

№ ОРД-СТОМ.ТЕР-23

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

по дисциплине «Клиническая биохимия»

основной профессиональной образовательной программы высшего образования – программы
ординатуры по специальности 31.08.73 Стоматология терапевтическая
(ОРД- СТОМ.ТЕР-23)

Форма обучения: очная

Срок освоения ОПОП ВО: 2 года

г. Владикавказ 2023 г.

СОДЕРЖАНИЕ:

№ П/П	НАЗВАНИЕ ТЕМЫ	СТР.
1.	Биохимические анализы в клинической медицине. Методы клинической биохимии	5-50
2.	Клиническая биохимия при расстройствах гемостаза	51-64
3.	Биохимические маркеры костного метаболизма - щелочная фосфатаза, ионизированный кальций и фосфаты.	65-86
4.	Гормональная регуляция баланса кальция	87-104

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКТГ - адренокортикотропный гормон
17-КС - 17-кетостероиды
17-ОКС - 17-оксикетостероиды
2,4-ДНФГ - 2,4-динитрофенилгидразин
АДФ – аденозиндифосфат
АТФ – аденозинтрифосфат
АЧТВ - активированное частичное тромбопластиновое время
АлАТ – аланинаминотрансфераза
АФП - альфа-1-фетопротеин
АДГ - антидиуретический гормон
АсАТ – аспартатаминотрансфераза
БОФ - белки острой фазы
БКЗ - бромкрезоловый зеленый
БКФ - бромкрезоловый фиолетовый
БФС - бромфеноловый синий
БО - буферные основания
ВМК - ванилилминдальная кислота
ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография
ГГТП - гамма-глутамилтранспептидаза
ГК – гексокиназа
ГлДГ – глутаматдегидрогеназа
Г-6-ФДГ - глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
ГВК - гомованилиновая кислота
ГРГ - гонадотропин-рилизинг гормон
ГРИГ - гонадотропин-рилизингингибирующий гормон
ИФА - иммуноферментный анализ
ИХЭД - иммунохроматографическая экспресс-диагностика
ИАП - ингибиторы активаторов пламиногена
КОС - кислотно-основное состояние
КРГ - кортикотропин-рилизинг гормон
КК – креатинкиназа
КБГ - кумасси бриллиантового голубого
ЛДГ – лактатдегидрогеназа
ЛЖСС - латентная (ненасыщенная) железосвязывающая
НЖСС – насыщенная железом способность сыворотки
ЛПВП - липопротеиды высокой плотности
ЛПОНП - липопротеиды очень низкой плотности
ЛППП - липопротеиды промежуточной плотности
ЛГ - лютеинизирующий гормон
МДГ – малатдегидрогеназа
МНО - международное нормализованное отношение
МЕ - международные единицы
МСГ - меланоцит-стимулирующий гормон
МК - мочевая кислота
НО (ВЕ) - недостаток оснований

НСЕ - нейронспецифическая енолаза
НЭЖК - неэтерифицированные жирные кислоты
НАД – никотинамидадениндинуклеотид
НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат
ОМ - опухолевые маркеры
ОФ - острая фаза
ПТТГ - пероральный тест на толерантность к глюкозе
п-НФ - п-нитрофенилфосфат
п-НФФ - п-нитрофенилфосфат
ПДФ - продукты деградации фибриногена
ПРГ - пролактин-рилизинг гормон
ПРИГ - пролактин-рилизингингибирующий гормон
ПСА - простатспецифический антиген
ПВ - протромбиновое время
ПО - протромбиновое отношение
РИА - радиоиммунный анализ
РЭА - раково-эмбриональный антиген
РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы
РЭС - ретикуло-эндотелиальная система
СКФ - скорость клубочковой фильтрации
СТРГ - соматотропин-рилизинг гормон
СТГ - соматотропный гормон
СРБ - С-реактивный белок
ССК - сульфосалициловая кислота
ТРГ - тиреотропин-рилизинг гормон
ТТГ - тиреотропный гормон
ТПА - тканевой активатор плазминогена
ТГ – триглицериды
ТХУ - трихлоруксусная кислота
ТАГІ - тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза
ТВ - тромбиновое время
УПА - урокиназный активатор плазминогена
ФСГ - фолликулостимулирующий гормон
ХМ – хиломикроны
ХС – холестерин
ХЭ – холинэстераза
ХГЧ - хорионический гонадотропин человека
ДГЭА – дегидроэпиандростерон
ДГЭА-С - дегидроэпиандростерон-сульфат
АМСт - антитела к микросомальному антигену тиреоцитов
Е2 – эстрадиол
SHBG - глобулин, связывающий половые гормоны

ТЕМА: БИОХИМИЧЕСКИЕ АНАЛИЗЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ. МЕТОДЫ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ.

