## Реактивы для биохимии Spinreact, Испания

**На реактивах Spinreact работают биохимические анализаторы, спектрофотометры и фотоэлектроколориметры различных производителей.**

**Электролиты**

Железо (Ферозин), 4x50 мл (400/1000 опр.)
СЖСС (100/250 опр.)
Кальций (v/v), 2x150 мл (600/1500 опр.)
Магний, 2x150 мл (600/1500 опр.)
Хлориды, 2x150 мл (600/1500 опр.)
Фосфор (J/V, 2x150 мл (600/1500 опр.)
Фосфор (Колор), 2x150 мл (600/1500 опр.)
Медь, 5x10 мл (100/250 опр.)
Цинк, 5x10 мл (100/250 опр.)
Калий, 1x50 мл/1x50 мл, Prec. 1x50 мл (200/500 опр.)
Натрий, 1x60 мл, Prec. 1x60 мл (120/300 опр.)

**Липиды**

Общие липиды, 2x150 мл (600/1500 опр.)
Триглицериды, 5x10 мл (100/250 опр.)
Триглицериды, 10x20 мл (400/1000 опр.)
Холестерин общий, 10x20 мл (400/1000 опр.)
Холестерин общий, 4x125 мл (1000/2500 опр.)
Холестерин ЛПВП непрямой с осаждением, 4x5 мл (200 опр.)
Холестерин ЛПВП прямой без осаждения, (200/500 опр.)
Холестерин ЛПВП прямой без осаждения, (100/250 опр.)
Холестерин ЛПНП прямой без осаждения, (100/250 опр.)
Фосфолипиды, 5x10 мл (100/250 опр.)

**Контрольные материалы**

Спинтрол N, нормальная контрольная сыворотка, 4x5 мл
Спинтрол N (P), патологическая контрольная сыворотка, 4x 5мл

**Калибраторы**

Калибратор гемоглобина, 1 мл (150 г/л)
Спинтрол калибратор
(для биохимических
автоматических анализаторов), 10x5 мл

**Амурская Медицинская Компания,**
г.Благовещенск, ул.Комсомольская 33,
т. (4162) 51-48-68, 53-49-31
**mirosenko@amcmed.ru, www.amcmed.ru**

БИОХИМИЧЕСКИЙ ДИАГНОЗ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ РФ**
**ГОУ ВПО Амурская Государственная Медицинская Академия**

Е.А. Бородин, Г.П. Бородина

# БИОХИМИЧЕСКИЙ ДИАГНОЗ

(физиологическая роль и диагностическое значение биохимических компонентов крови и мочи)

(издание 4-ое)

Благовещенск, 2010 г.

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ РФ**

**Государственное Образовательное Учреждение Высшего Профессионального Образования Амурская Государственная Медицинская Академия**

**Е.А. Бородин**
**Г.П. Бородина**

# БИОХИМИЧЕСКИЙ ДИАГНОЗ

**(физиологическая роль и диагностическое значение биохимических компонентов крови и мочи)**

**(издание 4-ое)**

**Рекомендовано Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся по специальностям: 060101 65 – Лечебное дело, 06103 65 – Педиатрия**

**г. Благовещенск**
**2010 г.**

УДК 611-018-053.31.6

Рецензенты:

Зав. кафедрой биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, ГОУ ВПО Красноярский государсвенный медицинский университет, доктор медицинских наук, профессор Алла Борисовна Салмина.
Зав. кафедрой биохимии с курсами биоорганической и клинической биохимии ГОУ ВПО Читинская Красноярская государсвенная медицинская академия, доктор медицинских наук, профессор Баир Сергеевич Хышиктуев.

Авторы:

Доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой биологической химии с курсом биоорганической химии ГОУ ВПО АГМА, Евгений Александрович Бородин
Кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биологической химии с курсом биоорганической химии ГОУ ВПО АГМА, Галина Петровна Бородина

Биохимический диагноз (физиологическая роль и диагностическое значение биохимических компонентов крови и мочи) (издание 4-ое). Учебное пособие для студентов медицинских вузов, обучающихся по специальностям - 040100 (лечебное дело) и - 040200 (педиатрия)

Настоящее учебное пособие является четвертым переработанным и дополненным изданием аналогичного пособия, изданного в 1989, 1991 и 2003г. гг. и допущенного Республиканским учебно-методическим кабинетом по высшему и среднему специальному медицинскому образованию Министерства здравоохранения России (1989г.) в качестве учебного пособия для студентов и субординаторов медицинских вузов.

Многолетний опыт использования на кафедре биологической химии ГОУ ВПО АГМА предыдущих изданий настоящего пособия свидетельствует о целесообразности их использования студентами при самостоятельной работе по изучению биохимических показателей крови и мочи, освоению начальных практических навыков по клинической биохимии и биохимической лабораторной диагностике. В пособии подробно рассматриваются особенности биохимических показателей в детском возрасте. Предназначено для непрерывного изучения вопросов клинической биохимии студентами медицинских вузов по специальностям 040100 (лечебное дело) и - 040200 (педиатрия). Представляет интерес для врачей-интернов, врачей-лаборантов и практических врачей различных специальностей.

© Авторы, 2010

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ . . . . . .4
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ . . . . . ..4
ВАЖНЕЙШИЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЗДОРОВОГО ВЗРОСЛОГО ЧЕЛОВЕКА . . . . . .6
Гемоглобин . . . . . 7
Белки плазмы крови . . . . . .11
НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ АЗОТИСТОГО ОБМЕНА . . . . . .17
Мочевина . . . . . .17
Креатинин. . . . . .18
Мочевая кислота . . . . . .20
ПИГМЕНТЫ . . . . . 21
ЛИПИДЫ И ЛИПОПРОТЕИДЫ . . . . . .28
ГЛЮКОЗА . . . . . .41
Сахарный диабет . . . . . .49
КИСЛОТНО-ОСНОВНОЕ СОСТОЯНИЕ . . . . . .59
ЭНЗИМОДИАГНОСТИКА . . . . . .75
ФЕРМЕНТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ . . . . . .76
АМИНОТРАНСФЕРАЗЫ . . . . . 78
α-АМИЛАЗА . . . . . .80
γ-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА . . . . . 81
ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАДЕГИДРОГЕНАЗА . . . . . 83
КРЕАТИНКИНАЗА . . . . . 83
ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА, изоферменты лактатдегидрогеназы . . . . . .85
ЛИПАЗА . . . . . 88
Сорбитолдегидрогеназа . . . . . .89
Щелочная фосфатаза, изоферменты шелочной фосфатазы . . . . . 89
КИСЛАЯ ФОСФАТАЗА, изоферменты кислой фосфатазы . . . . . 91
ФРУКТОЗО-1,6-ДИФОСФАТ-АЛЬДОЛАЗА . . . . . .91
ПСЕВДОХОЛИНЭСТЕРАЗА . . . . . .92
МОЧА . . . . . 93
ОБРАЗОВАНИЕ МОЧИ. ПРОИСХОЖДЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ МОЧИ . . . . . 93
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА . . . . . 94
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ МОЧИ . . . . . .95
ЭКСПРЕСС-МЕТОДЫ АНАЛИЗА МОЧИ . . . . . 110
СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ БИОХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ . . . . . 114
ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ. . . . . .115
ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ . . . . . 122
ПОНЯТИЕ «НОРМЫ» И ЕЕ ИНТЕРВАЛЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ . . . . . .127
СИСТЕМА ЕДИНИЦ «СИ» В КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ. ВЫРАЖЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ МЕТАБОЛИТОВ И АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ . . . . . 132
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ. . . . . 135
ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ. . . . . 146
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА. . . . . 147

## ВВЕДЕНИЕ

В ходе изучения курса биологической химии студенты лечебных и педиатрических факультетов медицинских вузов приобретают начальные знания по клинической биохимии и практические навыки по биохимической лабораторной диагностике. В базовых учебниках по биологической химии данная информация представлена недостаточно, а имеющиеся руководства по клинической биохимии и биохимической лабораторной диагностике, напротив, содержат слишком детализированную информацию, предназначены для специалистов и сложны для восприятия студентами. Поэтому перед студентами встает проблема поиска адекватных их возможностям источников информации и возникает необходимость в соответствующем учебном пособии. Подобное пособие было бы полезно и студентам старших курсов при изучении клинических дисциплин. Предыдущие издания учебного пособия «Биохимический диагноз» в определенной степени способствовали достижению указанных целей, но с учетом прогресса в области биохимической лабораторной диагностики, расширения арсенала методов исследования, корректировки «нормальных значений» многих биохимических показателей нуждаются в переработке и дополнении. Руководствуясь этими соображениями, авторы подготовили четвертое переработанное и дополненное издание пособия.

В сравнении с предыдущими изданиями в настоящее издание включены новые разделы, посвященные понятию «норма» и ее интервалов в биохимической клинической лабораторной диагностике, использованию системы единиц «СИ» для выражения концентрации метаболитов и активности ферментов, фундаментальным основам современных методов биохимической диагностики (ИФА, ПЦР). Переработаны разделы, посвященные пигментному обмену, липидам и липопротеидам плазмы крови, сахарному диабету, КОС, ферментам плазмы крови. Подробно рассмотрены особенности биохимических показателей в детском возрасте.

Наряду со сведениями по биохимической диагностической информатике, на долю которых приходится большая часть пособия, приводятся основы биохимической аналитики, описаны принципы современных унифицированных методов количественного определения наиболее важных биохимических компонентов в крови и моче.

Пособие предназначено для непрерывного изучения вопросов клинической биохимии студентами медицинских вузов по специальностям лечебное дело и педиатрия. Представляет интерес для врачей-интернов, врачей-лаборантов и практических врачей различных специальностей.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АДФ – аденозиндифосфорная кислота
- АКТГ – адренокортикотропный гормон
- АЛД – альдолаза
- АЛТ – аланинаминотрансфераза
- Апо- - апопротеин
- АСТ – аспартатаминотрансфераза
- АТФ – аденозинтрифосфорная кислота
- АФОК – активные формы кислорода
- АХЭ – ацетилхолинэстераза

- ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения
- гли-Нв$A_1$ – гликозилированный гемоглобин $A_1$
- ГОТ – глутамат: оксалоацетаттрансаминаза
- ГПТ - глутамат: пируваттрансаминаза
- γ-ГТП – γ-глутамилтранспептидаза
- Г-6-ФДГ глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
- 2,3-ДФГ- 2,3-дифосфоглицериновая кислота
- Е – международная единица
- ИБС – ишемическая болезнь сердца
- ИЗСД – инсулинзависимый сахарный диабет
- ИФА – иммуноферментный анализ
- Кат – катал
- КК - креатинкиназа
- $K^+HbO_2$ – калиевая соль оксигемоглобина
- КФ – кислая фосфатаза
- КФ – креатинфосфат
- ЛДГ – лактатдегидрогеназа
- ЛП – липопротеиды
- ЛПВП – липопротеиды высокой плотности
- ЛПНП – липопротеиды низкой плотности
- ЛПОНП - липопротеиды очень низкой плотности
- ЛХАТ – лецитин: холестерин-ацилтрансфераза
- $H^+$- - катион атома водорода (протон)
- $НАД^+$ - никотинамиддинуклеотид (окисленная форма)
- НАДН – никотинамиддинуклеотид (восстановленная форма)
- $НАДФ^+$ - никотинамиддинуклеотидфосфат (окисленная форма)
- НАДФН – никотинамиддинуклеотидфосфат (восстановленная форма)
- $H^+$-АТФаза – протонная аденозинтрифосфатаза
- НИЗСД – неинсулинзависимый сахарный диабет
- $H^+Hb^-$ - дезоксигемоглобин
- $OH^-$ гидроксильный анион
- ПВК – пировиноградная кислота
- ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РЭС – ретикулоэндотелиальная система
- СД – сахарный диабет
- СДГ – сорбитолдегидрогеназа
- ТТГ – тест толерантности к глюкозе
- ХМ – хиломикроны
- ХЭ – холинэстераза
- ЦНС – центральная нервная система
- ЩУК – щавелевоуксусная кислота
- ЩФ – щелочная фосфатаза

**ВАЖНЕЙШИЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЗДОРОВОГО ВЗРОСЛОГО ЧЕЛОВЕКА**

| Показатели | Принятые нормальные величины |
|---|---|
| Глюкоза (сыворотка, плазма)<br>(цельная капиллярная кровь) | 3,5-6,1 ммоль/л<br>3,5-5,5 ммоль/л |
| Общие липиды | 4-7 г/л |
| Бета-липопротеиды | 2,1-4,0 г/л |
| Общий холестерин* | 3,9-5,3 ммоль/л |
| Холестерин ЛПВП | 0,9-1,9 ммоль/л |
| Холестерин ЛПНП | < 4,9 ммоль/л |
| Индекс атерогенности | < 3,0 |
| Триглицериды | 1-2,3 ммоль/л |
| Фосфолипиды | 2,0-4,7 ммоль/л |
| Неэстерифицированные жирные кислоты | 640-880 мкмоль/л |
| Общий белок (плазма)<br>(сыворотка) | 65-85 г/л<br>65-80 г/л |
| Белковые фракции:<br>- Альбумины<br>- Альфа-1-глобулины<br>- Альфа-2-глобулины<br>- Бета-глобулины<br>- Гамма-глобулины | <br>50-61%<br>3-6,8%<br>5,8-8%<br>11-13%<br>15,5-21% |
| Гемоглобин цельной крови (мужчины)<br>(женщины) | 140-180 г/л<br>130-160 г/л |
| Общий билирубин | 8,5-20,5 мкмоль/л |
| Непрямой билирубин | 6,4-17,1 мкмоль/л |
| Прямой билирубин | 0,9-4,3 мкмоль/л |
| Остаточный азот | 14-25 ммоль/л |
| Мочевина | 2,5-8,3 ммоль/л |
| Креатинин | 20-110 мкмоль/л |
| Мочевая кислота (мужчины)<br>(женщины) | 0,21-0,42 ммоль/л<br>0,15-0,30 ммоль/л |
| Калий (сыворотка, плазма) | 4-5,5 ммоль/л |
| Натрий (сыворотка, плазма) | 135-150 ммоль/л |
| Кальций (сыворотка, плазма) | 2-2,8 ммоль/л |
| Хлориды (сыворотка, плазма) | 95-110 ммоль/л |
| Железо (сыворотка, плазма) | 9-27 мкмоль/л |
| КОС:<br>- pH<br>- $pO_2$<br>- $pCO_2$<br>- Актуальный бикарбонат (AB)<br>- Стандартный бикарбонат (SB) | <br>7,37-7,44<br>85-95 мм.рт.ст.<br>38-42 мм.рт.ст.<br>19-25 ммоль/л<br>21-25 ммоль/л |

| | |
|---|---|
| - буферные основания (BB)<br>- нормальные буферные основания (NBB)<br>- избыток (дефицит) буферных оснований (BE)<br>- анионный интервал (АИ) | 40-60 ммоль/л<br>48 ммоль/л<br>0±2,5 ммоль/л<br>15±4 ммоль/л |
| Ферменты плазмы (сыворотки) крови:<br>- АСТ<br>- АЛТ<br>- Коэффициент Де Ритиса (АСТ/АЛТ)<br>- γ-ГТП (мужчины)<br>- (женщины)<br>- креатинкиназа<br>- ЛДГ<br>-<br>- щелочная фосфатаза<br>- кислая фосфатаза<br>- псевдохолинэстераза | <br>2-20 МЕ/л<br>2-25 МЕ/л<br>1,33±0,40<br>15-106 МЕ/л<br>10-66 МЕ/л<br>< 6 МЕ/л<br>< 195 МЕ/л при 25°С<br>< 320 МЕ/л при 30°С<br>30-85 МЕ/л<br>4-10 МЕ/л<br>3000-9300 МЕ/л при 25°С |
| * - нормальные величины общего холестерина, а также некоторых других показателей более правильно указывать по отдельным возрастным группам | |

## ГЕМОГЛОБИН

***Гемоглобин*** – транспортный белок эритроцитов, представитель сложных белков гемопротеидов, состоит из простого белка ***глобина*** и небелковой части – ***гема*** (Рис.1).

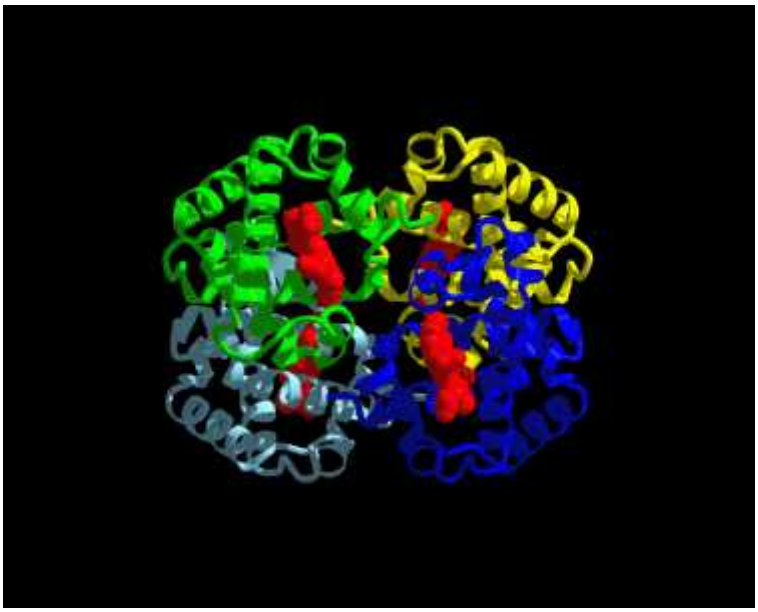

Рисунок 1. Трехмерная модель строения молекулы гемоглобина.

Глобин – олигомерный белок, образованный четырьмя субъединицами. Известны несколько видов ***субъединиц*** - ~, , ¢, ¥ и некоторые другие. В крови взрослого человека присутствуют несколько ***разновидностей гемоглобина,*** различающихся набором субъединиц. 95% приходится на ***гемоглобин*** $A_1$ (~$_2$ $_2$), 2-3% на ***гемоглобин*** $A_2$ (~$_2$¢$_2$), 0,1%

на ***гемоглобин F (~$_2$¥$_2$).*** Последний преобладает в крови плода и новорожденного и называется фетальным. Гем относится к пигментам порфиринам, в основе строения которых лежит тетрапирольный макроцикл порфина. Связанный с порфиновым циклом атом железа ($Fe^{+2}$) способен присоединять некоторые газы с образованием производных гемоглобина.

**Важнейшие производные гемоглобина**

| Производное гемоглобина | Связываемый лиганд |
|---|---|
| Оксигемоглобин | Комплекс с $O_2$ |
| Карбогемоглобин | Комплекс с $CO_2$ |
| Карбоксигемоглобин | Комплекс с CO |
| Метгемоглобин | Содержит окисленный атом железа $Fe^{+3}$ |

***Окси-, карбо-*** и ***метгемоглобин*** рассматриваются как ***физиологические производные гемоглобина***, хотя в метгемоглобине атом железа окислен ($Fe^{+3}$) и не способен связывать кислород. Метгемоглобин постоянно образуется в эритроцитах в результате действия активных форм кислорода. Для регенерации активного гемоглобина из метгемоглобина в эритроцитах имеется фермент ***метгемоглобинредуктаза***, восстанавливающая окисленное гемовое железо. В качестве восстановителя метгемоглобинредуктаза использует ***глутатион***. ***Карбоксигемоглобин – патологическое производное***, образующееся при отравлении угарным газом.

Одна из важнейших характеристик гемоглобина – его исключительно высокое содержание в крови, составляющее около 150г/л у взрослых людей. В эритроцитах содержание гемоглобина примерно в 2 раза выше чем в цельной крови с учетом величины гематокрита. В одном эритроците содержатся 280 млн. молекул гемоглобина. Для сравнения можно указать, что содержание белков в плазме крови составляет 65-85 г/л. Следовательно, ***содержание гемоглобина в эритроцитах в 3-4 раза выше содержания всех вместе взятых белков в плазме крови.***

***Референтные интервалы для гемоглобина*** имеют различия по полу: ***для мужчин –140-180 г/л, для женщин - 130-160 г/л***.

Главная роль гемоглобина связана с переносом кислорода из легких в ткани и углекислоты из тканей в легкие. Кроме транспорта газов гемоглобин участвует в регуляции реакции среды (pH) в крови и тканях.

Газотранспортная функция гемоглобина и его буферное действие взаимосвязаны (рис.2). В легких происходит оскигенация гемоглобина, сопровождающаяся усилением его кислотных свойств. ***Оксигемоглобин*** – более сильная кислота по сравнению с ***дезоксигемоглобином*** и легче отдает протоны. Поэтому присутствующие в эритроцитах в больших количествах катионы калия вытесняют протоны из оксигемоглобина с образованием его калиевой соли ($K^+HbO_2$):

$$H^+Hb^- + O_2 + K^+ = K^+HbO_2^- + H^+$$

Освобождающиеся протоны связываются гидрокарбонатным анионом с образованием угольной кислоты. Имеющийся в эритроцитах фермент ***карбоангидраза*** разлагает угольную кислоту на воду и углекислый газ, удаляемый с выдыхаемым воздухом:

$$H_2CO_3 \xrightarrow[\text{карбоангидраза}]{} H_2O + CO_2$$

В тканях оксигемоглобин отдает кислород, переходя в форму дезоксигемоглобина. Кислотные свойства у дезоксигемоглобина выражены слабо, и поэтому протоны вытесняют катионы калия из комплекса с гемоглобином:

$$K^+HbO_2^- + H^+ = H^+Hb^- + O_2 + K^+$$

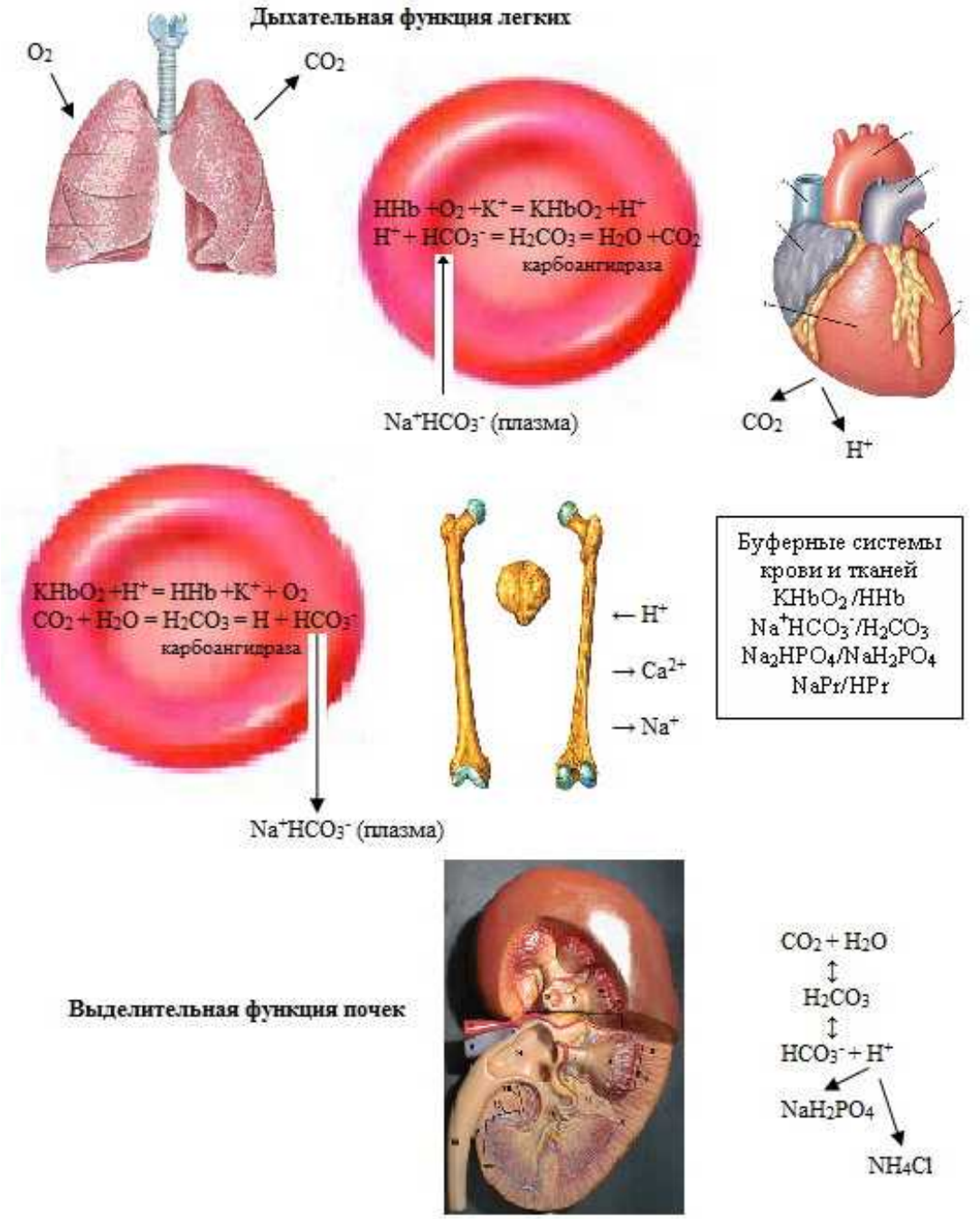


Рисунок 2. Взаимосвязь газотранспортной и буферной функций гемоглобина.

Калиевая соль оксигемоглобина и дезоксигемоглобин представляют сопряженную кислотно-основную пару, в которой первый компонент является основанием, а второй кислотой. ***На долю гемоглобинового буфера приходится 2/3 буферной емкости крови.***

Образующаяся в тканях углекислота входит в эритроциты и здесь частично связывается гемоглобином с образованием ***карбогемоглобина***. Большая же часть углекислоты гидратируется карбоангидразой с образованием угольной кислоты:

$$H_2O + CO_2 \underset{\text{карбоангидраза}}{=} H_2CO_3$$

Угольная кислота диссоциирует по первой ступени, и образующиеся гидрокарбонатные анионы переходят в плазму крови, где преобладают катионы натрия. Таким образом, большая часть углекислоты переносится из тканей в легкие в виде гидрокарбоната натрия плазмы крови.

Сродство гемоглобина к кислороду регулируется органическими фосфатами эритроцитов ***– 2,3-дифосфоглицератом (2,3-ДФГ)*** и ***АТФ.*** При связывании гемоглобином эти вещества сдвигают кривую оксигенации гемоглобина вправо, понижая его сродство к кислороду и облегчая отдачу кислорода в тканях. Количество 2,3-ДФГ в эритроцитах увеличивается в условиях высотной гипоксии и при заболеваниях, сопровождающихся нарушениями кровоснабжения тканей.

Синтез гемоглобина происходит в содержащих ядро предшественниках эритроцитов. Для синтеза ***гема*** необходимы ***железо*** и антианемические витамины - ***$B_{12}$ (цианокобаламин)*** и ***$B_c$ (фолиевая кислота)***, а для синтеза ***глобина - аминокислоты***, источником которых являются полноценные белки пищи. При недостатке этих факторов, а также при врожденном дефиците отдельных ферментов обмена глюкозы (***глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, пируваткиназа*** и др.) развиваются анемии. Причиной еще одной группы анемий – гемолитических, является ускоренное разрушение эритроцитов (гемолиз).

**Особенности гемоглобина у детей**

В период эмбрионального развития в эритроцитах плода содержится так называемый фетальный гемоглобин (HЬF), отличающийся по субъединичному составу и физико-химическим свойствам (более высокое сродство к кислороду) от главного гемоглобина взрослого человека $HЬA_1$ (см. выше). Сразу после рождения доля HЬF начинает прогрессивно уменьшатся и к 2-3 годам жизни не превышает 1-2 %. Если у детей старше 3 лет количество HbF превышает 2%, это считается патологией. Период полураспада HbF в 2 раза короче, чем HЬA, поэтому длительность жизни эритроцитов, содержащих HbF, меньше, чем у взрослых, и составляет 70-90 дней (у взрослых в среднем 120 дней).

В клинических условиях для определения содержания гемоглобина в крови используют унифицированные спектрофотометрические ***метгемоглобин-цианидный и гемихромный методы***. Для оценки анемических состояний наряду с определением содержания гемоглобина определяют содержание в крови железа и железо-связывающую способность сыворотки крови.

**Вопросы для самоконтроля**

1. К какому классу белков относится гемоглобин? Как устроена молекула гемоглобина?
2. Назовите главные разновидности гемоглобина, их субъединичный состав.
3. Назовите физиологические и патологические производные гемоглобина.
4. Назовите "нормальные величины" содержания гемолгобина в крови у мужчин и женщин, метод определения содержания гемоглобина.
5. Перечислите факторы, необходимые для синтеза гема.

## БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ

В плазме крови циркулирует большое количество разных белков. К настоящему времени из них идентифицированы более 100 индивидуальных представителей. По химической природе белки плазмы крови это простые и сложные белки. Последние представлены преимущественно глико- и липопротеидами.

Наиболее принято деление белков плазмы крови на ***альбумины*** и ***глобулины***. Альбумины, по сравнению с глобулинами, характеризуются меньшей молекулярной массой. Содержание альбуминов в плазме крови составляет в норме 40-50 г/л, глобулинов – 20-30 г/л. Коэффициент альбумины/глобулины равен 1,2-1,5. Еще один белок плазмы крови – фибриноген (2-4 г/л).

### *Функции белков плазмы крови*

1. Создают определенный уровень вязкости крови, сохраняют устойчивость взвеси эритроцитов и лейкоцитов в кровотоке, обеспечивают нормальный кровоток в капиллярах.
2. Создают коллоидно-осмотическое (онкотическое) давление крови и регулируют объем крови и тканевой жидкости. В артериолах гидростатическое давление крови превышает онкотическое давление, поэтому вода из плазмы крови переходит через стенку сосудов в интерстицианальное пространство. В капиллярах и венулах гидростатическое давление падает, и онкотическое давление становится основным фактором, определяющим перемещение воды между сосудистым руслом и тканями.
3. Амфотерность белков обеспечивает их буферное действие и поддержание постоянства pH крови.
4. Связывают ряд катионов (кальция, железа, магния, меди), создают их депо в крови, транспортируют их и препятствуют потере с мочой.
5. Транспортируют жирные кислоты, липиды, гормоны, витамины, билирубин, лекарственные препараты гидрофобной природы.
6. Специализированные белки участвуют в свертывании крови, являются компонентами противосвертывающей системы и системы фибринолиза.
7. Участвуют в реакциях гуморального иммунитета (иммуноглобулины).
8. Являются неспецифическими факторами защиты.
9. Представляют резерв аминокислот.

Методом электрофореза на бумаге белки сыворотки разделяются на 5 фракций:

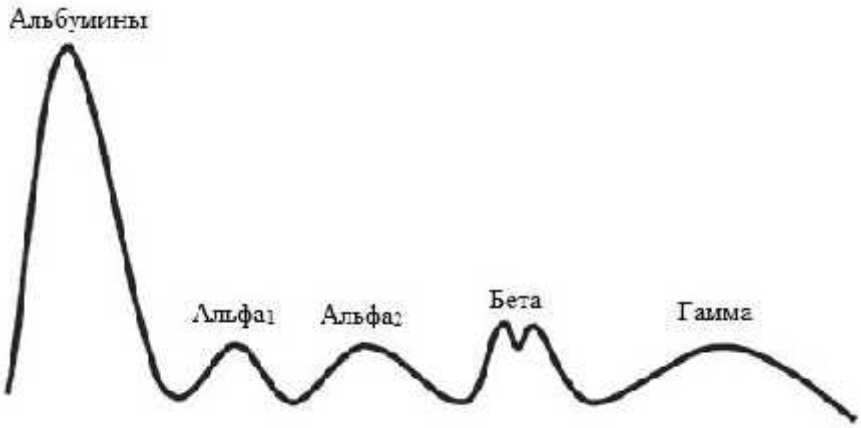


Рисунок 3. Электрофореграмма белков сыворотки крови.

| | |
|---|---|
| Альбумины | 50-61 % от общего белка |
| Альфа$_1$-глобулины | 3-6,8 % |
| Альфа$_2$-глобулины | 5,8-8 % |
| Бета-глобулины | 11-13 % |
| Гамма-глобулины | 15,5-21 % |

Эти фракции неоднородны и в них включаются близкие по электрофоретической подвижности, но различные по химической природе и физиологическим функциям белки.

**Важнейшие белки плазмы крови**

| Основная фракция | Индивидуальные белки | Функция |
|---|---|---|
| Альбумины | Преальбумин<br><br>Альбумин | Связывание и транспорт тироксина и ретинолсвязывающего белка<br>Поддержание онкотического давления плазмы крови, резерв аминокислот, связывание и транспорт жирных кислот, билирубина, альдостерона |
| Альфа-1-глобулины | Альфа-1-анти-трипсин<br>Альфа-1-глико-протеид (серомукоид)<br>Транскортин<br>Протромбин<br>Антитромбин | Ингибитор сериновых протеаз<br><br>Белок острой фазы, накапливается при воспалении<br>Транспорт глюкокортикоидов<br>Предшественник тромбина<br>Ингибитор тромбина |
| Альфа-2-глобулины | Альфа-2-компоненты комплемента<br>Плазминоген<br>Церулоплазмин<br>Гаптоглобин<br>Эритропоэтин | Участвуют в реакции связывания комплемента<br><br>Компонент фибринолиза<br>Транспорт меди, антиоксидант<br>Связывает гемоглобин<br>Стимулятор эритропоэза |
| Бета-глобулины | Гемопексин<br>Трансферрин<br>Бета-липо-протеиды (ЛПНП)<br><br>Фибриноген<br>С–реактивный белок<br>Пропердин | Связывает гем<br>Связывание и транспорт железа<br>Транспорт липидов<br><br>Фактор свертывания крови<br>Белок острой фазы, появляется при воспалении<br>Активатор комплемента |
| Гамма-глобулины | Иммуноглобулины:<br><br>G<br>A<br><br>M<br>E<br>Лизоцим (мурамидаза) | Специфическая гуморальная защита внутренней среды организма<br>Основные антитела<br>Антитела, участвующие в формировании местного иммунитета слизистых оболочек<br>Участвуют в первичном иммунном ответе<br>Участвуют в развитии аллергических реакций<br>Бактериолиз |

Разберем некоторые, представляющие наибольший клинический интерес, белки плазмы крови.

Наиболее однородна фракция ***альбуминов***. Альбумины синтезируются и секретируются в кровь печенью, выполняют транспортную роль и вносят наибольший вклад в поддержание онкотического давления в плазме крови.

Транспортные белки располагаются также во фракциях альфа- и бета-глобулинов (***транскортин, трансферрин, церулоплазмин, гаптоглобин, гемопексин***).

Специализированные белки – ***факторы системы гемостаза*** (свертываюшая, противосвертывающая и фибринолитическая системы) - входят в состав альфа- и бета-глобулиновых фракций.

Белки специфической гуморальной защиты (***иммуноглобулины***) составляют гамма-глобулиновую фракцию.

К неспецифическим факторам защиты относятся ***пропердин, лизоцим, интерферон*** и ***комплемент.***

***Белки «острой фазы»*** относятся к классу гликопротеидов. Количество этих белков в крови увеличивается в острый период заболевания в результате воспаления, аллергии или деструкции ткани. К ним относятся: ***С-реактивный белок*** (в норме отсутствует), ***кислый альфа-1-гликопротеид***, ***альфа-1-антитрипсин, церулоплазмин, гаптоглобулин***.

Особую, пока еще малоизученную группу белков, составляют ***парапротеины***, встречающиеся только при определенном заболевании (миеломной болезни, макроглобулинемии). К таким белкам относятся ***криоглобулины*** – белки, выпадающие в виде желе при охлаждении сыворотки. Выявляются у больных миеломной болезнью, нефрозом, циррозом печени, ревматизмом, лейкозами. Появление таких патологических белков обозначается термином – ***парапротеинемия.***

Содержание белков в плазме крови определяется соотношением процессов их синтеза и распада. Большинство плазменных белков синтезируется в печени. Скорость синтеза зависит от характера питания, усвоения белков пищи в желудочно-кишечном тракте, состояния печени.

Распад большинства белков плазмы происходит в эндотелиальных клетках капилляров и системе функциональных фагоцитов – моноцитов и макрофагов после поглощения белков путем пиноцитоза. Белки с малой молекулярной массой фильтруются в первичную мочу, из которой реабсорбирутся эндотелиальными клетками проксимальных канальцев и распадаются в этих клетках до аминокислот.

Концентрация белков в плазме крови находится под гормональным контролем. ***Соматотропный гормон*** и ***андрогены*** стимулируют синтез белков печенью. ***АКТГ***, усиливая образование глюкокортикоидов, активируют распад белков, но высокие концентрации глюкокортикоидов одновременно запускают синтез «белков острой фазы». В физиологических концентрациях ***тироксин*** способствует синтезу белков, а в высоких активирует распад.

Уровень белков во внутрисосудистом русле есть результат равновесия между синтезом, поступлением в кровь, поглощением тканями и распадом. Между внутрисосудистым и внесосудистым пулом внеклеточной жидкости происходит постоянный обмен белков.

***Общее содержание белков в плазме крови*** у взрослого человека составляет ***65-85 г/л***. Обычно в условиях клинико-диагностических лабораторий содержание общего белка определяют в сыворотке крови. Сыворотка – это плазма, лишенная фибрина. Поэтому

***величины общего белка в сыворотке крови*** несколько меньше – ***65-80 г/л.*** Как мы видим, различия плазмы и сыворотки крови по содержанию белка малозначительны, и поэтому для характеристики белков плазмы крови анализ проводят в сыворотке, а термины «белки плазмы» и «белки сыворотки» используют практически в качестве синонимов.

Величины общего белка плазмы у мужчин в среднем на 1 г/л выше, чем у женщин. У женщин содержание общего белка в плазме крови снижается при беременности и к моменту родов падает до 60 г/л. Содержание белка в плазме у новорожденных – 57 г/л. К 6 месяцам увеличивается до 60 г/л и достигает уровня взрослых к 3 годам жизни. У недоношенных детей содержание белка ниже 36 г/л.

После приема пищи концентрация белка в плазме крови не изменяется. Вегетарианская диета не влияет на уровень белка в крови. При взятии крови в положении лежа содержание белка ниже, чем стоя. При хранении сыворотки величина белка сохраняется при комнатной температуре до недели, в замороженном состоянии до трех месяцев.

**Особенности белков плазмы крови в детском возрасте**

Содержание общего белка в плазме при рождении составляет 47-65 г/л, у недоношенных <50 г/л, причем уровень белка зависит от степени недоношенности. Особенно низкое содержание α- и β-глобулинов, в состав которых входят высокоспециализированные белки.

Концентрация общего белка и белковых фракций у новорожденных зависит от состояния матери при беременности. У детей, родившихся от матерей с различными формами позднего токсикоза, развивается гипо- и диспротеинемия, выражающаяся в гипоальбуминемии, повышении $\alpha_1$, $\alpha_2$ и β-глобулинов. Степень гипо- и диспротеинемии пропорциональны тяжести токсикоза. γ-глобулины новорожденных имеют материнское происхождение.

Таким образом, к моменту рождения наивысшей интенсивности достигает синтез альбуминов, значительно снижено образование α- и β -глобулинов и весьма ограничен синтез γ -глобулинов. Наиболее выражено снижение синтеза белка и его фракций, в частности, глобулинов у детей, рожденных от матерей с пороками сердца и недостаточностью кровообращения.

Содержание общего белка в плазме крови у детей старше 1 года увеличивается преимущественно за счет увеличения уровня альбумина и γ-глобулинов.

Материнские IgG с периодом полураспада 25 дней, проникающие в кровь плода через плаценту и обеспечивающие пассивный иммунитет новорожденных, постепенно исчезают из крови ребенка. На 3-м месяце жизни их содержание уменьшается вдвое. Начало синтеза собственных IgG создает предпосылки для образования антител против материнских белков, циркулирующих в крови ребенка, что также ускоряет их элиминацию. Содержание IgG в крови достигает уровня взрослых к 1-6 годам жизни, причем сроки эти индивидуальны.

Синтез собственных IgM начинается в организме плода с 5-й недели внутриутробного развития. На поступление антигенов через плаценту плод отвечает усиленным синтезом IgM. Повышение IgM свыше 0,3 г/л свидетельствует о внутриутробном контакте плода с антигенами.

Уровень церулоплазмина у новорожденных составляет 20% материнского уровня. Постепенное его увеличение происходит после 6 месяцев жизни.

Гаптоглобин в пуповинной крови обнаруживается лишь у 8% новорожденных, но к концу 1-й недели жизни выявляется у всех детей.

Образование ряда белковых факторов свертывания крови у плода и новорожденного недостаточно, особенно у недоношенных. Введение витамина К матери до родов или новорожденному повышает содержание протромбина в крови. У новорожденных с тяжелой асфиксией активность свертывающей системы крови значительно снижена.

Активность фибринолитической системы, определяемая в крови плода уже на 5-м месяце внутриутробного развития, у новорожденных выше, чем у взрослых и остается повышенной у детей дошкольного возраста. Пониженная активность свертывающей и повышенная - фибринолитической систем являются причиной частых геморрагии у маленьких детей.

В сыворотке крови новорожденных определяются все основные компоненты калликреин-кининовой системы. В первые 3 дня после рождения в крови новорожденных повышено содержание свободных кининов, что может быть обусловлено адаптацией организма новорожденного к условиям окружающей среды. К концу 1-й недели жизни активность ки-нинобразующих ферментов (калликреинов) в крови новорожденных снижается, а кининразрушающих ферментов — повышается. С 1-го года до 15 лет в крови нарастают все компоненты кининовой системы. К 15-летнему возрасту активность калликреина, кининазная активность крови и содержание кининогена приближается к уровню взрослых.

Наследственная недостаточность $\alpha_1$-антитрипсина часто сопровождается неспецифическими заболеваниями легких у взрослых и циррозом печени у детей и юношей. Принято считать, что циркулирующий в крови $\alpha_1$-антитрипсин обеспечивает защиту печени и легких от действия протеаз и недостаток его приводит к развитию заболеваний этих органов. У новорожденных, страдающих респираторным синдромом, в сыворотке крови резко снижено содержание $\alpha_1$-антитрипсина, причем самые низкие концентрации ингибитора встречаются у детей с наиболее тяжелыми формами легочной патологии.

Содержание общего белка в сыворотке крови определяют унифицированным колориметрическим биуретовым методом.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Назовите индивидуальные белки, входящие во фракции глобулинов.
2. Назовите белки "острой фазы".
3. Какие белки относят к парапротеинам?
4. Назовите общее содержание белков в плазме и сыворотке крови у здоровых людей.
5. Каким методом определяют общий белок в сыворотке (плазме) крови?

**Нарушения состава белков плазмы крови при заболеваниях.**

В условиях патологии может развиваться увеличение или уменьшение общего содержания белков в плазме крови, а также изменение соотношения между отдельными белковыми фракциями.

***Гиперпротеинемия*** – увеличение общего белка в плазме крови. Встречается довольно редко. Относительная гиперпротеинемия, т.е. истинное увеличение содержания белков, наблюдается при сгущении крови вследствие потерь больших количеств воды при диарее, неукротимой рвоте, тяжелых травмах, ожогах. ***Абсолютная гиперпротеинемия*** возникает при усиленном синтезе определенной группы белков, например, иммуноглобулинов при инфекционных болезнях, токсическом раздражении РЭС). Также может явиться следствием образования патологических белков. При острых воспалительных заболеваниях возможна гиперпротеинемия, обусловленная как внутрисосудистой дегидратацией, так и выбросом в кровь «белков острой фазы». Абсолютная гиперпротеинемия, как привило, связана с гиперглобулинемией и сопровождается уменьшением альбуминово-глобулинового коэффициента.

***Гипопротеинемия*** встречается значительно чаще и характеризуется уменьшением общего количества плазменных белков. Причины гипопротеинемии различны:

1. Потеря белка с мочой при нефритах.
2. Угнетение синтеза белков плазмы крови при заболеваниях печени, сопровождающихся развитием печеночной недостаточности.
3. Усиленный распад белков в организме при голодании, раковой кахексии, длительно протекающих тяжелых инфекционных заболеваниях, тиреотоксикозе.
4. Задержка в организме воды при сердечной декомпенсации.

При снижении содержания общего белка в плазме крови до 40 г/л развиваются отеки.

Для гипопротеинемии также характерно снижении альбуминово/глобулинового коэффициента, поскольку при печеночной недостаточности страдает преимущественно синтез альбуминов, а при гломерулонефритах с мочой теряются в первую очередь альбумины, как более мелкодисперсные белки.

Гипопротеинемии и особенно гиперпротеинемии малоспецифичны и не имеют большого дифференциально-диагностического значения, характеризуя, главным образом, тяжесть состояния больного.

Значительно чаще при заболеваниях происходит изменение не общего количества белка, а соотношения белковых фракций, получившее название ***диспротеинемии*** и имеющее дифференциально-диагностическое значение.

***Гиперальбуминемия*** встречается редко на фоне гиперпротеинемии, вызванной дегидратацией организма. ***Гипоальбуминемия*** сопутствует гипопротеинемии и возникает вследствие указанных выше причин. Исключительно редко встречается врожденная ***анальбуминемия*** (отсутствие альбуминов), не имеющая четкой клинической симптоматики.

***Гиперальфаглобулинемия*** - увеличение содержания альфа-глобулиновых фракций, в которых сосредоточена основная масса белков острой фазы, отражает интенсивность стресса, воспалительного процесса при различных заболеваниях: хронических инфекциях, ревматизме, болезнях почек, инфаркте миокарда, ожогах и травмах.

***Гипоальфаглобулинемия*** характерна для гипотиреоза, гепатитов, некрозов печени.

Увеличение бета-глобулинов отражает накопление в крови липопротеидов и сопровождает нарушения липидного обмена. При этом диагностическое значение имеет определение фракционного состава липопротеидов - ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП (см. раздел о холестерине).

***Гипергаммаглобулинемия*** сопутствует усиленному образованию в организме антител или аутоантител и встречается при вирусных и бактериальных инфекциях и аутоаллергических заболеваниях. Также может возникать при наличии очага воспаления, ожоговой болезни, при деструкции тканей. Умеренное увеличение гамма-глобулинов возможно при белковой недостаточности и голодании. При аллергических заболеваниях в крови увеличивается количество иммуноглобулина Е.

У детей в возрасте до 3-4 месяцев ***гипогаммаглобулинемия*** может быть физиологической. Клинический интерес представляет снижение гамма-глобулинов при иммунодефицитных заболеваниях и состояниях, связанных с длительным лечением АКТГ и глюкокортикоидами. Редко встречающаяся ***агаммаглобулинемия*** может быть врожденной и приобретенной и связана с уменьшением числа лимфоидных клеток или их неспособностью продуцировать антитела.

Диагностическое значение имеет определение индивидуальных белков острой фазы. Увеличение ***альфа-1-антитрипсина*** характерно для воспалительных заболеваний и токсикозов беременности. Врожденный дефицит этого белка приводит к развитию эмфиземы легких.

Увеличение ***альфа-2-макроглобулина*** встречается при паренхиматозных поражениях печени. Увеличение ***гаптоглобина*** более специфично для гемолитической анемии. ***Церулоплазмин*** повышен при меланоме и шизофрении.

***Трансферрин*** повышен при гемолизе. Увеличение этого белка выявляется при гепатитах, нефротическом синдроме, опухолях.

Разделение индивидуальных белков сыворотки крови в условиях клинических лабораторий осуществляют методом электрофореза на бумаге или других носителях (гели). Имеется упрощенный метод оценки содержания отдельных белковых фракций в сыворотке крови на основе их различного осаждения при высаливании.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Что такое относительная и абсолютная гиперпротеинемия? Когда они возникают?
2. Назовите причины гипопротеинемии.
3. Что такое диспротеинемия? Охарактеризуйте известные вам виды диспроотеинемий.
4. Какая фракция белков плазмы крови увеличивается при воспалительных процессах в организме?
5. При каких заболеваниях развивается гипергаммаглобулинемия?
6. Какие белки относят к белкам острой фазы?

## НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ АЗОТИСТОГО ОБМЕНА

***Мочевина***

Мочевина представляет конечный продукт обмена белков. Синтез мочевины в печени является главным путем обезвреживания аммиака в организме человека. Мочевина выводится из организма почками. За сутки здоровый взрослый человек выделяет с мочой 20-40 г мочевины. У здорового человека ***в 1 л крови содержится 2,5-8,3 ммоль мочевины***.

**Клиническое значение определения мочевины**

***При заболеваниях печени***, сопровождающихся печеночной недостаточностью, нарушается синтез мочевины, снижается ее концентрация в крови и экскреция с мочой. ***При заболеваниях почек*** и развитии ***почечной недостаточности*** содержание мочевины в крови увеличивается, в моче – уменьшается. При тяжелой почечной недостаточности развивается уремия, характеризующаяся высоким уровнем мочевины и других азотистых шлаков, в частности, креатина в крови.

Наряду с указанными выше причинами увеличение концентрации мочевины в крови может сопутствовать ***лихорадочным состояниям*** и ***дегидратации организма***. ***Малобелковая диета*** снижает уровень мочевины в крови, не влияя на уровень креатина.

**Методы определение содержания мочевины в крови.**

В последнее время в клинических лабораториях начали использоваться ферментативные методы определения мочевины с участием уреазы. В большинстве случаев это полуколичественное определение с помощью диагностических полосок, в индикаторной зоне которых содержится уреаза, разлагающая мочевину на углекислоту и аммиак, который окрашивает нанесенный на полоску индикатор. По высоте окрашенного слоя и определяется содержание мочевины.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Назовите конечный продукт распада белков в организме.
2. Назовите содержание мочевины в крови здоровых людей.
3. Какие заболевания сопровождаются снижением, а какие увеличением содержания мочевины в крови?

***Креатинин***

Креатинин является конечным продуктом обмена ***креатина*** (метилгуанидинацетата). Образуется в эпителии тонкого кишечника и в печени. Фосфорилированная форма креатина – ***креатинфосфат*** выполняет функцию главного макроэрга мышечной ткани, особенно сердечной мышцы. В скелетных мышцах содержание КФ значительно ниже по сравнению с миокардом. Под действием фермента ***креатинкиназы*** происходит обратимая реакция переноса макроэргического фосфорильного остатка между креатинфосфатом и АДФ:

$$\text{креатинфосфат} + \text{АДФ} \underset{\text{креатинкиназа}}{=} \text{креатин} + \text{АТФ}$$

Во время мышечных сокращений расходуется АТФ, и его количество восполняется за счет протекания реакции в прямом направлении. В состоянии покоя в мышце происходит синтез АТФ, и его избыток переходит в форму кретинфосфата (обратная реакция). Из креатина образуется креатинин.

Количество образующегося в организме креатинина зависит от мышечной массы. За сутки около 2% креатина превращается в креатинин. Креатинин содержится в крови, поте, содержимом кишечника. Креатинин проходит через гематоэнцефалический барьер и появляется в спинномозговой жидкости. Креатинин фильтруется через базальную мембрану гломерул почек и в норме реабсорбируется. Если его содержание в крови повышено, то он активно экскретируется клетками тубулярного эпителия нефрона.

Содержание креатинина в крови определяется его образованием и элиминицией через фильтрационный барьер почечных телец. ***Нормальные величины концентрации креатинина в крови*** составляют ***20-110 мкмоль/л.***

**Клиническое значение определения креатинина**

У здорового человека образование креатинина и его удаление эквивалентны. Повышение креатинина в крови – признак ***почечной недостаточности*** и служит более надежным тестом, чем увеличение мочевины, так как повышение креатинина начинается раньше, чем мочевины. Образование креатинина не связано с поступлением эндогенного белка, как это характерно для мочевины. При острой почечной недостаточности и значительном снижении фильтрующей способности гломерулярного аппарата в первые дни содержание его в крови может не меняться и не отражать нарушение функции почек.

