p<0,01
Загальний білок, гл ⁻¹	72,73±0,51	57,76±0,32**	60,07±0,44** p<0,001
Концентрація альбумінів, %	63,65±1,97	46,12±0,46**	52,14±0,69** p<0,001
Концентрація глобулінів, %	36,35±1,97	53,89±0,69**	47,870,43** p<0,001
Альбуміно-глобуліновий коефіцієнт, ум.од.	1,9330,184	0,857±0,011**	1,091±0,022** p<0,001
АлАТ, мккатл ⁻¹	0,141±0,001	1,825±0,021**	0,663±0,012** p<0,001
АсАТ, мккатл ⁻¹	0,264±0,002	1,873±0,087**	1,357±0,012** p<0,001
ЛФ, мкмольл ⁻¹	0,702±0,010	4,7030,067**	3,584±0,071** p<0,001
ГГТП, Ел ⁻¹	20,38±1,95	76,53±0,30**	60,57±0,29** p<0,001
Тимолова проба, од.	1,73±0,06	2,34±0,03**	2,04±0,03** p<0,001
Загальний білірубін, мкмольл ⁻¹	3,33±0,09	9,80±0,11**	8,91±0,03** p<0,001

Примітки: 1. * – вірогідність відмінностей стосовно контрольної групи: (* – p<0,01; ** – p<0,001).

2. p – вірогідність відмінностей між дослідними групами.

Моделюваний гепатит в цей термін спостереження супроводжувався збільшенням активності маркерних ферментів цитолізу в сироватці крові: АлАТ – у 12,9 разу (p<0,001), АсАТ – у 7,1 разу (p<0,001) та холестази – активність ЛФ у сироватці крові збільшувалася у 6,7 разу (p<0,001). Моделювана патологія також супроводжувалася зростанням у сироватці крові й активності ГГТП – у 3,8 разу (p<0,001) та вмісту загального білірубину – у 2,9 разу (p<0,001). Порушувався також і показник тимолової проби, який на 2 добу після введення тетрахлоретану зростав на 35,3 % (p<0,001).

На 7-у добу після моделювання у тварин, що вижили, активність патологічного процесу пішла на спад, що проявлялося суттєвим зростанням стосовно попереднього терміну спостереження ЗФСА – на 10,7 % (p<0,01). В цей термін спостереження, порівняно із попереднім, істотно зростав у сироватці крові вміст загального білка, що призводило до збільшення частки альбумінів та зниження глобулінів (p<0,001), а також підвищення альбуміно-глобулінового коефіцієнта (на 27,3 %, p<0,001).

Про зниження тяжкості ураження печінки на 7-у добу свідчила й динаміка маркерних ферментів цитолізу та холестази. Порівняно із попереднім терміном спостереження активність АлАТ сироватки

крові стала меншою у 2,8 разу (p<0,001), АсАТ – на 27,5 % (p<0,001), ЛФ – на 23,8 % (p<0,001). Також знижувалася й активність одного із найбільш інформативних показників при патології печінки – ГГТП сироватки крові. Порівняно із попереднім терміном спостереження цей показник на 7-у добу знижувався на 20,8 % (p<0,001). Звичайно, в цих експериментальних умовах зменшувався показник тимолової проби – на 12,8 % (p<0,001) та вміст загального білірубину сироватки крові (p<0,001).

Звертає на себе увагу той факт, що до закінчення експерименту – на 7-у добу – досліджувані показники не поверталися до норми і виявилися статистично вірогідно відмінними. Так, величина ЗФСА була меншою від рівня контролю на 18,3 % (p<0,01), вміст загального білка сироватки крові – на 17,4 % (p<0,001), частка альбумінів – на 18,1 % (p<0,001). Натомість, частка глобулінів перевищувала контрольний рівень на 31,7 % (p<0,001). В цих умовах альбуміно-глобуліновий коефіцієнт не досягав контрольного показника на 43,6 % (p<0,001).