Основные вопросы темы.

- 1) Место клинической биохимии среди других прикладных клинических дисциплин
- 2) Применение биохимических анализов (скрининг, мониторинг, диагноз, прогноз)
- 3) Отбор образцов для анализов (запрос на анализ)
- 4) Понятие о биохимических стандартах и контроле качества биохимического материала
- 5) Лабораторные методы оценки белкового обмена (азотометрические, гравиметрические, «преципитационные», спектрофотометрические, рефрактометрические, колориметрические)
- 6) Лабораторные методы оценки ферментативного обмена
- 7) Лабораторные методы оценки пигментного обмена
- 8) Лабораторные методы оценки углеводного обмена
- 9) Методы определения показателей липидного обмена
- 10) Лабораторные методы оценки кислотно-основного состояния

Актуальность темы.

Клиническая биохимия – клинико-диагностическая дисциплина, которая занимается разработкой и использованием стандартных методов диагностики, а также осуществляет контроль за течением заболеваний с позиций биохимии. Клиническая биохимия является важнейшим разделом лабораторной диагностики, наряду с клинической лабораторной гематологией, иммунологией, клинической серологией и микробиологией, клинической токсикологией и др. Данная дисциплина располагает специфическим набором аналитического оборудования, использует множество диагностических методов и позволяет врачу-клиницисту оценить диагностически и прогностически значимые нарушения биохимических процессов в организме человека. Эта область лабораторной диагностики достаточно бурно развивается. Современная клиническая биохимия позволяет существенно облегчить квалифицированную и обоснованную постановку диагноза, выбор лечения и оценку прогноза при многих заболеваниях.

Клинико-биохимические исследования выполняются практически всем пациентам. Их применяют главным образом для подтверждения или уточнения диагноза, характеристики формы, тяжести течения и определения прогноза болезни, выбора этиологической и патогенетической терапии, контроля за результатами лечения, а также для обнаружения патологии при скрининговых исследованиях.

В зависимости от клинических задач биохимические исследования

могут производиться однократно и многократно (в динамике), а также в процессе проведения функциональных или фармакологических тестов со стимуляцией или торможением этапов исследуемого обмена веществ, клеточных или гуморальных реакций либо других функций, выраженность или качество которых отражается в параметрах определяемого лабораторного показателя.

Биохимические технологии регулярно обогащаются новыми методами исследований. Повышение их чувствительности и специфичности способствует расширению объектов биохимического анализа. Помимо традиционного анализа сыворотки крови и мочи все шире в диагностических целях используется конденсат выдыхаемого воздуха, выпотная, слезная жидкость, ликвор, клеточные элементы и др. Широкое внедрение биохимических анализаторов позволяет проводить комплексный анализ с использованием все меньшего объема биологической пробы.

Преаналитический этап биохимических исследований.

Забор биологического материала для выполнения биохимического лабораторного исследования осуществляется до проведения лечебно-диагностических мероприятий или после него, временной промежуток определяется индивидуально.

В случае проведения забора биологического материала у пациентов, подвергнутых хирургическим и другим вмешательствам, для выполнения биохимического лабораторного исследования необходимо учитывать следующие обстоятельства:

- в послеоперационном периоде, в зависимости от его объема и характера, а также вследствие остаточного влияния самого патологического процесса, изменения различных показателей жизнедеятельности организма могут сохраняться от нескольких дней до трех недель;
- после инфузии внутривенных водных растворов веществ забор образца крови у пациента должен быть отсрочен не менее чем на 1 час;
- после инфузии жировой эмульсии – не менее, чем на 8 часов.