Диагностическое значение определения креатинина важно не только для оценки функции почек, но и для учета экскреции многих физиологически важных компонентов: гормонов, ферментов, аминокислот. Их выведение рассчитывается на 1мг экскретируемого креатинина. Такой прием вызван неадекватностью расчета на суточное количество мочи. За 24 часа трудно учесть влияние экзогенных и эндогенных факторов на процесс экскреции. Более правильно рассчитывать экскрецию вещества за короткие промежутки времени. При этом рассчитывают отношение: выводимое вещество/креатинин, например, белок мочи/креатинин, стероидные гормоны и катехоламины/креатинин и т.п.

**Методы определения концентрации креатинина.**

Существует много методов определения креатинина. С 1886 года применяется колориметрический метод, в основе которого лежит известная реакция Яффе – образование цветного комплекса креатинина с пикриновой кислотой в щелочной среде. В настоящее время применяются энзиматические методы, основанные на использовании соответствующих ферментов. Разработаны три группы ферментативных методов определения креатинина.

Первая группа основана на использовании креатиназы. Эти методы завышают определяемые величины. Особенно в случае низких концентраций креатина. Во второй группе методов используется креатининаза и система сопряженных реакций. Скорость изменения поглощения света при 340нм прямопропорциональна концентрации креатинина. Третья группа ферментативных методов включает комбинированное использование креатининкиназы и креатинкиназы. Образуется хромоген, поглощающий при 540нм.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какое вещество является предшественников креатинина?
2. Какую роль выполняет в организме креатинфосфат?
3. В чем состоит диагностическое значение определения содержания креатинина в крови?
4. Назовите "нормальные величины " кретинина в крови.

***Мочевая кислота***.

Мочевая кислота - конечный продукт пуринового обмена у человека и приматов. У остальных животных она окисляется в аллантоин, обладающий большей растворимостью в воде. За сутки у человека образуется из эндогенных нуклеозидов 500мг мочевой кислоты и 200мг за счет пищевых пуринов. 75% образовавшейся в тканях мочевой кислоты выводится с мочой, оставшаяся часть с каловыми массами. Повышение экскреции мочевой кислоты наблюдается при ***лейкозах, подагре, гепатите,*** а также при ***приеме аспирина и кортикостероидов***. Растворимость мочевой кислоты низкая. Поэтому повышение ее в крови приводит к отложению ее солей ***(уратов)*** в тканях, что приводит к ***подагре,*** сопровождающейся ревматическими болями в суставах.

***Концентрация мочевой кислоты в сыворотке крови*** у мужчин и женщин имеет различия***: у мужчин*** составляет ***0,21-0,42 ммоль/л, у женщин - 0,15-0,30 ммоль/л.*** В постменопаузальном периоде различия сглаживаются. У детей зависит от возраста: до 1 года – 0,06-0,45ммоль/л, от 1 года до 9 лет – 0,05-0,40ммоль/л, в возрасте 10 – 19 лет 0,11-0,42 ммоль/л.

***Выведение мочевой кислоты с мочой составляет 200-750мг/сутки.*** Экскреция зависит от поступления пуринов с пищей, снижается до 0,5 г/сутки при полном отсутствии пуринов и возрастает до 1г/сутки при употреблении пищи, богатой пуринами.

**Клиническое значение определения мочевой кислоты**

Нарушения обмена мочевой кислоты проявляются как ***гиперурикемией,*** так и к ***гипоурикемией. Врожденная гиперурикемия*** – это ***первичная подагра***. Патофизиологической основой возникновения подагры является выпадение кристаллов уратов на поверхностях суставов вследствие высокой концентрации мочевой кислоты в крови и ее низкой растворимости в воде. Наследственная гиперурикемия обусловлена усиленным синтезом пуринов. ***Вторичная подагра*** развивается при усиленном распаде лимфоидных клеток, например, при лейкозе и лимфоме под влиянием приема цитостатиков. Причиной подагры также может быть и замедленное выведение мочевой кислоты из организма. Гиперурикемия встречается при сахарном диабете, ИБС, врожденном дефиците глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, усиленном образовании молочной кислоты.

Мочевая кислота циркулирует не только в крови, но и в других биологических жидкостях – спинномозговой, моче, однако, поражаются прежде всего суставы. Гиперурикемия и подагрическое поражение суставов взаимосвязаны. Тем не менее, одного лишь увеличения содержания в крови мочевой кислоты может быть и недостаточно для развития подагры. Кристаллы уратов встречаются в синовиальной жидкости здоровых людей, но они растворяются под действием гликозаминогликанов, также присутствующих в синовиальной жидкости. Уменьшение содержания гликозаминогликанов или смещение pH синовиальной жидкости в кислую сторону при накоплении лактата могут создавать условия для кристаллизации уратов и возникновения воспалительного процесса на суставных поверностях.

Высокое содержание мочевой кислоты в моче создает условия для отложения уратов в мочевыводящих путях и возникновения мочекаменной болезни - уролитиаза.

Обсуждая влияние диеты на величину урикемии, следует отметить, что фруктоза (содержится в меде) и сахароза, но не глюкоза, повышают концентрацию мочевой кислоты в крови здоровых людей, пациентов с ожирением и подагрой.

Многие фармацевтические препараты влияют на содержание мочевой кислоты в крови. Гиперурикемия возникает при интенсивной терапии глюкокортикоидами и аспирином. Цитостатики, радиоизлучения, разрушающие ткани опухоли, приводят к гибели клеток, высвобождению и распаду нуклеопротеидов с образованием мочевой кислоты.

***Гипоурикемия*** встречается относительно редко и может быть связана с врожденным дефицитом ферментов обмена пуринов - ксантиноксидазы, гипоксантиноксидазы, а также с дефектом механизмов реабсорбции мочевой кислоты в канальцах, приемом препаратов, способствующих выведению мочевой кислоты. Гипоурикемия характерна для гепатолентикулярной дегенерации и синдрома Фанкони.

**Методы определения мочевой кислоты.**

Долгое время определение мочевой кислоты в крови и моче выполняли колориметрическими методами, используя реакции окисления мочевой кислоты до аллантаина и определение последнего по цветной реакции с фосфорилированной кислотой с развитием синего окрашивания.

Современные технологии основаны на применении специфических энзиматических методов. Тест-наборы для определения мочевой кислоты содержат уриказу (оксидазу мочевой кислоты). Уриказа окисляет мочевую кислоту молекулярным кислородом в аллантоин с образованием пероксида водорода и углекислого газа. Метод специфичен и дает хорошую воспроизводимость.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Назовите конечный продукт распада пуринов в организме.
2. Назовите "нормальные величины" мочевой кислоты в крови мужчин и женщин.
3. Что такое гиперурикемия? Какое заболевание ей сопутствует?

## ПИГМЕНТЫ

Можно выделить четыре группы пигментов, присутстствующих в организме человека.

Первая группа представлена ***гемом*** – железосодержащим пигментом, входящим в состав белков гемопротеидов - *гемоглобина, цитохромов, каталазы, пероксидаз*.

Вторую группу пигментов составляют *предшественники гема – порфирины:* ***копропорфирины*** (выделяются через кишечник с каловыми массами), ***уропорфирины*** (выводятся с мочой). Синтез гема из глицина и сукцинилкоэнзима А - это многостадийный процесс, включающий большое число последовательных реакций и большое число промежуточных метаболитов – окрашенных соединений. Выделяют несколько типов порфиринов. Среди них наиболее значимы пигменты III и IX типа. ***Протопорфирин IX*** является непосредственным предшественником гема. При блокировании начальных стадий синтеза гема образуются побочные пигменты I типа, выводимые с мочой у больных с наследственной формой порфирии.

Третью группу пигментов составляют *продукты распада гема*: пигмент желчи – ***билирубин***, выводимые с калом и мочой ***стеркобилиноген*** и ***стеркобилин***, ***уробилиноген*** и ***уробилин***. Обычно все эти окрашенные соединения объединяют термином ***желчные пигменты***, но это не совсем точно, т.к. желчь содержит только билирубин.

К четвертой группе пигментов относятся ***меланины*** – пигменты кожи и радужной оболочки глаза, образующиеся из тирозина в пигментных клетках.

Патология пигментного обмена связана как с нарушением синтеза, так и распада гема. Нарушения синтеза гема классифицируют на ***анемии, порфирии*** и ***порфиринурии***. Нарушения распада гема – ***желтухи (гипербилирубинемии).***

**Нарушения синтеза гема: порфирии и порфиринурии.**

***Порфирии*** связаны с блокированием отдельных стадий многостадийного процесса синтеза гема и характеризуются накоплением в организме и выведением с мочой промежуточных продуктов синтеза гема – дельта-аминолевулиновой кислоты, порфобилиногена, порфиринов. Эти вещества окрашивают в розовый или красный цвет мочу, эмаль зубов, кожный покров. Порфирии делятся на врожденные и приобретенные. При ***врожденной порфирии*** генетический дефект приводит к блокированию начальных стадий синтеза гема, и в организме накапливаются *дельтааминолевулиновая кислота, порфобилиноген, побочные пигменты I типа*.

Основные метаболиты синтеза гема

| | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | **Пигменты I типа (патологические)** ↑ | | | | | | | | |
| **Глицин + сукцинилКоА** | → | **Δ-амино-левулиновая кислота** | → | **Порфобилиноген** | → | **Пигменты III типа** | → | **Пигменты IX типа** | → | **Гем** | | |

Выведение порфиринов с мочой, составляющее у здоровых людей около 150 мг/сутки, возрастает в сотни раз. Приобретенная форма порфирии связана с блокированием более поздних стадий синтеза гема и накоплением в организме преимущественно пигментов III типа. Болезнь возникает остро, как правило, в весенний период. Приступы заболевания провоцируются воздействием ультрафиолетовых лучей. Характерны поражения кожи – фотодерматозы. Впервые заболевание было описано у моряков и землепашцев («кожа моряка», «кожа пахаря»). Фотодерматозы распространены в регионах с высокой солнечной радиацией, в том числе в Амурской области. Приобретенную форму порфирии также называют острой или кожной.

***Порфиринурии,*** при которых с мочой также в повышенных количествах выводятся порфирины, не являются самостоятельными заболеваниями и возникают при нарушениях функций РЭС, некоторых аллергических заболеваниях, авитаминозах (фолиевой, пантотеновой, никотиновой кислоты), отравлениях свинцом, фосфором.

***Билирубин.***

***Билирубин*** – линейное тетрапирольное соединение оранжевого или красно-коричневого цвета, образующееся в органах РЭС в результате разрушения эритроцитов и распада гемоглобина. Билирубин плохо растворим в воде, обладает выраженным токсическим действием, прежде всего, на нервную ткань. При попадании в кровь солюбилизируется альбуминами. В комплексе с альбуминами не дает прямую реакцию с диазореактивом Эрлиха и поэтому называется «непрямым» билирубином. Для определения «непрямого» билирубина его нужно освободить из комплекса с альбуминами

путем обработки сыворотки кофеиновым реактивом или спиртом. Будучи прочно связан с альбуминами, «***непрямой» билирубин не проходит через почечный фильтр.***

Рисунок 4 и схема иллюстрируют последовательность распада гемоглобина и судьбу образующихся пигментов.

Детоксиция «непрямого» билирубина происходит в печени путем соединения (коньюгации) с глюкуроновой кислотой и образования билирубинглюкуронида. Конъюгированный билирубин значительно лучше растворим в воде, экскретируется в желчь, накапливается в желчном пузыре и в составе желчи поступает в 12-перстную кишку. В кишечнике бактериальная бетаглюкуронидаза гидролизует билирубинглюкуронид. Освободившийся от связи с глюкуроновой кислотой свободный билирубин под действием ферментов микрофлоры кишечника восстанавливается в ряд промежуточных пигментов.

**Распад гемоглобина**

| | |
|---|---|
| ***РЭС*** | **Гемоглобин**<br>Разрыв метинового мостика<br>**Вердоглобин**<br>- глобин и железо<br>**Биливердин**<br>+ Н<br>**Билирубин** |
| ***Кровь*** | **Билирубин**<br>(неконъюгированный, свободный, «непрямой») |
| ***Печень*** | Конъюгация с глюкуроновой кислотой<br>**Билирубин глюкуронид**<br>(конъюгированный, «прямой», присутствует в желчи) |
| ***Кишечник*** | **Билирубин глюкуронид**<br>- глюкуроновая кислота<br>**Билирубин**<br>**Уробилиноген**<br>**(мезобилиноген)**<br>**Стеркобилиноген**<br>Большая часть выводится с калом. Небольшая часть всасывается в толстом кишечнике, поступает в кровь и выводится с мочой. |
| ***Кал* Стеркобилиноген**<br>(40-300мг/сутки) | ***Моча* Стеркобилиноген**<br>(4мг/сутки) |

Важнейшие из них уробилиноген (мезобилиноген) и стеркобилиноген. Часть уробилиногена всасывается в тонком кишечнике, по системе портальной вены достигает печени, где подвергается глубокому распаду до моно-, ди- и трипирольных соединений. За сутки с каловыми массами выводится 40-300мг стеркобилиногена, который на воздухе окисляется в стеркобилин. Небольшая часть стеркобилиногена всасывается через геморроидальное сплетение в толстом кишечнике, попадает в кровь и выводится с мочой (4мг/сутки). Таким образом, ***нормальный пигмент мочи*** это ***стеркобилиноген,*** но традиционно в клинике его называют ***уробилиногеном***. Появление истинного уробилиногена в моче является отражением поражения печени, при котором уробилиноген в печени не разрушается, а вследствие увеличения проницаемости или полной деструкции мембран печеночных клеток поступает в кровь и выводится с мочой. У здоровых людей в моче отсутствует билирубин. Появление его в моче указывает на увеличение содержания в крови «прямого» билирубина и встречается при закупорке желчевыводящих путей.

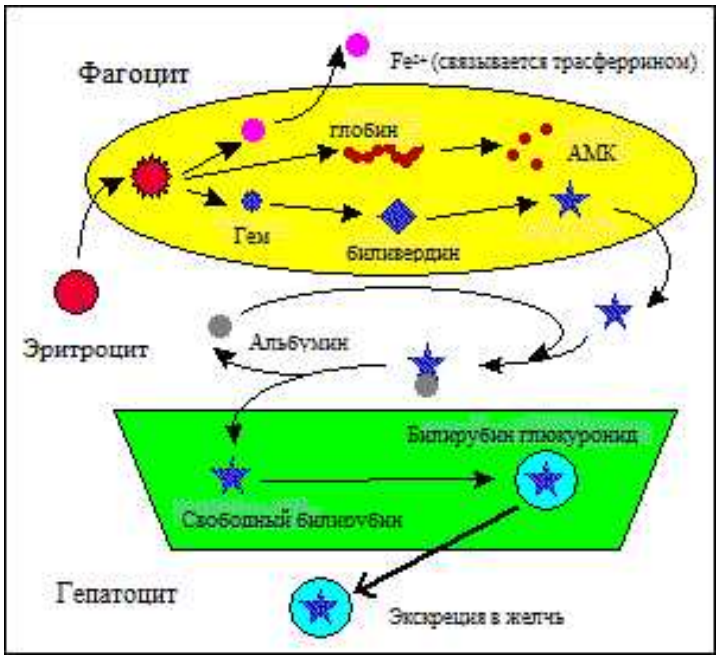


Рисунок 4. Образование желчных пигментов.

В крови содержится главным образом «непрямой» билирубин. Билирубинглюкуронида, дающего прямую реакцию с диазореактивом Эрлиха и поэтому называемого «прямым», значительно меньше. Общее содержание билирубина в сыворотке крови до 8,5-20,5мкмоль/л, «непрямого» билирубина 6,4-17,1мкмоль/л, «прямого» билирубина –0,9-4,3мкмоль/л. Определение «прямого» и «непрямого» билирубина имеет значение для дифференциальной диагностики желтух.

**Клиническое значение гипербилирубинемии**

Существуют разные причины развития гипербилирубинемии, но их можно объединить в три группы:

1. ***Усиленный распад эритроцитов селезенке (гемолиз).*** Этот тип нарушений называется ***гемолитическая*** или ***надпеченочная желтуха.*** При гемолитической желтухе в крови увеличивается «непрямой» билирубин. Вследствие массивного разрушения эритроцитов в РЭС и образования больших количеств непрямо

билирубина, клетки печени не успевают перевести весь его в «прямой» билирубин, и оставшаяся часть циркулирует в крови. Моча и кал темного цвета, в них в больших количествах определяется стеркобилиноген, называемый в случае мочи уробилином.

К этой же группе относятся физиологическая желтуха новорожденных, возникающая вследствие массированного разрушения эритроцитов и незрелости детоксицирующей системы печени в первые дни жизни и сохраняющаяся до 10-14 дней. Если желтушность затягивается до 3-х недель, то это является неблагоприятным симптомом, указывающим на возможность гемолитической болезни новорожденных, обусловленной резус-конфликтом эритроцитов матери и плода и связанной с риском развития неврологических осложнений.

2. ***Нарушения синтеза «прямого» билирубина*** вследствие повреждения гепатоцитов при гепатитах, циррозах и токсических поражениях печени. Это ***«печоночно-клеточная» желтуха.*** Вследствие увеличения проницаемости и даже разрушения мембран гепатоцитов содержимое печеночных клеток переходит в кровь. В крови увеличиваются как «непрямой», так и «прямой» билирубин. Все же увеличение «непрямого» билирубина выражено в большей степени. Причиной нарушенной конъюгации «непрямого» билирубина может быть редко встречающийся генетический дефект, проявляющийся врожденным дефицитом глюкуронилтрансферазы. Моча темного цвета. Содержание стеркобилиногена в моче умеренно повышено, определяется билирубин.
3. ***Нарушение оттока желчи*** (холестаз) при закупорке желчного протока камнем (желчнокаменная болезнь - холелитиаз), сдавлении протока опухолью. Развивающаяся желтуха называется ***механическая, обтурационная, подпеченочная***. В результате застоя желчи возникает гипертензия в желчевыводящих путях, происходит растяжение желчных капилляров, сдавление гепатоцитов и расширение пространств Диссе. Желчь изливается в кровь. В составе желчи в кровоток поступает «прямой» билирубин. Характерный симптом – обесцвечивание каловых масс. Содержание стеркобилиногена в кале и моче резко снижено. В моче в значительных количествах определяется билирубин.

**Особенности обмена желчных пигментов у детей**

Концентрация непрямого билирубина в крови новорожденных и детей первых дней жизни значительно повышена чему способствует ряд обстоятельств:

1. Усиленное образование непрямого билирубина вследствие ускоренного распада эритроцитов, содержащих фетальный гемоглобин (HbF). Длительность жизни таких эритроцитов короче, чем у взрослых, и составляет 70-90 дней в отличие от содержащих преимущественно $HbA_1$ эритроцитов взрослых, чья средняя продолжительность жизни составляет 120 дней.
2. Повышенная активность гемоксигеназы, участвующей в превращении гема в непрямой билирубин.
3. Недостаточный синтез в печени УДФ-глюкуроновой кислоты, участвующей в конъюгации непрямого билирубина.
4. Недостаточной активностью в печени УДФ-глюкуронилтрансферазы, осуществляющей конъюгацию непрямого билирубина с глюкуроновой кислотой.

5. Дефицит белка, обеспечивающего связывание непрямого билирубина в гепатоцитами и его транспорт к месту конъюгации в микросомах.
6. Отсутствие микрофлоры в кишечнике новорожденных. Вследствие этого билирубинглюкуронид, поступающий с желчью в кишечник, не подвергается дальнейшим превращениям в стеркобилиноген, как это происходит под действием ферментов микроорганизмов у старших детей и взрослых.

Благодаря комплексному воздействию всех перечисленных факторов сразу после рождения концентрация непрямого билирубина в крови новорожденного начинает нарастать. Послеродовая гипербилирубинемия встречается практически у всех новорожденных. Если уровень непрямого билирубина становится выше 64-70 мкмоль/л, развивается видимая желтуха, получившая название физиологической желтухи новорожденных. В механизме ее развития определенная роль принадлежит относительно низкому уровню альбуминов в крови новорожденных. Альбумины связывают непрямой билирубин и переносят его в кровотоке. При недостатке альбуминов часть непрямого билирубина, не связанная с альбуминами фиксируется в тканях, богатых липидами - подкожной жировой клетчатке и нервной системе. Активность глюкуронилтрансферазы в печени достигает зрелости к концу 2-й недели жизни, и с этого периода у здоровых детей обмен билирубина, его конъюгация и экскреция становятся стабильными.

У новорожденных и детей желтуха развивается чаще, чем у взрослых. В связи с особенностями обмена билирубина у детей и особенностями механизма развития желтух в детском возрасте различают следующие виды желтух.

1) ***Конъюгационная желтуха***. Обусловлена нарушением связывания свободного билирубина с глюкуроновой кислотой вследствие недостаточной активности глюкуронилтрансферазы. В результате в крови ребенка накапливается непрямой билирубин при отсутствии существенного гемолиза. Печень и селезенка не увеличены. Содержание в крови эритроцитов, гемоглобина и ретикулоцитов в пределах нормальных величин. К конъюгационной желтухе относятся физиологическая желтуха новорожденных, желтуха недоношенных, транзиторная негемолитическая гипербилирубинемия новорожденных, врожденная негемолитическая гипербилирубинемия новорожденных с ядерной желтухой (прокрашивание ядер головного мозга), конституциональная печеночная дисфункция (синдром Жильбера-Мейленграхта).

Физиологическая желтуха новорожденных развивается обычно на 3 сутки после рождения, сначала выявляется на лице, затем на туловище, конечностях, конъюнктиве и слизистых оболочках. На 4-6-й день содержание билирубина в крови достигает 140-240 мкмоль/л, после чего начинает снижаться. Желтуха исчезает в конце первой - начале второй недели. Встречается у 80% новорожденных.

У недоношенных детей желтуха встречается чаще, выражена сильнее и держится длительно. Максимум гипербилирубинемии приходится на 5-6-й день. Длительность желтухи 4-5 недель. Выраженность гипербилирубинемии зависит от степени зрелости плода и наличия осложнений беременности у матери. Транзиторная негемолитическая гипербилнрубинемия новорожденных развивается вследствие ингибиторного действия эстрогенов, присутствующих в высоких концентрациях в крови матерей, на глюкуронилтрансферазу плода. В тяжелых случаях развивается в 1-2 сутки после рождения, что может вызвать подозрение на гемолитическую болезнь новорожденных.

Врожденная негемолитическая гипербилирубинемия с ядерной желтухой обусловлена врожденной недостаточностью глюкуронилтрансферазы. Встречается редко. Желтуха развивается на 1-3-и сутки жизни вследствие гипербилирубинемии до 200-800 мкмоль/л, сохраняющейся **в** течение всей жизни. У большинства детей развивается ядерная желтуха, и они часто погибают в грудном возрасте. Неврологические нарушения могут проявиться в возрасте 3-5 лет. Причиной конституционной печеночной дисфункции являются наследственная недостаточность глюкуронилтрансферазы или нарушение захвата свободного билирубина печеночной клеткой. Наследуется по аутосомно-доминанткому типу. Клинически характеризуется желтухой, меняющейся по интенсивности и периодически полностью исчезающей. Содержание «непрямого» билирубина **в** крови **в** пределах 80-140мкмоль/л. Начало появления желтухи варьирует от периода новорожденное™ до 10-летнего возраста и сопровождается нарушениями со стороны желудочно-кишечного тракта - тошнотой, болезненностью **в** правой верхней половине живота, чувством полноты в желудке. У детей старшего возраста желтуха часто усиливается после физической и эмоциональной перегрузки, приема преднизолона, тетрациклинов, сульфаниламидов, при присоединении интеркурентыых заболеваний - ангины, ОРЗ и других.

2) ***Гемолитическая желтуха*** связана с интенсивным гемолизом, вызываемом антителами матери при изоиммунизации, дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы эритроцитов, нарушением структуры эритроцитов и гемоглобина. В крови гипербилирубинемия за счет «непрямого» билирубина, нормохромная анемия. Печень и селезенка увеличены. В группу гемолитических желтух входят желтуха при гемолитической болезни новорожденных, связанной с несовместимостью крови матери и плода по резус-фактору, группе крови и другим факторам крови, желтуха при дефиците некоторых ферментных систем эритроцита, гемоглобинозы**.**

3) ***Печеночная желтуха*** обусловлена поражением паренхимы печени в результате различных заболеваний. Пораж**е**ние печеночной паренхимы особенно неблагоприятно для новорожденных в связи с лабильностью обмена билирубина. Для печеночной желтухи характерны гипербилирубинемия за счет «прямого» и «непрямого» билирубина, окрашивание кожных покровов и слизистых оболочек в желтый цвет с зеленоватым оттенком, гепатомегалия. Моча окрашивает пеленки в желтый цвет, стул может быть обесцвечен. На 1-2-й неделе жизни развивается геморрагический синдром. Печеночная желтуха у новорожденных наблюдается при вирусном гепатите новорожденных, гнойиосептических заболеваниях, токсиплазмозе, листериозе, сифилисе, иногда при гликогеновой болезни, галактоземии, а также при гипотериозе и у детей, родившихся от матерей, больных сахарным диабетом. У новорожденных отмечаются значительные метаболические расстройства, сопровождающиеся отеками, гипогликемией, ацидозом. Содержание билирубина в крови достигает 150-300 мкмоль/л.

4. ***Механическая желтуха*** развивается вследствие нарушения оттока желчи. Характеризуется гепато- и спленомегалией, гипербилирубинемией за счет «прямого» билирубина, обесцвеченным стулом, интенсивно окрашенной в желтый цвет мочой. Встречается при атрезии желчных путей, кольцевидной поджелудочной железе, синдроме сгущения желчи, гемолитической болезни новорожденных.

**Методы определения общего «прямого» и «непрямого» билирубина.**

В клинических лабораториях в настоящее время по прежнему широко применяется колориметрический метод Ван Ден Берга с диазореактивом Эрлиха. Прямую реакцию диазотирования с диазореактивом Эрлиха дает только конъюгированный. «прямой» билирубин. Для определения «общего» билирубина необходимо разрушить связь «непрямого» билирубина с альбуминами. Для этого сыворотку обрабатывают кофеиновым реактивом. После осаждения белка диазореакция протекает и с «прямым», и с освободившимся от белка «непрямым» билирубином, т.е. определяется «общий» билирубин. По разности между «общим» и «прямым» рассчитывается содержание «непрямого» билирубина.

Ферментативные методы определения билирубина не нашли широкого распространения.

Для определения содержания желчных пигментов в моче используют методы «сухой химии». Диагностические полоски на билирубин и уробилиноген содержат в индикационной зоне диазореактив, дающий цветную реакцию с присутствующими в моче пигментами при нанесении на полоску капли мочи. Оценку результатов проводят методом отражательной фотометрии при 560нм.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Перечислите важнейшие пигменты организма человека.
2. Какие заболевания связаны с нарушением синтеза гема?
3. Какие пигменты накапливаются в организме при врожденной и приобретенной формах порфирий?
4. Назовите главный желчный пигмент - продукт распада гема.
5. Какие фракции билирубина определяют в крови? Назовите нормальные величины.
6. Назовите нормальный пигмент мочи.
7. Назовите три формы желтух (гипербилирубинемий) и охарактеризуйте их особенности.

## ЛИПИДЫ И ЛИПОПРОТЕИДЫ

Липиды организма человека представлены следующими основными классами.

***Жирные кислоты***

В состав липидов входят высшие жирные кислоты, содержащие более 10-ти атомов углерода в цепи. Жирные кислоты делятся на *насыщенные* (представители ***миристиновая*** ($C_{14:0}$), ***пальмитиновая*** ($C_{16:0}$), ***стеариновая*** ($C_{18:0}$)), ***мононенасыщенные*** – (представители ***пальмитоолеиновая*** ($C_{16:1}$), ***олеиновая*** ($C_{18:1}$), *полиненасыщенные (ПНЖК)* (содержат более двух двойных связей в молекуле, представители – ***линолевая*** ($C_{17:2\ n\text{-}6}$), ***линоленовая*** ($C_{18:3,\ n\text{-}3}$), ***арахидоновая*** ($C_{20:4,\ n\text{-}6}$), ***эйкозапентаеновая*** ($C_{20:5,\ n\text{-}3}$), ***докозогексаеновая*** ($C_{22:6,\ n\text{-}3}$)[1].

[1]Цифра после С указывает длину цепи, цифра после двоеточия – число двойных связей, цифра после n означает положение первой двойной связи по отношению к метильному (омега) концу цепи в молекуле жирной кислоты. ПНЖК делят по этому принципу на 2 семейства: омега 3, и омега 6, различные по биологической роли.

ПНЖК выполняют особую роль, обеспечивая жидкостно-кристаллическое состояние липидов в биологических мембранах и являясь субстратами для синтеза биологически активных веществ – эйкозаноидов (простагландинов, лейкотриенов, тромбоксанов).

***Триглицериды (ацилглицерины)***

Сложные эфиры глицерина и высших жирных кислот. Имеют энергетическое значение. Триглицериды подкожной жировой клетчатки представляют главную форму запасания энергии, играют роль теплоизоляторов, препятствуют проникновению воды и микроорганизмов во внутреннюю среду организма и защищают внутренние органы от механических повреждений.

***Фосфолипиды***

Сложные эфиры глицерина (или сфингозина) и высших жирных кислот. Один из спиртовых гидроксилов этерифицирован фосфорной кислотой, связанной с азотистым основанием (холин, этаноламин, серин). Фосфолипиды представляют строительный материал для образования биологических мембран и липопротеидных комплексов.

***Холестерин***

Стерин животных организмов. Выполняет структурную и метаболическую роль. Структурная роль холестерина заключается в его участии в образовании плазматической мембраны клетки, где содержание холестерина эквимолярно фосфолипидам. Внутриклеточные мембраны содержат небольшие количества холестерина. Как компонент мембран холестерин участвует в регуляции физико-химических свойств липидного бислоя и тем самым влияет на проницаемость мембран, работу встроенных в мембраны ферментов, рецепторов и переносчиков. В организме холестерин присутствует в двух формах: свободный холестерин и его эфиры с высшими жирными кислотами. В состав мембран входит только свободный холестерин. В липопротеидных комплексах плазмы крови и тканевой жидкости 2/3 приходятся на эфиры холестерина и 1/3 - на свободный холестерин. Холестерин получил широчайшую известность в обществе в связи с возможной ролью в развитии атеросклероза.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Назовите основные классы липидо организма.
2. Как классифицируют жирные килоты? Назовите представителей каждого класса.
3. Какую особую роль выполняют ПНЖК?
4. Какие функции в организме выполняют триглицериды, фосфолипиды и холестерин?
5. Какие классы липидов входят в состав биологических мемьран?
6. В каких формах присутствует холестерин в организме?

С чем связана широкая известность холестерина?

## ЛИПОПРОТЕИДЫ

***Липопротеиды (ЛП)*** – надмолекулярные комплексы белков и липидов, транспортная форма липидов в крови и тканевой жидкости. Липиды ЛП представлены триглицеридами, фосфолипидами, свободным и эстерифицированным холестерином. В

небольших количествах в ЛП присутствуют свободные жирные кислоты. Белки ЛП - апопротеины специфичны для отдельных классов ЛП.

Интенсивное изучение ЛП во второй половине XX века было вызвано установлением роли нарушения обмена ЛП в развитии атеросклеротического процесса.

Сердцевина липопротеидной частицы образована неполярными липидами - триглицеридами и эфирами холестерина. Снаружи липопротеидная частица окружена поверхностным монослоем фосфолипидов, в который включен свободный холестерин. На поверхности липопротеидных частиц расположены белки - апопротеины (рис.5).

Рисунок 5. Строение липопротеидной частицы *(согласно Климов А.Н., Никуличева Н.Г, 1999).*

Методами ультрацентрифугирования и электрофореза ЛП плазмы крови можно разделить на несколько классов. Отдельные классы различаются составом, физико-химическими свойствами и функциональной ролью, но четких границ между ними не существует, и во время циркуляции ЛП в кровотоке происходит переход одних классов ЛП в другие. Каждый класс разделяется на несколько подклассов в зависимости от химического состава и физико-химических свойств. Несмотря на отсутствие четко очерченных границ между отдельными классами ЛП и наличие промежуточных фракций, разделение ЛП на классы оправдано с практической точки зрения, поскольку позволяет говорить о преимущественной функциональной роли того или иного класса и о связи отдельных классов ЛП с возникновением ряда заболеваний.

Методом препаративного ультрацентрифугирования ЛП сыворотки крови разделяются на 4 основных класса, различающиеся по содержанию белка, индивидуальных липидов и размерам частиц:

1) *хиломикроны;*
2) *липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП);*
3) *липопротеиды низкой плотности (ЛПНП);*
4) *липопротеиды высокой плотности (ЛПВП).*

Плавучая плотность ЛП возрастает с увеличением в них удельного содержания белка. С помощью специальных методов ультрацентрифугирования каждый класс ЛП дополнительно разделяется на подклассы. Сведения о физико-химических свойствах и химическом составе отдельных классов ЛП приведены в таблице.

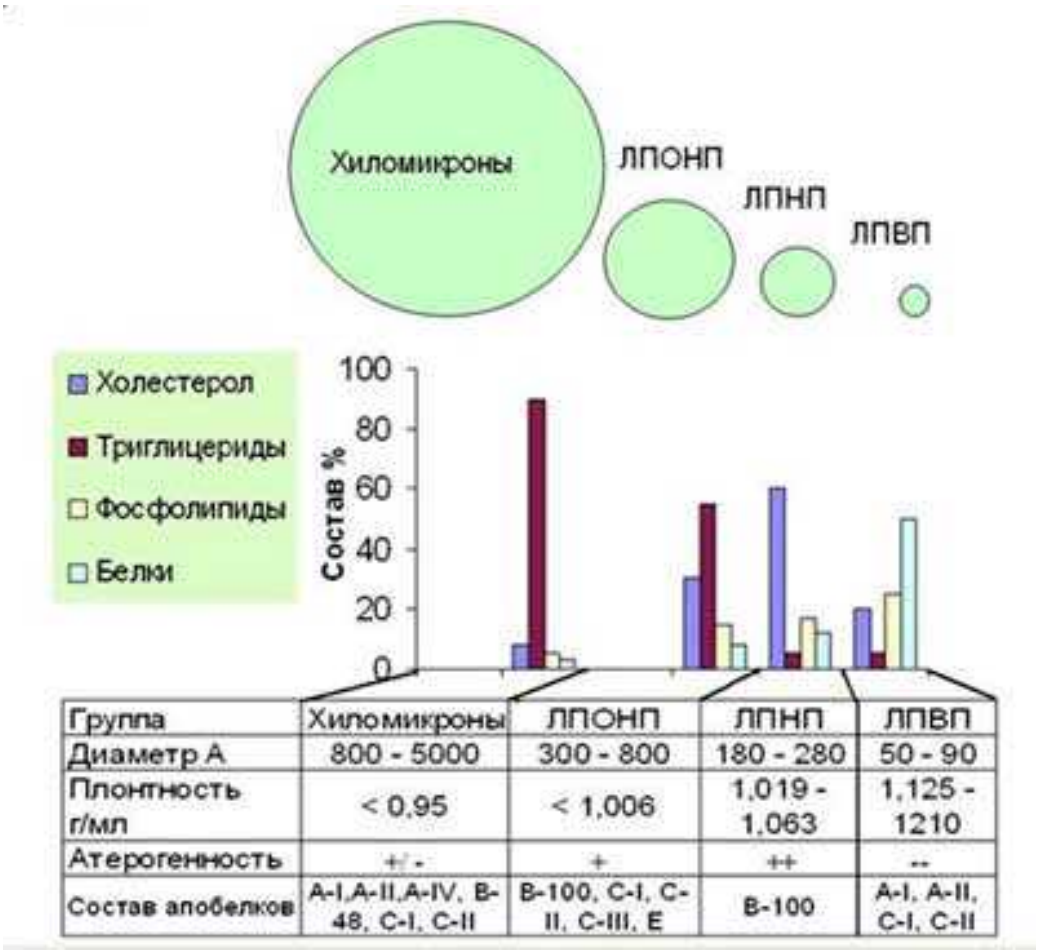


Рисунок 6. Основные классы липопротеидов плазмы крови.

**Номенклатура, химический состав и физиологическая роль отдельных классов ЛП плазмы крови**

| Разделение методом ультрацентрифугирования | Хило-микроны | ЛПОНП | ЛПНП | ЛПВП |
|---|---|---|---|---|
| Разделение методом электрофореза | На старте | Пре-бета ЛП | Бета ЛП | Альфа ЛП |
| Диаметр частиц (нм) | 120 | 30-100 | 21-25 | 7-15 |
| Белок | 2% | 10% | 22% | 50% |
| Фосфолипиды | 3% | 18% | 21% | 27% |
| Свободный холестерин | 2% | 7% | 8% | 4% |
| Эфиры холестерина | 3% | 10% | 42% | 16% |
| Триглицериды | 90% | 55% | 7% | 3% |
| Главные апопротеины | - | Апо-С | Апо-В | Апо-А |
| Физиологическая роль | Транспорт экзогенных триглице-ридов | Транспорт эндогенных триглице-ридов | Транспорт холестерина из печени в ткани (атерогенные ЛП) | Транспорт холестерина из тканей в печень (антиатерогенные ЛП) |

Белки ЛП принято называть ***апопротеинами.*** Существуют несколько классов апопротеинов: апо-А, апо-В, апо-С, апо-Е. Каждый класс гетерогенен и на самом деле представляет семейство определенных апопротеинов. Так семейство апо-А представлено апо А-I и апо А-II протеинами, семейство апо-С - апо С-I, апо С-II и апо С-III протеинами. Апопротеины ЛП играют роль коферментов, узнаются рецепторами ЛП на поверхности клетки и определяют подвижность ЛП при электрофорезе. Так апо А-I является кофактором фермента лецитин:холестерин-ацилтрансферазы (ЛХАТ), апо С-II - кофактор липопротеидлипазы, апо-В узнается и связывается рецептором ЛПНП.

При электрофорезе сыворотки крови ЛП движутся в зоне альфа- и бета-глобулинов и разделяются по электрофоретической подвижности на альфа-ЛП, бета-ЛП и пре-бета-ЛП. В сыворотке крови здорового человека содержится 3,5 г/л альфа-ЛП и 4,5 г/л бета-ЛП. В клинических условиях определение содержания в крови отдельных классов липопротеидов осуществляют методом Бурштейна - в присутствии гепарина и солей двухвалентных металлов происходит избирательное осаждение ЛПОНП и ЛПНП, сопровождающееся помутнением сыворотки крови. ЛПВП остаются в супернатанте. По степени помутнения, определяемой на фотоэлектроколориметре, судят о содержании бета-ЛП.

Триглицериды транспортируются главным образом в составе хиломикронов и ЛПОНП, а холестерин - в составе ЛПНП.

В условиях патологии в плазме крови обнаруживаются необычные ЛП, например, флотирующие бета-ЛП при III типе гиперлипидемии.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Что такое липопротеиды и какую роль они выполняют в организме?
2. Какие классы липидов входят в состав липопротидов?
3. Как называются белки липопротеидов?
4. На какие фракции делятся липопротеиды плазмы крови методами электрофореза и ультрацентрифугирования?
5. Укажите функции отдельных классов липопротеидов.

***Хиломикроны (ХМ)***

Секретируются стенкой тонкого кишечника после всасывания продуктов переваривания липидов. В стенке кишечника из всасывающихся жирных кислот, глицерина, моно- и диглицеридов, холестерина, ряда других продуктов ресинтезируются триглицериды, фосфолипиды и эфиры холестерина. Они соединяются с небольшим количеством белка (главным образом апо-В). Так образуются частицы ХМ, попадающие в лимфу и далее в кровь. В сосудистом русле ХМ включают два других апопротеина – апо-С и апо-Е из ЛПВП ХМ самые легкие и самые крупные ЛП. Триглицериды составляют 85-95% их массы. Таким образом, функциональная роль ХМ связана с транспортом в организме экзогенных (пищевых) триглицеридов. При стоянии плазмы, а также при центрифугировании они всплывают на поверхность (флотируют).

Полупериод циркуляции ХМ в кровотоке составляет от 10 минут до 1 часа. ХМ быстро атакуются липопротеидлипазой и захватываются РЭС. Гепаринзависимая липопротеидлипаза расположена на поверхности эндотелия капилляров печени, мышц и жировой ткани и активируется апо-С хиломикронов. Активная липопротеидлипаза гидролизует ТГ ХМ с образованием свободных жирных кислот. После удаления жирных

кислот резко уменьшаются масса ХМ (на 90%) и размеры частиц. Оставшиеся ХМ обогащаются ХС. Основными апопротеинами становятся апо-В и апо-Е. Посредством апо-Е рецептора ХМ поглощаются гепатоцитами и исчезают из кровотока. Транзиторная гиперлипидемия, возникающая после всасывания продуктов переваривания жирной пищи (опалесцирующая плазма) проходит сама по себе (просветление плазмы). Следует понимать, что **ХМ выявляются в плазме крови только в течение нескольких часов после приема пищи и не являются постоянно присутствующими в плазме крови ЛП.**

***Липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП)***

ЛПОНП образуются в печени, секретируются в кровь печенью и разносят по организму эндогенные триглицериды. По липидному составу и строению ЛПОНП напоминают хиломикроны. Это крупные частицы, основная масса которых представлена триглицеридами, образующими сердцевину липопротеидной частицы. Главный апопротеин - апо-С. При прохождении липопротеидных частиц через капилляры липопротеидлипаза выедает триглицериды, и содержание последних в липопротеидных частицах уменьшается. Одновременно происходит потеря апо-С. В то же время, содержание холестерина и апо-В не изменяется, и постепенно эти компоненты становятся преобладающими. Так происходит трансформация ЛПОНП в ЛПНП. Иногда выделяют промежуточные формы между этими классами ЛП в особый класс - ***ЛП промежуточной плотности***. Особождающиеся при гидролизе триглицеридов ЛПОНП свободные жирные кислоты захватываются различными тканями, где используются в качестве энергетического субстрата.

***Липопротеиды низкой плотности (ЛПНП)***

Образуются непосредственно в кровотоке из ЛПОНП. Преобладающим липидным компонентом ЛПНП является холестерин, главный апопротеин – апо-В. Функция ЛПНП – «прямой» транспорт холестерина из печени в ткани. На поверхности клеток различных тканей имеется рецептор к апо-В. После узнавания рецептором ЛПНП проникают в клетки путем эндоцитоза и распадаются в цитоплазме под действием гидролаз лизосом. Освобождающийся свободный холестерин идет на построение плазматических мембран или используется на метаболические нужды. 50% ЛПНП захватываются экстрапеченочными тканями и столько же печенью. В составе ЛПНП в ткани поступает холестерин. Наряду с рецептор-опосредованным транспортом холестерина в клетки возможен неспецифический («мусорный») перенос ЛПНП и холестерина в ткани. Последний играет основную роль в инфильтрации ЛПНП стенок артерий и атеросклеротическом поражении последних. Поэтому ЛПНП рассматривают как «атерогенные» ЛП. Согласно современным представлениям наибольшей атерогенностью обладают окислительно модифицированные ЛПНП.

***Липопротеиды высокой плотности (ЛПВН)***

ЛПВП секретируются печенью в виде так называемых незрелых или насцентных липопротеидов, имеющих форму дисков и представляющих замкнутые бислойные фосфолипидные пузырьки, содержащие свободный холестерин и апопротеины. Главный апопротеин ЛПВП - апо-А. В кровотоке свободный холестерин насцентных ЛПВП этерифицируется за счет действия фермента лецитин:холестерин-ацилтрансферазы (ЛХАТ). Коферментом ЛХАТ, как было указано выше, является апо-А. ЛХАТ переносит остаток жирной кислоты с лецитина (фосфатидилхолина) на гидроксил холестерина. В

результате ЛХАТ реакции образуются эфиры холестерина, перемещающиеся в сердцевину ЛПВП-частиц и лизофосфатидилхолин. ЛПВП постепенно приобретают сферическую форму. Поверхностный монослой ЛПВП-частиц освобождается от свободного холестерина, и ЛПВП могут захватывать на его место холестерин из тканей. Функция ЛПВП – обратный транспорт холестерина из тканей в печень, где холестерин подвергается окислению в желчные кислоты. По-видимому, с этим и связана «антиатерогенная» роль ЛПВП. Желчные кислоты являются продуктами окончательного распада холестерина в организме и выводятся из организма с каловыми массами. Часть холестерина покидает организм в виде копростерина, образующегося в результате восстановления холестерина в толстом кишечнике ферментами микрофлоры.

Полупериод выведения различных классов липопротеидов из кровотока: хиломикронов меньше 1 часа, ЛПОНП - 2-4 часа, ЛПНП - 2-4 суток, ЛПВП - 5 суток.

**Особенности липопроитеидов плазмы крови у детей**

Содержание липопротеидов в плазме крови новорожденных значительно ниже, чем у взрослых, причем полностью отсутствуют хиломикроны, а ЛПОНП резко снижен, что объясняется высокой активностью липопротеилипазы, гидролизующей триглициериды липопротеидов. Основным классом липопротеидов у новорожденных являются ЛПВП. Процентное распределение отдельных классов липопротеинов следующее: ЛПОНП 3-15%, ЛПНП 35-41%, ЛПВП 50-56%. Суммарное содержание ЛПНП и ЛПОНП составляет 1,7 г/л, т. е. в 5 раз ниже, чем в материнской крови (по другим данным эта величина еще меньше 0,6-0,8 г/л).

ЛПОНП новорожденных по сравнению с таковыми у взрослых людей характеризуются большим содержанием белка и меньшим - триглицеридов. В отличие от этого в ЛПНП новорожденных более высокое содержание триглицеридов (до 50% всех триглицеридов пуповинной крови), чем у взрослых. В составе ЛПНП новорожденных выше содержание белка и свободного холестерина - отношение эфиров холестерина к свободному холестерину составляет 0,9, в то время как у их матерей 2,0.

Состав ЛПВП новорожденных по сравнению с материнским отличается большим содержанием фосфолипидов, свободного холестерина и меньшим содержанием белка и триглицеридов. ЛПВП новорожденных похожи на таковые у больных с дефицитом ЛХАТ и на насцентные ЛПВП. ЛПВП новорожденных переносят значительно большую часть циркулирующего холестерина, чем у взрослых. Доля холестерина в ЛПВП новорожденных в 2 раза больше, чем у взрослых.

С возрастом уровень ЛПВП снижается, а ЛПНП — повышается. Однако у детей от 2 до 14 лет содержание ЛПНП существенно не изменяется, вместе с тем у мальчиков 11-14 лет оно значительно ниже, чем) у девочек.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Где образуются отдельные классы липопротеидов?
2. Какой класс липопротеидов появляется в кровотоке после приема пищи?
3. Сколько длится алиментарная гиперлипидемия?
4. Какие классы липопротеидов транспортируют триглицериды?
5. Какие классы липопротеидов осуществляют «прямой» и «обратный» транспорт холестерина?
6. Какова роль липопротеиллипазы и ЛХАТ в обмене липопротеидов?

**Клиническое значение определения ЛП крови**

Нарушения обмена ЛП характерны для большой группы широко распространенных в мире заболеваний *(атеросклероз, сахарный диабет, нефропатии, болезни эндокринной системы).* Причины нарушений обмена ЛП связаны с изменениями скорости их образования и секреции печенью, нарушениями катаболизма или перехода одного класса ЛП в другой, а также образованием в печени аномальных ЛП. О нарушениях обмена ЛП обычно судят по качественным и количественным изменениям их содержания в плазме крови. Такие изменения объединяются общим термином **дислипопротеидемии**, включающим **гипер**- и **гиполипопротеидемии** - повышенное или пониженное содержание в крови одного, реже двух классов ЛП, **алипопротеидемии** - отсутствие какого-либо класса ЛП в крови.

**Гиперлипопротеидемии**. Д.С. Фредриксон предложил классифицировать гиперлипопротеидемии в зависимости от увеличения содержания в крови того или иного класса ЛП. В 1970 г. эта классификация была принята ВОЗ. В соответствии с классификацией различают пять типов гиперлипопротеидемий.

**Классификация гиперлипопротеидемий, принятая ВОЗ**
**(по Д.С.Фредриксону)**

| Тип | Изменения ЛП и липидов в крови |
|---|---|
| I | Хиломикронемия (индуцированная, пищевая, жировая), гипертриглицеридемия |
| $II_а$ | Увеличение ЛПНП, гиперхолестеринемия |
| $II_б$ | Увеличение ЛПНП и ЛПОНП, гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия |
| III | Появление особых флотирующих ЛП |
| IV | Увеличение ЛПОНП, гипертриглицеридемия |
| V | Увеличение хиломикронов и ЛПОНП, гипертриглицеридемия |

В основе ***гиперлипопротеидемии I типа (гиперхиломикронемии)*** лежит генетически обусловленная резко выраженная недостаточность липопротеидлипазы проявляющаяся резким увеличением содержания хиломикронов и триглицеридов в плазме крови при нормальном или слегка увеличенном холестерине. Величина отношения холестерин/триглицериды < 0,15. Заболевание проявляется в раннем детском возрасте отложением липидов в коже в виде эруптивных ксантом, в печени и селезенке (гепатоспленомегалия). Часто отмечаются приступы кишечной колики. Встречается крайне редко, носит наследственный характер и не сопровождается атеросклерозом.

***Гиперлипопротеидемия II типа (гипербета-липопротеидемия)*** делится на два подтипа: $II_а$, характеризующийся высоким содержанием в крови ЛПНП, и $II_б$ (увеличение ЛПНП и ЛПНОП). II тип гиперлипопротеидемии проявляется высокой, а в ряде случаев очень высокой, гиперхолестеринемией с развитием атеросклероза и ишемической болезнью сердца. Содержание триглицеридов в крови в пределах нормы (IIа тип) или умеренно повышенное ($II_б$ тип). Гиперлипопротеидемия II типа характерна для тяжелого заболевания - семейной гиперхолестеринемии, поражающей молодых людей и в случае гомозиготной формы заканчивающейся летальным исходом в молодом возрасте от инфарктов миокарда, инсультов и других осложнений атеросклероза. Гиперлипопротеидемия II типа широко распространена.

При ***гиперлипопротеидемии III типа (дисбеталипопротеинемии)*** нарушается превращение ЛПОНП в ЛПНП, и в крови появляются патологические (флотирующие)

ЛПНП или ЛПОНП. В крови увеличено содержание холестерина и триглицеридов, причем отношение холестерин/триглицериды варьирует в пределах 0,3-2,0 чаще составляя 1. Углеводная диета у этих больных приводит к стойкой и наиболее выраженной по сравнению с другими типами гиперлипопротеидемий гипертриглицеридемии. Часто сочетается с атеросклерозом и его осложнениями. У части больных липиды откладываются в кожу в виде плоских, бугорчатых и эруптивных ксантом. Встречается редко, преимущественно у взрослых.

***IV тип гиперлипопротеинемии (гиперпребеталипо-протеидемия)***. Основное изменение в крови состоит в увеличении ЛПОНП. Характеризуется развитием выраженной гипертриглицеридемии при нормальном или слегка повышенном содержании холестерина в крови. Углеводная нагрузка приводит к увеличению содержания триглицеридов в крови, но в меньшей степени, чем при гиперлипопротеидемии III типа. Сочетается с атеросклерозом коронарных сосудов, ожирением, сахарным диабетом. Развивается главным образом у взрослых людей и представляет весьма распространенный тип гиперлипопротеидемий.

***V тип гиперлипопротеидемии (гиперхиломикронемия*** и ***гиперпребеталипорпотеидемия*** -увеличение хиломикронов и ЛПОНП) связывается с умерено пониженной активностью липопротеидлипазы. Содержание триглицеридов в крови повышено, в ряде случаев резко, концентрация холестерина в пределах нормы или умеренно повышена. Отношение холестерин/триглицериды составляет 0,15-0,6. Клинически проявляется, как и гиперлипопротеидемия I типа. Иногда сочетается с атеросклерозом, скрытым или умеренно выраженным сахарным диабетом. Встречается во взрослом возрасте и не имеет широкого распространения.