На 7-у добу продовжували залишатися вищими від контролю активності в сироватці крові АлАТ, АсАТ: відповідно, у 4,7 і 5,1 разу (p<0,001). Так само підвищеною була й активність у сироватці крові ЛФ і ГГТП: у 5,1 і 3,0 разу (p<0,001) відповідно.

Показник тимолової проби на 7-у добу теж перевищував контроль на 17,9 % ($p < 0,001$), а вміст загального білірубину – у 2,7 разу ($p < 0,001$).

Таким чином, у відповідь на введення тетрахлорметану на 2-у добу виникали істотні порушення ЗФСА, знижувався вміст загального білка сироватки крові, порушувалося альбуміно-глобулінове співвідношення в бік переважання вмісту глобулінів, значно збільшувалися маркерні ферменти цитолізу та холестази сироватки крові, зростає показник тимолової проби на вміст у сироватці крові загального білірубину. На 7-у добу досліджувані показники змінювалися у бік норм, проте не досягали контрольного рівня.

Кореляційний аналіз ЗФСА та інших досліджуваних показників показав (табл. 2), що на 2-у добу після моделювання ЗФСА позитивно і статистично вірогідно корелювала із вмістом загального білка в сироватці крові та негативно – із активністю у сироватці крові АлАТ, ЛФ і ГГТП. На 7-у добу кількість статистично значущих показників, які корелювали із ЗФСА, збільшилася. Спостерігалася позитивна кореляція із концентрацією альбумінів та альбуміно-глобуліновим коефіцієнтом та негативна – із концентрацією глобулінів, маркерних ферментів цитолізу та холестази сироватки крові, показником тимолової проби і вмістом загального білірубину сироватки крові.

Таблиця 2

Коефіцієнти кореляції між зв'язувальною функцією сироваткового альбуміну і біохімічними показниками при гострому токсичному тетрахлорметановому гепатиті

Показник	Контрольна група (n=20)	Щурі з гострим токсичним тетрахлорметановим гепатитом (термін спостереження)	
		2-а доба (n=16)	7-а доба (n=14)
Загальний білок	0,34	0,56*	0,62*
Концентрація альбумінів	0,71***	0,43	0,54*
Концентрація глобулінів	-0,71***	0,48	-0,85***
Альбуміно-глобуліновий коефіцієнт	0,73***	-0,19	0,73**
АлАТ	-0,17	-0,50*	-0,70**
АсАТ	-0,05	-0,48	-0,61*
ЛФ	-0,14	-0,50*	-0,67**
ГГТП	0,26	-0,55*	-0,77**
Тимолова проба	-0,08	-0,45	-0,64*
Загальний білірубін	-0,03	-0,48	-0,68**

Примітки: * – коефіцієнт кореляції статистично вірогідний (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$).

Таким чином, у відповідь на введення тетрахлорметану на 2 добу відзначався позитивний кореляційний зв'язок середньої сили між ЗФСА та вмістом загального білка та негативний із маркерними ферментами цитолізу та холестази. На 7 добу зв'язки посилюються й додатково виникли негативна кореляція із показниками, що визначають тяжкість ураження печінки, та позитивна із показниками – маркерами відновлення печінкових функцій. У цих експериментальних умовах відзначається сильний негативний кореляційний зв'язок із концентрацією глобулінів, активністю ЛФ і ГГТП сироватки крові та позитивний – із альбуміно-глобуліновим коефіцієнтом.

Отримані результати свідчать, що у патогенезі ГТТГ провідне місце займає порушення ЗФСА, що відбувається на тлі значного зниження концентрації загального білка, альбумінів та альбуміно-глобулінового коефіцієнта сироватки крові й підвищення маркерів цитолізу та холестази. При цьому, в динаміці інтоксикації збільшується число та сила кореляційних зв'язків ЗФСА з іншими до-

сліджуваними біохімічними показниками, що вказує на значне напруження адаптаційно-компенсаторних механізмів та додатково підкреслює значну патогенетичну роль ЗФСА в перебігу ГТТГ. Крім цього, отримані результати націлюють на значну діагностичну цінність ЗФСА, як додаткового маркера гепатотоксичності, що слід ширше використовувати в практичній медицині.