Существенное влияние на результаты биохимического исследования биологического материала оказывают условия периода, предшествующего забору у пациента образца биологического материала. С этой целью в обязательном порядке учитываются следующие факторы:

- лечебно-диагностические процедуры, проводимые пациенту (инъекции, инфузии, трансфузии, введение рентгеноконтрастных средств, иммуносцинтиграфия, диализ, эндоскопическое исследование, оперативные вмешательства, физиопроцедуры, методы функциональной диагностики);
- воздействие ионизирующего излучения в анамнезе пациента;
- назначение пациенту лечебного питания с учетом тяжести состояния и наличия хронического заболевания.

В случае проведения забора биологического материала у пациента, получающего лекарственные средства с учетом имеющегося заболевания, врач

специалист, оказывающий медицинскую помощь пациенту, обязан отменить за 2-3 суток лекарственные средства, назначенные пациенту и способные повлиять на результаты лабораторного исследования, если отмена лекарственного средства не ухудшит состояние пациента. При невозможности отмены пациенту лекарственных средств, используемых в процессе оказания медицинской помощи, при интерпретации лабораторных исследований необходимо учитывать их влияние на достоверность полученных результатов. При этом забор образца крови должен быть произведен до приема очередной дозы лекарственных средств.

В бланке-направлении, сопровождающем доставку биологического материала в клинико-диагностическую лабораторию, в обязательном порядке указываются лекарственные средства, принимаемые пациентом, которые могут повлиять на результаты исследований.

Забор крови у пациента, которому произведено внутривенное введение лекарственного средства, проводится после завершения фазы его распределения, через 1–2 часа, с обязательным указанием в бланке-направлении на биохимическое лабораторное исследование времени после приема последней дозы лекарственного средства. В случае внутривенного введения лекарственных средств из группы сердечных гликозидов, забор крови проводится через 6-8 часов после него.

Если нет специальных указаний, для плановых биохимических исследований кровь забирают из вены утром (между 7 и 9 часами) натощак (через 8-12 часов после последнего приема пищи). В случае проведения клинических лабораторных исследований крови в иное время суток, в бланке-направлении указывается период времени, прошедший после последнего приема пищи (после еды в крови повышается содержание глюкозы, холестерина, триглицеридов, железа, неорганических фосфатов, аминокислот). Во внимание должны приниматься колебания содержания ряда аналогов аналитов в организме пациента в течение суток.

Суточные колебания значений концентрации некоторых аналитов.

Аналиты	Максимум содержания (время суток, часы)	Минимум содержания (время суток, часы)	Диапазон колебаний (% от среднеустойчивой величины)
АКТГ	6-10	0-4	150-200%
Альдостерон	2-4	12-14	60-80%
Гемоглобин	6-18	22-24	8-15%
Железо	14-18	2-4	50-70%
Калий	14-16	23-1	5-10%
Кортизол	5-8	21-3	18-200%
Пролактин	5-7	10-12	80-100%
Ренин	0-6	10-12	120-140%
Соматотропин	21-23	1-21	300-400%

T ₄	8-12	23-3	10-20%
Тестостерон	2-4	20-24	30-50%
ТСГ	20-2	7-13	5-15%
Фосфор неорганический	2-4	8-12	60-80%
Эозинофилы	4-6	18-20	30-40%

Биохимические лабораторные тесты.

Биохимические лабораторные исследования широко используются в клинической практике в тех случаях, когда в основе заболевания лежат метаболические нарушения (например, сахарный диабет), повреждения тканей (например, инфаркт миокарда), воспалительные процессы (например, ревматические заболевания) или нарушения функций органов и тканей (например, почечная недостаточность). В практической медицине биохимические тесты используются для решения следующих задач:

1. скрининга – выявления болезни на доклинической стадии;
2. диагностики – подтверждения или исключения диагноза;
3. прогноза – определения величины риска развития заболевания, особенностей течения заболевания и его исхода;
4. мониторинга – наблюдения за течением заболевания или реакцией на лечение.

Биохимический анализ крови предполагает исследование различных химических аналитов – белков, липидов, углеводов, различных продуктов их превращений, активности ферментов индивидуальных белков и др, имеющих клиническое значение.

Материал для исследования: сыворотка венозной крови.

Взятие крови производится натошак из локтевой вены в специальную вакуумную систему активатором свертывания.

Виды пробирок для взятия крови:

- Вакуумная система (белая/красная крышка) с активатором свертывания;
- Вакуумная система (коричневая/желтая крышка) с активатором свертывания и разделительным гелем.