Среди различных типов гиперлипопротеидемий **широко распространены II и IV типы.** В то же время, **гиперлипопротеидемии I, III и IV типов встречаются относительно редко**. Перечисленные типы гиперлипопротеидемий могут быть генетически обусловленными. В этом случае они относятся к ***первичным заболеваниям семейного характера.*** Повышение содержания ЛП в крови, обусловленное какими-либо заболеваниями, относится к ***вторичным гиперлипопротеидемиям.*** Их течение во многом зависит от основного заболевания.

Наряду с указанными пятью типами гиперлипопротеидемий выделяют и некоторые другие.

***Гиперальфалипопротеидемия*** (увеличение ЛПВП). Известны случаи семейной гиперальфалипопротеидемии, а также увеличения ЛПВП в крови спортсменов-бегунов на дальние дистанции. Гиперальфалипопротеидемию диагностируют по увеличению ЛПВП-холестерина свыше 2 ммоль/л. Это "благоприятная" для организма гиперлипопротеидемия, поскольку ЛПВП обладают антиатерогенным действием.

***Алипопротеидемия*** - отсутствие в крови того или иного класса ЛП. К алипопротеидемиям относятся ***танжерская болезнь (аальфалипопротеидемия)*** и ***абеталипопротеидемия***. В крови больных танжерской болезнью отсутствуют обычные ЛПВП и появляются аномальные ЛПВП, понижено содержание общего холестерина при одновременном увеличении доли эфиров холестерина. В связи с отложением эфиров холестерина в органах РЭС развивается гепатоспленомегалия. Характерны изменения небных миндалин - тонзиллит с оранжевым или желто-серым налетом. Рано развиваются атеросклероз и ишемическая болезнь сердца. Абеталипопротеидемия характеризуется исчезновением в крови ЛПНП, ЛПОНП и хиломикронов в связи с угнетением в печени

синтеза апо-В, участвующего в образовании указанных классов ЛП. У больных абеталипопротеидемией нарушено всасывание пищевых жиров, нередко наблюдаются пигментный ретинит, акантоз и атаксическая невропатия.

***Гиполипопротеидемия*** - снижение в крови одного или нескольких классов ЛП. ***Гипоальфалипопротеидемия*** часто сочетается с увеличением в крови содержания ЛПНП или ЛПОНП (II,IV и V типы гиперлипопротеидемий), что увеличивает риск возникновения атеросклероза и его осложнений. В большинстве случаев гипоальфалипопротеидемия имеет вторичную природу. Семейная **гипобеталипопротеидемия** - чрезвычайно редкое заболевание, для которого характерна снижение в крови ЛПНП. Клинически проявляется нарушением всасывания жиров в кишечнике.

**ЛХАТ-недостаточность**. Наследственное заболевание, в основе которого лежит генетически обусловленный дефицит лецитин:холестерин-ацилтрансферазы. Вследствие нарушения этерификации свободного холестерина изменяются химический состав и морфология всех классов ЛП. Характерная особенность заключается в появлении дискообразных ЛПВП, лишенных эфиров холестерина. Во фракции ЛПНП появляются липопротеиды Х, состоящие из неэстерифицированного холестерина, фосфолипидов, апо-С или альбумина. Неэстерифицированный холестерин накапливается в плазматических мембранах клеток - эритроцитов, клеток почек, селезенки, роговицы глаза. Клинически проявляется гипохромной анемией, почечной недостаточностью, спленомегалией, помутнением роговицы.

## Типирование гиперлипопротеидемий

Типирование гиперлипопротеидемий проводится на основании исследования содержания в крови различных классов ЛП методами электрофореза и препаративного ультрацентрифугирования. Эти методы доступны лишь хорошо оснащенным лабораториям. Для большинства клинических лабораторий приемлемым является определение содержания в сыворотке крови **холестерина и триглицеридов,** раздельное определение содержания **холестерина** в **ЛПВП** и **ЛПНП+ЛПОНП** и расчет **индекса атерогенности,** измерение содержания **бета липопротеидов** (точнее ЛПНП+ЛПОНП) методом Бурштейна. Осаждают ЛПНП и ЛПОНП гепарином в присутствии ионов $Ca^{2+}$ или $Mn^{2+}$. Можно рекомендовать очень простой **«тест стояния сыворотки в холодильнике».** Если в крови увеличено содержание только хиломикронов, то после стояния пробирки с сывороткой крови в течение ночи в холодильнике однородная мутная сыворотка разделяется на два слоя: верхний - сливкообразный, и нижний - прозрачный. Если гиперлипопротеидемия связана с избирательным увеличением в крови ЛПОНП, то даже после длительного стояния в холодильнике сыворотка продолжает оставаться однородно мутной. При одновременном увеличении хиломикронов и ЛПОНП после стояния сыворотки происходит всплывание хиломикронов - увеличение мутности в верхнем слое и сохранение мутности нижнего слоя. Поскольку в большинстве клинических лабораторий типирование гиперлипопротеидемий не проводится и на практике определяется содержание холестерина и триглицеридов (в лучшем случае определяется ЛПВП-холестерин и

рассчитывается индекс атерогенности), полезно рассмотреть изменение содержания холестерина и триглицеридов в крови в условиях патологии.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Каким заболеваниям сопутствуют нарушения обмена липопротеидов?
2. Дайте определение терминам дислипротеидемия, гиперлипопротеидемия, гиполипопротеидемия и алипропротеидемия.
3. По какому принципу типируют гиперлипопротеидемии?
4. Какие типы гиперлипопротеидемий предложил выделять Д.С. Фредриксон?
5. Какие типы гиперлипопротеидемий широко распространены?
6. Какие типы гиперлипротеидемий сочетаются с атеросклерозом?

**Клиническое значение определения холестерина крови**

Нарушения обмена холестерина обусловлены дисбалансом между поступлением холестерина с пищей и синтезом его в организме, с одной стороны, и выведением холестерина из организма, с другой. Эти нарушения проявляются в изменении содержания холестерина в целом организме и в отдельных органах и тканях. Увеличение содержания холестерина в крови выше 6,3 ммоль/л рассматривается как **гиперхолестеринемия,** а снижение ниже 3,9 ммоль/л как **гипохолестеринемия.** В настоящее время для оценки содержания холестерина в крови у взрослых людей (старше 20 лет) приняты следующие критерии. *Нормальный уровень ХС в сыворотке крови < 5,3ммоль/л, погранично-высокий – 5,3-6,2ммоль/л, высокий уровень > 6,3ммоль/л. Умеренная гиперхолестеринемия – 6,2-7,5ммоль/л, тяжелая гиперхолестеринемия – > 7,5ммоль/л.*

**Гиперхолестеринемия** разделяется на ***первичную*** (алиментарную или наследственную) и ***вторичную*** (обусловленную различными заболеваниями).

***Наследственная (семейная) гиперхолестеринемия*** проявляется в высоком содержании холестерина и ЛПНП в плазме крови. При гомозиготной форме заболевания содержание холестерина в крови достигает 20 ммоль/л, а при гетерозиготном - 8-12 ммоль/л. В основе заболевания лежат обусловленные генетически отсутствие (у гомозигот) или недостаток (у гетерозигот) рецепторов ЛПНП на поверхности клеток. В результате проникновение ЛПНП в клетки периферических органов нарушается и ЛПНП накапливаются в крови. Сильная гиперхолестеринемия приводит к раннему развитию атеросклероза и его клинических проявлений - ишемической болезни сердца, преходящей ишемии мозга (инсульты) и др. Особенно тяжело протекает атеросклероз при гомозиготной форме заболевания. У таких больных часто отмечаются отложения холестерина в коже (ксантомотоз), роговице глаз (липоидная дуга роговицы), в юношеском возрасте развиваются тяжелые инфаркты миокарда и инсульты. Семейная гиперхолестеринемия – относительно редко встречающееся заболевание. Распространенность ее гомозиготной формы - 1 больной на 1 млн. жителей, гетерозиготной - 1 на 500.

***Алиментарная гиперхолестеринемия*** развивается вследствие длительного употребления больших количеств пищи, богатой холестерином (куриные желтки, икра, печень, животные жиры). Алиментарная гиперхолестеринемия широко распространена в мире и особенно характерна для жителей высокоразвитых индустриальных стран.

Согласно популяционным исследованиям отмечается прямая зависимость между содержанием холестерина в крови и распространенностью ишемической болезни сердца.

***Вторичная гиперхолестеринемия*** встречается при гипотиреозе, сахарном диабете, нефротическом синдроме, подагре и нередко сопровождается развитием атеросклероза.

Выделяют первичную и вторичную ***гипохолестеринемию.***

***Первичная гипохолестеринемия*** характерна для наследственного заболевания - абеталипопротеидемии. При этой болезни ЛПНП в крови либо отсутствуют (гомозиготы), либо их содержание резко снижено (гетерозиготы). Содержание холестерина в крови не превышает 2ммоль/л. Гомозиготная форма болезни протекает исключительно тяжело. В основе болезни лежит генетически обусловленное нарушение синтеза апо В - главного апопротеина ЛПНП.

***Вторичные гопохолестеринемии*** наблюдаются при кахексии, гипертиреоидизме, аддисоновой болезни, паренхиматозных болезнях печени, ряде инфекционных заболеваниях и интоксикациях.

**Особенности содержания холестерина в крови детей**

Содержание холестерина в сыворотке крови при рождении ребенка в 3-4 раза ниже, чем у взрослых людей за счет меньшего содержания, как свободного холестерина, так и его эфиров. В пуповинной крови новорожденных уровень общего холестерина составляет 1,95 ммоль/л, свободного холестерина 0,55ммоль/л и эфиров холестерина 1,4ммоль/л, в то время как в крови их матерей эти величины составляют соответственно 6,8; 2,5 и 4,3ммоль/л. В отличие от этого содержание холестерина в эритроцитах новорожденных на 40% выше, чем в эритроцитах взрослых, что связано с недостаточной активностью фермента лецитин:холестерин-ацилтрансферазы (ЛХАТ) и нарушенной эстерификацией свободного холестерина. Коэффициент эстерификации холестерина у новорожденных (0,38) почти в 2 раза меньше, чем у матерей (0,69).

В возрасте 1 года содержание холестерина в плазме крови увеличивается в 1,5-2 раза за счет эфиров холестерина. Коэффициент эстерификации нарастает, однако не достигает величин, свойственных взрослым. К 12 годам уровень холестерина повышается до 3,9-6,3 ммоль/л, а коэффициент **эс**терификации до 0,67.

Повышение уровня холестерина у новорожденных свыше 2,6 ммоль/л рассматривается как гиперхолестеринемия, которая выявляется у 4-9% новорожденных. У 90% детей, родившихся с гиперхолестеринемией, она не связана с наследственной патологией и с возрастом исчезает. У детей чаще всего встречается Па тип гиперлипопротеинемии, сопровождающийся гиперхолестеринемией и повышением содержания ЛПНП.

**Клиническое значение определения содержания в крови триглицеридов**

***Пищевая гипертриглицеридемия*** развивается после приема пищи. Это физиологическая гипертриглицеридемия. Физиологической также является гипертриглицеридемия у беременных женщин во втором и третьем триместрах беременности.

***Патологическая гипертриглицеридемия*** бывает первичная и вторичная. ***Первичная*** – обусловлена генетическими нарушениями. Она может быть отнесена к I-ому и III-ему типам гиперлипопротеидемий ***Вторичная*** возникает как осложнение основного

патологического процесса при сахарном диабете, гипотериозе, нефротическом синдроме, жировой инфильтрации печении, приеме контрацептивных препаратов.

Данные о связи гипертриглицеридемий с развитием атеросклероза и ишемической болезни сердца неоднозначны. Японские ученые показали, что у японцев при низком уровне холестерина в крови гипертриглицеридемия является фактором риска развития инфаркта миокарда.

**Особенности содержания триглицеридов в крови у детей**

Концентрация триглицеридов в крови новорожденных (0,3-0,5 ммоль/л) в 4-6 раз ниже, чем у их матерей и зависит от продолжительности беременности. У недоношенных содержание триглицеридов в сыворотке крови еще ниже. Гипертриглицеридемия встречается у 3-6% новорожденных как результат стрессовых воздействий на плод во время беременности и родов. После рождения уровень триглицеридов в плазме крови быстро нарастает, по мере регулярного поступления их с пищей. Триглицериды пуповинной крови характеризуются относительно высоким содержанием пальмитиновой, стеариновой и арахидоновой кислот и низким содержанием линолевой кислоты.

Значительное увеличение триглицеридов встречается у детей с наследственной гиперлипопротеидемией I, IV и V типов. В меньшей степени их уровень повышен при Пб и III типах и у детей с вторичными гиперлипопротеидемиями - при заболеваниях печени, почек, легких, сахарном диабете.

## Методы определения общего холестерина сыворотки крови и его содержания в отдельных фракциях ЛП

В настоящее время единственным методом определения холестерина в плазме и сыворотке крови являетмя ферментаивный метод с использованием специфических ферментов: холестеролэстеразы и холестериноксидазы. Первый фермент гидролизует эфиры холестерина, а второй окисляет свободный холестерин кислородом воздуха с образованием пероксида водорода, который в смежной реакции окисляет бесцветную форму красителя с развитием розовой окраски, детектируемой фотометрически при длине волны 500нм.

Определение содержания ХС во фракциях ЛП основано на их предварительном разделении путем осаждения фракций ЛПНП и ЛПОНП осаждающими реагентом с последующим определением холестерина в остающихся в надосадке ЛПВП (метод Масдью). По разнице между общим холестерином сыворотки крови и холестерином ЛПВП рассчитывается содержание холестерина в суммарной фракции ЛПНП и ЛПОНП. Поскольку содержание холестерина в ЛПОНП невелико по сравнению с его содержанием в ЛПНП, то рассчитанная величина характеризует содержание холестерина в ЛПНП. Также рассчитывается индекс атерогенности, представляющий отношение содержания холестерина в ЛПНП и ЛПОНП к содержанию холестерина в ЛПВП:

$$\text{Индекс атерогенности} = \frac{\text{общий ХС} - \text{ЛПВП- ХС}}{\text{ЛПВП- ХС}};$$

Индекс атерогенности представляет отношение суммарного содержания холестерина в ЛПНП и ЛПОНП к холестерину ЛПВП. Это отношение у новорожденных не превышает 1, у лиц 20-30 лет - величина индекса колеблется от 2 до 2,8, у лиц старше 30 лет без клинических признаков атеросклероза индекс находится в пределах 3-3,5, а у больных атеросклерозом и ишемической болезнью сердца превышает 4, достигая нередко 5-6 и выше.

Индекс атерогенности является одним из самых чувствительных показателей предрасположенности обследуемого к развитию атеросклеротического процесса.

Принятые количественные характеристики этих показателей для возрастной группы старше 20 лет следующие: общий холестерин < 5,3ммоль/л, ЛПНП-ХС < 4,9ммоль/л, ЛПВП-ХС > 0,9ммоль/л, индекс атерогенности < 3,0.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какие уровни общего холестерина в плазме крови принято выделять для здоровых людей?
2. Какие значения общего холестерина в плазме крови соответствуют умеренной и тяжелой гиперхолестеринемии?
3. При каких заболеваниях развивается вторичная гиперхолестеринемия?
4. Для каких заболеваний характерна гипертриглицеридемия?
5. Что такое индекс атерогенности?
6. Укажите значения индекса атерогенности в различных возорастных группах у здоровых людей и у больных атеросклерозом.

## ГЛЮКОЗА

***Глюкоза*** является представителем класса моносахаридов и относится к семейству гексоз. В физиологических условиях глюкоза представляет основной вид клеточного топлива для большинства органов и тканей. В организме существуют три пути распада глюкозы. Первый – ***аэробный распад*** до $CO_2$ и $H_2O$ с образованием 36 моль АТФ на 1 моль глюкозы. Это энергетически выгодный путь, но требующий достаточного обеспечения клеток кислородом. Второй путь распада глюкозы – ***анаэробный распад (гликолиз)***, завершающийся образованием лактата (молочной кислоты) и синтезом всего лишь 2 молей АТФ на 1 моль глюкозы. Гликолиз энергетически не выгоден. Значение его состоит в том, что он снабжает клетку энергией в условиях недостатка кислорода. Аэробный распад глюкозы преобладает в хорошо кровоснабжаемых тканях, жизнедеятельность которых сопряжена с большими энергозатратами *(головной мозг, миокард).* В *эритроцитах, легких, лактирующей молочной железе, эмбриональной ткани, злокачественно трансформированных клетках* происходит анаэробный гликолиз. В условиях гипоксии в клетке возможно переключение с аэробного пути на анаэробный. Третий путь - ***пентозный цикл (апотомический распад)*** не имеет энергетического значения, т.к. не сопровождается синтезом АТФ. Значение пути – анаболическое. Образующиеся в пентозном цикле НАДФН и рибоза используются при синтезах липидов (жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов, желчных кислот), нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Кроме этого НАДФН можно рассматривать как важнейший

восстановитель, компонент антиокислительной системы клетки. В зависимости от условий и состояния клетка выбирает любой из этих путей.

Все ткани, использующие глюкозу в качестве энергетического субстрата, делятся на ***облигатные*** и ***факультативные*** потребители глюкозы. ***Первые*** *(нервная ткань, эритроциты, эпителий кишечника, мозговое вещество почек)* не могут использовать другие источники энергии кроме глюкозы. Головной мозг ежедневно потребляет 125-150 г глюкозы. Еще 30-40 г утилизируются периферическими нервами, клетками крови и мозговым веществом почек. В условиях длительного голодания (>5-6 недель) нервная ткань может начинать использовать кетоновые тела, которые будут обеспечивать до 50% ее энергетических потребностей. Использовать жирные кислоты нервная ткань не может. Ткани ***факультативные*** потребители глюкозы *(мышцы, жировая ткань и др.)* могут использовать в качестве источников энергии наряду с глюкозой и другие субстраты, например жирные кислоты и кетоновые тела. Среди органов, потребляющих глюкозу, особая роль принадлежит *печени.* В печени избытки глюкозы откладываются в виде гликогена, представляющего резерв глюкозы для всего организма. В отличие от других органов печень не только забирает из крови глюкозу, но и поставляет ее в кровь.

Одним из важнейших показателей состояния углеводного обмена является концентрация глюкозы в крови, поддерживаемая в строго определенном диапазоне физиологических колебаний.

У здорового человека натощак содержание глюкозы составляет:

***в цельной капиллярной крови - 3,5-5,5 ммоль/л***

***в плазме (сыворотке) крови 3,5-6,1 ммоль/л***

Более высокий уровень глюкозы в плазме объясняется тем, что в эритроцитах глюкоза распадается, за счет чего содержание ее в цельной крови ниже.

Выход глюкозы крови за пределы физиологических колебаний сопутствует ряду заболеваний и гормональных расстройств. В условиях патологии наблюдаются следующие отклонения в гомеостазе глюкозы:

***гипогликемия*** – снижение содержания глюкозы в крови ниже границы нормы (< 3,3 ммоль/л).

***гипергликемия*** – повышение содержания глюкозы выше верхней границы нормы (> 6,0 ммоль/л).

***глюкозурия*** – выведение глюкозы с мочой. У здоровых людей глюкоза в моче не обнаруживается.

## Механизмы, обеспечивающие постоянство содержания глюкозы в крови

Поддержание гомеостаза глюкозы в крови в довольно узком интервале значений жизненно важно для человека. Если содержание глюкозы в крови падает ниже 2,2-2,7 моль/л и остается таковым в течение 5-10 мин, последствия для организма могут быть самыми драматичными, поскольку в обычных условиях клетки центральной нервной системы используют в качестве источника энергии исключительно глюкозу, и даже кратковременный ее дефицит может привести к необратимому повреждению клеток коры головного мозга. Поэтому возникновение ***гипогликемии***, например, при передозировке инсулина, требует неотложного восстановления содержания глюкозы в крови до нормальных значений.

Противоположное состояние - ***гипергликемия*** не представляет острой угрозы для организма, но в долгосрочном плане стойкая гипергликемия также опасна для жизни. Если уровень глюкозы в крови достигает 16-22 ммоль/л и сохраняется на этих значениях в течение нескольких дней, то больной теряет с мочой значительные количества глюкозы. ***Глюкозурия*** повлечет одновременную потерю воды и электролитов, приведет к прогрессирующей дегидратации, уменьшению объема крови (гиповолемии), падению кровяного давления, шоку и коме.

Указанные чрезвычайные нарушения в гомеостазе глюкозы иллюстрируют его исключительную важность для организма. В то же время, даже умеренная гипергликемия, сохраняющаяся на протяжении многих лет, приводит к дисфункции нервной системы, кровеносных сосудов, почек и других тканей, лежащей в основе развития так называемых "поздних осложнений" сахарного диабета. Повторяющиеся состояния умеренной гипогликемии, каждое из которых в отдельности не представляет опасности для организма, в совокупности могут проводить к повреждению нервной системы.

Основное количество углеводов поступает в организм человека в составе ***полисахарида*** *крахмала.* Полисахариды - это относительно медленно усваиваемые углеводы, для их переваривания необходимо время и освобождающаяся в результате их переваривания глюкоза поступает в кровь постепенно. Меньшая часть углеводов поступает в организм в составе ***дисахаридов*** (*сахароза, лактоза, мальтоза*), а также ***моносахаров*** *(глюкоза, фруктоза, галактоза).* Это легко усваиваемые углеводы. Они быстро всасываются, легко трансформируются в глюкозу и приводят к увеличению содержания последней в крови. Приводимая схема иллюстрирует гомеостаз глюкозы в организме.

**Источники и пути утилизации глюкозы крови**

| **Источники глюкозы** | | |
|---|---|---|
| **Углеводы пищи** (полисахариды, дисахариды, моносахара) | **Печень** (гликогенолиз, глюконеогенез) | **Почки** (в условиях длительного голодания) |

↘ ↓ ↙

**Глюкоза крови**

↓

| **Ткани – потребители глюкозы** | | |
|---|---|---|
| **Облигатные** (нервная ткань, эритроциты, эпителий кишечника, мозговое вещество почек) | **Факультативные** (мышцы, жировая ткань и др.) | **Печень** (синтез гликогена) |

В перерывах между приемами пищи глюкоза может поступать в кровь из печени и в определенных ситуациях из почек. Способность этих органов к высвобождению в кровь

глюкозы связана с наличием в них фермента ***глюкозо-6-фосфатазы,*** осуществляющей образование свободной глюкозы из глюкозо-6-фосфата. Только свободная глюкоза может переходить через клеточную мембрану в кровь. В других органах этот фермент отсутствует, и поэтому глюкоза не может поступать из них в кровоток. В обычных условиях роль почек как источника глюкозы крови невелика и основное количество глюкозы в интервалах между приемами пищи и во время сна поступает в кровь из печени. Однако в условиях голодания почки могут обеспечивать поступление до 1/3 всей глюкозы.

В печени свободная глюкоза образуется в результате двух различных путей: 1) распада гликогена - ***гликогенолиза,*** осуществляемого фосфорилазой гликогена, активируемой глюкагоном и адреналином, и 2) ***глюконеогенеза*** - синтеза из веществ не углеводной природы (*гликогенных аминокислот*, *лактата и пирувата*). Глюконеогенез активируется глюкокортикоидными гормонами, вызывающими индукцию синтеза его ключевых ферментов.

Содержание гликогена в печени может достигать 75г. Этого количества достаточно для восполнения облигатных затрат глюкозы организмом в течение 12 часов. При больших затратах глюкозы этот срок, естественно, сокращается.

В результате глюконеогенеза могут образовываться дополнительные количества глюкозы. При голодании за счет ***глюконеогенеза из гликогенных аминокислот*** в печени синтезируется около 75г глюкозы в сутки. ***Глюконеогенез из лактата*** не может привести к образованию дополнительных количеств глюкозы, так как сам лактат образуется в результате распада глюкозы. 1 моль глюкозы дает 2 моля лактата и из 2-х молей лактата образуется 1 моль глюкозы. Тем не менее, несмотря на невозможность абсолютного прироста глюкозы, глюконеогенез их молочной кислоты имеет физиологическое значение - из образовавшейся в мышцах в результате гликолиза молочной кислоты, в печени синтезируется глюкоза, которая будет использована во время голодания клетками головного мозга.

Печень забирает глюкозу из крови при уровне гликемии, превышающем 6,6-8,3 ммоль/л и секретирует глюкозу в кровь при более низком содержании глюкозы в крови. Глюкоза теряется с мочой только когда гипергликемия достигает 10 ммоль/л ***(почечный порог для глюкозы).***

Гомеостаз глюкозы в организме находится под тонким гормональным контролем, в котором основная роль отводится инсулину.

***Инсулин*** - гормон, вырабатываемый бета-клетками поджелудочной железы в виде проинсулина, представляющего одну полипептидную цепь из 84 аминокислот. Активация проинсулина осуществляется путем ограниченного протеолиза - отщепления срединного С-пептида из 33 аминокислот. Активный инсулин состоит из двух полипептидных цепей, удерживаемых дисульфидными мостиками. Инсулин регулирует поступление глюкозы в *инсулин-чувствительные ткани* - ***печень, мышцы и жировую ткань***. В клетках этих тканей имеются рецепторы инсулина. На долю инсулин-чувствительных тканей приходится около 1/3 от всей потребляемой тканями глюкозы. Большая часть глюкозы потребляется тканями, в которых транспорт глюкозы в клетки не регулируется инсулином.

Инсулин, практически единственный гормон, понижающий содержание глюкозы в крови. Главный механизм гипогликемического действия инсулина связан с увеличением проницаемости для глюкозы мембран клеток мышечной и жировой ткани. Кроме этого

инсулин запирает глюкозу в клетке, активируя "ловушку глюкозы" - фермент гексокиназу. Продукт гексокиназной реакции - глюкозо-6-фосфат уже не может покинуть клетку. В печени инсулин активирует также гликогенсинтетазу, способствуя тем самым переходу глюкозы в гликоген, в мышечной ткани инсулин усиливает распад глюкозы, вызывая индукцию синтеза ферментов гликолиза. Инсулин также подавляет активность ферментов глюконеогенеза, препятствуя синтезу глюкозы из лактата и аминокислот.

Наряду с влиянием на обмен углеводов, инсулин оказывает влияние на обмен липидов, белков и электролитов, а именно, подавляет активность липазы жировой ткани, усиливает синтез белков, способствует входу в клетки ионов К+, возможно, за счет активации Na+,K+-АТФазы.

Секреция инсулина осуществляется в две фазы. Первая фаза продолжается 1-2 минуты. Связана она с наличием в бета-клетках запасов уже готового для секреции инсулина. Вторая - начинается спустя 5-10 минут и продолжается час. Обусловлена она наличием вновь синтезированного инсулина с небольшим количеством проинсулина.

Главным стимулятором секреции инсулина является глюкоза. Помимо глюкозы секрецию инсулина стимулируют гормоны ЖКТ (гастрин, секретин, холецистокинин), некоторые аминокислоты. Адреналин, норадреналин, соматостатин оказывают противоположное действие.

Кроме инсулина гипогликемическое действие приписывается также ***соматостатину*** - короткому полипептиду (14 аминокислот), образуемому D (альфа$_1$) клетками поджелудочной железы. По-видимому, соматостатин замедляет всасывание глюкозы в кишечнике и подавляет секрецию глюкагона. Кроме влияния на содержание в крови глюкозы соматостатин подавляет секрецию тропных гормонов передней доли гипофиза, чем и объясняется его название.

Увеличивают содержание глюкозы в крови **адреналин, глюкагон, глюкокортикоиды, соматотропный гормон**. Это контринсулярные гормоны, оказывающие гипергликемическое действие. Главные мишени ***глюкагона*** - *жировая ткань и печень*, ***адреналина*** – *жировая и мышечная ткань*. Оба гормона после связывания рецептором, расположенным на поверхности плазматической мембраны клетки, активируют аденилатциклазу. Образующийся циклический АМФ активирует киназу фосфорилазы и активная фосфорилаза гликогена расщепляет гликоген до глюкозы. Как мы уже отмечали выше, имеющийся в клетках печени фермент глюкозо-6-фосфатаза обеспечивает образование свободной глюкозы, способной переходить в кровь. Гипергликемический эффект глюкагона и адреналина развивается очень быстро – за миллисекунды. В жировой ткани циклический АМФ активирует тканевую липазу. Освобождающиеся в результате распада триглицеридов (липолиза) свободные жирные кислоты также используются клетками в качестве энергетических субстратов наряду с глюкозой.

Гиперегликемическое действие ***глюкокортикоидов*** опосредовано совершенно иными механизмами, реализуемыми на уровне клеточного генома, и развивается медленно – на вторые-третьи сутки. Глюкокортикоиды вызывают индукцию синтеза ключевых ферментов глюконеогенеза (пируваткарбоксилазы, фосфоэнолпируваткарбоксикиназы, фруктозо-1,6-дифосфатазы и глюкозо-6-фосфатазы), а также аминотрансфераз для включения в глюконеогенез аминокислот.

Результатом действия глюкокортикоидных гормонов является синтез глюкозы из веществ не углеводной природы – гликогенных аминокислот, лактата и пирувата.

**Патология углеводного обмена**

Нарушения обмена углеводов сопутствуют и даже лежат в основе многих болезней. К важнейшим из них следует отнести сахарный диабет и некоторые энзимопатии (гликогенозы, агликогенозы, непереносимость лактозы – галактоземия, мукополисахаридозы).

**Особенности нарушений обмена углеводов у детей**

Содержание глюкозы в крови новорожденных такое же, как и у матери и составляет 3,5-5,5 ммоль/л. Уже через несколько часов после рождения развивается физиологическая гипогликемия новорожденных, сохраняющаяся на протяжении нескольких дней. Содержание глюкозы в крови в этот период может снижаться весьма существенно до значений, которые у взрослых неизбежно приводят к развитию гипогликемической комы. У доношенных новорожденных нижний уровень глюкозы крови может достигать 1,7 ммоль/л, а недоношенных - 1,1 ммоль/л. Новорожденные переносят столь низкий глюкозы без неврологических признаков гипогликемии, наблюдаемых у взрослых (рвота, судороги, кома). Подобная относительная устойчивость ребенка к гипогликемии связана со значительно меньшими потребностями их головного мозга в энергии и поэтому легче переносит гипогликемию. Кроме того, клетки нервной системы новорожденного могут использовать альтернативные источники энергии, главным образом, кетоновые тела и лактат. Тем не менее, снижение концентрации глюкозы в крови менее 1,1 ммоль/л может привести к стойкому повреждению ЦНС.

Главными причинами гипогликемии у новорожденных являются: быстрое истощение депо углеводов в печени (гликогена), незрелость регуляторных механизмов поддержания постоянства глюкозы в крови, несвоевременное начало кормления, интенсивное поглощение глюкозы тканями, особенно в условиях гипоксии. Последнее обстоятельство связано с тем, что характерная для внутриутробного периода развития плода и периода новорожденности высокая интенсивность энергетически неэффективного анаэробного гликолиза может удовлетворить потребности тканей в энергии только за счет окисления больших количеств глюкозы.

Для поддержания нормального уровня глюкозы в крови необходимо регулярное поступление ее из пищеварительного тракта, что требует частого кормления ребенка. Одновременно у детей начинают функционировать эндогенные гомеостатические механизмы. При снижении концентрации глюкозы в крови увеличивается секреция глюкагона. Этот гормон стимулирует процесс глюконеогенеза, обеспечивающего синтез глюкозы из аминокислот и продуктов гликолиза - пировиноградной и молочной кислот. Глюконеогенез является важной адаптационной реакцией организма новорожденного, т.к. позволяет постепенно повысить уровень гликемии к 6-10 дню жизни до 3,3 -4,0 ммоль/л. В этих пределах концентрация глюкозы в крови держится на протяжении нескольких месяцев.

У детей раннего и дошкольного возраста отмечается склонность к гипогликемиям при недостаточном поступлении углеводов с пищей. Подобная гипогликемическая реакция организма ребенка обусловлена несовершенством механизмов регуляции, истощением маломощных депо гликогена и повышенной утилизацией глюкозы тканями. У детей дошкольного возраста потребление глюкозы более чем в 2 раза выше чем у

взрослых. Только к 7-14 годам регуляция концентрации глюкозы в крови стабилизируется, и гликемия у детей достигает величин взрослого человека.

Выделяют следующие основные типы гипогликемии у детей:

I. Гипогликемия с инсулинизмом: 1) спонтанные гипогликемии (при аденоме и гипертрофии бета-клеток поджелудочной железы, у новорожденных, родившихся от матерей с сахарным диабетом, идиопатические); 2) индуцированные гипогликемии (вызванные L-лейцином, триптофаном, внепанкреатпческими опухолями, салицилатами, введением глюкозы детям с неадекватной ипсулиносекрецией - при ожирении, преддиабете).

П. Гипогликемии без инсулинизма: группа наследственных знзимопатий (агликогеноз, гликогенозы I, III, IV и VII типов), неонатальная гипогликемия, гипогликемии при недостаточности надпочечников, глюкагона, соматотропного гормона, при синдроме Мак-Карри, толерантности к фруктозе, галактозе, гипогликемии при интоксикациях (алкогольной, медикаментозной), кетогенная гипогликемия.

Наиболее часто у детей встречаются следующие формы гипогликемии: 1) неонатальная гипогликемия; 2) гипогликемия новорожденных вследствие охлаждения; 3) гипогликемия с кетозом, 4) идиопатическая спонтанная гипогликемия; 5) L-лейциновая гипогликемия; 6) гипогликемия при инсулиноме; 7) гипогликемия при впепанкреатических опухолях; 8) гипогликемия при недостаточности соматотропного гормона; 9) гипогликемия при болезни «кленового сиропа», 10) гипогликемия при алкогольной интоксикации; 11) гипогликемия вследствие токсического действия медикаментов или повышенной чувствительности к ним.

Наряду с тенденцией к более низкому содержанию глюкозы в крови в детском возрасте у детей может развиваться и гипергликемия. Как временный симптом гипергликемия обнаруживается при гиперфункции щитовидной железы, эпифиза, надпочечников, тяжелом ацидозе, шоке, гастроэнтеритах, заболеваниях ЦНС, инфекционных заболеваниях, болезнях печени. Транзиторная гипергликемия может развиться при приеме ряда лекарственных средств - никотиновой кислоты, адреналина, тиреоидных гормонов, кортикостероидов, кофеина, аминазина, морфина, а также при некоторых видах наркоза. При непродолжительном применении указанных лекарств гипергликемии исчезают вслед за отменой лекарства. Длительное применение кортикостероидов может привести к развитию стероидного диабета. Опасно длительное применение тиреоидина и соматотропного гормона.

Подобным же образом гипергликемии развиваются у детей при судорожных состояниях, особенно на фоне заболеваний, протекающих с лихорадкой.

При гипертонической дегидратации у недоношенных детей с низким весом при рождении (менее 1100г) гипергликемия может появиться при внутривенном введении глюкозы. В этом случае гипергликемия >20ммоль/л является неблагоприятным прогностическим признаком и обычно сочетается с внутричерепным кровоизлиянием.

У грудных детей в крови наряду с глюкозой и фруктозой могут присутствовать галактоза, пентозы, дисахариды после принятия пищи, богатой этими углеводами. Особенно часто это бывает у новорожденных. В крови ребенка старшего возраста, как и у взрослых, эти сахара отсутствуют, но могут выявляться в незначительных количествах при употреблении соответствующей их пищи.

Содержащиеся в крови углеводы фильтруются **в** мочу. Однако, если концентрация в крови глюкозы и фруктозы не превышает почечный порог для этих углеводов,

составляющий 10,0 и 0,7 ммоль/л, соответственно, то они полностью реабсорбируются в канальцах почек и с мочой не выделяются. Галактоза, пентозы и дисахариды не подвергаются реабсорбции, вследствие чего у детей грудного возраста в физиологических условиях возможны алиментарные галактозурия, пентозурия, дисахаридурия. Обычно галактозурия и лактозурия исчезают у детей к 10-у дню жизни, но иногда могут сохраняться дольше.

Новорожденным и детям грудного возраста, особенно недоношенным, свойственна алиментарная глюкозурия. Возникает через 30-60 минут после нагрузки глюкозой и продолжается до 5 часов. Наблюдается при диспепсии, эксудативном диатезе и ряде других состояний. Алиментарная глюкозурия может быть обусловлена снижением почечного порога реабсорбции глюкозы.

У детей различные раздражители нервной системы (механические, химические, токсические) быстрее и легче, чем у взрослых вызывают глюкозурию (рефлекторная глюкозурия). Рефлекторная глюкозурия обычно непродолжительная и сопутствует бактериальным и вирусным инфекциям, менингиту, энцефалиту. Отмечается при асфиксии и черепно-мозговых кровоизлияниях при родовых травмах, гипертермии, а также при патологических процессах в ЦНС (опухоли мозга, черепно-мозговая травма, остаточные явления поражения головного мозга).

Гормональная глюкозурия встречается в раннем детском возрасте при гипернефроме, в более старшем - при тиреотоксикозе, синдроме Кушинга, гпперпптуитаризме, феохромоцитоме. Отдельно выделяют диабетическую глюкозурию. У детей она очень варьирует в течение суток, и часто отсутствует корреляция между содержанием глюкозы в крови и моче.

Почечная глюкозурия, связанная с нарушением реабсорбции глюкозы, встречается у детей гораздо чаще, чем у взрослых. Рассматривается как врожденный или приобретеннный почечный диабет. Сюда же относят вторичные ренальные глюкозурии при хронических заболеваниях почек, синдроме Олбрайта-Лайтвуда, нефротическом глюкозурическом нанизме с гипофосфатемическим рахитом. Почечные глюкозурии встречаются у детей чаще, чем у взрослых.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Перечислите пути распада глюкозы, их конечные продукты и энергетическую эффективность.
2. Назовите ткани - облигатные и факультативные потребители глюкозы.
3. Отличается ли содержание глюкозы в цельной крови и сыворотке (плазме) крови. Если да, то
какова причина различий. Привидите значения, характерные для здоровых людей.
4. При каких значениях глюкозы крови возникает гипо- и гипергликемия?
5. Чему равен почечный порог для глюкозы?
6. Назовите гормоны гипо- и гипергликемического действия.
7. Назовите источники глюкозы для организма.
8. Перечислите важнейшие заболевания, связанные с патологией углеводного обмена.

**Сахарный диабет**

***Сахарный диабет (СД)*** - широко распространенное заболевание, связанное с недостаточным образованием инсулина бета-клетками поджелудочной железы или нечувствительностью тканей к инсулину.

В 1981 г. Комитет экспертов ВОЗ определил СД как синдром хронической гипергликемии, возникающей вследствие абсолютного или относительного дефицита инсулина и проявляющегося глюкозурией, полиурией, полидипсией, нарушениями углеводного, липидного, белкового, минерального обмена и развитием характерных осложнений - острых и хронических.

В мире отмечается рост заболеваемости СД, чему способствуют наследственные факторы, переедание углеводов и жиров, малоподвижный образ жизни, стрессовые ситуации. 0,5% населения земного шара больны инсулинзависимой формой заболевания. В современной России на 120 млн. населения приходятся 10,5 млн. больных СД. Эндокринологи утверждают, что больных СД на самом деле гораздо больше, т.к. на начальных стадиях они не обращаются к врачу, а программы, направленные на раннее выявление СД, в последнее десятилетие не работают.

СД является одной из основных причин высокой заболеваемости, инвалидизации и смертности населения во всех странах мира. В США 20% летальных исходов СД происходят по причине его осложнений. К тяжелым осложнениям сахарного диабета относятся атеросклероз, нефропатии, нейропатии, ретинопатии и ангиопатии.

На основании современных представлений об этиологии и патогенезе СД различают две его формы: инсулинзависимую (ИЗСД, 1 тип СД) и неинсулинзависимую (НИЗСД, 2 тип СД).

Причиной 1 типа СД является ***недостаточная секреция инсулина*** бета-клетками поджелудочной железы. К причинам СД 1 типа относят вирусные поражения бета-клеток (вирус оспы, аденовирус), образование аутоантител к инсулину и генетический дефект синтеза гормона. СД 1 типа характеризуется абсолютным дефицитом инсулина, ранним и быстрым началом заболевания (болезнь проявляется уже в детском возрасте), потерей веса, развитием кетоацидоза, сохранением чувствительности к инсулину.

Причиной 2 типа СД является относительная инсулиновая недостаточность, т.е. не дефицит самого инсулина, а ***дефект рецепторов инсулина,*** связанный с нарушением экспрессии генов, кодирующих рецепторы инсулина, или нарушения передачи сигнала от рецептора инсулина к переносчику глюкозы в плазматической мембране клетки. Для этой формы болезни характерны более позднее и постепенное начало (проявляется в зрелом возрасте), повышение массы тела (ожирение), частичный дефицит инсулина, потеря чувствительности к инсулину. Больные 2 типом СД составляют 80% от числа всех больных СД.

Типичная картина СД выглядит следующим образом. Заболевание может проявиться уже в детском возрасте ***полиурией*** (термин диабет переводится как мочеизнурение). Ребенок вынужден часто ходить в туалет, нередко по несколько раз за ночь, он обильно пьет **(*полидипсия*),** много ест **(*полифагия*),** но, несмотря на это, теряет в весе. Если заболевание не лечить, больные становятся вялыми и сонными. У них появляется тошнота, пропадает аппетит, нарастает потеря в весе. В последующем присоединяются рвота и сильные абдоминальные боли. Постепенно развивается

коматозное состояние. Дыхание становится глубоким и регулярным - характерная черта метаболического ацидоза.

При лабораторном исследовании в крови выявляются ***гипергликемия*** и повышенное содержание кетоновых тел (ацетона, бета-оксимасляной и ацетоуксусной кислот) - ***кетонемия***. Содержание бикарбоната в крови резко снижено и pH падает до 7.0 и ниже (***кетоацидоз***). Вследствие больших потерь электролитов с мочой содержание калия и натрия в плазме крови снижено (***гипокалиемия*** **и** ***гипонатриемия***), а сама плазма липемична, имеет молочный цвет обусловленный ***гипертриглицеридемией***, связанной с резким увеличением содержания ЛПОНП и хиломикронов. Содержание свободных жирных кислот в крови резко возрастает - до 5 раз. Содержание инсулина в крови очень низкое или он вообще не определяется. Развивается дегидратация тканей и падает артериальное давление. С мочой выводятся большие количества глюкозы (***глюкозурия***) и ацетоуксусной кислоты (***кетонурия***). Конечно, описанная выше клиническая картина в случае регулярного лечения болезни выражена не столь ярко, течение болезни растягивается на многие годы и приводит к развитию так называемых поздних осложнений сахарного диабета со стороны кровеносных сосудов, нервной системы и глаз.

При ИЗСД секреция инсулина снижена как в первой, так и во второй фазе, либо отсутствует. Чувствительность к инсулину в этом случае высокая, что связано с высоким сродством рецепторов к инсулину.

При НИЗСД секреция инсулина снижена только в 1-ой фазе. Это связано с нарушением чувствительности рецепторов бета-клеток к глюкозе при сохраненном биосинтезе инсулина в клетке.

Многие метаболические нарушения при СД обусловлены действием гормонов-антагонистов инсулина. Так при не леченном диабете в крови повышен уровень ***глюкагона.*** Его гипергликемический эффект является результатом стимуляции гликогенолиза и глюконеогенеза, торможения проникновения глюкозы в мышцы.

При диабетическом кетоацидозе повышен уровень ***катехоламинов***. Они активируют гликогенолиз в печени и в мышцах, липолиз в жировой ткани. Под влиянием адреналина наблюдается увеличение поглощения кислорода и затрат энергии в связи с усилением сердечной деятельности, увеличением мышечного тонуса.

***Гормон роста*** повышен при осложненном СД. Он увеличивает выход глюкозы в кровь, усиливает глюконеогенез, кетогенез.

***Глюкокортикоиды*** действуют в отсутствии инсулина. Они стимулируют глюконеогенез, повышая содержание гликогена в печени, в меньшей степени в мышцах.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Дайте определение сахарного диабета.
2. Какие различаю типы сахарного диабета? назовите их причины и особенности течения.
3. Перечислите важнейшие клинические и биохимические проявления сахарного диабета.
4. Секреция каких гормонов увеличена при сахарном диабете? Назовите эффекты этих гормонов на углеводный и липидный обмен.

**Нарушения метаболизма при СД**

При СД нарушены практически все виды обмена веществ. Наибольшие изменения характерны для обмена углеводов, Также нарушаются обмен жиров, белков, воды и электролитов, КОС.

*Нарушения углеводного обмена.* Главным проявлением нарушенного обмена углеводов при СД является ***гипергликемия.*** У больных ИЗСД гипергликемия развивается после приема пищи вследствие недостаточной секреции инсулина бета-клетками поджелудочной железы и замедленной утилизации глюкозы тканями. При НИЗСД гипергликемия обусловлена повышенным выбросом глюкозы печенью вследствие действия контринсулярных гормонов.

При увеличении содержания глюкозы крови выше 10 ммоль/л глюкоза уже не может полностью реабсорбироваться из первичной мочи и возникает ***глюкозурия,*** порождающая нарушения водно-электролитного обмена.

Нарушения углеводного обмена лежат в основе развития и так называемых "поздних осложнений" СД - изменений кровеносных сосудов, сетчатки и нервов. При СД происходит ***усиление превращения глюкозы по сорбитоловому пути.*** Сущность его заключается в следующем. На первом этапе глюкоза при участии альдозоредуктазы восстанавливается в сорбитол. Протекание этой реакции приводит к возникновению дефицита НАДФН - важного компонента антиоксидантной системы клетки, необходимого, в частности для поддержания в восстановленном состоянии важнейшего восстановителя - глутатиона. На следующем этапе происходит окисление сорбитола во фруктозу. При этом $НАД^+$ восстанавливается в НАДН. Увеличение НАДН ведет к усилению восстановления диоксиацетонфосфата в глицерол-3-фосфат, что способствует усилению синтеза липидов. Сорбитоловый путь характерен для хрусталика глаза, нервной ткани, эндотелия сосудов. Накопление сорбита и фруктозы в этих тканях способствует развитию поздних осложнений СД - катаракты, полинейропатий, ангиопатий.

Пропорционально уровню гипергликемии при СД ***усиливается неферментативное гликозилирование белков***, в частности гемоглобина. Гликозилируются остатки лизина и валина. Этот процесс происходит медленно, в течение всей жизни эритроцита. В крови здоровых людей гликозилированный НвА составляет 4-6% от общего Нв, при СД уровень НвА повышается в 2-3 раза, отражая длительность и стойкость гипергликемии. Гликозилирование лизиновых остатков апоВ ведет к снижению сродства рецепторов к ЛПНП. Этим, возможно, объясняется связь между СД и атеросклерозом. Подробней о последствиях гликозилирования белков речь пойдет при рассмотрении поздних осложнений СД.

*Нарушения обмена жиров*. Нарушения обмена жиров при СД сводятся к двум основным проявлениям: 1) ***активации тканевого липолиза*** и 2) развитию ***гипертриглицеридемии***.

Активация тканевого липолиза и быстрая мобилизация жирных кислот из жировой ткани развиваются вследствие дефицита инсулина, обладающего антилиполитическим эффектом и действия контринсулярных гормонов. Особенно это характерно для ИЗСД, когда вследствие дефицита инсулина тканевая липаза максимально активна. В крови нарастает содержание продуктов липолиза - свободных жирных кислот. Активацию липолиза можно рассматривать как компенсаторный механизм, направленный на

снабжение клеток альтернативным глюкозе топливом. В печени жирные кислоты не успевают полностью распадаться до конечных продуктов $CO_2$ и $H_20$, и из продукта неполного распада - ацетил-КоА синтезируются в больших количествах кетоновые тела. Кетоновые тела накапливаются в крови, что ведет к возникновению диабетического кетоза. При этом содержание ацетона в крови составляет 7-9 ммоль/л и около 80% его выводится из организма. Накопление в тканях и крови кетоновых тел ведет к сдвигу pH крови и тканевой жидкости в кислую сторону с развитием кетоацидоза. Вначале развивается компенсированный ацидоз, который характеризуется тем, что буферные системы полностью нейтрализуют кислые продукты метаболизма, уменьшается только их буферная емкость, но pH крови сохраняется в пределах нормальных значений. В дальнейшем, в связи с истощением буферных систем, pH крови смещается в кислую сторону, развивается некомпенсированный ацидоз, крайним проявлением которого является кетоацидотическая кома.

Развитие гипертриглицеридемии при сахарном диабете объясняется тем, что часть поступающих в печень свободных жирных кислот переводится в форму триглицеридов, и усиливается секреция печенью богатых триглицеридами ЛПОНП. Кроме этого, вследствие снижения активности липопротеидлипазы замедляется выведение ЛПОНП и хиломикронов из кровотока.

Приводимая схема иллюстрирует последствия нарушения обмена жиров при сахарном диабете: (см. отдельно).

*Нарушения обмена белков*. При СД обмен белков нарушается в меньшей степени по сравнению с обменом углеводов и жиров, но определенные изменения имеют место. В частности, ***нарушается поступление аминокислот в клетки*** и ***активируется распад тканевых белков***. Последнее связано с использованием гликогенных аминокислот в качестве субстратов для синтеза глюкозы в ходе глюконеогенеза. Усиленное дезаминирование аминокислот приводит к накоплению аммиака и других азотистых шлаков. В результате в крови увеличивается содержание аминокислот ***(гипераминоацидемия)*** и азотистых шлаков ***(азотемия)***.

*Нарушения водно-электролитного обмена*. Потеря глюкозы с мочой влечет за собой одновременную ***потерю воды и электролитов***, прежде всего натрия, калия и фосфатов, и в случае отсутствия коррекции приводит к прогрессирующей ***дегидратации***, уменьшению объема крови ***(гиповолемии),*** падению кровяного давления, шоку и коме.

В нарушениях обмена веществ при СД прослеживается возникновение так называемого «порочного круга», обусловленного «сшибкой», т.е. неадекватной реакцией регуляторных механизмов.

Несмотря на гипергликемию, поступление глюкозы в ткани нарушено, и ткани испытывают углеводное голодание, энергетический голод. Организм отвечает на это привычной реакцией - секрецией катаболических гормонов (глюкагон, адреналин, соматотропный гормон), которые призваны мобилизовать глюкозу из имеющегося резерва - активировать распад гликогена в печени. Однако, поступление в кровь дополнительных количеств глюкозы лишь усиливает гипергликемию, но не приводит к желаемой цели – поступлению глюкозы в ткани.

Организм начинает использовать альтернативные источники энергии. Активация тканевого липолиза и высвобождение жирных кислот лишь частично решают указанную задачу. В результате бета-окисления жирных кислот накапливается ацетил-КоА, который должен дальше распадаться в цикле трикарбоновых кислот. Для вступления в цикл

ацетил-КоА необходимо соединиться с молекулой щавелевоуксусной кислоты (ЩУК) с образованием лимонной кислоты. Однако, этому препятствует дефицит ЩУК. ЩУК синтезируется в результате карбоксилирования пировиноградной кислоты (ПВК), образующейся при дихотомическом распаде глюкозы. Поскольку поступление глюкозы в ткани нарушено, то ПВК, а, следовательно, и ЩУК, не образуются в должных количествах, и ацетил КоА не может войти в цикл Кребса. Существует выражение «жиры сгорают в пламени углеводов». При СД цикл Кребса «заторможен» и жиры не могут сгореть.

Из избытка ацетил КоА в печени синтезируются кетоновые тела. Содержание их в крови резко увеличивается, и они выводятся с мочой. В результате накопления в крови и тканях ацетоуксусной и бетаоксимасляной кислот нарушается КОС – развивается кетоацидоз. Усиленный распад белков приводит к возникновению азотоемии.

Так возникают множественные нарушения обмена веществ, характерные для СД и лежащие в основе острых и поздних осложнений этого заболевания.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какие нарушения обмена углеводов характерны для сахарного диабета?
2. Укажите основные нарушения в обмене липидов при сахарном диабете.
3. Чем проявляются нарушения обмена белков при сахарном диабете?
4. В чем состоят нарушения водно-электролитного обмена при сахарном диабете?