Висновки. 1. При ГТТГ суттєво порушується ЗФСА, яка на другу добу після моделювання зменшується, а до сьомої – зростає, проте не досягає рівня контрольної групи.

2. Кореляційний аналіз ЗФСА з маркерами гепатотоксичності виявив вірогідний кореляційний зв'язок середньої сили з концентрацією загального білка, альбумінів сироватки крові і негативний з активністю АлАТ, ЛФ й ГГТП сироватки крові. На сьому добу кореляційні зв'язки посилюються. При цьому виникає сильний негативний зв'язок між ЗФСА і концентрацією глобулінів сироватки крові, активністю АлАТ і ГГТП сироватки крові.

ЛІТЕРАТУРА

1. Голубева М.Г. Лікувальний вплив амізону на перебіг експериментального алкогольно-тетрахлорметанового гепатиту / М.Г. Голубева // Ліки. — 2003. — №5-6. — С.71—73.
2. Загайко А.Л. Вивчення ліпотропної дії поліфенольних екстрактів з насіння винограду на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту / А.Л. Загайко, С.В. Заїка, О.А. Красільнікова, І.В. Сенюк. // Укр. біофармацевтичний журнал. — 2012. — №1-2 (18-19). С. 46—49.
3. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший національний конгрес з біоетики, Київ, 2001 р. // Ендокринологія. — 2003. — Т. 8, №1. — С. 142—145.
4. Короленко Т.А. Субклеточное распределение кислотных гидролаз печени крыс при токсическом гепатите / Т. А. Короленко, А.Е. Кондрикова, В.Г. Титова // Бюл.экспер.биол. и мед. — 1975. — Т.LXXX, №7. — С. 35—36.
5. Пида В.П. Вивчення антиоксидантних та гепатопротекторних властивостей екстракту з бруньок обліпихи крушиновидної на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту / В.П. Пида, Л.С. Фіра // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. — 2010. — № 2(13). — С. 84—86.
6. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. — М.: МедиаСфера, 2002. — 312 с.
7. Рибак В.А. Вивчення гепатопротекторної дії екстрактів листя кизилу в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту / В.А. Рибак, О.В. Криворучко, В.А. Самойлова // Фітотерапія. Часопис. — 2013. — № 2. — С. 20—23.
8. Штробля А.Л. Підбір мінімально діючої дози сухого екстракту з листя абрикоса звичайного на моделі тетрахлорметанового ураження печінки / А.Л. Штробля, Л.С. Фіра, П.Г. Лихацький // Фарм. часопис. — 2012. — №3. — С. 132—136.

Z.S. SKIRAK

I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Department of Internal Medicine and Tuberculosis, Ternopil

FEATURES OF CONNECTIONAL FUNCTION OF SERUM ALBUMIN IN THE ORGANISM OF EXPERIMENTAL ANIMALS IN ACUTE TOXIC CARBON TETRACHLORIDE HEPATITIS

Under the conditions of experiment on white rats connective function of serum albumin and its connection with biochemical indicators of hepatotoxicity in acute toxic carbon tetrachloride hepatitis in the dynamic of pathological process was researched. It is shown that on the second day of the binding function of serum albumin is reduced in the conditions studied pathology, and the seventh is growing, but does not reach the level of the control group. Correlation analysis (the second day of the experiment) binding function of serum albumin revealed a reliable correlation of medium strength with the concentration of total protein, albumins serum levels and negative on alanine transaminase activity, alkaline phosphatase and serum gamma glutamil transpeptidase. On the seventh day correlations are enhanced. Thus, there is a strong negative correlation between serum albumin binding function and the concentration of globulins, and activity alanine transaminase and the serum of gamma glutamil transpeptidase.

Key words: acute toxic carbon tetrachloride hepatitis, toxic hepatitis, liver

Стаття надійшла до редакції: 17.04.2014