**Острые осложнения СД**

Крайней формой проявления инсулиновой недостаточности являются коматозные состояния:

- гипергликемическая кома;
- кетоацидотическая кома;
- гиперосмолярная кома;
- лактацидотическая кома.

В патогенезе этих осложнений важную роль играют гипергликемия, активация кетогенеза с накоплением в организме кислых продуктов (ацетоуксусной и бета-оксимасляной кислот), вызывающих метаболический ацидоз, потеря глюкозы и электролитов с мочой и электролитные нарушения. Гипоксия тканей, переключение на анаэробный метаболизм влечет накопление лактата и к кетоацидозу присоединяется лактацидоз. Электролитные нарушения возникают не только за счет осмотического диуреза, но и за счет проведения инсулиновой терапии. Инсулин повышает поступление калия в клетку и потерю его с мочой. Поэтому инсулинотерапия требует заместительной коррекции – внутривенного введение хлорида калия. Увеличение осмотического давления в межклеточном пространстве за счет высокого содержания глюкозы в тканевой жидкости влечет выход воды из клетки. Это главная причина потери воды и электролитов у больных СД. Нарушения баланса электролитов приводят к дегидратации тканей, уменьшению мозгового, почечного и периферического кровотока с последующей олиго- и анурией.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Назовите острые осложнения сахарного диабета и механизм их развития.
2. Что является главной причиной расстройств водно-электролитного обмена у больных сахарным диабетом?
3. Почему регулярная инсулинотерапия требует введения в организм хлорида калия?

**Поздние (хронические) осложнения СД**

Главной причиной поздних осложнений является длительная гипергликемия. Высокая концентрация глюкозы в крови инициирует развитие изменений в сосудистой стенке с помощью нескольких механизмов:

- ***активации сорбитолового пути метаболизма глюкозы,***
- ***гликозилирование белков,***
- ***развитие окислительного стресса.***

***Сорбитоловый путь метаболизма глюкозы***, как мы уже отмечали выше, приводит к восстановлению глюкозы в шестиатомный спирт сорбит. При окислении последнего образуется фруктоза. Сорбит не подвергается каким-либо метаболическим превращениям, накапливается в тканях и, увеличивая осмотическое давление, вызывает развитие отеков с последующим помутнением хрусталика и развитием других поздних осложнений СД.

Длительная гипергликемия сопровождается неферментативным взаимодействием карбонила альдегидной группы глюкозы с аминогруппами белка и образованием соединений по типу оснований Шиффа. Благодаря перегруппировке атомов в связанной глюкозе образуется второй карбонил, который связывает аминогруппу другого белка, образуя «сшивки» и приводя к уплотнению структур. Этот процесс называют ***гликозилированием белков***, а белки получают название гли-белков. При связывании аминогрупп глюкозой изменяются свойства белков – поверхностный заряд, конформация, взаимодействие с лигандами.

Гликозилирование белков происходит и при нормальных значениях глюкозы крови, но при гипергликемии резко усиливается. В крови присутствуют гли-Нв $A_{1C}$, гли-альбумин, гли-фибриноген, гли-липопротеиды, гли-белки свертывающей системы и фибринолиза. В тканях гликозилируется коллаген, белки клеточных мембран, белки стенок кровеносных сосудов сетчатки глаза, сосудов головного мозга и крупных магистральных сосудов.

Гликозилирование белков лежит в основе сосудистых осложнений СД:

1. Гликозилирование белков мелких сосудов сетчатки глаза (микроангиопатии) приводит к ретинопатии, помутнению хрусталика (катаракте), глаукоме.
2. Гликозилирование белков сосудов головного мозга – причина нейропатий.
3. Гликозилирование транспортных белков плазмы крови ведет к нарушению их взаимодействия с рецепторами. Так гликозилирование апо-В ЛПНП и белков эндотелия сосудов инициирует атеросклеротическое поражение стенок артерий. Сосудистые повреждения обычно связаны с утолщением базальной мембраны капилляров, пролиферацией гладкомышечных клеток, усилением накопления коллагена в крупных сосудах. В многочисленных исследованиях показана связь гиперхолестеринемии с гликозилированием белков.
4. Гликозилирование фибриногена, антитромбина может явиться причиной тромбозов.

5. Причиной диабетической нефропатии служит гликозилирование основного белка базальной мембраны клубочков печек – коллагена. Образуются «сшивки» коллагеновых волокон, уменьшается заряд. На начальных стадиях это приводит к фильтрации низкомолекулярных белков (микроальбуминоурия). По мере прогрессирования уплотнения мембраны фильтрационная способность почек нарушается, нарастает остаточный азот крови и развивается хроническая почечная недостаточность.
6. К числу тяжелых осложнений СД относятся изменения сосудов нижних конечностей, приводящие к нарушению трофики тканей «диабетическая стопа».

Мощным фактором осложнений сахарного диабета является ***окислительный стресс***, под которым понимают активацию процессов свободнорадикального окисления, вызываемую нарушением баланса ***прооксидантов*** и ***антиоксидантов*** и сопровождающуюся окислительной модификацией липидов, белков и нуклеиновых кислот.

Реакции свободнорадикального окисления инициируются высокореакционноспособными частицами - свободными радикалами, образующимися в организме постоянно и выполняющими важные физиологические функции. Свободные радикалы участвуют в обновлении тканей, синтезе простаноидов, формировании иммунного ответа, бактерицидном действии фагоцитирующих клеток и в других защитных реакциях.

Избыточное образование радикалов под влиянием действия прооксидантных факторов истощает запас антиоксидантов и приводит к окислительному стрессу. В чем же состоит причина окислительного стресса при СД?

Следствием инсулиновой недостаточности является возникновение дефицита глюкозы в тканях и переход клеток на использование в качестве энергетических субстратов жирных кислот. В результате уменьшается коэффициент окислительного фосфорилирования и на 1 моль потребленного митохондриями кислорода образуется не 3 моля АТФ, а только 2. Для образования аналогичного количества АТФ митохондрии вынуждены поглощать большие количества кислорода.

В физиологических условиях 95% поглощаемого тканями кислорода подвергается полному четерехэлектронному восстановлению с образованием молекул $H_2O$ (оксидазный путь утилизации кислорода):

$$O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2H_2O$$

или включается в состав окисляемых субстратов (оксигеназный путь):

$$\text{Субстрат} + O_2 + 2e^- + 2H^+ \xrightarrow[\text{монооксигеназа}]{} \text{Субстрат-OH} + H_2O$$

Лишь 5% молекул кислорода принимают не четыре, а от одного до трех электронов с образованием ***активных форм (АФОК),*** представляющих радикалы кислорода:

$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot -}$ (супероксидный анион радикал)

$O_2^{\cdot -} + e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$ (перекись водорода)

$H_2O_2 + e^- + H^+ \rightarrow H_2O + HO^{\cdot}$ (гидроксильный радикал)

АФОК инициируют реакции окислительной модификации молекул липидов и макромолекул, следствием которых является нарушение структуры и функций биологических мембран, появление генетических дефектов, нарушения работы белков. Интенсификация работы дыхательной цепи, утилизация больших количеств кислорода

при смене субстратов дыхания может объяснить увеличенную продукцию АФОК и развитие окислительного стресса при СД. Роль окислительного стресса в развитии сосудистых осложнений СД связана, прежде всего, с окислительной модификацией липопротеидов плазмы крови и белков сосудистой стенки. Окислительно модифицированные и гликозилированные ЛПНП, проникая в стенку артерий, вызывают атеросклеротические поражения коронарных сосудов, сосудов головного мозга, конечностей, мелких артерий, лежащих в основе поздних (сосудистых) осложнений СД.

Все три рассмотренных механизма сосудистых повреждений при СД взаимосвязаны.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какие биохимические нарушения лежат в развития поздних осложнений сахарного диабета?
2. Что понимается под гликозилированием белков? Как этот процесс связан с развитием поздних осложнений сахарного диабета?
3. Что такое окислительный стресс? Его роль в развитии поздних осложнений сахарного диабета.
4. Назовите активные формы кислорода.

## Клинико-лабораторная диагностика СД

В диагностике СД преобладают биохимические методы. Число тестов ограничено: это определение уровня ***гликемии***, выявление ***глюкозоурии***, ***кетонурии*** и выполнение ***теста толерантности к глюкозе (ТТГ)***. Информативность их недостаточна. Определение глюкозы в крови натощак отражает ее содержание за 15 минут до взятия крови и еще 15 минут после, в остальное время уровень ее может меняться. ТТГ хорошо выявляет инсулиновую недостаточность, но проведение сахарной нагрузки нельзя назначать тяжелым больным при высокой гликемии.

Определение глюкозы и кетоновых тел в моче отражает их содержание в крови за 6 часов до взятия мочи. Поэтому поиску информативных тестов исследователи уделяют постоянное внимание. Обнаружение в крови особой формы гемоглобина, содержащей глюкозу, послужило началом методов определения ***гликозилированных белков*** (гли-белков) в крови.

Определение гли-белков плазмы крови оказалось информативным. Молекулы гли-Нв$A_1$ устойчивы, существуют в крови 2-3 месяца, пока живет эритроцит. Поэтому определение содержания в крови гли-Нв$A_1$ отражает предшествующий уровень гликемии. Уровень гли-Нв$A_1$является «паспортом диабетика», позволяющим судить об уровене глюкозы крови на проятжении последних 1-2 месяцев.

Продолжительность жизни гли-альбумина 2-6 недель. Определение его характеризует уровень глюкозы крови в эти сроки. Гли-фибриноген существует 3 дня и дает информацию об изменениях содержания в крови за это время. Таким образом, гли-белки имеют не только патогенетическое, но и диагностическое значение.

На начальных этапах повреждения базальной мембраны гломерул почек фильтруются мелкодисперсные белки (микроальбуминурия). Поэтому определение ***белка в моче*** больного СД может служить тестом развития диабетической нефропатии.

Для диагностики атеросклеротических осложнений СД используются методы выявления гиперлипидемий – определение общего холестерина, ЛПВП-холестерина, триглицеридов.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какие биохимические методы анализа используются для диагностики сахарного диабета и его осложнений?
2. Каково диагностическое значение определения гликозилированных белков?

**Биохимические методы в диагностике СД**

***1. Определение содержания глюкозы натощак в капиллярной крови.***

В настоящее время внедрен энзиматический глюкозооксидазный метод, являющийся высокоспецифичным. Выполняется с помощью унифицированных наборов реактивов, содержащих глюкозооксидазу. В ферментативной реакции образуется пероксид водорода, который окисляет входящий в состав реакционной смеси хромоген, и последний дает окрашенный в розовый цвет продукт. Светопоглощение измеряется на фотометре при длине волны 540нм.

Содержание глюкозы в крови при неотложных состояниях определяют экспресс-методом с помощью тест-полосок, относящимся к методам «сухой химии». В индикационной зоне полоски содержится глюкозооксидаза и другие реагенты для развития цветной реакции. Оценка содержания глюкозы (ммоль/л), проводится по цветной шкале, прилагаемой к тесту. Такие полоски выпускаются различными фирмами и имеют разные названия.

Содержание глюкозы в капиллярной крови натощак у здоровых людей составляет 3,5-5,5 ммоль/л, в плазме (сыворотке) крови верхняя граница глюкозы выше – до 6,1ммоль/л. При сахарном диабете уровень глюкозы натощак превышает верхнюю границу нормы.

***2. Определение глюкозы и ацетона в моче.***

В моче здоровых людей могут быть лишь следовые количества глюкозы и ацетона, которые не выявляются известными методами. При фильтрации в почках глюкоза поступает в первичный фильтрат и реабсорбируется в канальцах. Пороговая концентрация глюкозы составляет 10ммоль/л. При более высокой концентрации она уже полностью не реабсорбируется и выделяется с мочой (глюкозурия). Определения глюкозы и ацетона в моче проводится по типу экспресс-анализа с помощью диагностических полосок (глюкотест, кетотест), позволяющих полуколичественно оценить экскрецию с мочой глюкозы и ацетона по прилагаемой цветной шкале.

*3**. Тест толерантности к глюкозе (ТТГ), метод сахарной нагрузки***

ТТГ позволяет выделить инсулиновую недостаточность при скрытом СД и служит для мониторинга гипергликемии при проводимой терапии. Тест информативен, но его применение ограничено. Сахарную нагрузку нельзя назначать больным с высоким уровнем глюкозы натощак, т.к. это может вызвать гипергликемическую кому.

В классическом исполнении ТТГ трудоемок и обременителен для обследуемого пациента. Динамику уровня глюкозы после нагрузки отслеживают в течение 2-3 часов через каждые 30 минут. По результатам строится сахарная кривая. Форма кривой и конечная величина глюкозы являются основанием для диагностического заключения.

В настоящее время методика проведения ТТГ рационализирована. Забор крови для определения глюкозы проводится только 2 раза – натощак и через 2 часа после нагрузки. Нагрузка составляет 75 г глюкозы для взрослых, а для детей количество принимаемой глюкозы рассчитывается в зависимости от массы тела. Экспертами ВОЗ приняты следующие оценочные критерии при интерпретации результатов ТТГ (таблица).

**Оценка результатов проведения ТТГ**

| № п/п | Глюкоза ммоль/л натощак | Глюкоза (ммоль/л) после нагрузки через 120 мин | Интерпретация результатов |
|---|---|---|---|
| 1 | < 5,5 | < 7,8 | Здоровые люди |
| 2 | ≥ 5,6 | > 6,1 по < 7,8 | Нарушенная гликемия натощак |
| 3 | < 6,1 | > 7,8 по < 11,1 | Нарушенная толерантность к глюкозе |
| 4 | > 6,1 | > 11,1 | Сахарный диабет |

***4. Определение гли-$HbA_1$.***

В основе метода лежит выделение гликозилированной фракции с помощью аффинной хроматографии. Выпускаются тестовые наборы, содержащие хроматографические микроколонки, специфический адсорбент, реагенты для проведения анализа. Анализ занимает 1,5-2 часа и дает воспроизводимые результаты.

Нормальный показатель гли-$HbA_1$ - 5,5% от общего гемоглобина. При сахарном диабете повышается в зависимости от продолжительности предшествующей гипергликемии. Тест высокоинформативен, поскольку гли-$HbA_1$ – устойчивое соединение и долго сохраняется в крови, отражая предшествующий уровень гипергликемии.

**Диагностика неотложных состояний.**

1. Экспресс-анализ мочи: глюкотест, кетотест.
2. Определение глюкозы в капиллярной крови.
3. Определение показателей возможного ацидоза: BB (буферные основания), BE (дефицит буферных оснований) для коррекции буферных оснований при возникновении ацидоза.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какие методами определяют содержание глюкозы в крови?
2. Как определяют содержание глюкозы и кетоновых тел в моче?
3. Как в настоящее время проводится тест толерантности к глюкозе? Что выявляют с его помощью? Как интерпретируют его результаты?

## КИСЛОТНО-ОСНОВНОЕ СОСТОЯНИЕ

***Кислотно-основное состояние (КОС)*** характеризует соотношение кислых и основных метаболитов и определяется как соотношение концентраций водородных ($H^+$) и гидроксильных ($OH^-$) ионов в жидких средах организма.

КОС зависит от состояния клеточного метаболизма, газотранспортной функции крови, внешнего дыхания и водно-солевого обмена. Нарушения в любой из этих систем сопровождаются изменениями КОС, отражающими степень тяжести возникающих нарушений.

Самая главная, отличительная черта КОС заключается в поддержании относительного постоянства реакции среды (pH) в тканях и большинстве биологических жидкостей.

**Реакция среды (pH) некоторых биологических жидкостей**

| Жидкость | pH |
|---|---|
| Кровь | 7,37-7,44 |
| Желудочный сок | 1,0-2,0 |
| Желчь | 7,5-8,0 |
| Панкреатический сок | 7,5-9,0 |
| Кишечный сок | 7,8-8,0 |
| Моча | 5,3-6,5 |

Как видно из приведенных в таблице данных, реакция среды большинства жидких сред слабо щелочная. Исключением является желудочный сок, имеющий сильно кислую реакцию среды за счет высокой концентрации HCl. Расположенная в клетках стенки желудка $H^+$-АТФаза активно секретирует $H^{+-}$ ионы в просвет желудка, создавая сильно кислую реакцию желудочного сока. Слабо кислая реакция мочи отражает выведение почками кислых продуктов метаболизма.

Постоянство pH создает оптимальные условия для функционирования молекул белков, имеющих оптимум pH для своей активности. В первую очередь это относится к белкам-ферментам. Поэтому поддержание постоянства реакции среды тканей и биологических жидкостей является жизненно важным.

Определение показателей КОС имеет особое значение в диагностике неотложных состояний, особенно в отделении реанимации, когда приходится диагностировать пограничные состояния между жизнью и смертью. В этих случаях необходимо оценить состояние жизненно-важных физико-химических процессов, и, прежде всего, КОС.

Существуют ли какие-либо угрозы для постоянства реакции среды? Да, без сомнения, существуют, причем ***главная угроза исходит от естественного протекания обмена веществ***.

Относительное постоянство pH поддерживается в условиях ***непрерывного образования кислот в организме человека в процессе клеточного метаболизма***. За сутки у взрослого человека в ходе обмена веществ образуется 20000 мэкв кислот. В пересчете на сильную соляную кислоту это соответствует 20л 1М раствора HCl, или 2 л дымящей HCl. При столь сильном кислотообразовании организму удается сохранять реакцию среды тканей и биологических жидкостей в узких границах. Это достигается наличием мощной системы регуляции КОС, включающей буферные системы крови и тканей и механизмы физиологического контроля:

***Буферные системы крови и тканей***
***(физико-химические механизмы регуляции КОС):***

1. Бикарбонатная: $NaHCO_3 + H_2CO_3$
2. Гемоглобиновая: $HbO_2K^+ + Hb^-K^+$
3. Фосфатная: $Na_2HPO_4 + NaH_2PO$
4. Белковая: протеин$^-Na^+$ + протеин-$H^+$

***Физиологический контроль:***

1. Дыхательная функция легких.
2. Выделительная функция почек.

Буферные системы поддерживают постоянство pH раствора при поступлении в него кислых ($H^+$ ) и основных ($OH^-$) продуктов. Буферное действие объясняется связыванием свободных $H^+$ ; и $OH^-$ ионов компонентами буфера и переводом их в недиссоциированную форму слабой кислоты или воды.

Буферные системы организма состоят из слабых кислот и их солей с сильными основаниями. Любой буфер имеет две важнейшие характеристики: pH, и буферную емкость. ***pH буфера*** зависит от соотношения его компонентов. ***Буферная емкость*** определяется абсолютными концентрациями компонентов буфера.

**Сравнительная характеристика мощности буферных систем**
(количество м-экв $H^+$, нейтрализуемых компонентами буфера,
содержащимися в 1 л крови при изменении pH с 7,4 до 7,0)

| Буфер | Емкость буфера |
|---|---|
| Бикарбонатный | 18 |
| Гемоглобиновый | 8 |
| Фосфатный | 0,3 |
| Белковый | 1,7 |

Таким образом, на долю бикарбонатного и гемоглобинового буферов приходится, соответственно, 50 и 30% от общей буферной емкости крови. Мощность фосфатного и белкового буферов несравнимо меньше.

Для устранения сдвига pH буферным системам достаточно 30 секунд, дыхательному контролю – 1-3 минуты, а работа почек займет 10-20 часов. Однако буферные системы устраняют только сдвиг pH. Системы же физиологического контроля КОС восстанавливают и буферную емкость.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Что такое КОС? В чем состоит его главная отличительная черта?
2. От чего зависит КОС?
3. Какие механизмы включает система регуляции КОС?
4. Назовите буферные системы крови и тканей.
5. Какой буфер крови обладает наибольшей буферной емкостью?

## Взаимодействие физико-химических и физиологических механизмов регуляции КОС

Регуляция КОС в организме осуществляется буферными системами крови, легкими и почками. Поступающие из тканей в кровь кислые продукты метаболизма нейтрализуются буферными системами крови, преимущественно бикарбонатной и гемоглобиновой. Буферные основания $HC0_3^-$ и $Hb0_2^-$ связывают протоны и переходят в сопряженные кислотные пары – $H_2CO_3$ и HHb (дезоксигемоглобин). Поступающая в кровь из тканей $CO_2$ поступает в эритроциты, где гидратируется ферментом карбоангидразой с образованием угольной кислоты. При диссоциации $H_2CO_3$ образуются ионы $H^+$, связываемые гемоглобиновым буфером, и бикарбонатные анионы ($HC0_3^-$), выходящие из эритроцитов в плазму крови в обмен на анионы $Cl^-$. В альвеолах процесс проходит в обратном направлении: дезоксигемоглобин связывает кислород, а $CO_2$ удаляется с выдыхаемым воздухом (рис. 2).

Восполнение дефицита анионов бикарбоната, а также удаление из организма кислых продуктов в виде кислых фосфатов и солей аммония осуществляют почки. В регуляции КОС участвуют минеральные компоненты скелета путем обмена $H^+$-ионов крови на ионы $Ca^{2+}$ и $Na^+$ костной ткани.

## Роль легких в регуляции КОС

В компенсации сдвигов КОС важная роль принадлежит легким, способным удалять из организма летучие кислоты. При увеличении в крови концентрации ионов $H^+$ происходит увеличение легочной вентиляции, из организма удаляется большее количество $CO_2$, и значение pH крови возвращается к исходному уровню. Если же в крови увеличивается содержание оснований, то легочная вентиляция уменьшается, что влечет задержку в организме углекислоты и увеличение в крови напряжения $CO_2$ и концентрации $H^+$ ионов (уменьшение pH). В результате возникший сдвиг pH в щелочную сторону частично компенсируется. Первичная функция дыхательной системы – поддержание оптимального уровня напряжения кислорода ($pO_2$) и углекислоты ($pCO_2$) в артериальной крови. Эта функция обеспечивается тремя ключевыми процессами – 1) вентиляцией; 2) кровотоком и 3) диффузией газов в легких. Нарушение каждого из них может привести к дыхательной недостаточности, определяемой как снижение $pO_2$ ниже 60 мм рт.ст. и повышение $pCO_2$ выше 60 мм рт.ст. при спокойном дыхании.

Оценку альвеолярной вентиляции проводят при помощи измерения артериального $pCO_2$, возрастающего при гиповентиляции и снижающегося при гипервентиляции. В таблице представлены некоторые показатели КОС крови в условиях физиологического газообмена при дыхании воздухом.

**Показатели КОС в артериальной и венозной крови при нормальной функции легких**

| Показатели КОС | Артериальная кровь | Венозная кровь |
|---|---|---|
| PH | 7,37-7,44 | 7,37-7,44 |
| $pCO_2$ | 38-42мм рт.ст. | 35-50мм рт.ст. |
| $pO_2$ | 85-95мм рт.ст. | 30-50 мм рт.ст. |

Кроме приведенных в таблице показателей учитывают и некоторые другие, характеризующие функцию дыхательной системы: 1) общее содержание кислорода в крови; 2) насыщение гемоглобина кислородом; 3) фракцию оксигемоглобина в общем гемоглобине и др. Эти показатели характеризуют транспорт кислорода кровью и утилизацию кислорода тканями.

**Роль почек в регуляции КОС**

Роль почек в регуляции КОС обусловлена:

1. восполнением дефицита анионов $HCO_3^-$ в крови (реабсорбция бикарбоната), возникающего вследствие нейтрализации образующихся в ходе метаболизма нелетучих органических кислот буферными основаниями,
2. удалением из организма в составе мочи кислых продуктов в виде кислых фосфатов и солей аммония (рис. 7).

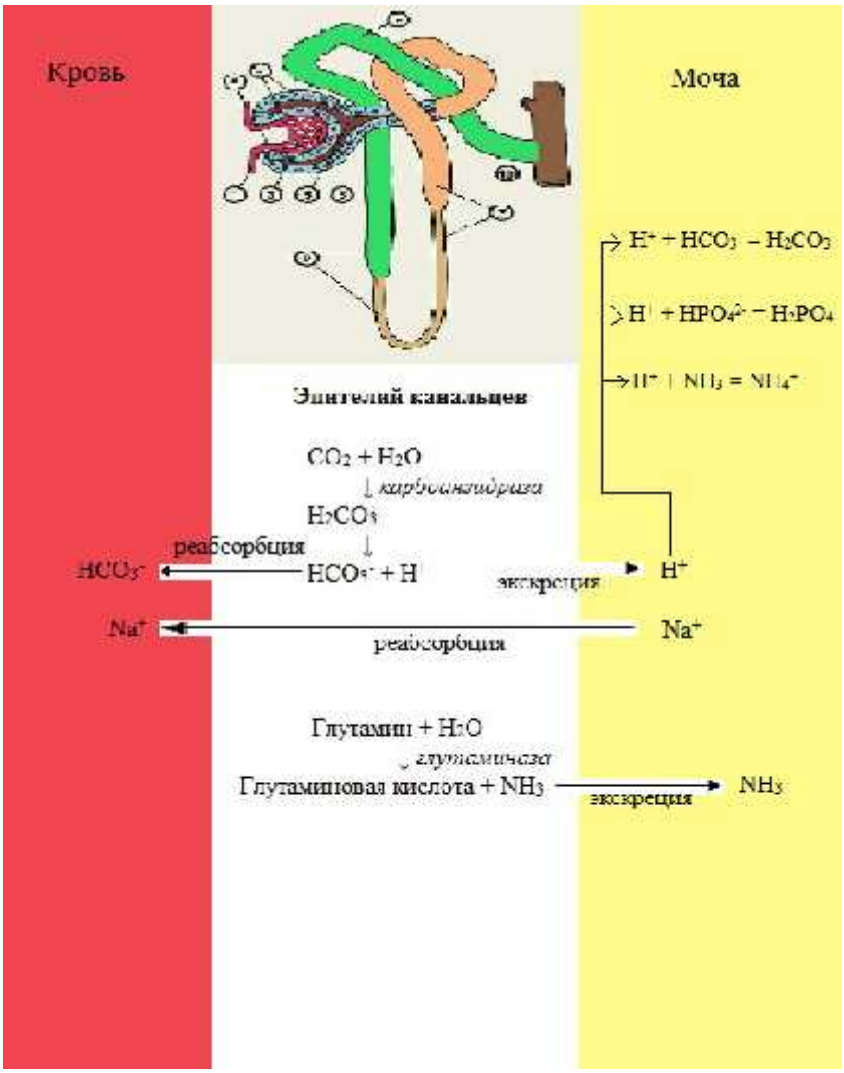


Рисунок 7. Роль почек в регуляции КОС

В клетках эпителия почечных канальцев фермент карбоангидраза катализирует реакцию гидратации углекислоты с образованием угольной кислоты. Последняя диссоциирует на протоны и анионы бикарбоната:

$$CO_2 + H_2O \underset{\text{карбоангидраза}}{=} H_2CO_3$$

$$H_2CO_3 = H^+ + HCO_3^-$$

Протоны активно секретируются в просвет канальцев, а анионы бикарбоната реабсорбируются в кровь, восполняя дефицит $H_2CO_3^-$, возникающий вследствие работы бикарбонатного буфера. Реабсорбция $HCO_3^-$ ионов протекает в проксимальных отделах канальцев нефрона. Существует взаимосвязь между количеством реабсорбированого $HCO_3^-$ и ионами $Cl^-$. Увеличение реабсорбции бикарбоната при нарушениях КОС сопровождается снижением реабсорбции хлоридов и ведет к гипохлоремии. Поэтому определение ионов $Cl^-$ в плазме и $HCO_3^-$ в моче дает дополнительную информацию и типе нарушения КОС.

Удаление из организма кислот почками (секреция протонов в просвет канальцев) зависит от состояния водно-минерального обмена. Секреция протонов сопряжена с реабсорбцией катионов $Na^+$. ($Na^+$ - $H^+$ обмен). Чем больше реабсорбируется натрия, тем больше будет удаляться протонов. Катионы $Na^+$ могут реабсорбироваться и в обмен на удаление катионов $K^+$ ($Na^+$ - $K^+$) обмен. Таким образом, катионы $K^+$ и $H^+$ конкурируют за реабсорбируемый натрий и препятствуют удалению друг друга с мочой. Чем больше экскретируется $K^+$, тем меньше удаляется протонов (кислот) почками и наоборот. Иначе говоря, гипернатриемия создает условия для усиленного удаления кислот (развитие алкалоза), а гиперкалиемия – для задержки кислот в организме (развитие ацидоза). В свою очередь, алкалоз может привести к возникновению гипокалиемии, а ацидоз - к гиперкалиемии.

Попавшие в мочу протоны связываются бикарбонатными анионами (образование угольной кислоты и ее солей), двузамещенными фосфатными анионами (образование однозамещенных фосфатных анионов) и аммиаком (образование катионов аммония).

1. $H^+ + HCO_3^- = H_2CO_3$
2. $H^+ + HPO_4^{2-} = H_2PO_4^-$
3. $H^+ + NH_3 = NH_4^+$

Ионы $H_2PO_4^-$ и $NH_4^+$ обусловливают кислую реакцию мочи (pH = 5,3—6,5) и в составе кислых фосфатов и солей аммония выводятся из организма. Необходимый для образования аммонийных солей аммиак в больших количествах образуется в почках из глутамина с участием фермента глутаминазы, присутствующей в эпителии дистальных канальцев почек:

$$\text{Глутамин} \underset{\text{глутаминаза}}{=} \text{глутаминовая кислота} + NH_3$$

Образовавшийся $NH_3$ может свободно диффундировать через клеточную мембрану и активно экскретируется в мочу. Катион $NH_4^+$ такой способностью не обладает и поэтому образуется только в просвете канальцев при связывании $H^+$ ионов аммиаком.

Активация глутаминазы в условиях хронического ацидоза способствует увеличению экскреции ионов $H^+$ в виде аммонийных катионов.

Минимальное значение pH мочи может быть 4,6. Это соответствует концентрации ионов $H^+$ 25мкмоль/л. С учетом суточного объема мочи, составляющего около 1,5л, можно рассчитать, что в свободном виде за сутки с мочой экскретируется только 1/1000 часть от общего количества $H^+$-ионов, выводимых из организма с мочой. Основная масса $H^+$-ионов выводится в виде кислых солей (30-40 ммоль ионов $H^+$ в сутки).

Присутствующие в составе мочи соли аммония и фосфаты можно рассматривать как аммонийно-фосфатный буфер мочи. Кислотными компонентами буфера являются катионы $NH_4^+$ и однозамещенный фосфатный анион ($H_2PO_4^-$). $NH_3$ и двузамещенный фосфатный анион ($HPO_4^{2-}$) представляют основания. При достижении pH мочи минимального значения (~4,6) все фильтрующиеся в мочу фосфаты находятся в виде дигидрофосфата ($H_2PO_4^-$). Определение дигидрофосфатов и солей аммония (титруемая кислотность) наряду с определением pH мочи позволяет оценить функции дистальной части нефрона.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какие органы участвуют в регуляции КОС?
2. В чем состоит первичная функция дыхательной системы в регуляции КОС? Какие процессы,
протекающие в легких, обеспечивают эту функцию?
3. По какому показателю оценивается величина альвеолярной вентиляции?
4. Чем обусловлена роль почек в регуляции КОС?
5. Объясните каким образом удаление кислых продуктов почками зависит от состояния водно-
минерального обмена.
6. Чем связываются попавшие в мочу протоны?

**Исследование КОС в клинике**

Исследование КОС является составным компонентом диагностики неотложных состояний в реанимационных отделениях клиник. Такая диагностика должна включать оценку:

- парциального давления кислорода ($pO_2$) и углекислоты ($pCO_2$) в крови;
- состояния буферных систем крови;
- ионного состава внеклеточной среды;
- объема внеклеточной и внутрисосудистой жидкости;
- осмолярности биологических жидкостей;
- свертывающей системы крови
- диссоциации гемоглобина.

В реанимационных отделениях имеются анализаторы КОС, позволяющие одновременно в одной пробе крови, взятой в анаэробных условиях определить все показатели КОС – pH, буферные системы, парциальное давление $O_2$ и $CO_2$, содержание в крови гемоглобина и его фракций, глюкозы, лактата. Основное место в диагностике неотложных состояний имеет определение параметров КОС.

***pH*** артериальной крови поддерживается в узких интервалах - 7,37-7,44. pH артериального крови зависит от вентиляционной функции легких, уровня оксигенации, гемодинамики, характера тканевого метаболизма, выделительной функции почек. Выявление изменения pH крови само по себе не позволяет установить причину нарушения КОС. Для этого необходимо определять и другие параметры.

***$pCO_2$*** – парциальное давление углекислого газа, характеризует количество растворенной $CO_2$ в плазме крови. $CO_2$ находится также в составе $H_2CO_3$, бикарбонатов ($HCO_3^-$) и частично связан гемоглобином (карбогемоглобин).

При нормальной вентиляции диапазон значений $pCO_2$ составляет 38-42 мм рт.ст. Патологическими принято считать значения $pCO_2 < 30$ и $> 50$ мм рт.ст. Гиповентиляция приводит к накоплению $CO_2$, избытку $H_2CO_3$ и $H^+$, что служит причиной дыхательного ацидоза. При гипервентиляции избыточное удаление $CO_2$ снижает содержание $H^+$ в крови (увеличение pH) и развивается дыхательный алкалоз.

Таким образом, $pCO_2$ представляет индекс, характеризующий дыхательный компонент КОС.

***AB – актуальный (истинный) бикарбонат.*** Концентрация бикарбонатов ($HCO_3^-$) в крови при 38$^o$C и данных значения pH и $pCO_2$. Может изменяться вследствие как дыхательных, так и метаболических нарушений.

AB рассчитывается по уравнению Гендерссона – Гассельбаха:

$$-\lg (HCO_3-) = pH-\lg (pCO_2 \times 0,0367) – 0,6105.$$

Нормальная концентрация $HCO_3^-$ составляет 19-25ммоль/л.

**Показатели КОС и их нормальные значения в артериальной крови**

| **Показатели** | **Обозначение** | **Что характеризуют** | **Значения** |
|---|---|---|---|
| pH | PH | Водородный показатель – отрицательный десятичный логарифм концентрации ионов водорода. | 7,37-7,44 |
| Парциальное давление $O_2$ | $pO_2$ | Парциальное давление кислорода в газовой смеси, находящейся в равновесии с кровью при 38$^o$C. Изменение показателя позволяет оценить причину и характер нарушений КОС. | 85-95 мм.рт.ст. |
| Парциальное давление $CO_2$ | $pCO_2$ | Парциальное давление $CO_2$ в газовой смеси, находящейся в равновесии с кровью при 38$^o$C. Изменения указывают на дыхательный механизм нарушения КОС. $pCO_2$ повышается при одновременном увеличении бикарбонатов при дыхательном ацидозе, понижается при дыхательном алкалозе. | 38-42 мм.рт.ст. |
| Актуальный бикарбонат | AB | Концентрация бикарбоната в крови при 38$^o$C и данных значения pH и $pCO_2$. Изменяется вследствие как дыхательных, так и метаболических нарушений. | 19-25 ммоль/л |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Стандартный бикарбонат | SB | Содержание бикарбоната в плазме крови, уравновешенной в атмосфере при $pO_2$=40мм рт. ст., при 38$^o$C. | 21-25 ммоль/л |
| Буферные основания | BB | Сумма всех анионов крови, обладающих буферным действием в условиях полного насыщения крови кислородом при 38$^o$C. Показатель мощности всех буферных систем. Позволяет судить о метаболических ацидозе и алкалозе. | 40-60 ммоль/л |
| Нормальные (должные) буферные основания | NBB | Сумма всех анионов крови, обладающих буферным действием при полном насыщении крови кислородом и в стандартных условиях (pH 7,38, $pCO_2$ 40 мм рт.ст., t$^o$ 38$^o$C). | 48 ммоль/л |
| Избыток или дефицит буферных оснований | BE | Разница между истинной и должной концентрацией буферных оснований для данного пациента. BE= BB-NBB. Положительное значение указывает на избыток, а отрицательное – на дефицит буферных оснований. Изменения BE характерны для метаболических нарушений КОС. | 0±2,5 ммоль/л |
| Анионный интервал | АИ | Показатель, отражающий образование и задержку в организме нелетучих кислот. | 16 ± 4 ммоль/л |

Величина AB рассчитывается для водной части плазмы, т.к. вводимые в уравнение величины pH и $pCO_2$ определяются именно в водной части плазмы. Расчетная величина концентрации $HCO_3^-$ эквивалентна истинному содержанию гидрокарбоната, т.к. на величину определяемой практически концентрации $HCO_3^-$ влияют растворимые в плазме липиды и белки. Правильнее использовать расчетную величину $HCO_3^-$.

***SB (стандартный бикарбонат)*** – это концентрации всех форм бикарбоната в плазме, уравновешенной при $pCO_2$ 40мм рт.ст. и насыщении крови кислородом на 100%. Референтные величины – 21-25 ммоль/л. SB зависит только от тканевого метаболизма. Характер дыхания на него не влияет. Для расчета SB используют уравнение Ван-Слайка:

$$[HCO_3\text{-}] = 24{,}5 + 0{,}9A + (A\text{-}2{,}9) \times (2{,}65 + 0{,}31 \times [tHb])/1000$$

$$\text{где } A = BE - 0{,}2 \times [tHb] \times [100 - O_{2\,SAT}]/100.$$

[tHb] - концентрация общего (total) гемоглобина. Может быть измерена в этой же пробе или введена в расчет дополнительно. BE – избыток (дефицит) буферных оснований.

$O_{2\ SAT}$ – насыщение (сатурация) гемоглобина кислородом, отношение (в процентах) объема кислорода, которое может связать то же количество гемоглобина.

Уравнения Гендерсона–Гассельбальха и Ван-Слайка не связаны между собой. Поэтому рассчитанные по ним значения AB и SB не могут быть связаны какими-либо пересчетными коэффициентами.

При оценке способности крови противодействовать изменению pH необходимо принимать во внимание участие всех буферных систем крови. Адекватным этой задаче показателем является концентрация буферных оснований (BB).

***BB (Buffer Bases) – буферные основания***. BB представляют сумму всех анионов крови, обладающих буферным действием в условиях полного насыщения крови кислородом при 38$^{o}$C, показатель мощности всех буферных систем, позволяющий судить о метаболических ацидозе и алкалозе. BB отражает состояние тканевого метаболизма, частично функции почек и не зависит от парциального давления $CO_2$ в крови. Референсные величины в крови составляют 40-60 ммоль/л.

Если измерить BB при полном насыщении крови кислородом в стандартных условиях (pH 7,38, $pCO_2$ 40 мм рт.ст., t$^{o}$ 38$^{o}$C), то нормальное значение BB составит 48ммоль/л. Этот показатель и называют ***нормальные (должные) буферные основания (NBB).***

Удобным для оценки состояния КОС является показатель ***избытка (дефицита) буферных оснований – BE (bases excess)***, определяемый как разница между истинной и должной концентрацией буферных оснований:

$$BE = BB – NBB$$

В норме BE должен быть равным нулю. С учетом биологической вариабельности в качестве референсных значений BE приняты 0± 2,5ммоль/л для взрослых и 0±3ммоль/л для детей. Положительные значения характерны для избытка, отрицательные – для дефицита буферных оснований. Выраженный дефицит имеет место при ацидозе, а избыток при алкалозе. Предел дефицита составляет –30ммоль/л.

BE имеет важное диагностическое значение. Он позволяет:

1. оценить степень метаболических нарушений КОС;
2. оценить степень метаболической компенсации дыхательных нарушений КОС;
3. вычислить общий недостаток или избыток буферных оснований всего организма (OBE).

Показатель BE является основой для определения дозировки лекарственных препаратов, для коррекции метаболических нарушений.

Буферные системы крови отражают действие всех гомеостатических механизмов, влияющих на изменение [$H^+$] или pH через изменение двух компонентов:

1. метаболического, оцениваемого по величинам BB и BE;
2. дыхательного, оцениваемого по величине $pCO_2$.

Такая независимая оценка метаболической и дыхательной функции позволяет более объективно охарактеризовать состояния КОС организма.

Клетки служат постоянным источником $CO_2$ и нелетучих кислот. Как $CO_2$, так и нелетучие кислоты способствуют накоплению $H^+$. Показателем способности клеток утилизировать ионы $H^+$ служит изменение содержание ионов $K^+$ в плазме. Дело в том, что поступление $H^+$ в клетку сопряжено с перемещением ионов $K^+$ из нее. Поэтому чаще всего ацидоз сопровождается гиперкалиемией, а алкалоз – гипокалиемией. Показателем, отражающим образование и (или) задержку в организме нелетучих кислот, является анионный интервал плазмы крови.

***АИ (анионный интервал)*** рассчитывают по разнице суммарных концентраций катионов ($Na^+$ и $K^+$) и анионов ($Cl^-$и $HCO_3^-$)в плазме крови:

$$АИ = ([Na^+] + [K^+]) – ([Cl^-] + [HCO_3^-])$$

Нормальные значения АИ составляют 16±4мЭкв/л. Увеличение АИ связано с накоплением органических кислот (ацидоз) или с гиперпротеинемией. Уменьшение АИ характерно для гипопротеинемии.

При метаболическом ацидозе накопление органических анионов (лактата, гидроксибутирата, ацетоацетата) эквивалентно накоплению $H^+$. Электроотрицительность поддерживается за счет одновременного снижения $HCO_3^-$. Увеличение АИ отмечается при отравлении метанолом и этиленгликолем. В большинстве случаев при метаболическом ацидозе снижение уровня бикарбоната в плазме крови не сопровождается увеличением концентрации анионов хлора, что приводит к увеличению АИ.

В то же время, при почечном канальциевом ацидозе, связанном с потерей бикарбоната, происходит повышение в плазме ионов $Cl^-$и АИ остается в пределах нормы. Поэтому расчет АИ имеет диагностическое значение, особенно при анализе комплексных нарушений КОС.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Почему исследование КОС имеет первостепенное значение в отделениях реанимации?
2. Перечислите важнейшие показатели КОС.
3. Чем различаются актуальный и стандартный бикарбонат?
4. Что такое BE и в чем состоит диагностическая значимость этого показателя?

**Клиническое значение определения параметров КОС**

Существуют два основных типа нарушений КОС – ацидоз (pH < 7,36) и алкалоз (pH > 7,44). По причине, вызвавшей нарушения, каждый тип рассматривается как метаболический или дыхательный. Дыхательные расстройства КОС могут быть острыми или хроническими.

При первичном изменении $pCO_2$ в плазме крови первичными являются дыхательные нарушения. При первичном изменении $HCO_3^-$ первичными будут нарушения метаболизма в тканях. В обоих случаях для сохранения pH в интервале 7,37-7,44 зависимый параметр ($HCO_3^-$ при дыхательных расстройствах или $CO_2$ при метаболических) изменяется в том же направлении, что и первый. Это нормальная компенсаторная реакции, направленная на ограничение сдвига pH, но не предотвращающая полностью его развитие. Как мы указывали выше, компенсаторные механизмы легких реализуется быстрее, чем аналогичные механизмы почек. Последние могут потребовать 1-2 дня.

Компенсаторная реакция легких на метаболический ацидоз заключается в дыхании Куссмауля, представляющем равномерное редкое дыхание с глубоким шумным вдохом и усиленным выдохом. Патогенез этого типа дыхания объясняется стимуляцией дыхательного центра в результате повышения $pCO_2$ в крови.

- Компенсаторная реакция легких на метаболический алкалоз состоит в урежении и ослаблении дыхания.
- Для интерпретации результатов определения показателей КОС установлены два правила:

1. увеличение $pCO_2$ на 10 мм рт. ст. вызвано изменением pH на 0,08, и наоборот, т.е. изменение $pCO_2$ и pH находятся в обратно пропорциональной зависимости, а величина 0,08 это минимальное превышение допустимого диапазона pH (7,44 - 7,37) = 0,07;
2. увеличение $HCO_3^-$ на 10ммоль/л приводит к увеличению pH на 0,15 и наоборот, т.е. между изменениями $HCO_3^-$ и pH существует прямая пропорциональная зависимость.

**Алгоритм интерпретации результатов определения параметров КОС**

1. ***оценка pH*** (норма 7,37-7,44);
2. ***уточнение характера нарушений КОС*** (метаболическое или дыхательное) - по изменению концентраций $CO_2$ и $HCO_3$.
3. ***расчет компенсаторного изменения второго (зависимого) параметра*** (см. таблицу). В большинстве случаев нарушения КОС простые, т.е. обусловлены одним первичным нарушением, на которое развивается компенсаторная реакция. Однако, в тяжелых случаях могут выявляться два и более первичных нарушений КОС. Эти несколько нарушений могут усиливать друг друга (аддитивный эффект), что приведет к резкому изменению pH, или, напротив, нивелировать. В последнем случае изменения pH будут незначительны. Первый вариант имеет место при метаболическом и сопутствующем дыхательном ацидозе, а второй – при метаболическом ацидозе и сопутствующем метаболическом алкалозе). Смешанное нарушение КОС следует предполагать, когда выявляется значительная разница между выявленным и ожидаемым изменением второго (зависимого) параметра.

**Основные нарушения КОС**

| **Нарушение КОС** | **Первичная аномалия** | **Вторичная аномалия** | **Расчетная формула** |
|---|---|---|---|
| Метаболический ацидоз | ↓↓↓[$HCO_3$] | ↓↓$pCO_2$ | $pCO_2$=1,5x[$HCO_3$]+8 |
| Дыхательный ацидоз (хронический) | ↑↑↑$pCO_2$ | ↑↑[$HCO_3$] | ↑[$HCO_3$]=4x$pCO_2$/10 |
| Дыхательный ацидоз (острый) | ↑↑↑$pCO_2$ | ↑[$HCO_3$] | ↑[$HCO_3$]=p$C0_2$/10 |
| Метаболический алкалоз | ↑↑↑[$HCO_3$] | ↑↑$pCO_2$ | ↑$pCO_2$=[$HC0_3$]xO,6 |
| Дыхательный алкалоз (хронический) | ↓↓↓$pCO_2$ | ↓↓[$HCO_3$] | ↓[$HCO_3$]=5xp$C0_2$/10 |
| Дыхательный алкалоз (острый) | ↓↓↓$pCO_2$ | ↓[$HCO_3$] | ↓[$HCO_3$]=2x$pCO_2$/10 |

4. ***корреляция полученных результатов с клинической картиной,*** т.е. постановка диагноза и объяснение причин возникновения нарушений КОС.

**Метаболический ацидоз**

Метаболический ацидоз – наиболее распространенное нарушение КОС. Классическим примером является кетоацидоз у больных сахарным диабетом.

При метаболическом ацидозе первичным является снижение $HCO_3^-$ в крови, а вторичным (компенсаторным) – снижение $pCO_2$. Клиническим проявлением этого служит дыхание Куссмауля – развитие вторичного дыхательного алкалоза в ответ на первичный метаболический ацидоз. В зависимости от нормального или увеличенного анионного интервала (АИ) метаболический ацидоз делится на нормохлоремический и гиперхлоремический:

- увеличение АИ отражает повышение одного из слагаемых анионов (обычно органических кислот). При этом анионы хлора не задерживаются в почечных капиллярах;
- отсутствие изменений АИ при снижении как $HCO_3^-$, так и pH характерно для первичной потери бикарбоната или добавлении минеральной кислоты. При этом анионы хлора задерживаются в почечных канальцах (гиперхлоремический метаболический ацидоз).

*Причины метаболического ацидоза.*

1. **Метаболический ацидоз с увеличением АИ (нормохлоремический ацидоз).**
   - ***Кетоацидоз***. Обусловлен усиленным образованием кетоновых тел (бета-оксибутирата и ацетоацетата). Возникает у больных сахарным диабетом (особенно, при 1 типе СД), голодании, алкоголизме.
   - ***Лактат-ацидоз.*** Причина – усиленное образование в тканях и накопление в крови лактата вследствие тканевой гипоксии. Физиологический уровень лактата в сыворотке крови не превышает 2ммоль/л и достигает 4 ммоль/л при значительных физических нагрузках. Лактат метаболизируется печенью для нужд глюконеогенеза и остальными тканями как энергетический субстрат. Главные причины лактат-ацидоза:
     - *клинический шок (кардиогенный и септический).* Накопление лактата обусловлено падением артериального давления, приводящего, с одной стороны, к ухудшению кровоснабжения тканей и возникновению тканевой гипоксии, а с другой – к угнетению способности печени метаболизировать лактат. Накопление лактата при любом виде шока – плохой прогностический признак.
     - *болезни печени.* Причина развития лактацидоза указана выше.
     - *анемии любого генеза;*
     - *почечная недостаточность;*
     - *дефицит тиамина.* Недостаток тиамина (витамина $B_1$ – кофермента декарбоксилаз) приводит к нарушению окислительного декарбоксилирования пирувата (аэробный путь утилизации пирувата) и его практически полному превращению в лактат (анаэробный путь).
     - *алкалоз.* Уровень лактата возрастает при тяжелых формах алкалоза, возможно в связи активацией гликолитических ферментов;
     - *действие некоторых лекарств* (адреналин, нитрорпруссид, бигуаниды).
     - *отравления спиртами* (этиловым, метиловым, этиленгликолем).

2. **Метаболический ацидоз с нормальным АИ (гиперхлорэмический метаболический ацидоз).**

- Потеря бикарбоната почками

*1.* проксимальный канальцевый ацидоз, характеризующийся сниженной реабсорбцией бикарбоната в проксимальных канальцах нефрона. Встречается при *нефоротическом синдроме, цистинозе, системной красной волчанке, множественной миеломе, гепатолентикулярной дегенерации, отравлениях тяжелыми металлами;*

*2.* дистальный канальцевый ацидоз при *отравлениях тяжелыми металлами, системной красной волчанке, обструктивной уропатии, синдроме Шегрена.*

*3.* гиперкалиемический почечный канальцевый ацидоз. Гиперкалиемия характеризуется пониженной экскрецией аммиака, уменьшением образования бикарбоната, снижением способности буферных систем к нейтрализации нелетучих кислот.

4. ингибирование карбоангидразы диуретиками (диакарб, мафенид);

- потеря бикарбоната через ЖКТ.

**Клиническая картина метаболического ацидоза**

Клинические проявления метаболического ацидоза связаны с основным заболеванием. Ключевой клинический симптом для постановки диагноза метаболлического ацидоза– дыхание Куссмауля. При pH крови меньше 7,2 может быть снижен сердечный выброс. Ацидоз может сопровождаться появлением резистентности к сосудосуживающему действию катехоламинов и возникновением вследствие этого артериальной гипотензии. Возникающая одновременно резистентность к инсулину потребует увеличения доз инсулина при прогрессировании диабетического кетоацидоза. Диагноз ставится с обязательным учетом результатов определения газов артериальной крови и электролитов сыворотки. Характерным будет снижение уровня бикарбоната с компенсаторным повышением $pCO_2$ крови. Содержание хлоридов в сыворотке будет различно в зависимости от величины АИ.

**Дыхательный ацидоз**

Дыхательный ацидоз характеризуется первичным повышением $pCO_2$ и компенсаторным увеличением $HCO_3^-$. Последнее представляет физиологическую реакцию на первичный дыхательный ацидоз и может привести к вторичному дыхательному алкалозу. Дыхательный ацидоз сопутствует *бронхообструктивным заболеваниям*, например возникает при приступах бронхиальной астмы. Любое угнетение функции легких приводит к дыхательному ацидозу.

*Заболевания, сопровождающиеся развитием дыхательного ацидоза*

***первичное поражение легких*** (альвеолярно-капиллярная дисфункция), приводящая к накоплению $CO_2$;

- ***нервно-мышечные заболевания***. Любая патология дыхательной мускулатуры приводит к снижению вентиляции и увеличению $pCO_2$;
- ***заболевания ЦНС***. Любое тяжелое повреждение ствола мозга может сочетаться со снижением вентиляционной способности легких и увеличением р $CO_2$;

- ***действие лекарственных препаратов,*** угнетающих ЦНС и мышечные сокращения.

**Различия и сходство дыхательного и метаболического ацидоза**

1. важнейший отличительный признак дыхательного ацидоза – отсутствие дыхания Куссмауля;
2. концентрация $HCO_3^-$ в крови увеличена при дыхательном ацидозе и снижена при метаболическом;
3. для коррекции метаболического ацидоза, например диабетического кетоацидоза, назначают капельное введение в кровоток раствор гидрокарбоната натрия. При дыхательном ацидозе это бесполезно и даже противопоказано, т.к. ускоряет развитие метаболического алкалоза.
4. Остальные признаки дыхательного и метаболического ацидоза, а именно понижение сердечного выброса, резистентность к катехоламинам и инсулину идентичны.

**Метаболический алкалоз**

Метаболический алкалоз характеризуется первичным повышением $HCO_3^-$ в крови с компенсаторным повышением $pCO_2$. Увеличение $pCO_2$ является физиологической реакцией на первичный метаболический алкалоз и приводит к вторичному дыхательному ацидозу, проявляющемуся клинически угнетением и ослаблением дыхания.

Метаболический алкалоз распространен у больных в отделении интенсивной терапии, вероятно за счет широкого и часто необоснованного назначения диуретиков, плохо поддаются коррекции. При повышении pH сыворотки крови более 7,55 летальность достигает 40%. У больных метаболическим алкалозом развиваются различные расстройства, отягощающие состояние больного, и осложняющие как диагностику, так и лечение этого состояния. Главная же сложность связана со способностью алкалоза поддерживать самого себя даже при устранении некоторых вызвавших его причин. Считается, что это связано с истощением запасов хлоридов, ограничивающим экскрецию ионов $HCO_3^-$ почками путем усиления реабсорбции и угнетения их секреции в почечных канальцах.

*Типы метаболического алкалоза.*

Выделяют два типа метаболического алкалоза, связанных с задержкой бикарбоната почками и различающихся по ответу на терапию хлоридом натрия и по содержанию хлоридов в моче.

**Хлоридчувствительный метаболический алкалоз**

Потеря хлоридов через желудочно-кишечный тракт или с мочой превышает выведение натрия. Концентрация хлоридов в моче менее 10ммоль/л. Потеря хлоридов приводит к задержке натрия и $HCO_3^-$ почками. Этот тип алкалоза легко устраняется введением в организм хлорида натрия. Причинами данного типа алкалоза являются *рвота* и *диарея* (потеря хлоридов через желудочно-кишечный тракт) или *применение диуретиков* (потеря хлоридов с мочой).

**Хлоридрезистентный метаболический алкалоз**

Развивается в результате прямой задержки $HCO_3^-$ почками независимо от потребления и потери электролитов. Концентрация хлоридов в моче более 10ммоль/л. Применение в качестве лекарственного средства хлорида натрия в данном случае неэффективно. Причиной этого типа алкалоза является *гиперкортицизм любой этиологии, введение в кровь растворов бикарбоната натрия*, например при восстановлении сердечной деятельности, *синдромы Барттера* и *Гительмана*. Синдром Барттера представляет наследственное заболевание с выраженным снижением объема циркулирующей крови из-за потери солей почками, сочетающееся с низким артериальным давлением, гипокалиемическим алкалозом, повышенным выведением кальция с мочой и нормальным содержанием в крови магния. При синдроме Гительмана дополнительно обнаруживают гипокальциурию и гипомагниемию. Гипокалиемия приводит к увеличению продукции простагландинов в почках, усилению секреции альдостерона как прямо, так и через ренин – ангиотензиновую систему. Пациенты тяжело больны с рождения.

***Клиническая картина.*** Редкое и поверхностное дыхание, изменения в центральной и периферической нервной системе: нарушения сознания различной степени выраженности, парестезии, предрасположенность к судорогам, а также увеличение сердечного выброса.

**Дыхательный алкалоз**

Характеризуется первичным снижением $pCO_2$, вследствие альвеолярной гипервентиляции и компенсаторным уменьшением $HCO_3^-$. Любое нарушение, связанное с центральной или периферической стимуляцией дыхательного центра, приводит к развитию первичного дыхательного алкалоза. Дыхательный алкалоз встречается при *грамотрицательном сепсисе, отравлениях салицилатами, заболеваниях ЦНС, печеночной недостаточности, гипервентиляции при проведении ИВЛ, гипертиреозе, беременности*. ***Клиническая картина*** аналогична таковой при метаболическом алкалозе. ***Диагностика*** основана на измерении параметров газов артериальной крови, выявлении повышенного содержания хлоридов в сыворотке, снижении уровня ионизированного кальция.

**Особенности КОС у детей**

Регуляция КОС крови и внеклеточной жидкости на протяжении всего периода детства обеспечивает постоянство концентрации ионов водорода, хотя в периоде новорожденности и у детей раннего возраста диапазон физиологических колебаний шире, чем у взрослых.

Более низкие значения $pC0_2$ в крови новорожденных и детей раннего возраста по сравнению со взрослыми объясняются большей частотой дыхания, однако и в этом случае среднее значение избытка основания (BE) у детей является отрицательной величиной, т. е. фактически имеет место дефицит оснований, связанный с постоянным образованием нелетучих органических кислот и их недостаточным выведением почками. Эти особенности предопределяют склонность маленьких детей к ацидозу, особенно выраженную в период новорожденности.

Буферная емкость крови снижается после рождения и достигает у детей величин, характерных для взрослых людей, только к пубертатному периоду. Особенно резко

снижается буферная емкость крови при анемиях в связи с важным значением буферных свойств гемоглобина.

В ходе родовой деятельности в организме матери накапливаются нелетучие кислоты и развивается ацидоз. Определенная часть протонов поступает в кровь плода. Это положение усугубляется при нарушениях кровообращения у матери, токсикозах беременности, преждевременной отслойке плаценты или пережатии пупочных вен.

При тяжелом течении родов плацента поглощает кислород в большей степени, чем плод, и развивается гипоксия плода. В организме плода начинает преобладать анаэробный путь распада глюкозы и образующаяся молочная кислота не успевает выводиться почками. Возникает метаболический ацидоз и соответственно его тяжести - клиническая симптоматика у новорожденных. Опасность для жизни новорожденного возникает при снижении pH крови ниже 7,0. Надежда спасти его при быстром и энергичном лечении существует при снижении pH до 6,85. Умеренный хронический ацидоз в случаях некоторых наследственных нарушений обмена веществ является одной из причин задержки роста и развития ребенка. Тяжелый ацидоз сопутствует синдрому дыхательных расстройств у новорожденных. Даже у здоровых детей, родившихся без признаков гипоксии, значения pH крови в первые часы (сутки) ниже, чем у более старших детей и колеблются в пределах 7,29-7,38. Такой «пограничный» ацидоз здоровых новорожденных исчезает на 3-й сутки. У детей, родившихся с низкой массой тела, он может продолжаться дольше.

У недоношенных детей метаболический ацидоз развивается значительно чаще. При этом различают ранний ацидоз (первые дни жизни) и поздний (2-3 недели жизни). В связи с угрозой ацидоза у недоношенных не рекомендуется увеличивать содержание белков в их рационе свыше 4 г/кг массы тела и назначать кислые молочные смеси. Поздний ацидоз недоношенных может быть связан с интенсивным анаэробным гликолизом, низкой активностью дыхательных ферментов, ограниченной способностью почек к выведению ионов $H^+$ .

Вследствие интенсивного обмена веществ у грудных детей количество образующихся ионов $H^+$ в расчете на единицу массы тела в 2-3 раза превышает их образование у взрослых. Образование $C0_2$ у новорожденных (330ммоль/кг сутки) также выше, чем у взрослых (286ммоль/кг сутки). Несмотря на интенсивное кислотообразование, детский организм поддерживает равновесие кислот и оснований, но оно легко нарушается в связи с частыми заболеваниями органов дыхания и при анемиях. Наибольшая роль в регуляции КЩС у маленьких детей принадлежит буферным системам внеклеточной жидкости. Так, содержание бикарбонатов у детей составляет 8ммоль/кг массы тела, а у взрослых — 5ммоль/кг. Мощность фосфатного буфера у грудных детей зависит от поступления фосфатов с молоком. При вскармливании ребенка грудным молоком, содержащим относительно мало фосфатов, ионы H+ выводятся почками преимущественно в виде солей аммония, а при поступлении больших количеств фосфатов с коровьим молоком выведение ионов $H^+$ осуществляется в виде анионов $H_2PO_4^-$.

Новорожденные при естественном вскармливании выводят с мочой — 0,7 ммолей ионов $H^+$/кг массы тела, а при искусственном вскармливании — до 1,7ммолей $H^+$/кг массы, т. е. более, чем в 2 раза.

Способность почек к выведению кислых продуктов обмена постепенно возрастает в течение первого года жизни. Одним из ограничивающих факторов является низкая

величина клубочковой фильтрации, в связи с чем в канальцы поступает недостаточное количество буферных анионов. Предел реабсорбции ионов $HC0_3^-$ у грудных детей составляет 22ммоль/л, у взрослых 25-28ммоль/л, что свидетельствует о недостаточной экономии их почками. Регуляция КОС становится более устойчивой у здоровых детей после первого года жизни.

Таким образом, существенная особенность регуляции КОС у детей состоит в более широком, чем у взрослых диапазоне колебаний нормальных показателей, и в то же время, **в** ограниченном объеме адаптивных реакций при нагрузках. Если физиологические нормы показателей КОС устанавливаются рано - уже в первые дни жизни, то способность противостоять нагрузкам и буферные свойства крови и тканей развиваются **в** более поздние периоды жизни.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Назовите виды нарушений КОС.
2. Как классифицируют нарушения КОС в зависимости от вызвавшей их причины?
3. В чем состоят первичные изменения показателей КОС при:
   a. Дыхательном ацитозе?
   b. Дыхательном алкалозе?
   c. Метаболическом ацидозе?
   d. Метаболическом алкалозе?
4. В чем состоят вторичные изменения показателей КОС при:
   b. Дыхательном ацитозе?
   c. Дыхательном алкалозе?
   d. Метаболическом ацидозе?
   e. Метаболическом алкалозе?

## ЭНЗИМОДИАГНОСТИКА

***Энзимодиагностика*** - одно из направлений клинической биохимической лабораторной диагностики, связанное с определением активности ферментов в биологических жидкостях и тканях с целью постановки диагноза, оценки тяжести и прогноза заболевания, контроля за эффективностью проводимого лечения. Благодаря интенсивному развитию энзимологии, выделению и характеристике свойств многочисленных ферментов, выяснению их роли в развитии болезней, развитию методов регистрации активности ферментов к середине XX века исследование ферментов прочно вошло в практику работы каждой клинико-диагностической лаборатории, а сама энзимодиагностика стала неотъемлемой составной частью клинической лабораторной диагностики.

Какие же задачи решает энзимодиагностика?

Существует многочисленная группа наследственных заболеваний, обусловленных врожденным дефицитом тех или иных ферментов. Подобные болезни весьма многочисленны, хотя встречаются нечасто. К числу энзимопатий относятся нарушения обмена гликогена в печени – гликогенозы и агликогенозы, непереносимость молочного сахара у грудных детей – галактоземия, отложения гетерополисахаридов в соединительной ткани – мукополисахаридозы, нарушения обмена аминокислот – фенилкетонурия, алкаптонурия, альбинизм, тирозиноз, цистинурия, гемолитические анемии, связанные с дефицитом активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и некоторых

ферментов гликолиза, и многие другие заболевания. Иногда причина болезни может состоять не в отсутствии фермента, а в недостаточном образовании его ингибитора. Например, врожденный дефицит синтеза ингибитора трипсина ($\alpha_1$-антитрипсина) в печени лежит в основе развития эмфиземы легких. Поэтому, ***одной из задач энзимодиагностики является выявление отсутствия того или иного фермента для постановки диагноза врожденной энзимопатии.***

Как мы уже отмечали выше, наследственные энзимопатии – относительно редко встречающиеся заболевания, и их выявление, хотя и представляет весьма важную задачу, не составляет основного раздела энзимодиагностики. Несопоставимо чаще определение активности ферментов помогает поставить диагноз болезней, с которыми ежедневно сталкиваются врачи. Пожалуй сегодня уже не найти заболевания, при котором ***для подтверждения диагноза, оценки прогноза или контроля за эффективностью проводимого лечения*** не предлагалось бы определять в крови или моче активность каких-либо ферментов. Столь широкое внедрение энзиматических исследований в практику работы клинико-диагностических лабораторий связано с тем, что в патогенезе большинства заболеваний важная роль принадлежит повреждениям клеток, заканчивающимся их разрушением и выходом в кровь содержимого. Определяя в крови компоненты клеток, можно с уверенностью локализовать очаг поражения, т.е. осуществить топическую диагностику. Ферменты, как никакие другие компоненты клетки, подходят на роль клеточных маркеров. Во-первых, для многих ферментов характерна органная и тканевая специфичность. Во-вторых, в отличие от большинства субстратов, определяемых сегодня в диагностических лабораториях колориметрическими методами только в более или менее существенных количествах, даже минимальное количество фермента легко обнаружить по его специфическому каталитическому действию. Таким образом, определение активности ферментов в крови в качестве маркеров определенных органов и тканей обладает двумя очевидными преимуществами – ***специфичностью*** и ***высокой чувствительностью***.

В клинической лабораторной диагностике основным материалом, в котором измеряют активность ферментов, является сыворотка (плазма) крови, реже цельная кровь и моча. В последние годы в связи с внедрением высокочувствительных методов и развитием неинвазивной диагностики предлагается использовать в качестве материала для исследования слюну, пот, клетки кожи и даже конденсат выдыхаемого воздуха. Однако, пока это является уделом преимущественно научных исследований и не получило широкого распространения в клинической практике. Очень редко активность ферментов определяют в биоптатах из тканей. Кровь и поныне остается главным материалом для измерения активности ферментов, и поэтому представляет интерес более подробно познакомиться с присутствующими в ней ферментами.

## ФЕРМЕНТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Ферменты, обнаруживаемые в плазме крови, делятся на две группы: ***плазмоспецифичные*** и ***органоспецифичные (индикаторные) ферменты***. Физиологическая функция плазмоспецифичных ферментов реализуется непосредственно в плазме крови, куда они секретируются, преимущественно печенью. Диагностическое значение, за редкими исключениями, имеет уменьшение их активности - ***гипоферментемия,*** являющаяся признаком нарушения функции продуцирующего их

органа, и способная выполнить роль пускового звена патологического процесса, например, нарушения свертывания крови.

Органоспецифичные ферменты выполняют свою физиологическую функцию в клетках различных органов, при повреждении которых они в больших количествах переходят в кровяное русло и определяются в плазме крови. Диагностическое значение имеет увеличение активности этих ферментов в крови - ***гиперферментемия.***

В группу плазмоспецифичных ферментов входят ***лецитин: холестерин-ацилтрансфераза (ЛХАТ),*** осуществляющая эстерификацию свободного холестерина преимущественно в ЛПВП, ***гепаринчувствительная липопротеидлипаза,*** гидролизующая триглицериды, входящие в состав хиломикронов и ЛПОНП, ***холинэстераза,*** разрушающая ацетилхолин, ***лизоцим,*** обеспечивающий бактерицидные свойства крови в результате гидролиза р-1,4-гликозидных связей между N-ацетилглюкозамином и N-ацетилмурамовой кислотой гликопротеинов бактериальных стенок, ***белковые факторы систем свертывания крови, фибринолиза и кининогенеза*** (***тромбин, плазмин, кининоген и др.***), относящиеся к группе протеаз, тесно связанных с трипсиновой и антитрипсиновой активностью плазмы крови, ***ренин*** - плазмаспецифичный фермент, синтезируемый юкстагломерулярными клетками почек и участвующий в регуляции кровяного давления, а также целый ряд других ферментов. Диагностическое значение определения активности плазмоспецифичных ферментов, как уже указывалось, невелико. Снижение их активности указывает на повреждение продуцирующего эти ферменты органа — чаще всего печени и имеет самостоятельное патогенетическое значение для развития того или иного патологического процесса.

Значительно больший клинический интерес представляет измерение в плазме крови активности органоспецифичных ферментов с целью топической диагностики, т. е. для решения вопроса - какой орган и в какой степени поврежден. Каждый орган имеет характерный для него набор ферментов, которые выходят в кровь при развитии в этом органе патологического процесса. Начальные стадии повреждений, при которых целостность клеток еще не нарушена, но проницаемость клеточных мембран уже увеличена, сопровождаются выходом в кровь растворимых ферментов цитозоля ***(альдолаза, аланинаминотрансфераза, лактатдегидрогеназа, гексокиназа, пируваткиназа и др.)***. При более глубоких повреждениях, когда происходит разрушение клеток вплоть до некроза, в плазме крови появляются ферменты, связанные с клеточными органеллами - митохондриями, лизосомами, эндоплазматическим ретикулумом ***(цитохромоксидаза, кислая фосфатаза, глюкуронидазы, лизоцим*** и др.). Скорость выхода ферментов из клеток, а следовательно и степень гиперферментемии, в целом, тем выше, чем обширнее очаг повреждения и чем богаче клетки данным ферментом, однако строгой пропорциональности может и не быть.

Некоторые органоспецифичные ферменты или изоферменты ***высокоспецифичны*** для того или иного органа, и их повышенная активность в плазме крови часто позволяет по одному этому признаку сделать правильное заключение о том, какой орган поврежден. Например, повышение в плазме крови активности, ***креатинкиназы, изофермента лактатдегидрогеназы ЛДГ$_1$*** позволяет с уверенностью утверждать об инфаркте миокарда и других повреждениях сердечной мышцы. Увеличение в крови ***аланинаминотрансферазы, аланинаминопептидазы, лейцинаминопептидазы, изоформы лактатдегидрогеназы ЛДГ$_5$, глутаматдегидрогеназы*** характерно для заболеваний паренхимы печени. Для

поражения костного скелета характерно увеличение в крови активности ***щелочной фосфатазы (***впрочем активность этого фермента, в крови увеличена также при холангитах), почек - ***сукцинатдегидрогеназы, глицинамидинотрансферазы, лизоцима, урокиназы***, поджелудочной железы - ***трипсина, кининогена, эластазы, дезоксирибонуклеазы 1, α-амилазы, липазы, фосфолипазы*** $A_2$. Другие ферменты менее специфичны, поскольку присутствуют в различных органах и тканях. В этом случае диагностически информативной оказывается комбинация из нескольких ферментов.

Ниже будут рассмотрены некоторые типичные ферменты, определение которых в крови в целях диагностики получило наибольшее распространение в клинике.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Что такое энзимодиагностика?
2. Какие группы ферментов выделяют в плазме крови?
3. Какие группы заболеваний можно выявить с помощью энзимодиагностики?
4. Какими преимуществами обладает определение активности ферментов в крови в качестве
5. маркеров определенных органов и тканей?
6. В каком биологическом материале определяют активность ферментов?

## АМИНОТРАНСФЕРАЗЫ

***Аминотрансферазы*** или ***трансаминазы*** катализируют реакции синтеза заменимых аминокислот путем переаминирования, т.е. переноса аминогрупп с аминокислоты на кетокислоту с образованием новой аминокислоты и новой кетокислоты.

Наибольший клинико-диагностический интерес представляют две трансаминазы: ***аспартатаминотрансфераза*** и ***аланинаминотрансфераза.*** Хотя органная специфичность аминотрансфераз невелика, но все же активность первого фермента наиболее высока в *сердечной мышце*, второго – в *печени*. В крови активность этих ферментов у здорового человека незначительная, но повышается при заболеваниях сердца и печени за счет выхода ферментов в кровоток из разрушенных клеток. Выявление в крови повышенной активности трансаминаз позволяет проводить дифференциальную топическую диагностику.

***Аспартатаминотрансфераза (АСТ***) - L-аспартат: 2-оксоглутаратаминотрансфераза (КФ 2.6.1.1) катализирует реакцию переноса аминогруппы с аспарагиновой кислоты на альфа-кетоглутаровую:

Альфа-кетоглутарат + L-аспартат = L-глутамат + оксалоацетат

Реакция обратима и по обратной реакции фермент имеет второе название ***глутамат: оксалоацетататтрансаминаза (ГОТ).***

АСТ присутствует в *сердце, скелетной мускулатуре, печени, нервной ткани, почках.* Незначительная активность АСТ обнаруживается в *крови*. Во всех тканях имеются 2 изофермента АСТ – цитозольный (ц-АСТ) и митохондриальный (м-АСТ). При электрофорезе м-АСТ движется к катоду, ц-АСТ к аноду. Оба изофермента состоят из двух цепей, но имеют некоторые различия по кинетических характеристикам.

***Аланинаминотрансфераза (АЛТ)*** - L-аланин: 2-оксоглутаратаминотрансфераза (КФ 2.6.1.2) или ***глутамат: пируваттрансаминаза (ГПТ)***, катализирует реакцию переноса аминогруппы между аланином и альфа-кетоглутаратом:

L-аланин + альфа-кетоглутарат = пируват + L-глутамат

АЛТ содержится в *печени, почках, скелетных мышцах, миокарде, поджелудочной железе*. В крови здоровых людей активность АЛТ невелика. АЛТ также представлена двумя изоферментами ц-АЛТ и м-АЛТ, но митохондриальная изоформа нестойкая, и ее активность в клетке низкая.

***Нормальные величины***

**АСТ**, 30-340 нмоль $с^{-1}л^{-1}$; 2-20 МЕ/л; **АЛТ** 30-420 нмоль $с^{-1}л^{-1}$; 2-25 МЕ/л. Соотношение активности **АСТ/АЛТ** (коэффициент Де Ритиса) 1,33±0,40.

***Клиническое значени***

Несмотря на отсутствие органной специфичности, определение АСТ, АЛТ при ***заболеваниях печени и сердца*** имеет большую диагностическую ценность. В остром периоде инфаркта миокарда активность АСТ в сыворотке крови возрастает уже через 4-6 часов и снижается до нормальных значений на 3-7 день.

Особенно важное значение имеет определение активности аминотрансфераз для раннего выявления ***острого гепатита.*** Заболевание сопровождается резким повышением АЛТ. АСТ также повышена, но обычно ее активность ниже, чем АЛТ. Активность АЛТ начинает возрастать уже в продромальный период заболевания, когда другие признаки болезни еще не появились. Коэффициент Де Ритиса АсАТ/АлАТ < 1. При тяжелом поражении печени соотношение активности ферментов меняется. Кроме гепатита возрастание активности аминотрансфераз характерно для ***холецистита, паразитарных болезней, острого панкреатита, псориаза***.

Активность аминотрансфераз в крови возрастает при ***действии на организм низких температур*** и ***избытке в организме железа***. При всех этих заболеваниях и состояниях в патологический процесс в большей или меньшей степени вовлечена печень. Увеличение активности ферментов при ***приеме лекарственных препаратов*** свидетельствует об их гепатотоскическом действии. Возрастание активности аминотрансфераз наблюдается и у здоровых людей ***при диете, богатой белком*** или ***содержащей до 25% сахарозы*** и у ***доноров.***

Практический интерес представляет влияние на активность трансаминаз лекарственных препаратов, не обладающих выраженным гепатотоксическим эффектом. К ним относится много представителей различных классов лекарственных средств (аспирин, индометацин, сульфаниламиды, линкомицин, тетрациклины, эритромицин, анаболические стероиды, тестостерон, прогестерон, пероральные контрацептивы, барбитураты, препараты железа и меди). Из перечисленных средств активность АСТ повышают: стероидные анаболики, андрогены, пероральные контрацептивы. Активность АЛТ возрастает при приеме гиполипидемических препаратов и особенно антибиотиков.

Определенное диагностическое значение имеет определение изоферментов трансаминаз, впрочем не получившее широкого распространения. Отношение м-АСТ/общая АСТ снижено при ***остром гепатите*** и не меняется при закупорке желчных

протоков, алкогольном поражении печени, метастазах в печень. Высокая активность м-АСТ в сыворотке крови свидетельствует о некротических абсцессах в гепатоцитах.

Активность АСТ в крови увеличивается при ***туберкулезе легких, септической инфекции, вирусной инфекции, опухолях*** разной локализации. Снижается активность АСТ при ***малярии и беременности***. Активность фермента не изменяется при заболеваниях легких: пневмонии, эмболии легочной артерии, абсцессах легких, а также при ревматоидном артрите.

Предлагается измерять активность АСТ в сыворотке крови как прогностический тест при остром лейкозе.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Назовите трансаминазы, представляющие наибольший клинический интерес.
2. В каких органах преобладает АЛТ?
3. В каких органах преобладает АСТ?
4. Назовите физиологические значения активности АЛТ и АСТ.
5. Охарактеризуйте диагностическую значимость определения активности трансаминаз.

## α-АМИЛАЗА

***α-Амилаза*** (1,4-α-D-глюкан-4-глюканогидролаза, КФ 3.2.1.1.) - один из первых открытых ферментов; катализирует гидролиз α-1,4-гликозидных связей крахмала, гликогена и родственных им полисахаридов до мальтозы, декстринов и других полимеров. У человека α-амилаза секретируется *поджелудочной* и *слюнными железами*, небольшая ее активность обнаруживается в тканях *печени* и *скелетной мускулатуры*. Молекулярная масса α-амилазы относительно низкая (48 000). Поэтому в отличие от большинства ферментов она фильтруется в клубочках почек и содержится в моче. α-Амилаза состоит из двух изоферментов: панкреатического (П-тип) и слюнного (С-тип), каждый из которых делится на несколько фракций. Изоферменты происходят соответственно из поджелудочной и слюнной желез. Существует также макроамилаза, которая не выделяется почками из-за большой величины молекулы, но может встречаться в сыворотке крови в норме и при патологии. У здоровых людей в сыворотке крови около 70 % амилолитической активности приходится на слюнной изофермент, в моче приблизительно такой же процент приходиться на панкреатическую изоамилазу. Два изофермента α-амилазы имеют почти идентичные каталитические и иммунологические свойства, незначительно отличаются по электрофоретической подвижности, но разделяются при гельфильтрации на ДЭАЭ-сефадексе.

***Нормальные величины***

*Сыворотка крови*: 3,3-8,9 мг $с^{-1}л^{-1}$, или 12-32 мг $ч^{-1}мл^{-1}$. *Моча*: до 44 мг $с^{-1}л^{-1}$, или до 120 мг $ч^{-1}мл^{-1}$. *Дуоденальное содержимое*: 1,7-4,4 г $с^{-1}л^{-1}$, или 6-16 г $ч^{-1}мл^{-1}$.

***Клиническое значение***

Гиперамилаземия и гиперамилазурия наблюдаются при многих заболеваниях, но наиболее выражены ***при остром панкреатите,*** при котором активность увеличивается в основном (до 90% и более) за счет панкреатического изофермента. Наибольший подъем активности амилазы в крови и моче отмечен в первые трое суток с начала болезни. Гиперамилазурию панкреатического происхождения вызывают также такие заболевания,

как вирусный гепатит, рак поджелудочной железы. К гиперамилаземии не панкреатического происхождения относят ***поражение слюнных желез, почечную недостаточность***. Причинами повышения α-амилазы в крови являются нарушения ее естественной секреции железами, вырабатывающими α-амилазу, недостаточное выведение ее почками. Имеется ряд заболеваний, при которых трудно объяснить наличие гиперамилаземии, например, при ***холецистите, перитоните, ожогах, остром аппендиците***.

Гиперамилаземию вызывают многие ***фармакологические средства*** - кортикостероидные препараты, салицилаты, тетрациклин, фуросемид, гистамин. Для α-амилазы крови характерны широкие внутри- и меж индивидуальные вариации. Наиболее информативным с диагностической точки зрения является определение панкреатической формы фермента.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Назовите физиологические значения активности ά-амилазы.
2. Охарактеризуйте диагностическую значимость определения активности ά -амилазы
3. Почему активность ά -амилазы определяется в моче?

## γ-ГЛУТАМИЛТРАНСФЕРАЗА

***γ-Глутамилтрансфераза (γ-ГТП)*** [(5-глутамил)-пептид: аминокислота-5-глутамилтрансфераза или ***γ-глутамилтранспептидаза;*** КФ 2.3.2.2.] катализирует реакцию переноса γ-глутамилового какого либо олигопептида на акцепторную L-аминокислоту или другой пептид. Эта реакция обеспечивает транспорт аминокислот в клетки. В роли олигопептида – донора γ-глутамилового остатка часто выступает трипептид ***глутатион (глу-цис-гли).*** γ-ГТП состоит из одной полипептидной цепи, содержащей гидрофильный и гидрофобный фрагменты. В гидрофильной области расположен активный центр, а гидрофобной областью фермент связан с клеточной мембраной. На поверхности мембраны образуется тройной комплекс аминокислота – γ-ГТП – глутатион. γ-карбоксил глютаминовой кислоты, входящей в состав глутатиона, образует пептидную связь с аминогруппой переносимой в клетку аминокислоты. По типу челнока этот комплекс переносит аминокислоту в клетку.

γ-ГТП обеспечивает реабсорбцию аминокислот из первичной мочи и, по видимому, участвует во всасывании аминокислот в кишечнике и переносе их через плаценту. Биологическая роль γ-ГТП также связана с регуляцией уровня глутатиона в тканях.

γ-ГТП содержится почти во всех органах человека, наибольшая удельная активность определяется в ткани *почек*. В порядке снижения удельной активности γ-ГТП в ткани располагаются в следующей последовательности: *почки, печень, поджелудочная железа, щеточная кайма клеток тонкого кишечника.* В скелетных мышцах и миокарде активность γ-ГТП не обнаружена. У здоровых людей активность фермента в *сыворотке крови* по сравнению с тканями не велика. Сывороточный фермент не является гомогенным. В зависимости от вида патологии количество фракций может меняться.

Активность γ-ГТП в *моче* выше, чем в крови. Фермент мочи имеет почечное происхождение. В мочу поступает при разрушении клеток проксимальных отделов канальцев, содержащих γ-ГТП в высоких концентрациях.

***Нормальные величины***

*Мужчины*: 250-1767 нмоль $с^{-1}л^{-1}$, или 15-106 МЕ/л; *женщины*: 167-110 нмоль$с^{-1}л^{-1}$, или 10-66 МЕ/л при $37^0$С. Более высокая активность фермента в крови мужчин связывается с влиянием андрогенов. Отмечена положительная корреляция между активностью фермента и массой тела. При беременности активность фермента снижается, особенно в первые недели. Плазма новорожденных содержит более активный фермент, чем у взрослых. У недоношенных детей фермент еще более активен. К 7-9 месяцам активность постепенно снижается и составляет 20-30% от активности взрослых, оставаясь на этом уровне до периода полового созревания.

***Клиническое значение***

Несмотря на высокую активность γ-ГТП в почках, определение активности фермента в сыворотке крови проводят преимущественно для диагностики заболеваний ***печени*** и ***желчевыводящих путей***. Повышение активности γ-ГТП наблюдается при ***заболеваниях желчных путей с явлениями обтурации, гепатитах, опухолях печени*** и ***метастазах в печень.***

При ***жировой инфильтрации печени***, вызванной слабыми токсическими воздействиями (прием алкоголя, лекарственных препаратов), отмечается умеренное увеличение активности γ-ГТП в крови. Более выраженное повышение активности фермента сопровождает вне- и внутрипеченочную обтурацию. Самая высокая активность γ-ГТП в крови развивается при ***закупорке желчного протока*** и ***злокачественных опухолях*** прямо или косвенно поражающих печень. При ***механической желтухе*** увеличение активности γ -ГТП в крови является чувствительным тестом в продромальный период, когда желтушность еще отсутствует.

Важное диагностическое значение имеет определение активности γ-ГТП в сыворотке крови при ***остром вирусном гепатите***. Длительное постепенное нарастание активности фермента в крови свидетельствует о развитии хронической формы заболевания.

При патологии печени активность γ-ГТП в сыворотке крови увеличивается, как правило, параллельно увеличению активности щелочной фосфатазы, но активность γ-ГТП возрастает раньше, держится на повышенных цифрах более длительное время и относительное увеличение активности фермента в несколько раз выше, чем щелочной фосфатазы.

***Наркотики, седативные средства, этанол*** индуцируют синтез γ-ГТП в печени. Поэтому γ-ГТП является чувствительным тестом для диагностики алкогольно-токсических заболеваний этого органа. Исследование изоферментов γ-ГТП не имеет большого диагностического значения. При острых панкреатитах активность фермента повышена незначительно.

Как было отмечено выше, в сердечной мышце у здоровых людей активность γ-ГТП не выявляется. Однако повышение активности этого фермента в сыворотке крови отмечено у 50% больных ***стенокардией***, а также у части пациентов с ***коронарной недостаточностью*** и ***недостаточностью кровообращения***. Механизмы повышения активности фермента при этих заболеваниях остаются невыясненными.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какую реакцию катализирует γ-ГТП? В чем состоит физиологическая роль этого фермента?
2. Назовите физиологические значения активности γ-ГТП у мужчин и женщин.
3. Для диагностики заболеваний каких органов исследуют активность γ-ГТП в плазме крови?
4. Охарактеризуйте диагностическую значимость определения активности -амилазы.
5. Какие лекарственные препараты влияют на определяемые значения активности γ-ГТП?

## ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАДЕГИДРОГЕНАЗА

***Глюкозо-6-фосфадегидрогеназа (Г-6-ФДГ)*** (D-глюкозо-6-фосфат: НАДФ$^+$-1-оксидоредуктаза; КФ 1.1.1.49.) впервые была изолирована из эритроцитов. Катализирует реакцию окисления глюкозо-6-фосфата в 6-фосфоглюконовую кислоту:

Глюкозо-6-фосфат + НАДФ$^+$ = 6-фосфоглюконат +НАДФН

Наибольшая активность фермента определяется в *эритроцитах*. Менее богаты Г-6-ФДГ *печень, поджелудочная железа, почки, легкие.*

***Нормальные величины***

В справочной литературе, как правило, не приводятся значения активности фермента у здоровых людей. Согласно результатам нашим многолетних измерений активности Г-6-ФДГ в крови людей различного возраста и пола у здоровых людей активность Г-6-ФДГв цельной крови при 25$^0$С составляет 3-8 мкмоль с$^{-1}$л$^{-1}$.

***Клиническое значение***

Дефицит активности Г-6-ФДГ эритроцитов относится к наиболее распространенным наследственным аномалиям; наследуется доминантно, клинически проявляется как гемолитическая анемия. При массовых обследованиях населения на выявление дефицита Г-6-ФДГ учитываются резко положительные и положительные результаты анализов, под которыми следует понимать отсутствие или снижение на 80-89% активности фермента в крови.

**Вопросы для самоконтроля**

1. В каких тканях определяется наибольшая активность Г-6-ФДГ?
2. Как проявляется врожденный дефицит Г-6-ФДГ?
3. Какие результаты учитываются при выявлении дефицита Г-6-ФДГ?

## КРЕАТИНКИНАЗА

***Креатинкиназа (КК)*** (АТФ: креатин N-фосфотранс-фераза; КФ 2.7.3.2.) катализирует обратимую реакцию фосфорилирования креатина с образованием креатин-N-фосфата.

Креатин + АТФ = Креатин фосфат + АДФ

***Креатинфосфат*** – главный запасной макроэрг сердечной *мышечной ткани*, особенно *сердечной мышцы*. Концентрация его в покоящихся мышцах на порядок

превышает концентрацию АТФ. Креатинфосфат содержит макроэргическую связь, расщепление которой сопровождается выделением 9ккал/моль или 5 кДж/моль. В зависимости от состояния мышцы КК реакция преимущественно протекает в прямом или в обратном направлениях. В состоянии покоя синтезируемый в ходе окислительного фосфорилирования АТФ передает свой фосфорильный остаток на креатин. При мышечных сокращениях АТФ быстро расходуется и КК реакция протекает, преимущественно, в обратном направлении.

КК содержится в цитоплазме и митохондриях *сердца*, *поперечно полосатой мускулатуры* и *ткани мозга*. Сведения о наличии умеренной активности КК в других органах и тканях противоречивы, во всяком случае, активность КК в них невелика по сравнению с активностью в мышечной и нервной ткани.

КК человека состоит из двух видов субъединиц – М и В, которые образуют три формы изоферментов. ММ-фракция - мышечный тип; МВ-фракция - сердечный тип и ВВ-фракция мозговой тип. В сыворотке крови изоферменты КК идентифицируют методом электрофореза. Наибольшей подвижностью обладает КК-ВВ, промежуточной КК-МВ и наименьшей КК-ММ.

***Нормальные величины***

До 100 нмоль $с^{-1}л^{-1}$ или до 6 МЕ/л. У мужчин активность несколько выше, чем у женщин вследствие большей массы мышечной ткани. Активность изоферментов КК в сыворотке крови у здоровых лиц колеблется в значительных пределах. Активность ММ-фракции составляет более 90%, МВ-фракции - менее 2 % от общей активности КК.

***Клиническое значение***

В сыворотке крови повышенная активность КК может быть следствием повреждения сердечной или скелетной мускулатуры. К поражениям сердечной мышцы, которые могут вызвать повышение активности фермента в сыворотке крови, относятся, прежде всего, ***инфаркт миокарда***, а также ***миокардиты, сердечная недостаточность, сердечная аритмия.*** Дискриминационный уровень значений активности КК при развитии инфаркта миокарда составляет 200 МЕ/л. Однако нельзя исключить наличие субэндокардиального инфаркта при активности КК 160-180МЕ/л. При инфаркте миокарда активность КК может увеличиться в 20-30 раз по сравнению с нормой, а при поражении скелетной мускулатуры достигает еще более высоких цифр. Подъем активности КК наступает через 4-8 часов после начала инфаркта миокарда, максимальная активность наблюдается через 16-36 часов и нормальные значения восстанавливаются к 3-6 дню. МВ-фракция КК является высокоспецифичной для сердечной мышцы. Увеличение ее доли выше 6% от общей активности КК свидетельствует о наличие инфаркта миокарда. Возрастание активности КК в сыворотке крови, при котором доля КК-МВ меньше 6% от обще КК, характерно для поражения скелетных мышц.

Повышение активности КК может быть вызвано и рядом других причин - ***употреблением алкоголя, отравлением снотворными средствами, внутривенным введением ряда лекарственных веществ***. Активность фермента в сыворотке крови также возрастает при ***травмах, переохлаждении и перегревании организма, голодании, бактериальной интоксикации, дегидратации, поражении электротоком, отравлении угарным газом, миоглобинурии***.

Исследование изоферментов КК обладает большей информативностью Увеличение в крови активности КК-МВ происходит при ***выраженной недостаточности кровообращения, катетеризации сердца, отеках легких, аритмиях, кардиогенном шоке, алкогольной интоксикации, кровотечениях из ЖКТ, травме грудной клетки,*** но в этих ситуациях повышение КК-МВ составляет до 6% от общей КК.

Активность КК в сыворотке крови может возрастать и за счет двух других изоферментов. Выход в кровь КК-ММ имеет место при ***тяжелых физических нагрузках, прогрессирующей мышечной дистрофии, мышечных инъекциях, хирургических операциях.*** Повышение активности может достигать 8-90 раз. Увеличение активности КК-ВВ отмечается при ***гипоксическом поражении мозга***, особенно при перинатальной гипоксии. Выявляется у 50% новорожденных родившихся в условиях асфиксии. Активность КК-ВВ в крови увеличена при ***аортокоронарном шунтировании*** и проведении других операций на кровеносных сосудах. Возрастание активности КК-ВВ в крови сопровождает ***онкологические заболевания***. Существует мнение, что увеличенная активность КК-ВВ служит неспецифическим маркером опухолевого процесса.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какую роль выполняет в организме креатинфосфат? В каких тканях он содержится в существенныхз концентрациях?
2. Какую реакцию катализирует КК?
3. Охарактеризуйте строение и органную специфичность изоферментов КК.
4. Какая фракция КК специфичная для сердечной мышцы?
5. Назовите физиологические значения общей активности КК и ее изоферментов в плазме крови.
6. Охарактеризуйте диагностическую значимость определения активности КК и ее изоферментов.
7. Какие факторы влияют на определяемые значения активности КК?

## ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА,
## изоферменты лактатдегидрогеназы

***Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)*** (L-лактат: НАД$^+$-оксиредуктаза:, КФ 1.1.1.27.) - гликолитический фермент, катализирует обратимую реакцию восстановления пировиноградной кислоты в молочную.

$$ПВК + НАДН = лактат + НАД^+$$

ЛДГ состоит из 5 изоферментов, представляющих собой различные комбинации двух типов полипептидных цепей (М- и Н-цепи). Изофермент, преобладающий в мышечной ткани и ткани печени, состоит из 4 идентичных М-цепей и его обозначают М4 ($ЛДГ_5$); преобладающий в ткани *сердца* содержит 4 идентичные Н-цепи - Н4 ($ЛДГ_1$). Остальные три изофермента представляют собой различные сочетания М- и Н-цепей, а именно М3Н ($ЛДГ_2$) М2Н2 ($ЛДГ_3$), МН3 ($ЛДГ_4$). Н-цепи преобладают в тканях с аэробным метаболизмом (*миокард, мозг, почки*). М-цепи более характерны для тканей, в которых превалирует анаэробный распад веществ (*печень, скелетные мышцы*). Поэтому изоформу $ЛДГ_1$ (сердечную) рассматривают как аэробную, а изоформу $ЛДГ_5$ (печеночную)– как анаэробную. Аэробная и анаэробная изоформы ЛДГ различаются по

сродству к субстрату – ПВК. У анаэробной формы это сродство высокое, а у аэробной – низкое. Поэтому в тканях с анаэробным метаболизмом $ЛДГ_5$ эффективно связывает ПВК и восстанавливает его в лактат. В тканях, в которых преобладает аэробный распад, $ЛДГ_1$ не может составить конкуренции ПВК-дегидрогеназному комплексу, и ПВК преимущественно подвергается окислительному декарбоксилированию. Образующийся при этом ацетил-КоА сгорает в цикле трикарбоновых кислот. В зависимости от кровоснабжения тканей соотношение в них аэробной и анаэробной изоформ ЛДГ может изменяться с сопутствующей перестройкой метаболизма с аэробного на анаэробный или наоборот.

***Нормальные величины***

До 3200 нмоль $с^{-1}л^{-1}$ или до 195 МЕ/л, при $+25^0$С до 5330 нмоль $с^{-1}л^{-1}$, или до 320 МЕ/л при $+30^0$С. Соотношение фракций ЛДГ по данным различных авторов составляет: $ЛДГ_1$ - 19-29%, $ЛДГ_2$ - 23-37%; $ЛДГ_3$ - 17-25%; $ЛДГ_4$ - 8-17%; $ЛДГ_5$ - 8-18%.

***Клиническое значение***

Общая активность ЛДГ в сыворотке крови повышается при ***повреждениях миокарда, лейкозах, почечных заболеваниях, тромбоцитопениях, инфекционном мононуклеозе, повреждениях паренхимы печени, опухолях, прогрессивной мышечном дистрофии***. При ***инфаркте миокарда*** активность фермента в сыворотке крови достигает максимума через 24-36 ч и приходит к норме медленнее (на 8-10 день), чем активность КК и АСТ.

Тканевая специфичность изоформ ЛДГ определяет роль этого фермента как тканевого маркера и значение определения активности ее изоферментов в дифференциальной диагностике заболеваний.

Увеличение активности в сыворотке крови $ЛДГ_1$, обладающего наибольшей электрофоретической подвижностью, характерно, главным образом, для поражения сердца. При ***инфаркте миокарда*** активность $ЛДГ_1$ возрастает в большей степени по сравнению с общей активностью ЛДГ, совпадая по времени с пиком подъема активности МВ-фракции КК.

Осложнение инфаркта миокарда, сопутствующие заболевания могут наложить свой отпечаток на характерные для инфаркта миокарда изменения изоферментного спектра ЛДГ в сыворотке крови. Это возможно при застое крови в печени и почках при сердечной недостаточности, при ишемическом поражении некоторых органов вследствие резкого снижения сердечного выброса. При ***эмболии легочной артерии***, которую в ряде случаев приходиться дифференцировать с инфарктом миокарда, наблюдается увеличение $ЛДГ_2$ и $ЛДГ_3$, возможно связанное с выходом ферментов из тромбоцитов, патологией печени, вызванной венозной гипертензией, коркового слоя надпочечников и почек. Поскольку эти изменения не всегда удается различить, то изменения спектра изоформ ЛДГ бывает трудно интерпретировать.

Активность $ЛДГ_5$ в сыворотке крови - чувствительный индикатор гепатоцеллюлярной патологии. Увеличение активности $ЛДГ_5$ отмечается при ***гепатитах, гипоксии печени, лекарственной интоксикации, циррозах, опухолях и травмах печени***. При ***остром гепатите*** резко возрастает активность $ЛДГ_5$ и $ЛДГ_4$, обладающих меньшей электрофоретической подвижностью, и уменьшается доля $ЛДГ_1$ и $ЛДГ_2$. При ***холецистите*** активность $ЛДГ_5$ увеличивается незначительно.

При ***опухолевом росте*** спектр изоферментов ЛДГ, также как и других ферментов в клетках опухолей, идентичен с таковым для эмбриональных тканей. В опухолевых тканях преобладают изоферменты $ЛДГ_4$ и $ЛДГ_5$, однако определенной корреляции между ростом опухоли и изменением спектра ЛДГ в сыворотке крови определить не удалось.

Общая активность ЛДГ сыворотки крови возрастает при некоторых типа ***опухолей мозга, опухолях половых органов***. ЛДГ, считают удобным маркером при ***тестикулярных опухолях***, позволяющим провести дифференциальный диагноз между злокачественной и доброкачественной опухолью.

$ЛДГ_2$, $ЛДГ_3$, и $ЛДГ_4$ увеличены при ***остром лейкозе, нейробластоме, феохромоцитоме, злокачественной лимфоме, раке полости рта, бронхов*** и некоторых типов опухолей мозга.

Активность $ЛДГ_4$, $ЛДГ_5$ возрастает при ***опухолях предстательной железы, молочных желез, матки, толстой кишки, мочевого пузыря и некоторых типах опухолей мозга.***

Определение активности форм ЛДГ в сыворотке крови при онкологических заболеваниях информативно не только для диагностирования, но и для контроля ответа больного ни проводимое лечение.

ЛДГ сыворотки крови повышается ***при гемолитической анемии*** за счет $ЛДГ_1$ и $ЛДГ_2$. При железодефицитной анемии соотношение изоформ ЛДГ не изменяется.

Активность ЛДГ не изменятся при ***хронических заболеваниях почек, уремии***, но иногда возрастает ***после гемодиализа.***

В сыворотке крови тяжелых больных, находящихся в терминальном состоянии, выявляется необычная изоформа, названная $ЛДГ_6$. Большинство пациентов, у которых была обнаружена эта изоформа, умерли еще в период госпитализации. Не существует нозологических форм заболеваний, при которых в сыворотке крови обязательно присутствует $ЛДГ_6$, но есть тяжелые клинические состояния, обусловливающие ее появление. К ним следует отнести выраженный ацидоз, гипотонию и сепсис.

На активность ЛДГ оказывают влияние ***гормоны***. ***Тироксин*** снижает синтез фермента за счет М субъединиц. Таким образом, при тиреотоксикозе увеличивается доля аэробных изоформ, содержащих Н-субъединицы. ***Катехоламины*** также увеличивают активность $ЛДГ_1$ и $ЛДГ_2$. Активность фермента возрастает под влиянием ***анаболических стероидных гормонов,*** а также некоторых ***лекарственных препаратов*** (клофелин, клофибрат, сульфаниламидов).

В литературе встречается описание низкой активности ЛДГ в сыворотке крови. При анализе результатов, полученных у 20000 обследуемых, низкая активность фермента в сыворотке крови выявлена лишь у 42 людей. Возможно, это связано с ингибированием ЛДГ некоторыми классами иммуноглобулинов. Другие причины низкой активности ЛДГ обусловлены генетическими дефектами. Так у американцев и индейцев описаны особые варианты неактивных Н-субъединиц. Полное отсутствие Н- и М-субъединиц отмечено в японской популяции. Клинически у гомозигот с дефектом М-субъединиц выявляется периодически возникающая миоглобинурия после тяжелой физической нагрузки. Роды у них протекают тяжело.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Охарактеризуйте органную специфичность изоферментов ЛДГ.
2. Чем различаются аэробная и анаэробная изоформы ЛДГ? В каких органах они преобладают?
3. Назовите физиологические значения общей активности лагтатдегидрогеназы и ее изоферментов в плазме крови.
4. Охарактеризуйте диагностическую значимость определения активности ЛДГ и ее изоферментов.
5. Какие гормоны и лекарственные препараты могут оказать влияние на определяемые значения
активности ЛДГ?

## ЛИПАЗА

Панкреатическая ***липаза*** (триацилглицеролацилгидролаза; КФ 3.1.1.3.) относится к группе эстераз и гидролизует в жирах внешние эфирные связи с освобождением жирных кислот.

Триглицерид + $H_2O$ = Диглицерид + Жирная кислота

Фермент секретируется *поджелудочной железой* и в большом количестве содержится в дуоденальном содержимом. В сыворотке крови активность фермента низкая. Липаза представляет собой гликопротеид, по данным некоторых авторов, может существовать в виде двух изоформ. Помимо панкреатической липазы, в сыворотке крови содержатся и другие липазы, например липопротеидлипаза. Липаза является термолабильным ферментом и при $37^0$С частично инактивируется.

***Нормальные величины***

0-470 нмоль $с^{-1}л^{-1}$ или 0-28 мкмоль $мин^{-1}л^{-1}$. Рекомендуется проверять нормальные величины в любой лаборатории.

***Клиническое значение***

В сыворотке крови здоровых людей активность липазы очень низкая, при ***остром панкреатите*** активность фермента может увеличиться до 200 раз по сравнению с нормой. Активность липазы в крови быстро увеличивается в течение нескольких часов после приступа панкреатита, достигая максимума через 12-24 ч, и остается повышенной в течение 10-12 дней, то есть более продолжительное время, чем α-амилазы. В моче активность липазы не обнаруживается. В дуоденальном содержимом липазу рекомендуется определять после стимуляции секретином и панкреозимином.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какие липазы присутствуют в плазме крови?
2. Назовите физиологические значения активности липазы.
3. Охарактеризуйте диагностическую значимость определения активности липазы.

## СОРБИТОЛДЕГИДРОГЕНАЗА

***Сорбитолдегидрогеназа (СДГ)*** (L-идитол: НАД$^+$ 5-оксидоредуктаза; КФ 1.1.1.14.) - фермент, катализирующий обратимую реакцию окисления сорбита:

$$\text{D-сорбит} + \text{НАД}^+ = \text{D-фруктоза} + \text{НАДН}$$

В организме человека фермент содержится в основном в клетках *печени*.

***Нормальные величины***

Активность в сыворотке крови здоровых людей низкая - до 25 нмоль $с^{-1}л^{-1}$, или до 1,5 МЕ/л.

***Клиническое значение***

СДГ содержится главным образом в печени, поэтому повышение активности в сыворотке крови специфично для ее поражения. Однако, из-за низкой активности СДГ в сыворотке крови и недостаточной чувствительности метода определения СДГ нормальное значение активности фермента в сыворотке крови еще не говорит об отсутствии поражения печени. Наиболее высокая активность фермента в сыворотке крови наблюдается в первые дни ***острого гепатита*** и при ***обострении хронического гепатита.***

**Вопросы для самоконтроля**

1. В каком органе выявляется высокая активность СДГ?
2. Назовите физиологические значения активности СДГ.
3. Охарактеризуйте диагностическую значимость определения активности СДГ.

## ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА

### изоферменты шелочной фосфатазы

Фосфатазы - ферменты, гидролизующие эфиры фосфорной кислоты. В зависимости от значения pH, при котором действует фермент, различают щелочную и кислую фосфатазу.

***Щелочная фосфатаза (ЩФ)*** (фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты; К.Ф. 3.1.3.1.). Синтезируется в *печени* и с желчью поступает в кишечник. Содержится практически во всех животных тканях. Наиболее богаты ферментом *печень, костная ткань, кишечник, плацента.* ЩФ - негомогенный фермент; различают 5 тканевоспецифичных изоферментов ЩФ: плацентарный, костный, печеночный, кишечный, почечный. Множественные формы ЩФ обусловлены как генетическими факторами, так и посттрансляционной модификацией. Для плацентарной формы существуют отдельный генетический локус и аллельные варианты, которые не обнаруживаются для других изоформ. Фракции ЩФ различаются по своим каталитическим свойствам, электрофоретической подвижности, устойчивости к тепловой инактивации. Исследованием термоустойчивости ($56^0$С 10 мин или $65^0$С 5 мин) изоферментов ЩФ из различных тканей установлено, что при указанных условиях плацентарная ЩФ устойчива к нагреванию, костная фракция очень чувствительна к теплу (85-90% инактивации); менее чувствительна к теплу кишечная фракция (50-65%

инактивации) и печеночная (50-75% инактивации). Однако, только по методу тепловой инактивации судить об органной принадлежности ЩФ невозможно. В норме при электрофорезе выявляется 1-2 фракции ЩФ в зоне $\alpha_2$-глобулинов. При патологии количество изоферментов и их расположение при электрофорезе могут меняться. ЩФ образует комплексы с белками и липидами.

***Нормальные величины***

500-1417 нмоль $с^{-1}л^{-1}$, или 30-85 МЕ/л.

***Клиническое значение***

Значительное увеличение активности ЩФ в сыворотке крови наблюдается при ***заболеваниях костной ткани***, связанных с увеличением количества остеобластов, или с более интенсивным синтезом ЩФ в остеобластах. Наиболее высокая активность (увеличение в 20 раз и более) наблюдается при ***болезни Педжета*** (деформирующий остит), менее высокая определяется при ***рахите***. ***Злокачественные новообразования***, поражающие кости, также вызывают возрастание активности ЩФ в сыворотке крови. При ***гиперпаратиреоидизме*** уровень ЩФ повышается незначительно. Изменения активности ЩФ в сыворотке крови, помимо костной патологии, характерны для заболеваний печени и желчевыводящих путей.

Резкое увеличение активности фермента наблюдается при заболеваниях, сопровождающихся ***механической желтухой***. В меньшей степени активность ЩФ возрастает при ***гепатите*** и ***циррозе печени***. Повышение активности фермента в сыворотке крови при заболеваниях печени и желчных путей связано с высвобождением ЩФ из поврежденных печеночных клеток или задержкой экскреции ЩФ из желчи, в результате чего фермент вновь поступает в кровоток, а также с индуктивным ее синтезом в желчных канальцах. При заболеваниях костей ЩФ в сыворотке по своим свойствам аналогична костному ферменту, при болезнях печени - ферменту, который выделяется из печени. Если при электрофорезе в норме выявляется 1-2 фракции ЩФ, то при патологии количество фракций и их расположение при электрофорезе могут меняться. Наиболее быстро мигрирующей фракцией (от катода к аноду) является печеночный изофермент. При заболеваниях печени возможно появление второй печеночной полосы ЩФ. Несколько более медленно по сравнению с печеночной фракцией движется костная фракция ЩФ. Еще более медленно движется плацентарная термостабильная фракция ЩФ. Фракция ЩФ с очень высокой термостабильностью названа изоферментом "Реган" по имени больного раком легкого, у которого он был обнаружен впервые. Ее появление может быть связано с наличием злокачественного новообразования. Наиболее медленно мигрирующей фракцией является кишечная ЩФ.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Назовите известные вам фосфатазы. Чем они различаются?
2. В каком органе синтезируется ЩФ и куда она поступает?
3. Охарактеризуйте изоферменты щелочной фосфатазы.
4. Назовите физиологические значения активности ЩФ в плазме крови.
5. Охарактеризуйте диагностическую значимость определения активности ЩФ.

## КИСЛАЯ ФОСФАТАЗА
### изоферменты кислой фосфатазы

***Кислая фосфатаза (КФ)*** (фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты, кислый оптимум pH; КФ 3.1.3.2.). Содержится почти во всех органах и тканях человека, особенно богаты КФ *клетки крови, предстательная железа, печень, почки, кости*. Активность КФ в предстательной железе в 100 раз выше, чем в других тканях. КФ не является гомогенным ферментом. Большинство тканей содержат два или более изоферментов, отличающихся по своим свойствам.

Ткань предстательной железы содержит два основных изофермента, которые имеют одинаковый оптимум pH, но различаются по действию на них ряда веществ (ингибиторов), в частности, тартрата (соль винной кислоты). Активность простатической фракции фермента ингибируют тартрат, ионы фтора и железа. При использовании 0,02 моль/л раствора тартрата и п-нитрофенилфосфата в качестве субстрата ингибирование составляет 95%, т.е. простатическая КФ является тартрат-лабильной. Специфичностью к КФ предстательной железы обладают субстраты п-нафтилфосфат и тимолфталеинфосфат.

***Нормальные величины***

Общая активность 67-167 нмоль $с^{-1}л^{-1}$ или 4-10 МЕ/л; тартрат-лабильная фракция 0-16,7 нмоль $с^{-1}л^{-1}$ или 0-1 МЕ/л.

***Клиническое значение***

Определение активности КФ обычно производится для подтверждения диагноза ***карциномы предстательной железы***. При этом простатическая фракция КФ имеет большее диагностическое значение, чем общая КФ. Определение активности КФ может быть использовано для дифференциальной диагностики метастазов рака предстательной железы в кости и заболеваний костной ткани. В частности при остеодистрофиях обычно повышен уровень только щелочной фосфатазы, в то время как при костных метастазах рака предстательной железы повышается, как правило, активность в крови как ЩФ, так и КФ. Массаж предстательной железы, катетеризация, цистоскопия, ректальные исследования приводят к повышению активности КФ, поэтому кровь для определения активности КФ рекомендуется брать не раньше, чем 48 ч после указанных процедур.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Для каких органов характерна высокая активность КФ?
2. Назовите физиологические значения активности КФ в плазме крови.
3. Охарактеризуйте диагностическую значимость определения активности КФ.

## ФРУКТОЗО-1,6-ДИФОСФАТ-АЛЬДОЛАЗА

***Альдолаза (АЛД)*** (D-фруктозо-1,6-бисфосфат: D-глицеральдегид-3-фосфат лиаза; КФ 4.1.2.13.) относится к классу лиаз. АЛД является ферментом гликолиза. АЛД состоит из трех изоформ: мышечной, печеночной, мозговой, различающихся по субстратной специфичности.

Мышечный фермент (фруктозо-1,6-дифосфатоальдолаза) катализирует гидролиз фруктозо-1,6-дифосфата значительно быстрее, чем фруктозо-1-монофосфата; отличается малой органной специфичностью, наибольшая активность его обнаруживается в *скелетной мускулатуре*, в *сердечной мышце* и *печени*. Печеночный тип (фруктозо-1-фосфатальдолаза) катализирует реакцию расщепления фруктозо-1-монофосфата на глицериновый альдегид и диоксиацетонфосфат, содержится исключительно в печени.

***В норме*** в сыворотке крови активность фруктозо-1-фосфатальдолазы не определяется. Для целей диагностики чаще определяют фруктозо-1,6-дифосфатальдолазу.

***Клиническое значение***

Повышение активности АЛД наблюдается при многих патологических состояниях: ***остром гепатите, инфаркте миокарда, прогрессивной мышечной дистрофии, дерматомиозите, гемолитических состояниях, активном ревматизме, раке различной локализации***. Повышение активности фруктозомонофосфатальдолазы наблюдается при ***острых гепатитах***. При ***хронических гепатитах*** и ***циррозах печени*** активность фермента повышается у большинства больных. Это повышение менее выражено, чем при остром гепатите.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Назовите физиологические значения активности альдолазы в сыворотке крови.
2. Охарактеризуйте диагностическую значимость определения активности альдолазы.

## ПСЕВДОХОЛИНЭСТЕРАЗА

Различают два типа холинэстераз - ***ацетилхолинэстеразу,*** или истинную холинэстеразу ***(АХЭ)*** (ацетилхолин-ацетилгидролаза; КФ 3.1.1.7.) и ***псевдохолинэстеразу (ХЭ)*** (ацилхолин-ацетилгидролаза; КФ 3.1.1.8.). Истинная холинэстераза содержится преимущественно в *эритроцитах*, *нервной* и *мышечной тканях*. Псевдохолинэстераза - в *сыворотке крови*, *печени*, *поджелудочной железе*. АХЭ и ХЭ различаются по ряду свойств и, прежде всего, по субстратной специфичности. Наиболее специфичным субстратом для истинной холинэстеразы является ацетилхолин, для псевдохолинэстеразы - бутурилхолин. Псевдохолинэстераза не отличается строгой субстратной специфичностью и гидролизует такие субстраты, как ацетилхолин, бензоилхолин, сукцинилхолин и другие эфиры холина.

***Нормальные величины***

При $25^0$С - 50-155 мкмоль $с^{-1}л^{-1}$ или 3000-9300 МЕ; при $30^0$С - 62-191 мкмоль $с^{-1}л^{-1}$ или 3714-11513 МЕ; при $37^0$С - 88-240 мкмоль $с^{-1}л^{-1}$ или 4659-14443 МЕ.

***Клиническое значение***

При ***поражении печени*** активность фермента в сыворотке крови понижается, так как нарушается синтез фермента клетками печени. Определение активности холинэстеразы не имеет большого значения при остром гепатите, но очень ценно для наблюдения за течением болезни и для определения прогноза при хронических

заболеваниях печени. Активность фермента уменьшается при ***отравлении фосфороорганическими соединениями.***

**Вопросы для самоконтроля**

1. Назовите известные вам холинэстеразы. В каких органах обнаруживается их активность?
2. Назовите физиологические значения активности ХЭ.
3. Охарактеризуйте диагностическую значимость определения активности ХЭ.

## МОЧА

Моча - биологическая жидкость, вырабатываемая почками. С мочой из организма удаляются конечные продукты обмена веществ (шлаки), избыток воды и солей, токсичные вещества, поступающие в организм извне или образующиеся в ходе метаболизма. Образование и отделение мочи является составной частью поддержания гомеостаза организма. Биохимический анализ мочи дает представление о функциональном состоянии почек, процессах обмена веществ в различных органах и организме в целом, способствует выяснению характера патологического процесса, установлению патогенеза и прогноза заболевания, позволяет судить об эффективности проводимого лечения.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какие вещества удаляются из организма с мочой?
2. О чем свидетельствует биохимический анализ мочи?

### ОБРАЗОВАНИЕ МОЧИ. ПРОИСХОЖДЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ МОЧИ

Образование мочи происходит в структурно-функциональных единицах почки - нефронах. В почке человека содержится около миллиона нефронов. Морфологически нефрон представлен почечным тельцем, состоящим из сосудистого клубочка и окружающей его капсулы, проксимальным канальцем, петлей Генле, дистальным канальцем, впадающим в собирательную трубочку. Моча образуется в результате осуществления трех процессов, происходящих в каждом нефроне:

1) ***ультрафильтрации*** через капилляры клубочка;
2) ***избирательной реабсорбции*** жидкости и растворенных веществ в проксимальном канальце, петле Генле, дистальном канальце, собирательной трубочке;
3) ***избирательной секреции*** в просвет проксимальных и дистальных канальцев, часто сопряженной с реабсорбцией.

В зависимости от механизма проникновения различных веществ в мочу их можно разделить на несколько групп:

- вещества, попадающие в мочу преимущественно в результате фильтрации в клубочках почечных телец. К этой группе относятся ***креатинин, мочевина, инулин;***
- вещества, концентрация которых в моче определяется соотношением процессов секреции и реабсорбции в почечных канальцах. Сюда входят главным образом ***электролиты;***
- вещества, экскретируемые в проксимальных отделах нефрона, - ***некоторые органические кислоты и основания,*** которые не только фильтруются, но и главным образом

эффективно секретируются из плазмы крови в просвет канальцев проксимальных отделов нефрона;

- вещества, практически отсутствующие в плазме крови и поступающие в мочу из клеток почечных канальцев, - ***аммиак, некоторые ферменты*** и др.;
- вещества, которые в норме практически полностью реабсорбируются из ультрафильтрата в проксимальных отделах нефрона - ***сахара, аминокислоты*** и т. д.

Вещества первых четырех групп относят к беспороговым, поскольку их присутствие в моче не связано с их концентрацией в крови. Вещества пятой группы относят к пороговым, поскольку они появляются в моче лишь тогда, когда их концентрация в крови превышает определенную величину (порог). В обычных условиях возможности механизмов реабсорбции пороговых веществ в проксимальных отделах нефрона достаточны для практически полной их реабсорбции из ультрафильтрата. Во вторичной моче обычными методами пороговые вещества не определяются. При повышении концентрации таких веществ в крови в ультрафильтрат переходит значительно большее количество вещества и оно уже не может полностью реабсорбироваться и появляется в конечной моче в определенных количествах. Появление пороговых веществ в моче возможно и на фоне их нормального содержания в крови вследствие нарушения механизма реабсорбции.

**Вопросы для самоконтроля**

1. В результате каких процессов, протекающих в почках, образуется моча?
2. Как классифицируют компоненты мочи в зависимости от механизма их проникновения в мочу? Назовите представителей отдельных групп веществ.
3. Охарактеризуйте понятие почечного порога для какого-либо вещества.
4. Какие компоненты мочи относя к пороговым веществам?

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

***Цвет*** мочи здорового человека - от соломенно-желтого до насыщенно желтого. Интенсивность окраски пропорциональна плотности мочи и величине суточного диуреза. Выделяющаяся в большом количестве моча имеет низкую плотность и почти бесцветна. При уменьшении диуреза плотность мочи увеличивается и она приобретает интенсивно желтый цвет. При попадании ***крови*** в мочу ***(гематурия)*** или приеме ***антипирина, амидопирина, сантонина и некоторых других лекарственных средств*** моча приобретает ***красную*** или ***розовокрасную окраску***. Высокое содержание в моче билирубина или уробилина придает моче коричневый, красно-бурый или зеленый цвет. Потемнение мочи на воздухе отмечается при алкаптонурии, порфириях. Молочно-белой моча может быть при высоком содержании в ней гноя, жиров и фосфатов.

Моча здорового человека ***прозрачна.*** Помутнение мочи может быть вызвано некоторыми солями, клеточными элементами, бактериями, слизью, жиром ***(липурия).***

***Поверхностное натяжение*** мочи составляет 85-95% от поверхностного натяжения воды. При появлении в моче белка или желчных кислот поверхностное натяжение мочи уменьшается и моча пенится.

Свежевыпущенная моча обладает характерным ***запахом.***

При *стоянии* вследствие брожения моча приобретает ***аммиачный запах***. Присутствие в моче *ацетона* придает ей запах ***гнилых яблок***. Различные пищевые и лекарственные вещества могут придавать моче характерный запах (***валериана, кофе, лук, чеснок***).

Наибольшее диагностическое значение имеет ***относительная плотность мочи,*** отражающая общую концентрацию растворенных в ней веществ. Относительная плотность мочи у взрослого человека в течение суток колеблется в пределах от 1,002 до 1,035, составляя чаще ***1,012-1,020.*** Относительная плотность мочи характеризует одну из важнейших функций почек - их ***концентрационную способность.*** При *повреждении почечных канальцев,* а также *недостаточной выработке антидиуретического гормона* моча постоянно имеет низкую плотность ***(изогипостенурия).*** После острых повреждений почек моча на определенных стадиях восстановления имеет относительную плотность 1,010-1,011 ***(изостенурия).*** Повышение относительной плотности ***(гиперстенурия)*** встречается при *некомпенсированном сахарном диабете, гиперпродукции антидиуретического гормона, лихорадке, неукротимой рвоте, поносах*.

***pH*** мочи колеблется в пределах 5,0-7,0. На величину pH влияет характер диеты. При употреблении преимущественно мясной пищи реакция мочи более кислая, при растительной диете реакция мочи щелочная.

***Резко кислая реакция*** мочи встречается при *декомпенсированном сахарном диабете, лихорадочных состояниях, голодании*. ***Щелочная реакция*** мочи характерна для *циститов и пиелитов, сильной рвоты, введения бикарбоната натрия и употребления щелочных минеральных вод***.** Кислотность мочи определяет возможность образования тех или иных типов мочевых камней. Мочекислые камни чаще всего образуются при pH ниже 5,5, оксалатные - при pH 5,5-6,0, фосфатные - при pH 7,0-7,8.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Назовите важнейшие физико-химические свойства мочи.
2. Какой цвет имеет моча у здоровых людей? Как может изменяться цвет мочи в условиях патологии?
3. Чем может быть вызвано помутнение мочи?
4. Какие факторы влияют на запах мочи?
5. Что отражает плотность мочи? Назовите причины гипо- и гиперстенурии.
6. Каковы физиологические значения pH мочи?
7. Как зависит pH мочи от характера диеты?
8. При каких состояниях реакция смещается в резко кислую или в щелочную сторону?

## ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ МОЧИ

Вещества, входящие в состав мочи, разделяют на ***«физиологические»*** и ***«патологические»***. Подобное разделение важно с практической точки зрения, но в то же время в известной мере условно, поскольку к патологическим относят вещества, содержащиеся в моче здорового человека в столь низких концентрациях, которые не улавливаются обычными методами, используемыми в клинических лабораториях. Обнаружение веществ этой группы в моче с помощью обычных биохимических методов исследования является признаком заболевания.

В течение суток с мочой из организма выделяется около 60 г ***органических*** (35-45 г) и ***минеральных*** (15-25 г) веществ. К настоящему времени в моче обнаружены свыше 150 отдельных химических ингредиентов.

### *Физиологические компоненты мочи*

Важнейшие физиологические компоненты мочи представлены веществами ***органической*** и ***минеральной*** природы. К ***первым*** относятся *мочевина, креатин, пептиды, аминокислоты, мочевая кислота, гиппуровая кислота, органические сульфаты*. Ко ***вторым*** - *ионы натрия, калия, кальция, магния, аммиака, хлоридов, бикарбоната, фосфатов, неорганических сульфатов.* Сведения о выделении этих веществ с мочой здорового взрослого человека приведены в таблице.

**Средний состав суточной мочи здорового взрослого человека**

| **Компонент** | **Количество** | |
|---|---|---|
| | г | Ммоль |
| ***Органические вещества:*** | | |
| Мочевина | 6-18 г N | 400-1300 |
| Креатинин | 0,3-0,8 г N ’ | 20-60 |
| Пептиды | 0.3-0,7 г N | 20-50 |
| Аминокислоты | 0,08-0,15 г N | 6-11 |
| Мочевая кислота Гиппуровая | 0,08-0.2 г N | 6-4 |
| ***Минеральные вещества:*** | | |
| Натрий | 2-4 | 100-200 |
| Калий | 1,5-2 | 50-70 |
| Кальций | 0,1-0,3 | 2,5-7,5 |
| Магний | 0,1-0,2 | 8-16 |
| Аммиак | 0,4-1,0 г N | 30-75 |
| Хлориды | 3,5-9 | 100-250 |
| Бикарбонаты | 0-3 г | 0-50 |
| Фосфаты | 0,7-1,6 г P | 20-50 |
| Сульфаты | 0.6-1,8 г S | 40-120 |
| PH | 5,0-7,0 | |

N, S, P - содержание вещества в моче в г расчете на азот, серу, фосфор, соответственно.

### *Органические компоненты мочи*

***Мочевина*** - главный конечный продукт азотистого обмена. На долю мочевины приходится 80-90% азотсодержащих шлаков, выводимых с мочой. В среднем за сутки из организма взрослого человека выводится около 30 г мочевины (от 12 до 36 г), а в пересчете на азот 6-18 г.

Мочевина попадает в первичную мочу из плазмы крови в результате клубочковой фильтрации и в дальнейшем в процессе формирования конечной мочи не подвергается активной реабсорбции и не секретируется в мочу клетками почечных канальцев. В то же время, при прохождении первичной мочи по различным участкам нефрона, значительная часть мочевины возвращается в кровь путем пассивной

реабсорбции. Процесс выделения мочевины является саморегулируемым и зависит от содержания мочевины в плазме крови и величины клубочковой фильтрации.

Выделение мочевины с мочой ***возрастает*** при *употреблении пищи с высоким содержанием белков, при всех заболеваниях, сопровождающихся усиленным распадом белков тканей (лихорадочные состояния, кахексия, гипертиреоз, сахарный диабет и др.),* а также при *приеме некоторых лекарственных средств (ряд гормонов).* ***Уменьшение*** количества мочевины, выделяемого с мочой, характерно для *заболеваний и токсических поражений печени, сопровождающихся печеночной недостаточностью, заболеваний почек с нарушением их фильтрационной способности,* а также для *применения инсулина и ряда других причин.*

***Креатинин*** также является конечным продуктом азотистого обмена. Образуется в мышечной ткани из фосфокреатина. Креатинин попадает в мочу преимущественно путем клубочковой фильтрации и в небольшом количестве за счет активной канальцевой секреции. Суточное выделение креатинина индивидуально и постоянно для каждого человека. Оно отражает преимущественно мышечную массу организма, составляя в среднем 1-2 г у мужчин и 0,6-1,5 г у женщин, а в пересчете на азот 0,3-0,8 г. У мужчин на каждый 1 кг массы тела за сутки выводится с мочой 18-32 мг креатинина, у женщин - 10-25 мг. Эти величины мало зависят от содержания белков в диете.

***Креатин*** в моче у здоровых взрослых людей практически отсутствует. Появляется в моче либо при употреблении значительных количеств креатина с пищей, либо при патологических состояниях. Увеличение содержания креатина в крови свыше 0,12 ммоль/л сопровождается появлением его в моче.

Наибольшее содержание креатина в моче встречается при поражениях мышечной системы -• *миопатии и прогрессирующей мышечной дистрофии.* ***Креатинурию*** можно наблюдать при *поражениях печени, сахарном диабете, эндокринных расстройствах (гипертиреоз, аддисонова болезнь, акромегалия), инфекционных заболеваниях, дессиминированной красной волчанке, переломах костей, ожогах, белковом голодании, недостатке витамина Е, внутривенном введении ферментного гидролизата казеина.*

У женщин креатина может выделяться больше, чем у мужчин, но креатинина меньше. Выделение креатина возрастает *при беременности и в раннем послеродовом периоде.*

В первые годы жизни ребенка возможна физиологическая креатинурия. Появление креатина в моче у детей в раннем возрасте можно связать с его усиленным синтезом, опережающим рост мускулатуры. Креатинурия возможна и в пожилом возрасте как следствие атрофии мышц и конечного использования образующегося креатина в печени.

***Аминокислоты***. Суточное выделение аминокислот с мочой составляет в среднем 1 г, а в расчете на азот 0,08-0,15 г. Соотношение между содержанием отдельных аминокислот в крови и моче неодинаково. Количество той или иной аминокислоты, выделяемой с мочой, зависит от ее содержания в плазме крови, величины клубочковой фильтрации и степени реабсорбции этой аминокислоты в почечных канальцах, т. е. от клиренса данной аминокислоты. В норме величина клиренса для большинства аминокислот 2-6 мл/мин., для цистина 2-4 мл/мин, а для глицина и гистидина 4 и 7 мл соответственно. Поэтому две последние аминокислоты в наибольших количествах присутствуют в моче.

Большая часть перешедших в ультрафильтрат аминокислот реабсорбируется в проксимальных канальцах. Поэтому, хотя аминокислоты всегда присутствуют в моче

здорового человека, содержание их там невелико, однако оно ***резко возрастает при ряде заболеваний*** и в этом случае служит ведущим лабораторно-диагностическим признаком *(фенилкетонурия, алкаптонурия, гистидинемия, цитрулинемия, гиперпролинемия и др.).*

Транспортные системы, обеспечивающие реабсорбцию аминокислот, могут осуществлять с высокой и низкой избирательностью трансмембранный перенос двухосновных и нейтральных аминокислот. Эффективность функционирования транспортных систем, специфичных по отношению к отдельным аминокислотам (лизину, цистеину и некоторым другим), невысока. Механизмы реабсорбции аминокислот в почечных канальцах во многих отношениях остаются невыясненными. Показано существование в клетках канальцев глутамильного транспортного цикла, аналогичного таковому в стенке кишечника.

Появление в моче больших количеств аминокислот ***(гипераминоацидурия)*** может быть следствием их повышенного содержания в крови и нарушения реабсорбции в канальцах. Гипераминоацидурия, связанная с повреждением нефрона, может быть ***приобретенной*** *(при отравлениях солями тяжелых металлов и другими токсическими веществами, неполноценном питании и др.)*, или же ***врожденной***. В последнем случае причиной нарушения реабсорбции может явиться *отсутствие белка-переносчика, осуществляющего перенос аминокислоты через стенку канальца, либо более общий дефект транспорта аминокислот, затрагивающий и желудочно-кишечный тракт, а также недоразвитие проксимальных отделов нефрона.*

Гипераминоацидурия встречается при *заболеваниях печени*, что объясняется важной ролью этого органа в обмене аминокислот (реакции дезаминирования и переаминирования), состояниях, сопровождающихся усиленным распадом тканевых белков - *тяжелые инфекционные заболевания, злокачественные новообразования, обширные травмы, миодистрофии, гипертиреоз, при лечении кортикостероидами и АКТГ.*

В ряде случаев в моче резко увеличивается содержание какой-либо одной аминокислоты или ее производного. Подобные состояния характерны для наследственных нарушений обмена отдельных аминокислот, когда вследствие генетического дефекта той или иной ферментной системы в организме накапливаются производные этой аминокислоты, сама аминокислота или продукты ее патологических превращений. Эти продукты обычно оказывают токсичное действие на нервную систему. При недостаточности фермента фенилаланингидроксилазы развивается заболевание ***фенилкетонурия,*** для которого характерно блокирование превращения фенилаланина в тирозин и выделение с мочой больших количеств фенилпировиноградной кислоты. При ***алкаптонурии*** вследствие нарушения метаболизма тирозина в моче в больших количествах присутствует гомогентизиновая кислота - один из метаболитов тирозина. К настоящему времени известен ряд врожденных нарушений обмена аминокислот - ***гиперпролинемия, гипервалинемия, цитруллинемия*** и др. Все эти нарушения сопровождаются увеличением выделения соответствующих аминокислот с мочой.

***Мочевая кислота*** - конечный продукт обмена пуриновых оснований. За сутки у здорового взрослого человека с мочой выделяется около 0,7 г мочевой кислоты (в расчете на азот 0,08-0,2 г). Эта величина редко падает ниже 0,5-0,6 г даже при отсутствии в пище пуринов, но может возрастать до 1 г и более при употреблении диеты с высоким содержанием нуклеопротеидов. Количество выделяемой с мочой мочевой кислоты зависит от ее содержания в крови и определяется соотношением

процессов клубочковой фильтрации, реабсорбции и секреции в канальцах возможно с участием специфичного переносчика. Реабсорбции подвергается 90-95% мочевой кислоты, присутствующей в ультрафильтрате. Кортикостероиды повышают выведение мочевой кислоты с мочой и снижают ее концентрацию в плазме крови.

Повышенное выведение мочевой кислоты наблюдается при *лейкемии, полицитемии, гепатитах, подагре, а также при лечении аспирином и кортикостероидами*. Причиной повышенного выведения мочевой кислоты является *ее гиперпродукция в организме вследствие усиленного распада тканевых структур или генетических нарушений отдельных ферментов - синдром Леша-Найхана* и др. Вследствие незначительной растворимости в воде мочевая кислота и ее соли могут выпадать в осадок и образовывать камни в нижних отделах мочевых путей.

***Гиппуровая кислота*** всегда определяется в моче человека в небольших количествах - около 0,7 г/сутки или в расчете на азот 0,04-0,08 г. Представляет собой продукт соединения бензойной кислоты и глицина, осуществляемого преимущественно клетками печени. Повышенное выделение с мочой гиппуровой кислоты отмечается при употреблении преимущественно растительной пищи, богатой бензойной кислотой или ее предшественниками (фрукты, ягоды).

В 1940 г. Квик ввел в клиническую практику гиппуровую пробу (пробу Квика) для исследования детоксицирующей функции печени. У здоровых людей после приема 3-4 г бензоата натрия 65-85% введенного вещества выводятся с мочой в виде гиппуровой кислоты. При поражении печени нарушается конъюгация бензойной кислоты с глицином и количество гиппуровой кислоты в моче резко падает.

***Органические кислоты.*** Общее количество органических кислот в суточной моче не превышает 1 г. В моче здорового человека идентифицированы десятки органических кислот, главными из которых являются ***щавелевая, молочная, лимонная, масляная, валериановая, янтарная, -оксимасляная, ацетоуксусная и др.***

В физиологических условиях содержание каждой из этих кислот в суточном объеме мочи исчисляется миллиграммами, поэтому обычными лабораторными методами отдельные органические кислоты в моче не определяются. Однако, в отдельных условиях выведение некоторых кислот может резко усиливаться, и они легко обнаруживаются в моче. Так, при усиленной мышечной работе в моче определяется молочная кислота, при сахарном диабете - ацетоуксусная и β-оксимасляная кислоты, при алкалозе - лимонная и янтарная кислоты.

При различных патологических процессах из аминокислот и жирных кислот образуются не характерные для нормального обмена веществ органические кислоты, которые активно выводятся с мочой. При диабетическом кетоацидозе появляются адипиновая и субериновая кислоты вследствие активации β-окисления жирных кислот. В результате нарушенного метаболизма валина, лейцина изолейцина появляются 3-оксипроизводные валериановой, масляной и метилмасляной кислот.

У больных желудочно-кишечными заболеваниями в результате активации микрофлоры кишечника происходит распад аминокислот пищевых белков. В частности, образуется индоксил, выводимый с мочой в виде калиевой соли конъюгата индоксила с серной кислотой - индикана, а также различные производные фенола и салициловой кислоты.

***Пигменты мочи***. Главным нормальным пигментом мочи, придающим ей янтарный цвет, является стеркобилиноген, всасывающийся в кровь в толстом кишечнике по системе геморроидальных вен. На свету и на воздухе стеркобилиноген превращаются в стеркобилин - пигмент, окрашенный в темный цвет. ***Прямой и непрямой билирубин, а также уробилиноген в моче здоровых людей не определяются***. Их обнаружение в моче, отражает заболевания печени, желчевыводящих путей и гемолитические состояния.

В небольших количествах в моче присутствуют как промежуточные продукты синтеза порфиринового кольца, так и продукты распада гемоглобина. Среди предшественников гема в моче больше всего δ-аминолевулиновой кислоты (2-3 мг/сутки) и порфобилиногена (до 2 мг/сутки). Значительно меньше уропорфиринов (< 6 мкг/сутки), копропорфиринов (до 70 мкг/сутки), протопорфиринов (< 12 мкг/сутки). Повышенное выведение этих веществ с мочой встречается при *различных формах порфирий, отравлениях солями тяжелых металлов, апластической анемии, циррозах печени, остром полиомиелите, пеллагре, интоксикациях алкоголем, жаропонижающими лекарственными средствами, барбитуратами, сульфаниламидами, органическими соединениями мышьяка*. При *интоксикации свинцом* в моче возрастает содержание δ-аминолевулиновой кислоты.

При *заболеваниях печени с развитием печеночно-клеточной желтухи* в моче определяется ***билирубин,*** умеренно увеличивается содержание ***стеркобилиногена***. При *гемолитических желтухах* ***билирубин*** в моче не определяется, а содержание ***стеркобилиногена*** резко возрастает. В отличие от этого *механические желтухи* сопровождаются резким увеличением содержания ***билирубина*** в моче и снижением, вплоть до исчезновения ***стеркобилиногена***.

Повышенное выведение ***стеркобилиногена*** с мочой отмечается не только при болезнях печени, но и при *заболеваниях, протекающих с лихорадкой, гемолизом, при интенсивных гнилостных процессах в кишечнике, при длительном голодании.* ***Билирубинурия*** может развиться при *инфекционных заболеваниях, диффузном токсическом зобе* как показатель токсического поражения печени.

***Витамины***. Водорастворимые витамины содержатся в моче в незначительных количествах, жирорастворимых витаминов в моче практически нет. Выведение витаминов с мочой служит хорошим критерием насыщенности организма витаминами. Прямым определением в моче чаще всего исследуют содержание витамина С, витаминов $B_1$ и $B_2$. Витамин РР выводится с мочой в виде никотинамида. Для оценки насыщенности организма фолиевой кислотой используют косвенный тест, при помощи которого в моче определяют содержание форминоглутаминовой кислоты: ее содержание в моче при дефиците фолиевой кислоты возрастает.

Гормоны в неизменном виде выводятся с мочой в очень небольших количествах. Их метаболиты выводятся с мочой в количествах, значительно больших. Количество этих метаболитов в моче еще более возрастает в условиях патологии и при некоторых функциональных состояниях, сопровождающихся нарушением нормальных путей биосинтеза гормонов. Определение содержания метаболитов гормонов в моче используется для выявления и классификации этих состояний. Многие метаболиты гормонов присутствуют в моче в виде парных соединений с глюкуроновой и серной кислотами, а также в виде метиловых эфиров.

Определение гормонов в моче в ряде случаев более информативно, чем в крови, особенно для гормонов, не подвергающихся в организме существенному распаду,

поскольку позволяет учесть все количество образующегося гормона за определенный промежуток времени. В крови же содержание гормонов колеблется в различное время суток. К гормонам такого рода относятся стероидные гормоны, содержание которых в моче исследуется в клинике методами тонкослойной хроматографии.

В качестве дополнительного диагностического теста при выявлении феохромоцитомы в моче определяют содержание ванилинминдальной кислоты - основного продукта катаболизма катехоламинов. Для диагностики злокачественного карциноида, продуцирующего в кровь серотонин, в моче определяют содержание продукта обмена серотонина - 5-оксииндолилуксусной кислоты.

***Неорганические компоненты мочи***

***Натрий***. Около 75% ионов $Na^+$ активно реабсорбируется из клубочкового ультрафильтрата еще в проксимальных канальцах. Реабсорбция $Na^+$, сопряженная с гидролизом АТФ, продолжается на всем протяжении нефрона. Выведению $Na^+$ с мочой препятствует альдостерон и некоторые другие минералкортикоиды, усиливающие реабсорбцию $Na^+$. С активной реабсорбцией натрия сопряжена пассивная реабсорбция воды и анионов ($C1^-$, $HCO_3^-$ и др.).

Поскольку реабсорбция $Na^+$ сопряжена с секрецией в мочу клетками эпителия почечных канальцев ионов $H^+$ ($Na^+$ - H+ обмен), реабсорбция $Na^+$-связана с удалением из организма кислых продуктов и регуляцией КОС.

Общее количество натрия, выделяемого с суточной мочой, составляет 2-4 г (по некоторым данным 3-6 г) и падает до 50 мг при употреблении диеты, не содержащей $Na^+$. Резкое увеличение выведения $Na^+$ с мочой встречается при введении в организм гипертонических растворов. Умеренное ***увеличение*** выведения $Na^+$ с мочой вследствие нарушения его реабсорбции характерно для *почечной недостаточности, недостаточной минералкортикоидной функции надпочечников (гипоальдостеронизм), лечения диуретиками*. Выведение $Na^+$ с мочой ***уменьшается*** при *гиперальдостеронизме, длительном лечении АКТГ и кортикостероидами, респираторном ацидозе.*

***Калий.*** Суточное выведение $K^+$ с мочой составляет 1,5- 2,0 г (по другим данным 2-4 г) и не уменьшается ниже 1 г даже при употреблении диеты, не содержащей $K^+$.

Почечные механизмы выделения $K^+$, слагающиеся из клубочковой фильтрации, практически полной реабсорбции в проксимальных канальцах и активной секреции в дистальных канальцах, сопряженной с активной реабсорбцией ионов $Na^+$ ($K^+$-$Na^+$ обмен), эффективно предотвращают задержку K+ в организме и развитие гиперкалиемии. Альдостерон, увеличивая реабсорбцию $Na^+$, способствует повышенному выведению $K^+$ с мочой, а инсулин, напротив, уменьшает калийурез за счет стимуляции задержки глюкозы и калия клетками. Пониженный калийурез встречается при ацидозе вследствие конкуренции между ионами $K^+$ и $H^+$ при их секреции эпителием дистальных канальцев, сопряженной с реабсорбцией $Na^+$. Вследствие конкуренции с ионами $H^+$ при секреции эпителием канальцев ноны $K^+$ участвуют в регуляции КЩС. При постоянном уровне реабсорбции ионов $Na^+$ уменьшение секреции K+ означает усиление выведения в мочу ионов $H^+$. Усиленная секреция $K^+$, напротив, сопровождается задержкой в организме кислых продуктов.

Выведение калия с мочой ***увеличивается*** при *гиперальдостеронизме, почечной недостаточности, длительном применении диуретиков, интоксикациях аспирином, дыхательном алкалозе.* ***Уменьшение*** выведения калия встречается при *гипоальдостеронизме и ацидозе.*

***Кальций и магний***. Суточное выведение с мочой ионов •$Ca^{2+}$ и $Mg^{2+}$ невелико и составляет, соответственно, 0,1-0,3 г и 0,1-0,2 г. Основная часть этих катионов выводится из организма через кишечник, а доля, выводимая с мочой, составляет 30%. В то же время, содержание $Ca^{2+}$ в моче отражает состояние минерального обмена в костной ткани и состояние паращитовидных желез. Незначительное повышение содержания $Ca^{2+}$ в плазме крови сопровождается увеличением его выведения с мочой. Это свидетельствует, что в физиологических условиях способность канальцев к реабсорбции $Ca^{2+}$ используется на всю мощность.

Содержание ионов $Ca^{2+}$ в моче в ряде случаев коррелирует с содержанием ионов $Na^{+}$. Закономерности выведения $Mg^{2+}$ ближе к характеру выведения $K^{+}$. Содержание ионов $Ca^{2+}$ и $Mg^{2+}$ в моче не отражает характер питания.

***Аммиак.*** В течение суток с мочой у взрослого здорового человека выводится 0,4-1,0 г аммиака в расчете на азот. Количество выводимого аммиака может уменьшаться до ничтожно малых величин при алколозе и возрастать до 5 г при тяжелом метаболическом ацидозе. Аммиак выводится с мочой в виде аммонийных солей (катион $NH_4^{+}$). Содержание их в моче в определенной степени отражает КОС.

Аммиак образуется в клетках почечных канальцев преимущественно из глутамина с участием фермента глутаминазы:

$$\text{Глутамин} + H_2O \xrightarrow[\text{глутаминаза}]{} \text{Глутаминовая кислота} + \text{Аммиак}$$

Около 1/3 аммиака образуется из глутаминовой кислоты в глутаматдегидрогеназной реакции:

$$\text{НАД}^{+} \rightarrow \text{НАДН}$$

$$\text{Глутаминовая кислота} + H_2O = \alpha\text{-кетоглутаровая кислота} + NH_3$$

глутаматдегидрогеназа

Глутаминовая кислота образуется в почках в больших количествах за счет реакций переаминирования аминокислот с α-кетоглютаровой кислотой.

Освобождающийся в ходе этих реакций аммиак экскретируется в просвет канальцев за счет обычной диффузии, где связывает ионы Н+ и переходит в ион аммония $NH_4^{+}$. Таким образом, экскреция аммиака неразрывно связана с важной ролью почек в регуляции КОС. Поэтому уровень секреции аммиака и выведения солей аммония отражают состояние КОС, уменьшаясь при алкалозе и возрастая при ацидозе (как респираторном, так и метаболическом). Связывание избытка ионов $H^{+}$ экскретируемым аммиаком облегчает $Na^{+}$-$H^{+}$ обмен (сопряженные процессы реабсорбции $Na^{+}$ и экскреции $H^{+}$), что также способствует компенсации ацидоза. Однако pH мочи не является единственным фактором, регулирующим выведение аммиака. Выведение последнего отражает также активность глутаминазы и аминотрансфераз. Последние ферменты переносят α-аминогруппы с различных аминокислот на α-кетоглютаровую кислоту с образованием глутаминовой кислоты, которая окисляется ферментом

глутаматдегидрогеназой с выделением $NH_3$. При ацидозе происходит индукция синтеза этих ферментов, и активность их в ткани почки возрастает.

Все факторы, способствующие подкислению мочи, увеличивают выведение аммиака, а способствующие подщелачиванию - уменьшают. Выведение аммиака с мочой ***возрастает*** при *сахарном диабете с длительным кетозом, при обезвоживании, голодании, диаррее, нарушениях водно-электролитного обмена (уменьшение содержания в организме ионов $Na^+$ и $K^+$), первичном гиперальдостеронизме, избыточном поступлении солей аммония*. ***Уменьшение*** выведения аммиака с мочой встречается при *введении в организм растворов бикарбоната натрия, аддисоновой болезни, поражениях дистального отдела нефрона, чрезмерном употреблении щелочных минеральных вод.*

***Хлориды.*** Ион $C1^-$ является главным анионом мочи. В зависимости от потребления хлоридов с пищей за сутки с мочой выделяется 3,5-9,0 г $C1^-$. Это количество может снизиться до 150 мг у людей, находящихся на бессолевой рисовой диете, при лечении гипертонической болезни.

Количество ионов $C1^-$, выделяемых с мочой, определяется содержанием $C1^-$ в плазме крови, уровнем клубочковой фильтрации и реабсорбции. Последняя осуществляется как пассивно по электрохимическому градиенту, создаваемому за счет реабсорбции Na+, так и путем активного транспорта.

Как повышение, так и понижение выведения хлоридов с мочой имеют важное диагностическое значение. ***Гиперхлорурия*** возникает при *схождении отеков, редких формах нарушения канальцевой реабсорбции $Na^+$, введении в организм больших количеств гипертонического раствора*. Выраженное уменьшение выведения хлоридов с мочой ***(гипохлорурия)*** отмечается при *длительной рвоте, диаррее, отеках, хроническом нефрите, остром суставном ревматизме, гиперкортицизме, острых лихорадочных заболеваниях.*

***Бикарбонаты.*** Количество бикарбонатов, выводимых с мочой, зависит от их содержания в плазме крови (т.е. фактически от величины щелочного резерва крови,) и в значительной мере определяется величиной pH мочи. При снижении концентрации бикарбонатов в крови ниже 28 ммоль/л практически все $HCO_3^-$ анионы ультрафильтрата реабсорбируются и с мочой выводится ничтожное их количество. При концентрации бикарбонатов в крови свыше 28 ммоль/л реабсорбируется относительно постоянное их количество - около 28 ммоль/л ультрафильтрата. Не реабсорбированные анионы $HCO_3^-$ выделяются с мочой. С учетом величин AB и SB 19-25 ммоль/л и 21-25 ммоль/л, соответственно, отражающих содержание $HCO_3^-$ ионов в крови здоровых людей, у здоровых людей без нарушений КОС бикарбонаты должны подвергаться полной реабсорбции.

Реабсорбция $HCO_3^-$ ионов протекает весьма своеобразно. В проксимальных канальцах ионы $HCO_3^-$ реабсорбируется пассивно по электрохимическому градиенту аналогично ионам $C1^-$. Однако в последующих отделах нефрона $HCO_3^-$ реабсорбируется непрямым путем. В клетках канальцев $H_2CO_3$ диссоциируют на $H^+$ и $HCO_3^-$ ионы. Последние переходят в кровь, а первые секретируются в мочу, где соединяются с $HCO_3^-$ ионами с образованием $H_2CO_3^-$ которая разлагается на $CO_2$ и $H_2O$. Углекислота переходит в клетки канальцев, где гидратируется с участием карбоангидразы. В результате образуется $H_2CO_3$ и цикл повторяется. Подобным образом осуществляется «реабсорбция» $HCO_3^-$ ионов в дистальных отделах нефрона.

Выведение бикарбонатов с мочой в значительной мере коррелирует с величиной ее pH. При pH мочи 5,6 с мочой выделяется 0,5 ммолъ $HCO_3^-$/л мочи, при pH 6,6-6 ммоль/л, при pH 7,8 - 9,3 ммоль/л. Выведение бикарбонатов ***возрастает*** при *алкалозе* и ***снижается*** при *ацидозе*.

При *поражении канальцев (туболопатиях)* вследствие нарушения реабсорбции $HCO_3^-$ ионов выведение их с мочой резко возрастает и возможно развитие почечного ацидоза *(синдром Лайтвуда-Олбрайта).*

***Фосфаты.*** Главными фосфатами мочи являются $NaH_2PO_4$ и $Na_2HPO_4$. За сутки с мочой выводится 2,5-4 г фосфатов, а в пересчете на фосфор 0,7-1,6г. Количество фосфатов, выделяемых с мочой, зависит от характера питания. Обычно с мочой удаляется менее 50% фосфатов, выводимых из организма.

Перешедшие в ультрафильтрат ионы $HPO_4^{2-}$ и $H_2PO_4^-$ подвергаются активной реабсорбции, по-видимому, в проксимальных канальцах. Реабсорбция фосфатов активируется витамином Д и ингибируется паратгормоном. На реабсорбцию фосфатов влияют ионы $K^+$, поскольку при снижении содержания $K^+$ в крови реабсорбция фосфатов нарушается. Ионы $HPO_4^{2-}$, связывая в просвете канальцев секретируемые ионы $H^+$, вовлекаются в почечные механизмы регуляции КОС.

Выведение фосфатов с мочой ***возрастает*** при *ацидозе и алкалозе, первичном и вторичном гиперпаратиреоидизме, базедовой болезни, голодании.* ***Уменьшенное выведение*** фосфатов характерно для *поражений почек - различных тубулопатий (семейный витаминоустойчивый рахит, синдром Фанкони, цистиноз у детей, сахарный диабет или фосфатдиабет у взрослых)* вследствие снижения канальцевой реабсорбции, *для* беременности из-за потребления фосфата плодом *и для* диарреи в силу нарушения всасывания фосфатов в кишечнике.

***Неорганические сульфаты***. С мочой ежесуточно выводится 0,6-1,8 г анионов $SO_4^{2-}$ в расчете на серу. Количество выводимых неорганических сульфатов пропорционально поступлению серосодержащих аминокислот пищевых белков. Определение сульфатов в моче не имеет существенного диагностического значения.

***Вода.*** Главный в количественном аспекте компонент мочи. Количество воды, выделяемой с мочой, практически, совпадает с объемом мочи и составляет 50-60% всей жидкости, поступившей в организм извне, и воды, образовавшейся в процессе обмена веществ. В среднем у здорового взрослого человека за сутки организм теряет с мочой 1000-2000 мл жидкости. Вполне очевидно, что эта величина зависит от количества потребляемой организмом воды. Суточное выделение мочи у взрослых менее 500 мл и более 2000-2500 мл рассматривается как патологическое.

Из 180 л первичной мочи, образующейся в течение суток у среднего взрослого человека, реабсорбируется 99% воды. Реабсорбция воды представляет пассивный процесс, протекающий на всем протяжении нефрона в силу разности осмотического давления первичной мочи и жидкости окружающей интерстициальной ткани. В проксимальных канальцах вода уходит из первичной мочи пассивно вслед за $Na^+$. Реабсорбция воды из дистальных канальцев и собирательных трубочек активируется антидиуретическим гормоном, увеличивающим проницаемость эпителиальных клеток, выстилающих стенку канальцев и трубочек, для воды.

Повышенное образование мочи ***(полиурия)***, а следовательно и повышенное выведение воды с мочой наблюдается при *приеме больших количеств жидкости, лечении*

*диуретиками, сильных эмоциональных переживаниях (стрессовых ситуациях), сахарном и несахарном диабете, хронических нефритах и пиелонефритах и других заболеваниях.*

Пониженное образование мочи ***(олугоурия)*** и уменьшение выведения воды с мочой сопутствует *недостаточному поступлению жидкости в организм, лихорадочным состояниям, рвоте, диаррее, токсикозам, острому нефриту и почечной недостаточности*. При *тяжелых поражениях почек (острые диффузные нефриты), мочекаменной болезни (закупорка мочеточников), отравлениях свинцом, ртутью, мышьяком, сильных нервных потрясениях* возможно почти полное прекращение выделения мочи ***(анурия)***, сопровождающееся развитием уремии.

У здорового человека днем мочи выделяется в 3-4 раза больше, чем ночью. Выделение мочи преимущественно в ночное время получило название ***никтурии.***

**Вопросы для самоконтроля**

***1.*** Назовите важнейшие органические компоненты мочи.
2. Назовите важнейшие неорганические компоненты мочи.
3. Дайте опроеделение полиурии, олигоурии и анурии. Назовите их причины.

### *Патологические компоненты мочи*

***Глюкоза*** присутствует в моче здоровых людей в следовых количествах, не определяемых обычными лабораторными методами. Практически полностью реабсорбируется из ультрафильтрата в проксимальных канальцах. Рсабсорбция глюкозы подавляется флоридзином. Относится к пороговым веществам и при увеличении ее содержания в крови свыше 10 ммоль/л начинает выделяться с мочой вследствие неполной реабсорбции.

Появление глюкозы в определяемых количествах в моче ***(глюкозурия)*** может быть обусловлено различными причинами. Возможна ***физиологическая глюкозурия*** *при употреблении с пищей больших количеств сахара, у беременных женщин или вследствие сильного стрессового воздействия.* ***В условиях патологии*** основная причина глюкозурии - *сахарный диабет* с сопутствующей ему гипергликемией. Содержание глюкозы у больных сахарным диабетом, может достигать 5-120 г/л. Глюкозурия может *сопутствовать острому панкреатиту, гипертиреоидизму, гипоталямическому синдрому, острым инфекционным и нервным заболеваниям, сотрясению мозга, приступам эпилепсии. Поражения почечных канальцев* со снижением способности к реабсорбции глюкозы также сопровождаются глюкозурией (*почечный диабет, стероидный диабет, вторичная ренальная глюкозурия при хронических заболеваниях почек).* Наконец, *отравления морфином, стрихнином, хлороформом, фосфором и некоторыми другими веществами* также приводят к глюкозурии.

Нефросклероз, напротив, сопровождается увеличением пороговой концентрации глюкозы в крови и даже значительное повышение глюкозы в крови не сопровождается глюкозурией. Причина этого необычного состояния заключается в уменьшении клубочковой фильтрации.

В определенных условиях в моче появляются другие сахара. При употреблении больших количеств фруктов или фруктовых соков в моче обнаруживаются пентозы, у кормящих матерей - лактоза, у больных редким наследственным заболеванием - галактоземией развивается галактозурия. Существующие редкие врожденные

заболевания - идиопатическая пентозурия, при которой с мочой выделяется L-ксилулоза и идиопатическая фруктозурия. При так называемых лизосомных болезнях, характеризующихся врожденной недостаточностью некоторых кислых гидролаз, в моче определяются галактоза, ацетилглюкозамин, ацетилгалактозамин, ацетилнейраминовая и глюкуроновая кислоты.

***Белки***. В моче здорового человека содержатся следы белка (альбумины и глобулины крови, гликопротеиды слизистой оболочки мочеполовых путей), не определяемые обычными качественными реакциями на белок. При болезнях почек и ряде других заболеваний выведение белков с мочой резко возрастает и развивается ***протеинурия***.

***Почечные протеинурии*** рассматриваются как важный диагностический критерий и возникают *при остром гломерунефрите, на ранних стадиях хронического гломерулонефрита, при нефротическом синдроме и токсикозах беременных, нарушениях кровоснабжения почек, например, при застойной форме сердечной недостаточности*. В этих случаях появление белков плазмы крови в моче обусловлено органическими повреждениями нефрона, увеличением размеров пор почечного фильтра, замедлением кровотока в клубочках.

***Внепочечные протеинурии*** связаны с *поражением мочевых путей и предстательной железы, лихорадочными состояниями, анемиями и заболеваниями печени*.

Моча больных миеломной болезнью содержит белок Бенс-Джонса, который выпадает в осадок при нагревании мочи до 50°С и вновь растворяется при кипячении.

Даже у здоровых людей после длительного стояния или ходьбы в моче определяется белок - ***ортостатическая протеинурия.***

В моче человека обнаруживается активность ряда ***ферментов***: *липазы, лактатдегидрогеназы, рибонуклеазы, аминотрансфераз, лейцинаминопептидазы, фосфатаз, урокиназы, α-амилазы и др*. Для определения активности ферментов мочу, как правило, необходимо концентрировать. *При острых панкреатитах в моче определяется высокая активность α-амилазы*, что является ценным диагностическим критерием.

Диагностическое значение имеет исследование ***качественного состава белков*** в моче. Чаще всего в моче присутствуют *белки плазмы крови*, проникшие через поврежденный клубочковый фильтр. Если повреждение носит ограниченный характер, в моче обнаруживаются молекулы белков с небольшими размерами, т. е. преимущественно альбумины. Подобное явление называется ***селективной протеинурией.*** При тяжелых нефропатиях почечный фильтр полностью или почти полностью разрушен, и состав белков мочи близок к белковому составу плазмы крови. Реже причиной протеинурии оказывается неспособность проксимальных отделов нефрона достаточно эффективно реабсорбировать проходящие через гломерулярный фильтр низкомолекулярные белки ультрафильтрата вследствие повреждения самого нефрона или необычно высокого содержания этих белков в плазме крови. ***Гломерулярная протеинурия*** наблюдается *при остром и хроническом гломерулонефрите, нефропатиях, при системных заболеваниях (амилоидозе, красной волчанке) и др*. ***Тубулярная протеинурия*** объединяет болезни с преимущественным поражением канальцев: *наследственные тубулопатии (синдром Фанкони, синдром*

*Ольбрайта), энзимопатии (галактоземия, некоторые гликогенозы), эндемическая нефропатия, острый тубулярный некроз.*

Для оценки степени протеинурии определяют не только содержание белка в моче, но и количество белка, выделенного за сутки. Степень истинной протеинурии колеблется в больших пределах. *Нефротический синдром и некронефриты* сопровождаются обычно массивной протеинурией, при которой в моче содержание белка доходит до 90‰ и более. При функциональной и ложной протеинурии концентрация белка в моче менее 1‰. Дифференцировать особенности протеинурии помогает использование электрофоретических и иммунохимических методов.

В норме уропротеинограмма человека имеет следующий вид: альбумины - 20%, α-глобулины - 12%, $\alpha_2$-глобулины - 17%, β-глобулины - 43%, γ-глобулины - 8%. Величина отношения IgG/альбумины менее 0,16 свидетельствует о высокой избирательности почечного фильтра. Высокое содержание лизоцима или β-микроглобулина в моче по сравнению с содержанием альбумина указывает на поражение почечных канальцев, но нельзя исключить повреждение капсулы клубочка. При нефротическом синдроме, у больных системной красной волчанкой, при амилоидозе почек на уропротеинограмме преобладает $\alpha_2$- и γ-глобулииы, а при нефротическом варианте хронического нефрита относительное содержание этих белков незначительно. Для уропротеинограммы при миеломной болезни характерно преобладание глобулинов над альбуминами и появление белка Бенс-Джонса. Фибринурия встречается при опухолях мочевого пузыря, при этом в моче обнаруживаются сгустки фибрина. Хотя молекула гемоглобина невелика, освободившийся при распаде эритроцитов гемоглобин не проходит через почечный фильтр, т. к. образует высокомолекулярные комплексы с гаптоглобином. Миоглобин не комплексируется с гаптоглобином и поэтому, попадая в кровь, свободно проходит почечный фильтр и поступает в мочу.

***Кетоновые тела - β-оксимасляная кислота, ацетоуксусная кислота и ацетон*** образуются у здоровых людей в печени из ацетил-КоА. В норме их содержание в крови невелико, однако и в физиологических условиях клетки миокарда и коркового слоя почек используют β-оксимасляную и ацетоуксусную кислоты в качестве топлива предпочтительнее, чем, глюкозу. На холоде кетогенез значительно возрастает. У здоровых людей выведение кетоновых тел с мочой не превышает 20-50 мг/сутки и в моче они обычными клиническими методами не определяются.

Резкое увеличение содержания кетоновых тел в моче - ***кетоз*** - характерно для *сахарного диабета* вследствие активации кетогенеза и развития кетонемии. Кетоновые тела определяются в моче также при *голодании, кахексии, употреблении пищи, богатой кетогенными веществами, при приеме значительных количеств щелочных веществ, в послеоперационном периоде, при гликогенозах I, II и IV типов, гиперинсулинизме, тиреотоксикозе, выраженных гликозуриях, акромегалии, гиперпродукции глюкокортикоидов, инфекционных болезнях и интоксикациях, эклампсии.*

Среди других патологических компонентов мочи важное значение имеют желчные и кровяные пигменты, некоторые аминокислоты и производные аминокислот. О появлении их в моче при некоторых заболеваниях описано выше.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Назовите важнейшие патологические компоненты мочи.
2. Назовите причины глюкозурии.
3. Как классифицируют протеинурии?
4. Назовите причины почечных и внепочечных протеинурий.
5. Может ли в моче здоровых людей обнаруживаться белок?
6. Активность каких ферментов выявляется в моче?
7. Что такое селективная протеинурия?
8. Для каких заболеваний характерна массивная протеинурия?
9. Какие белки появляются в моче больных миеломной болезнью?
10. Назовите причины кетонурии.

**Особенности мочи у детей**

Моча начинает образовываться у плода на 9-й неделе внутриутробного развития. В связи с тем, что выделительная функция у плода обеспечивается плацентой, дети даже с отсутствием почек рождаются живыми. Моча плода гипотонична, содержит небольшие количества натрия, хлора, следы фосфатов и большое количество мочевины. Осмотическое давление мочи новорожденных выше, чем плазмы крови. Суточный диурез новорожденных низок и увеличивается с возрастом. Начиная с 4-го дня жизни, суточный диурез составляет в среднем 3/4 от всего количества принятой жидкости. Количество мочеиспусканий к 10-му дню жизни нарастает и достигает 20 и более раз.

Дети раннего возраста выделяют мочи в пересчете на 1 кг массы тела больше, чем взрослые. Суточное количество мочи на 1 кг массы тела у детей в возрасте 1-3 месяцев составляет 90-125 мл, 4-9 месяцев 70-110 мл, 10-12 месяцев 30- 80 мл, до 7 лет 50-70 мл, старше 8 лет 25-35 мл, у взрослых 18-20 мл. Недоношенные дети и находящиеся на искусственном вскармливании выделяют еще большее количество мочи в расчете на единицу массы тела. Суточный диурез у детей старше 1 года жизни рассчитывается по формуле:

мл мочи/сутки =600+ 100(х— 1),

где х - возраст ребенка в годах.

Полиурия в детском возрасте встречается при приеме больших количеств жидкости, в период выздоровления после лихорадочных состояний, при схождении отеков, сахарном и несахарном диабете, у психически неуравновешенных детей. Олигурия отмечается при недостаточном приеме жидкости, лихорадочных состояниях, рвоте, диаррее, токсикозах, сердечно-сосудистых заболеваниях, шоковых состояниях. При исследовании диуреза у детей необходимо следить не только за количеством мочи, но и количеством принятой жидкости и массой тела. У детей старше 2-3 лет дневной диурез превышает ночной.

Относительная плотность мочи у новорожденных достигает 1,018 г/мл, с 5-6 дня жизни до 2 лет составляет 1,010-1,017г/мл, в 4-5 лет 1,012-1,020г/мл, в 10-12 лет 1,011-1,025г/мл.

Моча новорожденных бесцветна, в последующие сутки темнеет, мутнеет, при стоянии выпадает красноватый осадок солей мочевой кислоты. Через неделю после рождения моча приобретает лимонно-желтый цвет и становится прозрачной.

pH мочи новорожденных кислый и составляет 5,4-5,9. Ко 2-4-му дню жизни pH мочи нарастает и достигает при грудном вскармливании 6,9-7,8. При искусственном вскармливании в этот период pH мочи слабо кислый 5,4-6,9, у недоношенных 4,8-5,4. Наиболее низкое значение pH мочи у грудных детей определяется в полночь, а наиболее высокое к полудню. Реакция мочи становится щелочной при рвоте, схождении отеков, а более кислой при лимфатическом диатезе, сахарном диабете, почечном ацидозе Олбрайта. Расхождение между pH крови и мочи у детей наблюдается при гиперхлоремическом ацидозе, отравлении сульфаниламидами, почечном ацидозе и других тубулопатиях. Во всех этих случаях, несмотря на метаболический ацидоз, моча имеет щелочную реакцию. Алкалоз на фоне кислой мочи встречается при гипокалиемии, лечении алкалоза введением больших количеств хлорида натрия. Определение величины pH мочи позволяет прозодить дифференциальный диагноз между гипокалемическим и гипохлоремическим алкалозом (при пилоростенозе, пилороспазме). При гипокалемии моча кислая, при гипохлоремии щелочная.

Количество органических и минеральных веществ, выводимых с мочой за сутки, у детей меньше, чем у взрослых, и колеблется в пределах 0,1-0,18 г/кг массы тела (у взрослых 0,25-0,35 г/кг). Высокое содержание в моче детей мочевой кислоты и ее солей является причиной мочекислого инфаркта, развивающегося у каждого второго новорожденного и имеющего благоприятный исход. Моча детей характеризуется высоким содержанием креатина, мочевины, гипиуровой кислоты (продукт обмена глицина). В течение суток с мочой у детей выводится 120—150 мг белка. Экскреция некоторых веществ с мочой у детей отражена в таблице.

**Выведение некоторых веществ с мочой у детей разного возраста**

| **Вещество** | **Количество (мг/сутки)** | |
|---|---|---|
| | 0-12 месяцев | 1 год – 14 лет |
| ***Органические вещества:*** | | |
| Мочевина | 150-4000 | 4000-16000 |
| Креатинин | 5-70 | 30-280 |
| Креатинин | 27-90 | 200-1400 |
| Белок | - | 120-150 |
| Мочевая кислота | 40-80 | 120-1000 |
| Глюкоза | - | 16-132 |
| Галактоза | - | <3 |
| Мальтоза | - | ~75 |
| Сахароза | - | 3-15 |
| Лактоза | - | ~63 |
| Кетоновые тела | - | 20-50 |

| ***Минеральные вещества:*** | | |
|---|---|---|
| Натрий | 150-300/м$^2$ | 1300-3100/м$^2$ |
| Калий | <300 | 600-700 |
| Кальций | - | ~60/кг |
| Магний | 20-40 | 40-200 |
| Аммиак | - | 5-25 |
| Хлориды | 10-1000 | 500-6000 |
| Бикарбонаты | - | 120/л |
| Фосфаты | - | 15-20/кг |

ЭКСПРЕСС-МЕТОДЫ АНАЛИЗА МОЧИ

Экспресс-методы анализа нашли применение для определения **патологических составных частей мочи:** глюкозы, кетоновых тел (ацетона), белка, крови (эритроциты, гемоглобин), лейкоцитов, уробилиногена, билирубина, а также pH мочи. Для экспресс-анализа мочи используются методы сухой химии (диагностические полоски) (рис.8)

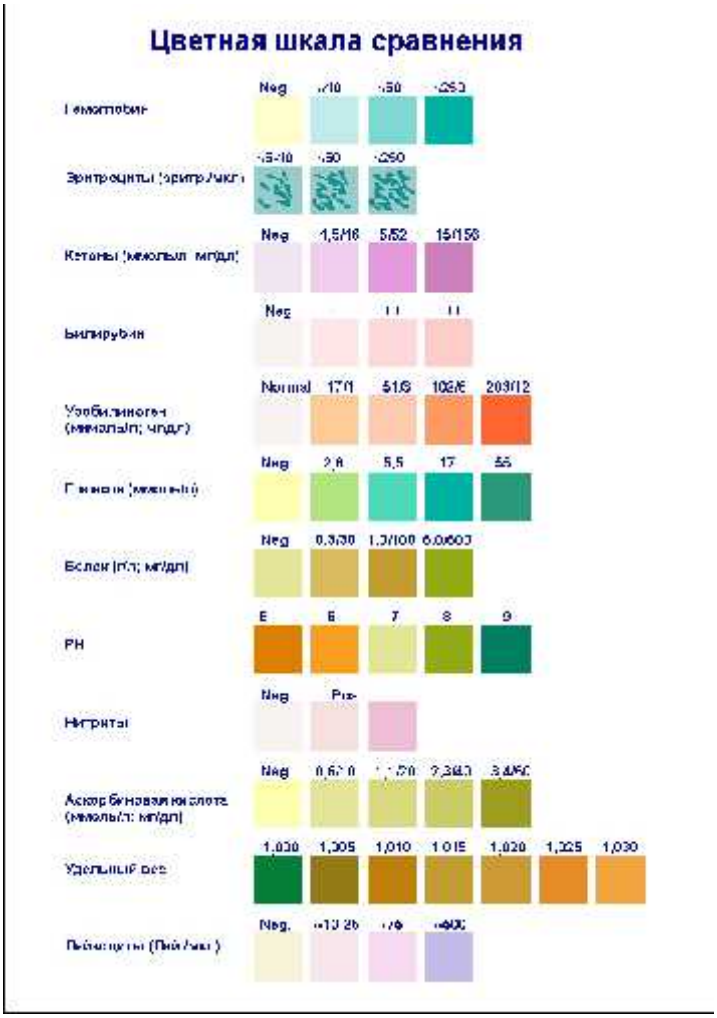


Рисунок 8. Диагностические полоски для биохимического анализа мочи

С помощью одной диагностической полоски можно выявить ранние симптомы для трех больших групп заболеваний:

1. ***нарушения углеводного обмена***. Характеризуются появлением в моче глюкозы (глюкозурия), ацетона, ацетоуксусной кислоты (кетонурия). При мукополисахаридозах возрастает выведение с мочой гликозаминогликанов.
2. ***почечные и урогенитальные заболевания***. Уже на ранних стадиях болезни в моче могут быть выявлены белок (протеинурия), лейкоциты, (лейкоцитурия), кровь (гематурия), бактерии (бактериурия).
3. ***болезни печени и заболевания, сопровождающиеся гемолитическим синдромом.*** В моче обнаруживаются патологические пигменты: уробилиноген, билирубин. Увеличивается или, напротив, уменьшается выведение нормального пигмента мочи стеркобилиногена.

***Определение глюкозы***

В нормальной моче глюкоза присутствует только в следовых количествах, которые не обнаруживаются обычными методами и поэтому принято считать, что у здоровых людей в моче глюкозы нет.

Появление глюкозы в моче - ***глюкозурия*** – является следствием гипергликемии. При нормальном содержании глюкозы в крови она полностью реабсорбируется из ультрафильтрата в проксимальных канальцах почек. Глюкоза относится пороговым веществам и при увеличении ее содержания в крови выше пороговой концентрации(10 ммоль/л) начинает выделяться с мочой вследствие неполной реабсорбции.

Появление глюкозы в моче может иметь временный, физиологический характер: ***алиментарная глюкозурия*** после приема с пищей легко усваиваемых углеводов с пищей, ***эмоциональная глюкозурия*** при стрессовых ситуациях, беременности.

В условиях патологии наиболее высокая глюкозурия сопровождает ***сахарный диабет***. У больных сахарным диабетом содержание глюкозы в моче может доходить до 5-120г/л.

Глюкозурия наблюдается при ряде заболеваний: *остром гепатите которых других острых инфекционных заболеваниях, гипертиреозе, сотрясении мозга, приступах эпилепсии.* Известна вторичная почечная глюкозурия при поражении почечных канальцев со снижением способности к реабсорбции глюкозы *(почечный диабет, стероидный диабет).* Глюкозурия развивается при ряде отравлений – *фосфором, морфином, стрихнином, хлороформом.*

Определение наличия глюкозы в моче выполняется путем нанесения капли мочи на индикационную зону полоски ***глюкотест*** или ***полифункциональных полосок.***

В индикационную зону импрегнированы ферменты глюкозооксидаза, пероксидаза и о-толидин, позволяющие определять глюкозу глюкозооксидазным методом. Развитие реакции сопровождается изменением цвета индикационной зоны с желтого на зеленый. Интенсивность и оттенки развивающейся окраски при сопоставлении с прилагаемой цветной шкалой указывают на пределы количественного содержания глюкозы в моче. Шкала находится на упаковочной коробке для данных диагностических полосок. Эталоны цветов обозначены номерами или соответствуют концентрации глюкозы в ммоль/л:1-1,30; 2-2,78; 3-5,55; 4-16,7; 5 > 83,3.

***Определение ацетона (кетоновых тел)***

Появление ***кетоновых тел (ацетона, ацетоуксусной и бетаоксимасляная кислоты)*** в моче называется ***кетонурией*** или ***ацетонурией.*** У здоровых людей в моче кетоновых тел практически нет, а содержание их в крови невелико.

Резкое увеличение кетоновых тел в крови ***(кетонемия)***, а вследствие этого и выделение с мочой ***(кетонурия)*** наблюдается при сахарном диабете, вследствие активации кетогенеза. *Кетоновые тела определяются в моче при голодании, кахексиях, в послеоперационном периоде, тиреотоксикозе.*

Кетоновые тела в моче определяют с помощью диагностических полосок – ***кетотест, кетофан*** или ***полифункциональных полосок***, а также ***реактивной таблетки на ацетон.***

В основу определения взята реакция Легаля. В индикационной зоне розового цвета содержится нитропруссид. В сильнощелочной среде индикатор в присутствии ацетона меняет окраску с розовой на темно-фиолетовую. Интенсивность окраски, оцениваемая по цветной шкале, позволяет судить о количественном содержании ацетона в ммоль/л. Эталоны цветной шкалы, обозначенные номерами, соответствуют следующим концентрациям ацетона в ммоль/л: 1-0,3; 2-1,5; 3-2,9; 4-7,3; 5 > 14,7.

***Определение белка***

В моче здорового человека содержатся следы белка, не определяемые обычными химическими методами.

При заболеваниях почек, мочевых путей, а также некоторых других состояниях в моче появляются определяемые аналитически количества белка, что получило название ***протеинурии.*** Протеинурия может достигать1-20г белка в сутки.

Различают ***почечные*** и ***внепочечные*** протеинурии.

При ***почечных протеинуриях*** в мочу попадают белки сыворотки крови, главным образом альбумины, отсюда другое название состояния - ***альбуминурия***. Появление белков плазмы крови в моче обусловлено органическими повреждениями нефрона, увеличением размеров пор почечного фильтра, замедлением кровотока в клубочках. Почечные протеинурии служат важным диагностическим критерием при *остром гломерулонефрита, токсикозах беременности, нарушениях кровообращения почек, например при застойной форме сердечной недостаточности.*

***Внепочечные протеинурии*** связаны с *поражением мочевых путей, предстательной железы, лихорадочными состояниями, встречаются при анемиях и заболеваниях печени* .В моче появляются гликопротеиды слизи, крови из мочевыводящих путей.

При некоторых болезнях в моче появляются ***патологические белки***. Например, при *миеломной болезни* моча содержит ***белок Бенс-Джонса***, который выпадает в осадок при 50$^{o}$С, а при кипячении мочи растворяется.

При некоторых состояниях белок может появляться в моче здоровых людей, например, при длительном стоянии или ходьбе - ортостатическая протеинурия.

Большое диагностическое значение имеет определение качественного состава белков мочи методом электрофореза, но эти анализы выполняются при специальных назначениях, только после установления наличия протеинурии.

Протеинурия выявляется экспресс-методом с помощью диагностических полосок.

Индикационная зона для белка, окрашенная в желтый цвет, содержит кислотный буфер и специальный индикатор, который в присутствии белка изменяет окраску на зеленую до синей. Цветная шкала на этикетке упаковки полосок позволяет дать полуколичественную оценку содержания белка в моче в г/л:1-0,1; 2-0,3; 3-1,0; 4-3,0; 5 > 10,0

Диагностические полоски на белок обычно содержит две индикационные зоны. Вторая зона оранжевого цвета служит для определения pH мочи.

***Определение pH***

Нормальная моча здорового человека имеет слабокислую реакцию (pH в пределах 5,0-7,0). На величину pH влияет ***характер диеты.*** При употреблении в пищу мясных продуктов реакция мочи становится более кислой, при вегетарианской диете - более щелочной.

***Резко кислая*** реакция мочи встречается при *декомпенсированном сахарном диабете, лихорадочных состояниях, голодании.* ***Щелочная*** реакция мочи характерна для *циститов и пиелитов, при сильной рвоте, при употреблении щелочных минеральных вод.*

Кислотность мочи определяет возможность образования различных типов мочевых камней.

Индикационная зона для определения pH оранжевого цвета, содержит кислотно-основной индикатор. Цветная шкала отградуирована от 5 до 9 единиц pH.

***Определение крови***

Появление крови (эритроцитов, гемоглобина) в моче – ***гематурия, гемоглобинурия*** наступает при повреждении почек и мочевых путей.

Гематурия надежно выявляется с помощью диагностических полосок или выполнения бензидиновой пробы.

Реакция основана на пероксидазном действии гемоглобина, который подобно пероксидазе разлагает пероксид водорода и катализирует окисление бензидина образующимся атомарным кислородом. Зона индикации содержит указанные реагенты и в присутствии эритроцитов или гемоглобина приобретает окраску от зеленой до ярко-синей. Полоски очень чувствительны и позволяют выявлять гематурию при содержании эритроцитов 5-10 /мкл мочи.

***Обнаружение лейкоцитов***

Лейкоциты присутствуют в моче здоровых людей в количестве 1-2 в поле зрения микроскопа. При патологии количество лейкоцитов в моче значительно возрастает: от 15-20 в поле зрения до заполнения всего поля зрения. В этих случаях говорят о ***пиурии***.

Для обнаружение форменных элементов крови в моче проводят микроскопию мочи (осадков). Это трудоемкий процесс. При экспресс – анализах используются диагностические полоски. Индикационная зона на лейкоциты

содержит реактивы на лейкоцитарную эстеразу. Это специфический, чувствительный метод, выявляющий даже лизированные лейкоциты.

***Обнаружение бактериурии***

Проба на бактериурию основана на доказательстве наличии нитритов, образующихся под действием микроорганизмов.

В индикационной зоне находится специальный реактив на нитриты. При наличии бактерий развивается окраска от розового до пурпурно – красного.

***Определение стеркобилиногена****

Стеркобилиноген– нормальный пигмент мочи. За сутки с мочой его выделяется до 4 мг. Количество стеркобилиногена в моче резко увеличивается при гемолитической желтухе.

Для определения стеркобилиногена применяются диагностические полоски. Индикационная зона содержит реактивы, дающие со стеркобилиногеном цветную реакцию, сопровождающуюся изменением розовой окраски на карминово-красную.

* В клинике нормальный пигмент мочи по устоявшейся традиции называют уробилиногеном. С точки зрения химии это не точно, но прижилось и добиться использования врачами корректного термина достаточно сложно.

***Определение билирубина***

В нормальной моче билирубин не выявляется. Резко увеличен при механической желтухе.

Определение проводят с помощью диагностической полоски. Индикационная зона содержит реактивы, дающие с билирубином карминово–красное окрашивание. С помощью цветной шкалы можно определить величину билирубинурии.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Что понимается под экспресс-анализом мочи? С помощью каких методов он осуществляется?
2. Что такое диагностические полоски? Назовите известные вам диагностические полоски.
3. Какие показатели определяют в моче с помощью диагностических полосок? Охарактеризуйте диагностическое значение определения этих показателей.

## СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ БИОХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Бурный прогресс в области молекулярной биологии в последние десятилетия XX века сопровождался возникновением принципиально новых методов исследования, основанных на использовании моноклональных антител, метода гибридизации на фильтрах и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Эти методы очень скоро нашли применение в медицине при диагностике различных заболеваний. В результате сформировалась новая ветвь клинической лабораторной диагностики - молекулярная

клиническая диагностика - наука, осуществляющая диагностику болезней на молекулярном уровне и основанная на выявлении специфических генов и продуктов их деятельности – белков. Наибольшее применение на практике нашли методы полимеразной цепной реакции (ПЦР) и иммуноферментного анализа (ИФА). Эти методы сегодня прочно вошли в практику работы клинико-диагностических лабораторий самых различных лечебно-профилактических учреждений. Поэтому представляет интерес ознакомить читателя с принципами и практическими возможностями этих методов.

## ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ

Метод ПЦР относится к гибридизационным методам анализа ДНК, основанным на достраивании комплементарной полинуклеотидной цепи на одинарной полинуклеотидной цепи - матрице. Принцип метода ПЦР был разработан в начале 80-ых годов прошлого столетия и в настоящее время метод широко используется в научных исследованиях, практическом здравоохранении и службе Госсанэпиднадзора.

*В основе метода ПЦР лежит комплементарное достраивание ДНК матрицы, осуществляемое in vitro с помощью фермента ДНК-полимеразы (репликация ДНК).* Естественная репликация ДНК включает в себя несколько стадий (рис.8):

1. денатурация ДНК (расплетение двойной спирали, расхождение нитей ДНК);
2. образование коротких двухцепочечных участков ДНК (затравок, необходимых для инициации синтеза ДНК)
3. синтез новой цепи ДНК (комплементарное достраивание обеих нитей).

В методе ПЦР процесс репликации ДНК используется для получения копий коротких участков ДНК, специфичных для того или иного организма. Все клетки многоклеточного организма содержат идентичную ДНК. В то же время, ДНК двух организмов никогда не является идентичной и имеет пусть и минимальные, но все же различия. Специфичные именно для данного организма участки ДНК и представляют интерес в диагностическом плане. Обнаружение специфичных участков ДНК микроорганизмов позволяет идентифицировать возбудителя инфекционного заболевания.

Для идентификации специфической ДНК необходимо иметь ее в более или менее достаточных количествах. Многократное увеличение количества копий специфических для данного микроорганизма участков ДНК достигается работой фермента ДНК-полимеразы в циклическом режиме. *При многократном повторении циклов синтеза происходит экспоненциальное увеличение числа копий специфического фрагмента ДНК, что позволяет из небольшого количества анализируемого материала, который может содержать единичные клетки микроорганизмов получить достаточное количество ДНК копий для идентификации их методом электрофореза.* Открытие термостабильной ДНК-полимеразы (Taq-полимеразы) из термофильных бактерий Thermis aquaticus, оптимум работы которой находится в области 70-72$^0$С, позволило сделать процесс репликации ДНК циклическим. Создание программируемых термостатов (амплификаторов), которые по заданной программе осуществляют циклическую смену температур, создало предпосылки для широкого внедрения метода ПЦР в практику лабораторной клинической диагностики.

Комплементарное достраивание цепи начинается не в любой точке последовательности ДНК, а только в определенных стартовых блоках - коротких двунитевых участках. При присоединении таких блоков к специфическим участкам ДНК

можно направить процесс синтеза новой цепи только в этом участке, а не по всей длине ДНК цепи. Для создания стартовых блоков в заданных участках ДНК используют две олигонуклеотидные затравки (20 нуклеотидных пар), называемые праймерами. Праймеры комплементарны последовательностям ДНК на левой и правой границах специфического фрагмента и ориентированы таким образом, что достраивание новой цепи ДНК протекает только между ними.

Таким образом, метод ПЦР представляет собой многократное увеличение числа копий (амплификация) специфического участка ДНК, катализируемое ферментом ДНК-полимеразой.

Для проведения амплификации необходимы: *ДНК-матрица* (ДНК или ее часть, содержащая искомый специфический фрагмент), *праймеры* (синтетические олигонкулеотиды в 20-30 нуклеотидных пар, комплементарные последовательностям ДНК на границах определяемого специфического фрагмента; выбор специфического фрагмента и подбор праймеров играет важнейшую роль в специфичности проведения амплификации, что сказывается на качестве проведения анализа), *смесь четырех дезоксинуклеотидтрифосфатов (дНТФ),* являющихся материалом для синтеза новых комплементарных цепей ДНК), *фермент Taq-полимераза* (термостабильная ДНК-полимераза, катализирующая удлиннение цепей праймеров путем последовательного присоединения нуклеотидных оснований к растущей цепи синтезируемой ДНК), *буферный раствор* (реакционная среда, содержащая ионы $Mg^{2+}$, необходимые для поддержания активности фермента).

Для определения специфических участков генома РНК-содержащих вирусов, сначала получают ДНК-копию с РНК-матрицы, используя реакцию обратной транскрипции (RT), катализируемую ферментом ревертазой (обратной транскриптазой).

Для получения достаточного количества копий искомого характеристического фрагмента ДНК амплификация включает несколько (20-40) циклов.

Каждый цикл амплификации включает *3 этапа*, протекающих в различных температурных режимах (рис. 9).

*1 этап: Денатурация ДНК* (расплетение двойной спирали). Протекает при $93\text{-}95^0$ в течение 30-40 сек.

*2 этап: Присоединение праймеров (отжиг).* Присоединение праймеров происходит комплементарно к соответствующим последовательностям на противоположных цепях ДНК на границах специфического участка. Для каждой пары праймеров существет своя температура отжига, значения которой располагаются в интервале 50-65°С. Время отжига -20-60 сек.

*3 этап: Достраивание цепей ДНК.* Комплементарное достраивание цепей ДНК происходит от 5’-конца к 3’-концу цепи в противоположных направлениях, начиная с участков присоединения праймеров. Материалом для синтеза новых цепей ДНК служат добавляемые в раствор дезоксирибонуклеотидтрифосфаты (дНТФ). Процесс синтеза катализируется ферментом термостабильной ДНК-полимеразой (Taq-полимеразой) и проходит при температуре $70\text{-}72^{o}$С. Время протекания синтеза - 20-40 сек.

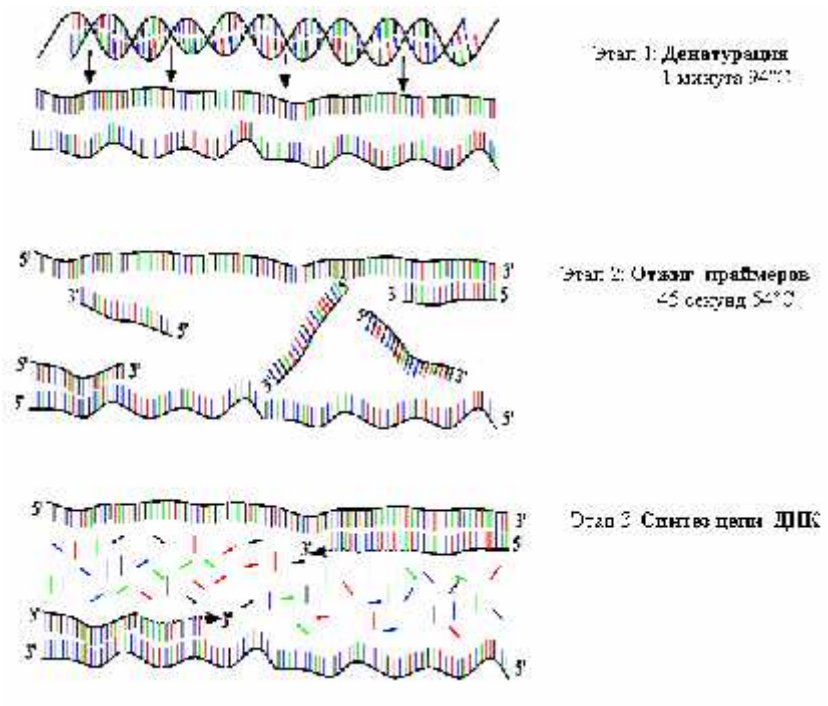


Рисунок 9 Принцип метода ПЦР

Образовавшиеся в первом цикле амплификации новые цепи ДНК служат матрицами для второго цикла амплификации, в котором происходит образование искомого специфического фрагмента ДНК (ампликона). В последующих циклах амплификации ампликоны служат матрицей для синтеза новых цепей. Таким образом происходит накопление ампликонов в растворе по формуле $2^n$, где n-число циклов амлификации (рис.10). Поэтому, даже если в исходном растворе первоначально находилась только одна двухцепочечная молекула ДНК, то за 30-40 циклов в растворе накапливается около $10^8$ молекул ампликона. Этого количества достаточно для достоверной визуальной детекции этого фрагмента методом электрофореза в агарозном геле. Процесс амплификации проводится в специальном программируемом термостате (амплификаторе), который по заданной программе автоматически осуществляет смену температур 4 согласно числу циклов амплификации.

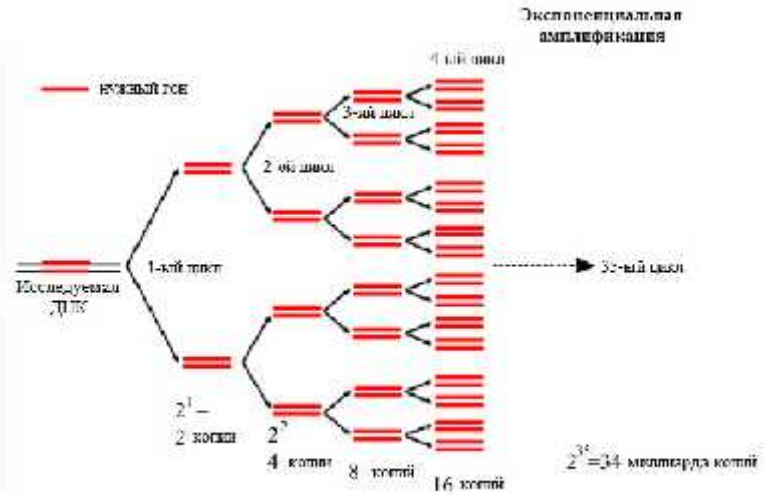


Рисунок 10. Экспоненциальный характер нарастания продуктов ПЦР.

*В основе метода ПЦР, как инструмента лабораторной диагностики инфекционных заболеваний лежит обнаружение небольшого фрагмента ДНК возбудителя (несколько сот пар оснований), специфичного только для данного микроорганизма, с использованием полимеразной цепной реакции для накопления искомого фрагмента.*

Методика проведения анализа с использованием ПЦР включает три стадии:

1. Выделение ДНК (РНК) из клинического образца;
2. Амплификация специфических фрагментов ДНК;
3. Детекция продуктов амплификации.

***Выделение ДНК (РНК)***

На данной стадии проведения анализа клиническая проба подвергается специальной обработке, в результате которой происходит лизис клеточного материала, удаление белковых и полисахаридных фракций, и получение раствора ДНК или РНК, свободной от ингибиторов и готовой для дальнейшей амплификации.

Выбор методики выделения ДНК (РНК) в основном определяется характером обрабатываемого клинического материала.

***Амплификация специфических фрагментов ДНК***

На данной стадии происходит накопление коротких специфических фрагментов ДНК в количестве, необходимом для их дальнейшей детекции. В большинстве методик определения специфических фрагментов генома используется т.н. классический вариант направленной ПЦР. Для повышения специфичности и чувствительности анализа в некоторых методиках используется метод "гнездной" ПЦР, в котором используются 2 пары праймеров ("внешние" - для 1-ой стадии, и "внутренние" - для 2-ой стадии).

***Детекция продуктов амплификации***

В большинстве методик на данном этапе проводится разделение смеси продуктов амплификации, полученной на 2-ой стадии, методом горизонтального электрофореза в агарозном или полиакриамидном геле. До проведения *электрофоретического разделения,* к амплификационной смеси добавляется раствор бромистого этидия, образущий с двухцепочечными фрагментами ДНК прочные соединения внедрения. Эти соединения под действием УФ-облучения способны флуоресцировать, что регистрируется в виде оранжево-красных светящихся полос после электрофоретического разделения амплификационной смеси в агарозном геле.

В качестве альтернативы электрофоретическому методу детекции, имеющему некоторые недостатки: субъективность чтения результатов, ограничения по определению ДНК различных микроорганизмов в одной реакции, могут быть предложены *гибридизационные схемы детекции.* В этих схемах образующийся в результате амплификации фрагмент ДНК гибридизуется (образует 2-х цепочечные комплексы - "гибриды") со специфическим олигенуклеотидным зондом. Регистрация таких комплексов может быть проведена колориметрически или флуориметрически.

***ПЦР в реальном времени***

В настоящее время разработан метод ПЦР в реальном времени (Real-Time PCR), позволяюшщий осуществлять мониторинг и количественный анализ накопления продуктов полимеразной цепной реакции непосредственно по ходу ее протекания. ПЦР в реальном времени использует флуоресцентно меченые олигонуклеотидные зонды для

детекции ДНК в процессе ее амплификации и не требует стадии электрофореза. Время анализа сокращается до 20-60 мин.

ПЦР в реальном времени использует систему, контролирующую кинетику ПЦР непосредственно в ходе амплификации с использованием резонансного тушения флуоресценции. Для детекции используется зонд, несущий флуорофор и тушитель, комплементарный средней части амплифицируемого фрагмента. Когда флуорофор и тушитель связаны с олигонуклеотидным зондом, наблюдается лишь незначительная флуоресцентная эмиссия. Во время процесса амплификации за счет 5’-экзонуклеазной активности Taq-полимеразы флуоресцентная метка переходит в раствор, освобождаясь от соседства с тушителем, и генерирует флуоресцентный сигнал, усиливающийся в реальном времени пропорционально накоплению амплификата (рис.11).

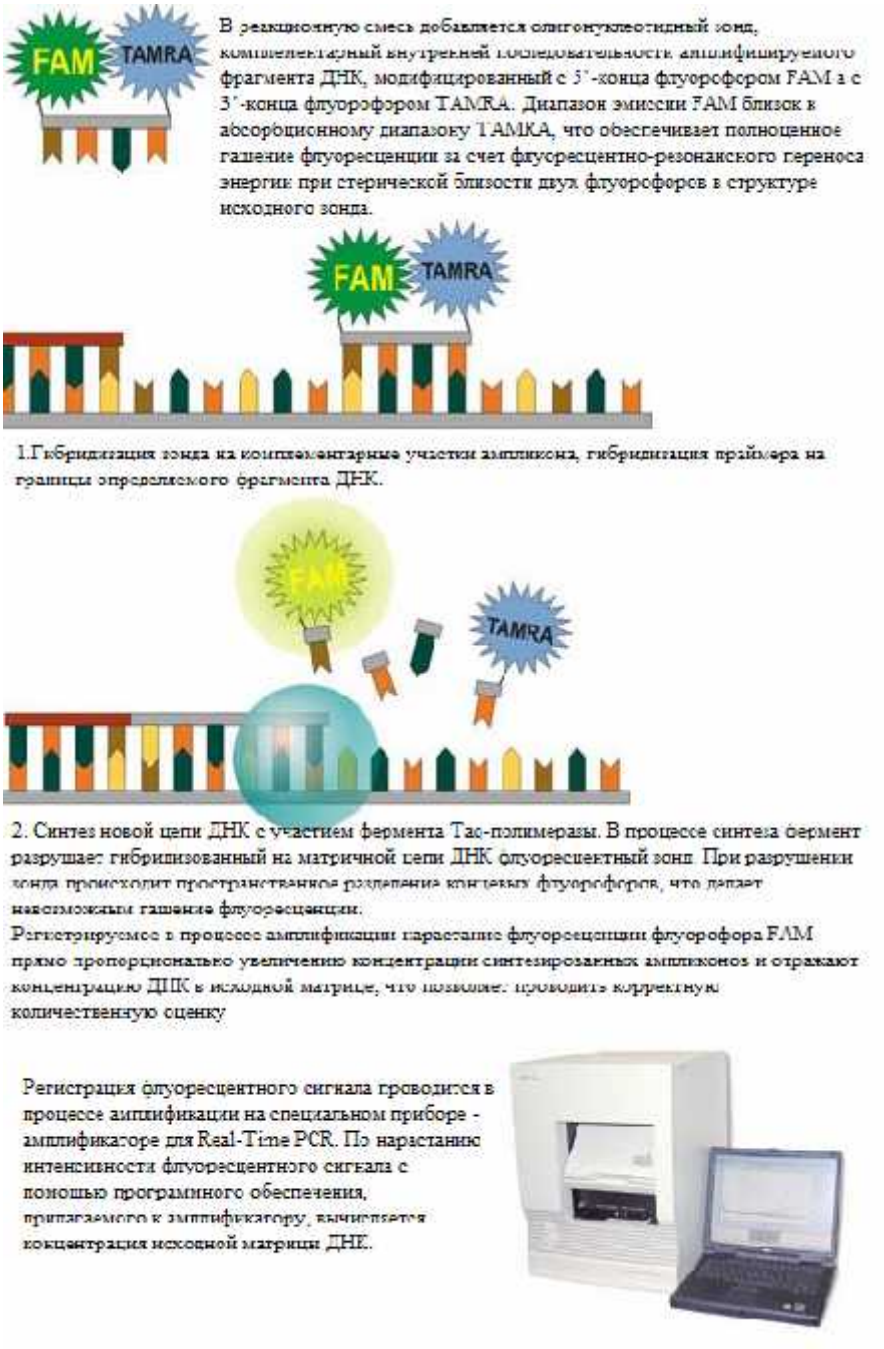


Рисунок 11. Принцип метода ПЦР в реальном времени.

***Преимущества метода ПЦР как метода диагностики инфекционных заболеваний***

- *Прямое определение наличия возбудителей.* Многие традиционные методы диагностики, например иммуноферментный анализ, выявляют белки-маркеры, являющиеся прдуктами жизнедеятельности инфекционных агентов, что дает лишь опосредованное свидетельство наличия инфекции. Выявление специфического участка ДНК возбудителя методом ПЦР дает прямое указание на присутствие возбудителя инфекции.
- *Высокая специфичность.* Высокая специфичность метода ПЦР обусловлена тем, что в исследуемом материале выявляется уникальный, характерный только для данного возбудителя фрагмент ДНК. Специфичность задается нуклеотидной последовательностью праймеров, что исключает возможность получения ложных результатов, в отличие от метода иммуноферментного анализа, где нередки ошибки в связи с перекрестно-реагирующими антигенами.
- *Высокая чувствительность.* Метод ПЦР позволяет выявлять даже единичные клетки бактерий или вирусов. ПЦР-диагностика обнаруживает наличие возбудителей инфекционных заболеваний в тех случаях, когда другими методами (иммунологическими, бактериологическими, микроскопическими) это сделать невозможно. Чувствительность ПЦР-анализа составляет 10-1000 клеток в пробе (чувствительность иммунологических и микроскопических тестов - $10^3$-$10^5$ клеток).
- *Универсальность процедуры выявления различных возбудителей.* Материалом для исследования методом ПЦР служит ДНК возбудителя. Метод основан на выявлении фрагмента ДНК или РНК, являющегося специфичным для конкретного организма. Сходство химического состава всех нуклеиновых кислот позволяет применять унифицированные методы проведения лабораторных исследований. Это дает возможность диагносцировать несколько возбудителей из одной биопробы. В качестве исследуемого материала могут использоваться различные биологические выделения (слизь, моча, мокрота), соскобы эпителиальных клеток, кровь, сыворотка.
- *Высокая скорость получения результата анализа.* Для проведения ПЦР-анализа не требуется выделение и выращивание культуры возбудителя, что занимает большое количество времени.. Унифицированный метод обработки биоматериапа и детекции продуктов реакции,и автоматизация процесса амплификации дают возможность провести полный анализ за 4-4,5 часа.
- *Возможность доклинической и ретроспективной диагностики*. ПЦР позволяет осуществить определение патогена или дефектного гена в организме ещё до развития заболевания. Например, при инфекциях в инкубационном периоде, т.е. серонегативной фазе или при латентном характере заболевания. Особенно эффективен метод ПЦР для диагностики трудно культивируемых, некультивируемых и персистирующих форм микроорганизмов, с которыми часто приходится сталкиваться при латентных и хронических инфекциях, поскольку этот метод позволяет избежать сложностей, связанных с выращиванием таких микроорганизмов в лабораторных условиях. Кроме того, возможно проведение ПЦР в архивном (фиксированном) материале или биологических остатках, что важно для идентификации личности или отцовства.

- *Возможность экспертизы.* Полученные результаты ПЦР возможно вносить в компьютерные информационные носители или фотографии для оценки независимыми экспертами.

Следует отметить, что методом ПЦР возможно выявление возбудителей не только в клиническом материале, полученном от больного, но и в материале, получаемом из объектов внешней среды (вода, почва и т.д.).

***Применение ПЦР в практическом здравоохранении***

Метод ПЦР нашел широкое применение в диагностике инфекционных заболеваний как бактериальной, так и вирусной природы для обнаружения микроорганизмов трудно культивируемых в лабораторных условиях, атипичных форм бактерий. К ним также относятся внутриклеточные паразиты и микроорганизмы, способные длительно персистировать в организме хозяина. Высокоспецифичная, чувствительная и быстрая диагностика многих тяжелых заболеваний способствует не только их эффективному лечению, но и предотвращению распространения инфекции.

Наиболее эффективно и экономически обоснованно использование метода в *урогинекологической практике* - для выявления хламидиоза, уреаплазмоза, гонореи, герпеса, гарднереллеза, микоплазменной инфекции; в *пульмонологии* - для дифференциальной диагностики вирусных и бактериальных пневмоний, туберкулеза; *в гастроэнтерологии* - для выявления геликобактериоза; в клинике *инфекционных заболеваний* в качестве экспресс-метода диагностики сальмонеллеза, дифтерии, вирусных гепатитов B, C и G; в *гематологии* - для выявления цитомегаловирусной инфекции, онковирусов. Метод ПЦР-диагностики также используется для выявления наследственных болезней, в судебно-медицинской практике и в трансплантологии.

Назначая обследование методом ПЦР, врач должен понимать, какова *цель* исследования. Метод ПЦР решает три главных последовательных задачи:

- определить *наличие* или *отсутствие* патогена (или аномального гена);
- в значительной мере ответить на вопрос *«лечить?»* или *«не лечить?»;*
- оценить качество терапии путем контроля *наличия* или *отсутствия* возбудителя или аномального гена.

Получение положительного результата методом ПЦР-диагностики само по себе не является основанием для постановки диагноза заболевания. Врачу необходимо четко различать понятия *состояние инфицированности* и *диагноз инфекционная болезнь.*

**Вопросы для самоконтроля**

1. В чем состоит принцип ПЦР?
2. Что выявляет метод ПЦР?
3. Какие стадии выделяют в процессе репликации ДНК?
4. Что такое праймеры?
5. Из каких этапов сосотит метод ПЦР?
6. В чем особенности ПЦР в реальном времени?
7. Перечислите преимущества и ограничения метода ПЦР в диагностике инфекционных заболеваний.

## ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ

Метод ИФА анализа наряду с ПЦР характеризуется высочайшей специфичностью и позволяет качественно и количественно определять тот или иной компонент в биологическом материале, содержащем сотни и тысячи различных компонентов. Единственное требование к определяемому веществу – оно должно обладать свойствами антигена, то есть способностью вызывать в организме человека или животных синтез особых белков - антител, с высокой специфичностью связывающих этот антиген.

Для проведения ИФА необходимо иметь в распоряжении антиген, антитело к этому антигену и исполдьзуемый в качестве метки фермент, пришитый к антителу или антигену. Метод ИФА основан на проведении следующих иммунохимических реакций:

$$aАГ + bАТ^* \rightarrow a(АГ\text{-}АТ^*) + (b\text{-}a)АТ^* \qquad (1)$$

$$aАГ^* + bАТ + cАГ \rightarrow d(АГ^*\text{-}АТ)\ e(АГ\text{-}АТ)\ (a\text{-}d)АГ^*\ (c\text{-}e)АГ \qquad (2)$$

В первом варианте (уравнение 1) из антигена АГ, находящегося в тестируемом образце, и меченого антитела АТ*, взятого в избытке, образуется комплекс антигена с меченным антителом (АГ-АТ*). Количественный анализ реакции (1) может быть проведен по образованию комплекса АГ-АТ*, выявляемого с помощью ферментной метки, или по АТ*, оставшемуся в свободном состоянии. Это ***неконкурентный вариант ИФА***. Во втором варианте (уравнение 2) лимитирующим субстратом является немеченое антитело (АТ). Меченый антиген (АГ*) при добавлении в анализируемый образец в известной концентрации, связывается с антителом, образуя комплекс АГ*-АТ. В этой реакции меченный ант иген (АГ*) конкурирует с немеченым антигеном (АГ), содержащимся в образце. Концентрация комплекса АГ*-АТ будет обратно пропорциональна концентрации АГ. Таким способом по заранее известной концентрации АГ* можно определить неизвестную концентрацию АГ. Это ***конкурентный вариант ИФА***. В обоих вариантах ИФА необходимо разделить связанную фракцию меченого реагента (АГ-АТ* или АГ*-АТ) от оставшегося свободным реагента (АТ* или АГ*), для определения доли специфического связывания.

Наборы реактивов для проведения ИФА называются *диагностикумами*. В состав диагностикумов входят антигены, антититела, и комплексы антигенов или антител с ферментом. Решистрация протекания иммунохимической реакции осуществляется по активности фермента, связанного с антигеном или антителом и используемого в качестве метки.

### *Антиген*

В роли антигена могут выступать клетки микроорганизмов, вирусы, белки и полисахариды. Это полноценные антигены. Антитела образуются не против всей молекулы белка или бактериальной клетки, а только к небольшим участкам на их поверхности - антигенным детерминантам *(эпитопам)*. Такие участки у белков включают не менее пяти аминокислотных остатков. Антигенные детерминанты разветвленных молекул полисахаридов представлены цепочками из четырех - шести остатков.

Существуют также неполноценные антигены - гаптены. Антитела к гаптенам образуются лишь при их посадке на полимерную матрицу, в качестве которой используются макромолекулы: белки, полисахариды клеточных стенок бактерий,

синтетические полиэлектролиты. Таким способом можно получить антитела к антибиотикам и другим лекарственным соединениям, стероидным и пептидным гормонам, витаминам, пестицидам и др. Нуклеиновые кислоты сами по себе неиммуногенны. Однако антитела к нуклеиновым кислотам синтезируются, если они находятся в комплексе с белками. Антигенные детерминанты нуклеиновых кислот представлены три- и тетрануклеотидами.

Зачастую выделить и очистить антиген, например вирусный белок, бывает затруднительно. Ведь его надо иметь в ощутимых количествах, если речь идет о создании диагностикума. В таких случаях для синтеза антигена используют генноинженерные (трансгенные) микроорганизмы.

***Антитело***

Иммунный ответ в организме животного на введение даже одного антигена сопровождается синтезом антител, различающихся по структуре и функциональному предназначению. Это иммуноглобулины (Ig) классов G, D, E, A, M, из которых первые три могут связать по две молекулы антигена, то есть двухвалентны, IgA четырех- или восьмивалентны, IgM десятивалентны. Антиген, используемый для иммунизации животного, содержит, как правило, не одну, а несколько антигенных детерминант. Поэтому несложно представить какое множество антител вырабатывается в организме на введение одного антигена. Такие антитела называются ***поликлональными***. Они гетерогенны по сродству к антигенам. Их состав непостоянен и зависит от вида животного, его генетических особенностей и физиологического состояния. Поликлональные антитела мало пригодны для проведения ИФА.

Для очистки и стандартизации поликлональных антител используется аффинная хроматография. Сыворотка крови от иммунизированного животного пропускается через колонку с полисахаридными гранулами, к которым ковалентно пришит антиген. Специфические антитела связываются антигеном. Все другие белки, и в том числе антитела с низким сродством к антигену, проваливаются через колонку. Далее специфически связанные антитела смывают с колонки, пропуская буферные растворы с различными значениями pH. Один цикл аффинной хроматографии позволяет очистить белки в 1000 раз и более. Однако даже такой способ очистки не позволяет полностью избавиться от гетерогенности препарата антител. Выход из затруднения состоит в получении антител с одной специфичностью, реагирующих с единственной антигенной детерминантой. Такие антитела называются ***моноклональными.*** Их получают методами клеточной инженерии путем гибридизации иммунокомпетентных В-лимфоцитов и клеток миеломных опухолей, способных к быстрому размножению, неограниченному числом делений в отличие от большинства неопухолевых клеток, у которых число делений ограничено. Препараты моноклональных антител характеризуются постоянством состава и физико-химических свойств, низкой вероятностью перекрестной реакции с «чужими» антигенами.

***Ферменты***

В качестве метки необходимо подобрать фермент, длительно сохраняющий активность, не теряющий ее при связывании с антигеном или антителом, обладающий высокой специфичностью к субстрату. Установленным требованиям отвечают пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза и β-галактозидаза *Escherichia coli*. Активность

ферментов регистрируют обычно по изменению оптической плотности, реже флуориметрически и электрохимически. В частности, пероксидаза катализирует реакцию:

$$AH_2, + H_2O_2 \rightarrow A + 2H_2O$$

В качестве субстрата ($AH_2$) может быть использован бесцветный о-фенилендиамин. При его окислении пероксидазой образуется окрашенный продукт с максимумом поглощения в видимой области спектра (435 нм).

При связывании фермента с антигеном или антителом не должны нарушаться их каталитеческие и иммунохимические свойства. Для этого существуют три группы методов: биохимические, иммунологические и генноинженерные. В биохимических методах используется сшивка фермента Е с антителом или антигеном при участии свободных реакционноспособных групп: - $NH_2$-, COOH, -SH, -OH. Если прямое взаимодействие реализовать не удается, в ход идут бифункциональные сшивающие агенты: глутаровый диальдегид, *n*-бензохинон. Иммунологические методы получения антигенов или антител, меченных ферментами, основаны на применении антител или их составляющих в качестве сшивающих звеньев. Генноинженерный метод получения меченого антигена основан на синтезе гибридных белков с помощью микроорганизмов. Таким методом, используя трансгенную *E. coli*, получены гибридные белки, содержащие полную аминокислотную последовательность бактериальной β-галактозидазы и специфическую последовательность белка от вируса иммунодефицита человека или вируса гепатита В.

***Разновидности ИФА***

Количественный анализ иммунохимических реакций (уравнения 1 и 2) может быть проведен по продуктам (АГ-АТ* и АГ*-АТ) или по субстратам реакций, оставшимся в свободном состоянии (АТ* и АГ*). Для этого используют два основных подхода.

Первый подход основан на направленном воздействии на ферментативную активность комплекса АГ-Е посредством связывания АТ, приводящего к торможению или, напротив, к возрастанию скорости ферментативной реакции. Такой ИФА может быть осуществлен в однофазной системе (растворе) и поэтому называется ***гомогенным*** или ***жидкофазным***. Это вариант ИФА не требует предварительного физического разделения меченых лигандов (АТ* или АГ*) от их иммунохимических комплексов - продуктов реакций (1) и (2).

Второй подход включает физическое разделение реагентов с помощью твердой фазы, связывающей меченый реагент. Это ***гетерогенный*** или ***твердофазный*** ИФА. В качестве твердой фазы используются стенки сосудов, в которых проводится анализ. Эти сосуды изготавливаются в виде специальных планшетов из непористых прозрачных полимерных материалов: полистирола, поливинилхлорида, полиметакрилата. Белки (антигены или антитела) адсорбируются на поверхности пластика. В этом состоит основа твердофазного ИФА. Для увеличения прочности связывания белков пластик подвергается модификации (проводится обработка глутаровым альдегидом, поли-L-лизином, толуол-2,4-диизоцианатом) таким образом, что активированная поверхность приобретает способность к ковалентному связыванию белков. По окончании процедуры связывания с поверхностью пластика несвязанный меченый реагент просто смывается с поверхности планшета. ***Твердофазный ИФА*** также называют ***ELISA*** (***enzyme linked immunosorbent assay***) - определение фермента, связанного с иммуносорбентом.

***Гомогенный ИФА***

Антитело, образуя комплекс с антигеном, подавляет активность связанного фермента: комплекс АГ-Е, подобно свободному Е, катализирует превращение субстрата S в продукт реакции Р:

$$S \xrightarrow{\text{ААГ}-\text{Е}} P$$

тогда как комплекс АТ-АГ-Е не активен. Потеря активности может быть вызвана изменением конформации молекулы фермента, ведущим к нарушению структуры его активного центра, или стерической недоступоностью активного центра фермента для субстрата, вызываемой связыванием антитела или антигена. Если добавить свободный антиген, то он, конкурируя за АТ, вызывает регенерацию активного комплекса АГ-Е.

При наличии калибровочной кривой, построенной с применением известных концентраций меченого и немеченого антигена (график будет представлять собой линейную зависимость между концентрацией АГ и ферментативной активностью АГ-Е), методом конкурентного ИФА можно определить концентрацию антигена в исследуемом образце. Существует много других модификаций гомогенного ИФА. Время, за которое проводится гомогенный ИФА, не превышает 5 мин. Хотя гомогенному ИФА присущи быстрота и малая трудоемкость, он характеризуется более низкой чувствительностью в сравнении с гетерогенным ИФА.

***Гетерогенный ИФА***

Антитела АТ связываются со стенками лунки на полистироловом планшете. Избыток АТ смывают буферным раствором. Оставшиеся незанятыми участки связывания на поверхности полистирола блокируют добавлением постороннего белка, например бычьего сывороточного альбумина. Поверхность вновь отмывают. Образец, содержащий антиген АГ в неизвестной концентрации, смешивают с определенным количеством меченого антигена и добавляют к антителам, фиксированным на полистироловой подложке. АГ и АГ-Е конкурентно связываются с АТ. Поверхность полистирола опять отмывают для удаления несвязанных АГ и АГ-Е. После этого определяют активность фермента в лунке полистиролового планшета, которая будет обратно пропорциональна концентрации антигена в исследуемом образце. Это конкурентный гетерогенный ИФА (рис. 12).

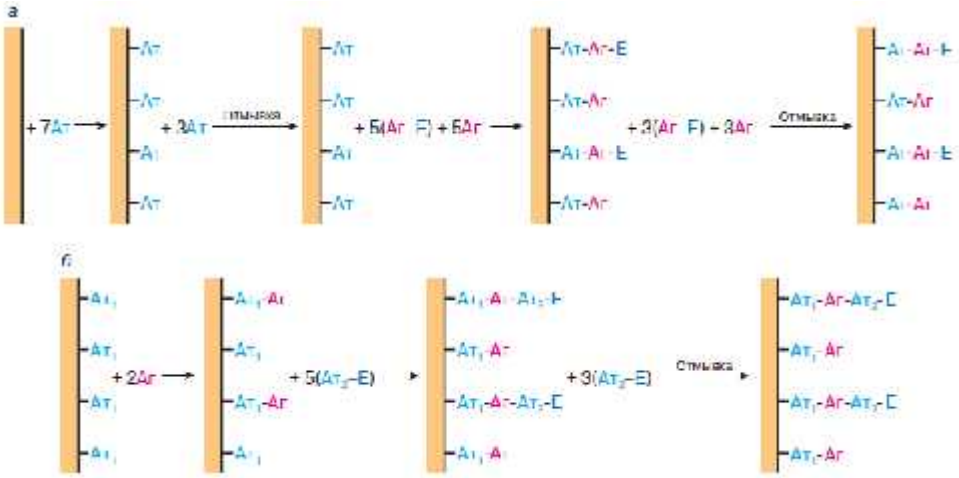


Рисунок 12. Конкурентный (а) и неконкурентный (б) ИФА

При неконкурентном гетерогенном ИФА на поверхности полистирола сорбируют антитела $АТ_1$, связывающие АГ, обладающий не менее чем двумя валентностями, из тестируемого образца. Затем добавляют вторые антитела $АТ_2$, сшитые с ферментом Е. После удаления избытка $АТ_2$-Е в лунку полистиролового планшета добавляют субстрат реакции и определяют активность фермента, которая будет линейно зависеть от концентрации АГ в образце. С помощью специального спектрального прибора результаты ферментативной реакции в полистироловых планшетах можно измерить за одну минуту в 96 лунках. Гетерогенный ИФА продолжительнее гомогенного. Его проведение занимает 3-4 часа поскольку на каждом этапе операции должно установиться равновесие, и лишь после этого можно провести отмывку иммуносорбента, которая тоже занимает время.

***Применение ИФА***

Чувствительность ИФА позволяет проводить определение веществ в концентрациях $10^{-9}$ – $10^{-12}$ М, белка в микрограммах-нанограммах в 1 мл. ИФА можно усовершенствовать так, что он с помощью каскадных систем усиления позволит обнаруживать одиночные молекулы анализируемого вещества. Ограничением ИФА является его применимость лишь к хорошо изученным системам, где есть очищенные антигены и высокоспецифические антитела.

Высокая чувствительность в сочетании с быстротой анализа (от нескольких минут до нескольких часов), возможностью одновременного тестирования большого количества образцов и отсутствием особой необходимости предварительных операций по очистке и концентрированию анализируемого соединения в образце придают ИФА неоспоримые преимущества перед другими аналитическими методами. Любое заболевание человека и животных можно быстро и точно диагносцировать путем идентификации возбудителя, его отдельных антигенных компонентов, антител к этим компонентам или веществ, не свойственных здоровому организму и синтезируемых при его патологических состояниях (онкологические, сердечно-сосудистые, аутоиммунные, аллергические, эндокринные и др. заболевания). Диспансеризация населения, эпидемиологические обследования, выявление отравлений, наличия наркотиков в крови, определение содержания лекарственных соединений в тканях, вирусные заболевания растений, определение антибиотиков, витаминов и других биологически активных соединений при отборе активных штаммов-продуцентов в промышленной биотехнологии, контроль за качеством медицинских препаратов из донорской крови на отсутствие вирусов возбудителей СПИДа и гепатита В - это лишь небольшой перечень практического применения ИФА.

***Прочие методы, основанные на реакции антиген-антитело***

Наряду с ферментами в качестве меток для антигенов используют радиоактивные и флуоресцирующие соединения: соответственно ***радиоиммунный*** и ***флуоресцентноиммунный анализ (РИА и ФИА)***. Предпочтением пользуется ИФА, поскольку он не требует сложной измерительной аппаратуры и применения радиоактивных соединений, а поэтому безопасен и более прост.

Иммунохимический анализ не ограничивается ИФА, РИА и ФИА, основанными на прямом взаимодействии антигена с антителом. Имеются методы обнаружения и количественного определения антигенов по изменению их физического состояния при взаимодействии с антителами. Так, если антиген расположен на поверхности бактериальных клеток, антитела вызывают их слипание (агглютинацию). На таком

принципе основано определение групп крови: склеивание эритроцитов при взаимодействии поверхностных антигенов с добавленными антителами *(гемагглютинация).* Антитела, добавленные в определенном соотношении к раствору макромолекулярных антигенов, вызывают их *преципитацию* - образование крупных, визуально обнаруживаемых агрегатов из молекул антигена, связанных антителами. Существуют методы, основанные на реакции преципитации в гелях: при образовании иммунных комплексов АГ-АТ в геле возникают линии преципитации, по форме этих линий можно судить о числе и иммунологическом родстве антигенов. Для идентификации белков широко применяется *иммуноблоттинг*: вначале смесь белков разделяют с помощью электрофореза в геле, затем на гель накладывают нитроцеллюлозную мембрану и на нее электрофоретически переносят (подвергают электроблоттингу) разделенные белки, которые идентифицируют посредством меченых антител. Меченые антитела широко используют в исследовании локализации компонентов клеток и тканей - это методы ***иммуноцито-*** и ***иммуногистохимии.*** Клетки, меченные флуоресцирующими антителами, можно отделить от немеченых клеток методом ***проточной цитофлуориметрии***. Хроматографические колонки с сорбентом, с которым ковалентно связан антиген (или антитело), используются в аффинной хроматографии - отделении соответствующего антитела (или антигена) из смесей в результате образования иммунных комплексов. Еще одно применение иммунохимического анализа - ***иммуносенсоры***: пьезокристалл, покрытый антигеном (антителом), в результате связывания антител (антигена) увеличивает свою массу и меняет частоту резонансных колебаний в переменном электрическом поле, что позволяет регистрировать изменение массы пьезоэлектрика порядка $10^{-12}$ г.

Таким образом, ИФА - это лишь один из способов определения антигенов, получивший широкое практическое распространение благодаря возможности количественных определений, высокой чувствительности и коммерческой доступности.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какой класс веществ определяется методом ИФА?
2. В чем состоит роль антител (антигенов) и ферментов в ИФА?
3. Что такое моноклональные антитела? Почему именно они используются в ИФА?
4. Каковы отличительные черты ИФА как метода лабораторной диагностики?
5. Какие существуют разновидности ИФА? Охарактеризуйте их особенности.

## ПОНЯТИЕ «НОРМЫ» И ЕЕ ИНТЕРВАЛЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ

В клинической биохимии и в клинической биохимической лабораторной диагностике широко используется понятие ***«норма».*** Если речь идет о количественных параметрах, то, наряду с понятием «норма», используется и понятие ***«нормальные значения».*** Подавляющее большинство врачей-лаборантов твердо знают интервалы нормальных значений определяемых биохимических показателей и без каких-либо проблем могут дать консультацию по этому вопросу практикующим врачам. Врач-лаборант, не задумываясь, скажет, что нормальные величины глюкозы крови составляют 3,5-5,5 ммоль/л, холестерина 3,9-5,3 ммоль/л, мочевины 2,5-8,5 ммоль/л общего белка плазмы крови 65-85 г/л. Некоторые врачи-лаборанты на память назовут нормальные значения активности наиболее часто определяемых в крови ферментов. Однако, если спросить их ***– что из себя представляют эти величины и как они были выведены?*** - то

подобный вопрос наверняка вызовет затруднение, причина которого видится в следующем.

Совсем недавно величины нормы биохимических показателей сообщались в директивном порядке в информационных письмах, инструкциях, приказах органов управления практическим здравоохранением, приводились в руководствах по лабораторной диагностике, учебниках и т.п. Поэтому врач-лаборант принимал доводимые до его внимания величины как должные. Жизнь не подводила его к необходимости ответить на сформулированный выше вопрос. Сегодня, в силу ряда обстоятельств, ситуация изменилась.

1) Расширился круг методов, используемых для определения традиционных показателей. Так, широкое распространение получили ферментативные методы определения содержания в крови глюкозы, холестерина триглицеридов, мочевины и многих других биохимических компонентов. Применение новых высокоспецифичных методов, естественно, сопровождалось изменениями границ нормальных величин.
2) Использование различных методов определения содержания одного и того же показателя или активности одного и того же фермента приводит к тому, что в справочной литературе указываются различные границы «нормы».
3) Для некоторых показателей (общий холестерин) в различных возрастных группах даются отличающиеся границы нормальных значений.
4) В инструкциях ко многим наборам реактивов нормальные величины не указываются, и их рекомендуется выводить самостоятельно.
5) Принятые в течение многих лет нормальные границы для многих параметров в последние годы пересматриваются. В последние годы рекомендовано увеличить верхнюю границу «нормы» глюкозы в цельной крови до 6,0 ммоль/л, общего белка до 100 г/л, считать нижнюю границу общего билирубина от 8,5 мкмоль/л и напротив, снизить верхнюю границу нормальных значений общего холестерина до 5,5 и даже 5,2 ммоль/л, но «патологическими» считать значения, превышающие 6 ммоль/л. Возникает естественный вопрос – а как быть со значениями от 5,2 до 6,0 ммоль/л? Что это – «норма» или «патология»? Обратившись к трем весьма авторитетным источникам в поисках границ «нормы» для общего холестерина, мы обнаружили, что во всех трех руководствах приводятся различные величины.
6) В различных руководствах по клинической биохимии и клинической лабораторной диагностике, в информации, размещенной в ИНТЕРНЕТЕ, приводятся существенно различающиеся пределы физиологических значений биохимических показателей крови.

Все это порождает изрядную сумятицу в умах, приводит к недопониманию между врачами лаборантами и практикующими врачами и настоятельно ставит перед первыми задачу ответить на сформулированные выше вопросы. Напомним их. ***Что такое «норма»? Что собой представляют нормальные значения? Как они были выведены?***

Понятие «норма» используется в различных областях знаний как точка отсчета отклонения. В клинической биохимии интервал нормальных величин устанавливают для дифференцировки патологических и нормальных результатов, оценки эффективности лечебных мероприятий, определения факторов риска и прогноза заболевания, выполнения профилактических и эпидемиологических исследований. В подавляющем большинстве случаев нормальные величины в клинической лабораторной диагностике выражаются с помощью количественных параметров, которые мы уже приводили выше. Однако, иногда

для характеристики нормы привлекаются и качественные параметры. Так, например, в норме в моче отсутствуют глюкоза, кетоновые тела и билурубин. В крови здоровых людей отсутствуют ретикулоциты, а в нейтрофильных лейкоцитах не выявляется токсическая зернистость. Если же указанные признаки определяются, то это свидетельствует о развитии патологического процесса.

В зависимости от контекста в термин “нормальные величины” может быть вложено разное содержание.

В клиническом понимании ***значениями нормы являются результаты измерений, проведенных у здоровых людей при отсутствии выраженной патологии.*** Таких людей рассматривают как практически здоровых. Однако, это понятие является несколько условным, так как “практически здоровый человек”, на самом деле, может иметь некоторые болезни -психические отклонения, атеросклероз, врожденные нарушения, например, отсутствие одной почки, не дающее субъективных ощущений.

С позиций эпидемиологии ***«нормальными» значениями для каждого биохимического теста являются данные, полученные на большом популяционном материале и подвергнутые соответствующей статистической обработке.*** В научных исследованиях за «норму» обычно принимают результаты, полученные на малых выборках. При этом в контрольную группу («норма») отбирают наиболее доступный контингент: персонал лабораторий, студентов-медиков, доноров и т.д. Данные подобного рода обладают только относительной достоверностью, так как они получены на небольших выборках, при использовании субъективных факторов различия нормы и патологии и не могут быть использованы в качестве «нормальных значений» в лабораторной диагностике.

Обратимся к теоретическим основам выведения нормальных величин. Прежде всего необходимо подобрать группу людей, на которой эти величины будут выводиться. Международная федерация клинической биохимии (IFCC) считает необходимым при формировании группы людей для установления границ нормы соблюдать следующие принципы.

1. .Здоровье человека перед включением в группу практически здоровых людей оценивать на основании комплекса диагностических исследований, включая тесты лабораторной диагностики, функциональные, рентгенологические, анамнестические данные.
2. Группа должна быть такой величины, чтобы после статистической обработки можно было получить достоверные результаты.
3. Референсную группу следует сформировать максимально адекватной той популяции, величины биохимических параметров которой будут позже сравнивать со значениями нормы. Лучше всего, если группа будет сформирована из практически здоровых людей на принципе случайных чисел.
4. Для расчета интервала нормальных значений следует использовать весь без исключения полученный материал.
5. Нормальные значения правильно представлять в виде интервала, ограниченного величинами верхнего и нижнего дискриминационных уровней.

Итак, мы сформировали достаточно большую группу из «здоровых» людей руководствуясь приведенными выше критериями, измерили значение интересующего нас показателя. Что дальше? С одной стороны, если все вошедшие в группу люди здоровы, то, исходя из клинического определения понятия «норма», можно было бы считать, что и все

полученные значения показателя - «нормальные». Тогда за «норму» можно принять весь интервал полученных значений – от минимального до максимального.

Однако, поступить подобным образом было бы неверно, и для корректного выведения «нормальных значений» нам необходимо обратиться к представлениям математической статистики. Согласно последней полученные нами значения показателя образуют «выборочную совокупность». «Генеральная совокупность» - это значения показателя во всей интересующей нас популяции. Выводимые нами «нормальные значения» показателя должны распространяться на всю популяцию, но определить значения показателя во всей популяции технически невозможно, и мы будем переносить закономерности, установленные на выборке, на всю популяцию. В связи с этим главное требование к выборке – ее репрезентативность т.е. адекватность генеральной совокупности, или говоря еще проще – похожесть на нее. Адекватность достигается соблюдением сформулированных выше критериев при формировании выборки (группы «здоровых» людей), правильным забором биологического материала (чаще всего крови) для исследования, применением унифицированных и стандартизированных методов определения показателя, контролем качества работы на всех этапах определения, использованием корректных методов статистической обработки.

Если мы расположим все измеренные значения показателя в обследуемой группе в порядке их возрастания, то получим так называемый вариационный ряд. Далее строится график, на котором по оси абсцисс откладываются измеренные значения показателя, а по оси ординат частота, с которой данные значения встречаются в вариационном ряду. В зависимости от формы полученной кривой делается заключение о характере выборки – нормальная (гауссовское распределение) или ненормальная. Нормальная выборка имеет вид симметричного колокола, т.е. в вариационном ряду чаще всего встречаются значения, приближающиеся к средней арифметической. По мере удаления от средних величин, как в сторону меньших, так и больших значений частота их уменьшается (рис.13).

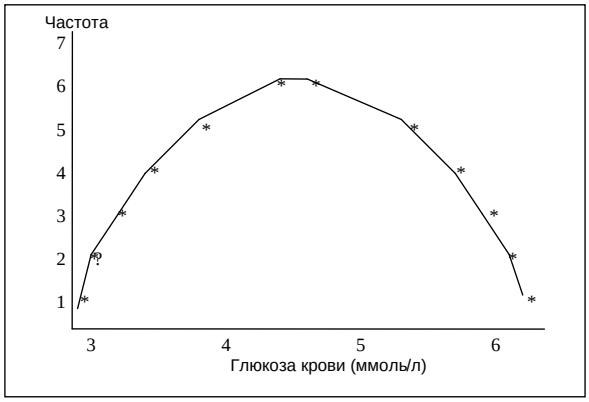


Рисунок. 13. Распределение содержания глюкозы в крови здоровых людей

Для расчета верхнего и нижнего и верхнего дискриминационного уровня нормы и патологии в биологии и медицине в идеале принято принимать 95 % интервал, при котором в случае нормального распределения данных отбрасывают по 2,5 % площади под кривой со стороны наиболее высоких и наиболее низких результатов. Образуемый таким образом 95 % интервал примерно идентичен по кривой Гаусса интервалу $X \pm 2\pm$ , где $X$ - средняя арифметическая, а $\pm$ - среднеквадратичное отклонение. В таком случае дискриминационные границы интервала нормальных величин определяют по среднему

значению, вычитая 2± (нижняя граница «нормы») или прибавляя (верняя граница «нормы»). 5% результатов (2,5% наиболее низких и 2,5% наиболее высоких), полученных у здоровых людей, рассматривают как патологические.

В случае биохимических тестов, подверженных большим физиологическим колебаниям, например триглицериды плазмы крови, выбирается более узкий интервал. При статистической обработке результатов отбрасывают 10% площади под кривой (по 5% с обеих сторон). Полученный таким образом интервал нормальных значений соответствует X±1,64± и частота результатов, выходящих за пределы нормы, в этом случае - больше. В настоящее время статистическая обработка полученных результатов, начиная с оценки выборки на нормальность, и заканчивая выведением дискриминационных границ интервала нормальных величин, проводится с помощью пакетов программ статистической обработки для персональных компьютеров.

Итак, мы решили поставленную задачу – вывели границы нормальных значений показателя. Теперь предстоит использовать их на практике для постановки диагноза болезни. Будет ли являться выпадение измеренного значения показателя у пациента из интервалов «нормы» обязательным признаком «патологии» и можно ли на этом основании ставить диагноз заболевания? Отнюдь нет. Мы уже затрагивали этот аспект, обсуждая нормальные значения общего холестерина сыворотки крови. Верхняя граница холестерина 5,3 ммоль/л. В то же время, патологическими следует считать значения, превышающие 6,2 ммоль/л. Интервал от 5,2 до 6,3 ммоль/л, это «серая зона», область погранично высоких значений. Приведем другой пример. Верхняя граница «нормальных» значений активности креатинкиназы в сыворотке крови составляет 50 Е/л. Диагностически же значимый уровень повышения активности фермента для инфаркта миокарда составляет 200 Е/л. В пределах «серой» зоны у клинического химика нет достаточного основания для постановки диагноза инфаркта миокарда, и такие результаты лечащий врач рассматривает в комплексе с клинической картиной, данными функциональных методов. В этой же ситуации дискриминационный уровень нормы для миоглобина сыворотки крови составляет 80 нг/мл, а диагностически значимые результаты начинаются с 200 нг/мл. Интервал от 80 до 200 нг/мл для миоглобина сыворотки крови составляет «серую» зону. В подобных случаях только диалог клиницистов с врачом-лаборантом позволит решить вопрос о постановке диагноза.

В ряде ситуаций оказываются полезными не интервалы нормы, а индивидуальные референсные величины, в частности при оценке динамики лабораторных данных у пациентов с хронической патологией, когда результаты лабораторных исследований сравнивают с предыдущими. В динамике патологического процесса лабораторные данные могут меняться незначительно или изменение может быть существенным. В свете этого оправдано хранение данных лабораторных исследований с целью их последующего применения в качестве индивидуальных референсных величин.

Термин «референсные значения» в клинической биохимии является более точным, чем «нормальные». При проведении длительных популяционных исследований, активной медикаментозной терапии, длительном наблюдении за хроническими больными референсными значениями могут служить индивидуальные данные, полученные при первом обследовании.

Для ряда биохимических тестов патологические результаты далеко отстоят от нормальных значений (бимодальное распределение). Это относится к активности

ферментов при гепатите и инфаркте миокарда, уровню гликемии при диабете и гипергликемической коме, концентрации С-реактивного белка при остром воспалительном процессе.

Значительно чаще области нормальных и патологических результатов перекрывают друг друга. В этих случаях устанавливают находится ли результат в области нормальных значений, в промежуточной «серой» зоне между нормой и патологией или в патологической зоне. Если патологические результаты мало отличаются от нормальных или даже перекрываются с ними, то точное установление границ «нормы» будет способствовать правильной интерпретации лабораторных данных.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какое содержание вкладывается в понятие норма с позиций клиники и эпидемиологии?
2. Как выводятся "нормальные" значения для биохимических показателей?
3. Что такое генеральная и выборочная совокупности?
4. Какое распределение признаков считают нормальным?
5. Как рассчитывают нижний и верхний дискриминационные уровни нормы и патологии в биологии и медицине?
6. Что принято понимать под "серой зоной" значений показателя?
7. Какие преимущества дает использование референсных значений?

## СИСТЕМА ЕДИНИЦ «СИ» В КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ. ВЫРАЖЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ МЕТАБОЛИТОВ И АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Основными параметрами, определяемыми в клинической биохимической лабораторной диагностике, являются ***концентрация (содержание) метаболитов*** и ***активность ферментов*** в крови и других биологических жидкостях.

Под ***концентрацией (содержанием) вещества*** в той или иной биологической жидкости принято понимать количество вещества, содержащегося в единице объема жидкости. Под ***активностью фермента*** подразумевается количество субстрата (вещество, на которое действует фермент), превращаемого ферментом в единицу времени в расчете на единицу объема биологической жидкости. Если протекание ферментативной реакции регистрируется не по убыли субстрата, а по образованию продукта реакции, то активность фермента может быть выражена количеством продукта, образующегося под действием фермента в единицу времени в расчете на единицу объема биологической жидкости.

В последние годы для выражения концентрации веществ и активности ферментов в клинической биохимии принято использовать систему единиц СИ.

В системе СИ за единицу количества вещества принят ***моль***, за единицу массы ***кг (килограмм)***, за единицу объема ***л (литр)***, за единицу времени ***с (секунда).*** Пользоваться этими величинами не всегда удобно, и поэтому допускается использование производных единиц – мили-, микро- и нано. 1 моль = $10^3$ ммолей = $10^6$ мкмомлей = $10^9$ нмолей. 1час = 60мин = 3600с.

Количество вещества (n) – это физико-химическая величина, которая показывает число структурных единиц (молекул, атомов, ионов), образующих это вещество. За единицу количества вещества (моль) принято такое его количество, которое содержит столько же структурных единиц, сколько атомов содержится в 12г изотопа углерода-12 ($^{12}C$).

Один моль любого вещества содержит $6{,}02*10^{23}$ молекул, атомов или ионов. Это число называется числом Авогадро ($N_A$).

$$N_A = 6{,}02*10^{23} \text{ моль}^{-1}.$$

Масса одного моля вещества называется молярной массой (М). Молярная масса вещества равна отношению массы вещества (m) к его количеству (n): M = m/n и выражается в г/моль.

Молярная масса вещества численно совпадает с его молекулярной массой. Величиной молярной массы приходится пользоваться при пересчете в случае использования различных способов выражения концентрации веществ.

Сегодня в России концентрацию большинства метаболитов принято выражать в ммоль/л. Для некоторых веществ, содержание которых в крови невелико (билирубин, креатинин), используют величину мкмоль/л. За рубежом содержание в крови метаболитов чаще выражают в мг/дл. Эта же размерность употреблялась в прошлом в Советском Союзе, называлась мг% и показывала - сколько мг вещества содержится в 100 мл биологической жидкости. Произвести пересчет одних единиц измерения концентрации веществ в другие не составляет труда.

Пусть содержание глюкозы в крови составляет 5,5 ммоль/л. Для пересчета в мг/дл находим молярную массу глюкозы (М) в справочнике или по молекулярной формуле $C_6H_{12}O_6$. Молярная масса глюкозы (М) равна 180 г/моль, а милимолярная масса (мМ) 180мг/моль. Составляем пропорцию:

1 ммоль глюкозы – 180мг

5,5 ммоль глюкозы – х

Отсюда х = 5,5 ммоль/л * 180 мг/ммоль = 990 мг/л или 99 мг/дл.

В общем случае: мг/дл = ммоль/л * мМ /10.

При обратном пересчете: ммоль/л = мг/дл * 10/мМ.

Для ряда показателей (общий белок, гемоглобин) используют массовую концентрацию (г/л) поскольку молекулярная масса таких показателей лишена физического смысла. Данные показатели представляют смеси индивидуальных компонентов, каждый из которых имеет свою собственную молекулярную массу.

Для характеристики действия ферментов используется, прежде всего, понятие ***скорости реакции (v)***, показывающей какое количество субстрата превращается в единицу времени **v = n/t**. В системе единиц СИ скорость реакции будет выражаться в моль/с.

***Активность фермента*** – это удельная скорость, т.е. скорость, приведенная к единице объема:

Активность = **v/V = n/tV** и имеет размерность моль/с*л или моль $л^{-1}$ $с^{-1}$. В последней формуле присутствует выражение концентрации **(n/V)**. Следовательно, активность фермента это изменение концентрации вещества во времени.

В системе единиц СИ активность фермента должна выражаться в моль/с*л. Однако, если использовать эту величину, то измеряемые величины активности ферментов будут на много порядков меньше единицы и пользоваться указанной величиной неудобно. На практике используются производные величины: мкмоль $час^{-1}$ $мл^{-1}$, ммоль $час^{-1}$ $л^{-1}$ и др.

Все эти величины несложно перевести друг в друга, последовательно переводя ммоли в мкмоли, часы в минуты и секунды ит.п.

Наряду с указанными величинами в последние десятилетия все чаще активность ферментов выражают с помощью ***каталов (кат)/л*** и ***международных единиц (Е)/л.***

***Катал*** – это количество фермента, превращающее в стандартных условиях 1 моль субстрата в 1 с.

Международная единица - это количество фермента, превращающее в стандартных условиях 1 ммоль субстрата в 1 мин.

Очевидно, что ***кат*** намного больше ***Е***.

**Кат = Е*6*$10^7$.**

Количество кат/л = Е/л / 6*$10^7$, или кат/л = Е * 16,7*$10^{-9}$.

Количество Е/л = кат/л * 6*$10^7$.

Исходя из определений ***кат*** и ***Е*** можно пересчитать активность ферментов из кат/л или Е/л в единицы типа ммоль час$^{-1}$ л$^{-1}$и др. и наоборот. Для этого подставляем в соответствующие выражения значения катала (моль/с) и международной единицы (ммоль/мин).

Пусть активность АсАТ в крови пациента составляет 0,1 ммоль ч$^{-1}$л$^{-1}$. Кат = моль/с = 1000 ммоль/с = 1000*3600 ммоль/ч = 3,6*$10^6$ммоль/ч. Следовательно 0,1 ммоль ч$^{-1}$л$^{-1}$ = 0,1/3,6*$10^6$ = 2,78 *$10^{-8}$ кат/л = 27,8 нкат/л.
2,78*$10^{-8}$ кат/л =2,78 *$10^{-8}$ * 6*$10^7$ Е/л = 1,67 Е/л.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Какие параметры определяют в клинической биохимической лабораторной диагностике?
2. Что принято понимать под содержанием вещества и активностью фермента?
3. Что принято за единицу количества вещества в системе единиц СИ?
4. В каких единицах выражают содержание метаболитов в биологических жидкостях в России и за рубежом?
5. Как пересчитать содержание вещества, выраженное в ммоль/л в мг/дл и наоборот? Какую характеристику вещества необходимо для этого знать?
6. Почему содержание некоторых показателей в крови выражают в массовой концентрации?
7. Дайте определение катала и международной единицы.
8. Как пересчитать активность фермента, выраженную в кат/л в Е/л и наоборот?

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИИЯ

*Из предложенных ответов выберите один верный*

1. ПАТОЛОГИЧЕСКОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ГЕМОГЛОБИНА
   1) оксигемоглобин
   2) карбогемоглобин
   3) дезоксигемоглобин
   4) карбоксигемоглобин
   5) метгемоглобин

2. ГЕМОГЛОБИН, ИМЕЮЩИЙ СУБЪЕДИНИЧНЫЙ СОСТАВ ГЛОБИНА 2ά2γ
   1) HbA1
   2) HbA2
   3) HbF
   4) HbS

3. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО БЕЛКА В СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ
   1) гемоглобинцианидный
   2) ферментативный
   3) ПЦР
   4) биуретовый
   5) ИФА

4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОНЯТИЯ ДИСПРОТЕИНЕМИЯ
   1) уменьшение содержания общего белка в плазме крови
   2) увеличение содержания общего белка в плазме крови
   3) изменение содержания отдельных белковых фракций в плазме крови

5. БЕЛКОВАЯ ФРАКЦИЯ, УВЕЛИЧИВАЮЩАЯСЯ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ В ОРГАНИЗМЕ
   1) ά-глобулины
   2) β-глобулины
   3) γ-глобулины
   4) альбумины
   5) парапротеины

6. ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПОЧЕК СОДЕРЖАНИЕ МОЧЕВИНЫ В КРОВИ
   1) не изменяется
   2) увеличивается
   3) уменьшается

7. ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ СОДЕРЖАНИЕ МОЧЕВИНЫ В КРОВИ
   1) не изменяется
   2) увеличивается
   3) уменьшается

8. КОНЕЧНЫЙ ПРОДУКТ РАСПАДА ПУРИНОВ В ОРГАНИЗМЕ

1) мочевина
2) креатин
3) мочевая кислота
4) $CO_2$
5) $NH_3$

9. СИМПТОМ ПОДАГРЫ

1) уремия
2) гипербилирубинемия
3) диспротеинемия
4) гиперурикемия
5) гиперкальцемия

10. НОРМАЛЬНЫЙ ПИГМЕНТ МОЧИ

1) прямой билирубин
2) непрямой билирубин
3) биливердин
4) уробилиноген
5) стеркобелиноген

11. ПИГМЕНТЫ, НАКАПЛИВАЮЩИЕСЯ В ОРГАНИЗМЕ ПРИ ВРОЖДЕННОЙ ФОРМЕ ПОРФИРИИ

1) пигменты III типа
2) пигменты IX типа
3) пигменты I типа
4) Порфобилиноген

12. ФОРМА ЖЕЛТУХИ, ПРИ КОТОРОЙ В КРОВИ УВЕЛИЧЕН ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ПРЯМОЙ БИЛИРУБИН

1) гемолитическая
2) обтурационная
3) печеночная

13. КЛАСС ЛИПИДОВ, ВЫПОЛНЯЮЩИЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКУЮ РОЛЬ

1) фосфолипиды
2) свободный холестерин
3) триглицериды
4) гликолипиды
5) эфиры холестерина

14. НАИБОЛЕЕ БОГАТАЯ ХОЛЕСТЕРИНОМ ТКАНЬ

1) жировая
2) нерваная
3) соединительная
4) мышечная
5) костная

15. КЛАСС ЛИПОПРОТЕИДОВ, ТРАНСПОРТИРУЮЩИЙ ХОЛЕСТЕРИН В ТКАНИ
   1) хиломикроны
   2) ЛПНП
   3) ЛПОНП
   4) ЛПВП

16. АНТИАТЕРОГЕННЫЕ ЛИПОПРОТЕИДЫ
   1) хиломикроны
   2) ЛПНП
   3) ЛПОНП
   4) ЛПВП

17. ОРГАН, СИНТЕЗИРУЮЩИЙ ЛПОНП
   1) кишечник
   2) печень
   3) почки
   4) поджелудочная железа
   5) мышцы

18. ЖЕЛАТЕЛЬНЫЙ ДИАПАЗОН ЗНАЧЕНИЙ ХОЛЕСТЕРИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ ДЛЯ ВЗРОСЛЫХ ЛЮДЕЙ (ММОЛЬ/Л)
   1) <3,9
   2) 3,9-5,3
   3) 5,3-6,2
   4) >6,2

19. ПОЧЕЧНЫЙ ПОРОГ ДЛЯ ГЛЮКОЗЫ
   1) 3,5 ммоль/л
   2) 5 ммоль/л
   3) 7,5 ммоль/л
   4) 10 ммоль/л
   5) 50 ммоль/л

20. ЗАБОЛЕВАНИЕ, СВЯЗАНОЕ С ВРОЖДЕННЫМ ДЕФИЦИТОМ ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТАЗЫ
   1) галактоземия
   2) мукополисахаридоз
   3) гликогеноз (болезнь Гирке)
   4) агликогеноз
   5) сахарный диабет

21. ФОРМА ДИАБЕТА, ДЛЯ КОТОРОЙ ХАРАКТЕРНО РАЗВИТИЕ КЕТОНЕМИИ И КЕТОНУРИИ
   1) почечный
   2) стероидный
   3) инсулинзависимый
   4) неинсулинзависимый
   5) несахарный

22. БИОХИМИЧЕСКИЙ ПОКАЗАТЕЛЬ, НАЗЫВАЕМЫЙ «ПАСПОРТОМ БОЛЬНОГО САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ»
    1) глюкоза крови
    2) глюкоза мочи
    3) триглицериды крови
    4) инсулин крови
    5) гли-гемоглобин

23. ИНТЕРВАЛ ЗНАЧЕНИЙ ГЛЮКОЗЫ КРОВИ (ММОЛЬ/Л) ЧЕРЕЗ 2 ЧАСА ПОСЛЕ НАГРУЗКИ ГЛЮКОЗОЙ, СООТВЕТСТВУЮЩИЙ ЗАКЛЮЧЕНИЮ «НАРУШЕННАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ГЛЮКОЗЕ»
    1) >6,1, но <7,8
    2) >7,8, но <11,1
    3) >11, 1.

24. САМАЯ МОЩНАЯ БУФЕРНАЯ СИСТЕМА КРОВИ
    1) бикарбонатная
    2) фосфатная
    3) гемоглобиновая
    4) белковая

25. ПОКАЗАТЕЛЬ КОС, ОТРАЖАЮЩИЙ БУФЕРНУЮ ЁМКОСТЬ КРОВИ
    1) pH крови
    2) AB
    3) SB
    4) BE
    5) АИ

26. ПОКАЗАТЕЛЬ КОС, ПО КОТОРОМУ ОЦЕНИВАЕТСЯ ВЕЛИЧИНА АЛЬВЕОЛЯРНОЙ ВЕНТИЛЯЦИИ
    1) pH
    2) $pCO_2$
    3) AB
    4) SB
    5) BE

27. ВЛИЯНИЕ ГИПЕРКАЛИЕМИИ НА КОС
    1) не влияет
    2) способствует развитию алкалоза
    3) способствует развитию ацидоза

28. ЗАКЛЮЧЕНИЕ, СООВЕТСТВУЮЩЕЕ СЛЕДУЮЩИМ ЗНАЧЕНИЯМ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

КОС: $PO_2$ – 85 ММ.РТ.СТ.; $PCO_2$ 40 ММ.РТ.СТ.; pH 7,38; SB 15 ММОЛЬ/Л; BE – 5ММОЛЬ/Л

1) компенсированный дыхательный ацидоз
2) декомпенсированный дыхательный ацидоз
3) компенсированный метаболический ацидоз
4) декомпенсированный метаболический ацидоз
5) нарушений не выявлено

29. ГРУППА ФЕРМЕНТОВ КРОВИ, ИМЕЮЩАЯ НАИБОЛЬШЕЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
1) собственные ферменты плазмы крови
2) ферменты эритроцитов
3) органоспецифичные ферменты

30. ЗАБОЛЕВАНИЕ, ДЛЯ КОТОРОГО НАИБОЛЕЕ СПЕЦИФИЧНО УВЕЛИЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ АЛАТ В ПЛАЗМЕ КРОВИ
1) вирусный гепатит
2) инфаркт миокарда
3) острый панкреатит
4) острый гломерулонефрит
5) холецистит

31. ЗАБОЛЕВАНИЕ, ДЛЯ КОТОРОГО НАИБОЛЕЕ СПЕЦИФИЧНО УВЕЛИЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ά-АМИЛАЗЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ
1) вирусный гепатит
2) инфаркт миокарда
3) острый панкреатит
4) острый гломерулонефрит
5) холецистит

32. ОРГАН, ПРИ ЗАБОЛЕВАНИИ КОТОРОГО ИССЛЕДУЮТ АКТИВНОСТЬ γ-ГТП В ПЛАЗМЕ КРОВИ
1) почки
2) поджедучная железа
3) печень и желчевыводящие пути
4) кости
5) легкие

33. ТКАНИ, В КОТОРЫХ ВЫЯВЛЯЕТСЯ НАИБОЛЬШАЯ АКТИВНОСТЬ Г-6-ФДГ
1) эритроциты
2) печень
3) поджелудочная железа,
4) почки
5) легкие

34. ФРАКЦИЯ РЕАТИНКИНАЗЫ, СПЕЦИФИЧНАЯ ДЛЯ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ
1) ММ
2) ВВ
3) МВ

35. СУБЪЕДИТНИЧНЫЙ СОСТАВ СЕРДЕЧНОЙ ИЗОФОРМЫ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ
1) $M_4$
2) $M_3H_1$
3) $M_2H_2$
4) $MH_3$
5) $H_4$

36. ОРГАН, ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КОТОРОГО В ПЛАЗМЕ КРОВИ ВОЗРАСТАЕТ $H_4$ ИЗФОРМА ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ
1) сердце
2) печень
3) поджелудочная железа
4) почки
5) легкие

37. ОРГАН, ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КОТОРОГО В ПЛАЗМЕ КРОВИ ВОЗРАСТАЕТ АКТИВНОСТЬ ЛИПАЗЫ
1) сердце
2) печень
3) поджелудочная железа
4) почки
5) легкие

38. КИСЛАЯ ФОСФАТАЗА - МАРКЕР
1) сердца
2) печени
3) поджелудочной железы
4) простаты
5) костной ткани

39. ВЕРНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОГОВЫХ ВЕЩЕСТВ
1) вещества, попадающие в мочу преимущественно в результате фильтрации в клубочках почечных телец.
2) вещества, концентрация которых в моче определяется соотношением процессов секреции и реабсорбции в почечных канальцах.
3) вещества, экскретируемые в проксимальных отделах нефрона
4) вещества, практически отсутствующие в плазме крови и поступающие в мочу из клеток почечных канальцев
5) вещества, которые в норме практически полностью реабсорбируются из ультрафильтрата в проксимальных отделах нефрона

40. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЗНАЧЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ МОЧИ (Г/Л)

1) <1,012
2) 1,012-1,020
3) >1,020

41. ЗАВИСИМОСТЬ pH МОЧИ ОТ ХАРАКТЕРА ДИЕТЫ

1) характер диеты не влияет на pH мочи
2) овощная диета повыщает pH мочи
3) овощная диета понижает pH мочи

42. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЗНАЧЕНИЯ pH МОЧИ

1) 1,0-2,0
2) 2,0-5,0
3) 5,0-7,0
4) 7,0-9,0

43. ПОКАЗАТЕЛЬ, ОПРЕДЕЛЯЕМЫЙ В МОЧЕ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ПРОБЫ КВИКА

1) мочевина
2) аминокислоты
3) креатинин
4) мочевая кислота
5) гиппуровая кислота

44. ФУНКЦИЯ ПОЧЕК, НАРУШЕНИЕ КОТОРОЙ ПРИВОДИТ К РАЗВИТИЮ ПОЛИУРИИ

1) фильтрационная
2) концентрационная
3) экскреторная

45. КЛАСС ВЕЩЕСТВ, ОПРЕДЕЛЯЕМЫЙ МЕТОДОМ ПЦР

1) белки
2) нуклеиновые кислоты
3) углеводы
4) липиды
5) неорганические вещества

46. КЛАСС ВЕЩЕСТВ, ИССЛЕДУЕМЫЙ МЕТОДОМ ИФА

1) белки
2) нуклеиновые кислоты
3) углеводы
4) липиды
5) неорганические вещества

47. ФАКТОР, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ ВЫСОКУЮ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ИФА
1) реакция антиген-нтитело
2) спектральные методы детекции продукта реакции антиген-антитело
3) использование ферментов в качестве метки

48. ФАКТОР, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ ВЫСОКУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ИФА
1) реакция антиген-нтитело
2) спектральные методы детекции продукта реакции антиген-антитело
3) использование ферментов в качестве метки

49. «НОРМАЛЬНЫЕ» ЗНАЧЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
1) средние арифметические величны показателя, полученные на группе здоровых людей
2) интервал, ограниченный величинами верхнего и нижнего дискриминационных уровней показателя
3) все значения показателя, полученные на группе здоровых людей

50. ЕДИНИЦА, ПРИНЯТАЯ ЗА ЕДИНИЦУ КОЛИЧЕСТВА ВЕЩЕСТВА В СИСТЕМЕ ЕДИНИЦ СИ
1) г
2) кг
3) мг
4) мкг
5) моль

*Из предложенных ответов выберите несколько верных*

51. ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ БЕЛКИ ФРАКЦИИ ГЛОБУЛИНОВ
1) протромбин
2) тироксин связывающий белок
3) фибриноген
4) ретинол связывающий белок
5) альфа-1-антитрипсин

52. БЕЛКИ ОСТРОЙ ФАЗЫ
1) трансферрин
2) пропердин
3) фибриноген
4) альфа-1-антитрипсин
5) С-реактивный белок

53. ТКАНИ – ОБЛИГАТНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛИ ГЛЮКОЗЫ
1) печень
2) эритроциты
3) мышцы
4) жировая
5) нервная

54. ВАЖНЕЙШИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА

1) гипергликемия
2) глюкозурия
3) гипербилирубинемия
4) гиперурикемия
5) полиурия

55. ПОЗДНИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА

1) кетоацидотическая кома
2) катаракта
3) ретинопатия
4) нефропатия
5) гипергликемическая кома

56. БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ОПРЕДЕЛЯЕМЫЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

1) глюкоза
2) триглицериды
3) общий белок
4) гли-гемоглобин
5) кетоновые тела

57. БУФЕРНЫЕ СИСТЕМЫ КРОВИ

1) бикарбонатная
2) фосфатная
3) ацетатная
4) гемоглобиновая
5) белковая

58. ОРГАНЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В РЕГУЛЯЦИИ КОС

1) печень
2) почки
3) легкие
4) мышцы
5) селезенка

59.ФЕРМЕНТЫ, ПРИСУТСТВУЮЩИЕ В ПЛАЗМЕ КРОВИ

1) каталаза
2) глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
3) плазмаспецифические
4) органоспецифические
5) глутатионпероксидаза

60. ФЕРМЕНТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩИЕ НАИБОЛЬШИЙ КЛИНИЧЕСКИЙ ИНТЕРЕС

1) глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
2) трансаминазы
3) каталаза
4) щелочная фосфатаза
5) липаза

61. ЗАБОЛЕВАНИЯ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕСЯ УВЕЛИЧЕНИЕМ АКТИВНОСТИ КРЕАТИНКИНАЗЫ В КРОВИ

1) острый гепатит
2) острый панкреатит
3) инфаркт миокарда
4) краш-синдром
5) гломерулонефрит

62. ЗАБОЛЕВАНИЯ, СОПРОВОЖДАЮЩИЕСЯ УВЕЛИЧЕНИЕМ В КРОВИ АКТИВНОСТИ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ

1) инфаркт миокарда
2) гепатит
3) холецистит
4) панкреатит
5) опухоли костей

63. ПРОЦЕССЫ, ПРИВОДЯЩИЕ К ОБРАЗОВАНИЮ МОЧИ В ПОЧКАХ

1) секреция
2) ультрафильтрация
3) реабсорбция
4) экскреция
5) сорбция

64. КОМПОНЕНТЫ МОЧИ, ОТНОСИМЫЕ К ПОРОГОВЫМ ВЕЩЕСТВАМ

1) аминокислоты
2) мочевина
3) фосфаты
4) стеркобелиноген
5) глюкоза

65. КОМПОНЕНТЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ ПОМУТНЕНИЕ МОЧИ

1) соли
2) бактерии
3) аминокислоты
4) клеточные элементы
5) кетоновые тела

66. ЗАБОЛЕВАНИЯ, СОПРОВОЖДАЮЩИЕСЯ ПОВЫШЕННЫМ ВЫВЕДЕНИЕМ МОЧЕВИНЫ С МОЧОЙ
   1) гепатит
   2) туберкулез
   3) сахарный диабет
   4) пневмония
   5) гломерулонефрит

67. ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ МОЧИ
   1) белок
   2) мочевина
   3) кетоновые тела
   4) глюкоза
   5) стеркобелиноген

68. НОРМАЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ МОЧИ
   1) глюкоза
   2) уробилиноген
   3) стеркобелиноген
   4) мочевая кислота
   5) ацетон

69. ПОКАЗАТЕЛИ МОЧИ, ОПРЕДЕЛЯЕМЫЕ МЕТОДАМИ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА
   1) физико-химические свойства
   2) органолептические свойства
   3) органические вещества
   4) неорганические вещества
   5) патологические компоненты

70. ЕДИНИЦЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ВЫРАЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МЕТАБОЛИТОВ В КРОВИ
   1) международная единица
   2) катал
   3) ммоль/л
   4) мкмоль/л
   5) г/л

ОТВЕТЫ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. 4
2. 3
3. 4
4. 3
5. 1
6. 2
7. 3
8. 3
9. 4
10. 5
11. 3
12. 2
13. 3
14. 2
15. 2
16. 4
17. 2
18. 2
19. 4
20. 3
21. 3
22. 5
23. 2
24. 3
25. 4
26. 2
27. 2
28. 3
29. 3
30. 1
31. 3
32. 3
33. 1
34. 3
35. 5
36. 2
37. 3
38. 4
39. 5
40. 2
41. 2
42. 3
43. 5
44. 2
45. 2
46. 1
47. 1
48. 3
49. 2
50. 5
51. 1, 3, 5
52. 3, 4, 5
53. 2, 5
54. 1, 2, 5
55. 2, 3
56. 1, 2, 4, 5
57. 1, 2, 4, 5
58. 2, 3
59. 3, 4
60. 2, 4
61. 3, 4
62. 3, 5
63. 2, 3, 4
64. 1, 5
65. 1, 2, 4
66. 2, 3
67. 1, 3, 4
68. 3, 4
69. 1, 5
70. 3, 4, 5

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

### Основная


1. Клиническая биохимия. Учебное пособие для студентов медицинских вузов. Под редакцией В.А.Ткачука. 2-ое издание, исправленное и дополненное.- М.: Геотар-Мед, 2004. 383 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия.- М.: Медицина, 2004.


### Дополнительная


1. Данилова Л.А. Анализы крови имочи. Справочник.4-ое издание. – СПб.: Салит-медкнига, 2003г. 128 с.
2. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы патохимии. Учебное пособие для студентов медицинских ВУЗов– СПб: ЭЛБИ, 2000. 687 с.
3. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник (в 2-х томах). 2-ое издание. – Минск: «Интерпрессервис», 2003. Т.1 495 с., Т.2 463 с.
4. Маршал В. Дж. Клиническая биохимия. 2002. 383 с. http://www.booksmed.com/biologiya/308-klinicheskaya-bioximiya-marshall-prakticheskoe.html.
5. Назаренко Г.И., Кмшкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. 2-е издание. М.: «Медицина», 2002. 544 с.
6. Цыганенко А.Я., Жуков В.И., Мясоедов В.В. Завгородний И.В. Клиническая биохимия. Учебное пособие для студентов медицинских ВУЗов. – М.: Триада-Х, 2002. 504с.