Полученная из крови сыворотка остается стабильной в течение 7 дней при 2–8 °С. Архивированная сыворотка может храниться в замороженном виде при -20 °С.

- Для исследования уровня гликированного гемоглобина необходима цельная венозная кровь, взятие которой производится в вакуумную систему с антикоагулянтом К2ЭДТА или К3ЭДТА (сиреневая крышка при использовании пробирок типа Vacutainer, красная крышка для пробирок типа Monovette). Полученная кровь может храниться при комнатной температуре – до 6 часов, при температуре 2–8 °С – не более 24 часа.

Исследование активности ферментов.

Активность ферментов определяется с диагностическими целями преимущественно в сыворотке крови. Большая часть ферментов в крови – это тканевые ферменты, попадающие в кровь в результате разрушения клеток, где их концентрация в 1000-10 000 выше, чем в крови. В норме в сыворотке крови регистрируется только очень незначительная активность ферментов. Причинами повышения активности ферментов при патологии являются:

- прямое повреждение клеточных мембран (вирусами и химическими соединениями);
- гипоксия, аноксия и ишемия тканей;
- повышенный синтез в тканях (рост злокачественной опухоли).

В сыворотке крови определяют три основные группы ферментов: внутриклеточные, секреторные и экскреторные. Большинство ферментов являются внутриклеточными, в зависимости от локализации они разделяются на:

- неспецифические ферменты, которые катализируют общие для всех тканей реакции обмена и находятся в большинстве органов и тканей например, АСТ, АЛТ, ЛДГ, амилаза, липаза и др.);
- органоспецифические, присутствуют только в определенном типе тканей или органе в высокой концентрации. Повышение в крови уровня органоспецифического фермента указывает прежде всего на повреждение клеток той ткани, в которой этот фермент представлен в наибольшем количестве.

Специфичность ферментов для диагностики патологии.

Фермент	Орган	Диагностическое значение
α-амилаза	Поджелудочная железа	Острый панкреатит, отит
АЛТ	Печень	Заболевания паренхимы печени
АСТ	Миокард, печень	Инфаркт миокарда, заболевания паренхимы печени, поражения скелетных мышц
ГГТ	Печень	Патология жёлчевыводящих путей, алкоголизм
КК	Скелетные мышцы, сердце, гладкие мышцы	Инфаркт миокарда, поражения скелетных мышц
КФ	Простата, костная ткань	Аденома, рак простаты, метаболические заболевания костной ткани
ЛДГ	Печень, сердце, скелетные мышцы, эритроциты, тромбоциты, лимфатические узлы	Заболевания паренхимы печени, инфаркт миокарда, гемолиз, неэффективный эритропоэз, лимфомы

Липаза	Поджелудочная железа	Острый панкреатит
Холинэстераза	Печень	Отравления фосфорорганическими соединениями, заболевания паренхимы печени
ЩФ	Печень, костная ткань, кишечник, почки	Метаболические заболевания костной ткани, гепатобилиарная патология

Секреторные ферменты (псевдохолинэстераза) синтезируются в печени и постоянно высвобождаются в плазму. Их активность в сыворотке крови выше, чем в клетках или тканях. В клинической практике они представляют интерес, когда их активность в сыворотке крови становится ниже нормы за счет нарушения функции печени.

Экскреторные ферменты образуются органами пищеварительной системы (поджелудочной железой, слизистой оболочкой кишечника, печенью, эпителием желчных путей). К ним относятся α -амилаза, липаза, щелочная фосфатаза (ЩФ) и др. В норме их активность в сыворотке крови низка и постоянна. Однако при патологии, когда блокирован любой из обычных путей их экскреции, активность этих ферментов в сыворотке крови значительно увеличивается.

Единицы активности ферментов.

За единицу активности любого фермента в лабораторной диагностике принимают то количество, которое в оптимальных условиях катализирует превращение 1 субстрата в 1 (мкмоль/ мин) при $t^0=37^{\circ}\text{C}$. При этом объемная активность фермента выражается как МЕ/л (или Ед/л), удельная активность – как МЕ/мг белка.

Аспартатаминотрансфераза (АСТ).

Референтные величины активности АСТ в сыворотке: 0–5–40 Ед/л.
 Определение активности АСТ используют для выявления и оценки выраженности цитолитического синдрома при диагностике и мониторинге заболеваний печени, сердца. Тест используют вместе с определением активности АЛТ.

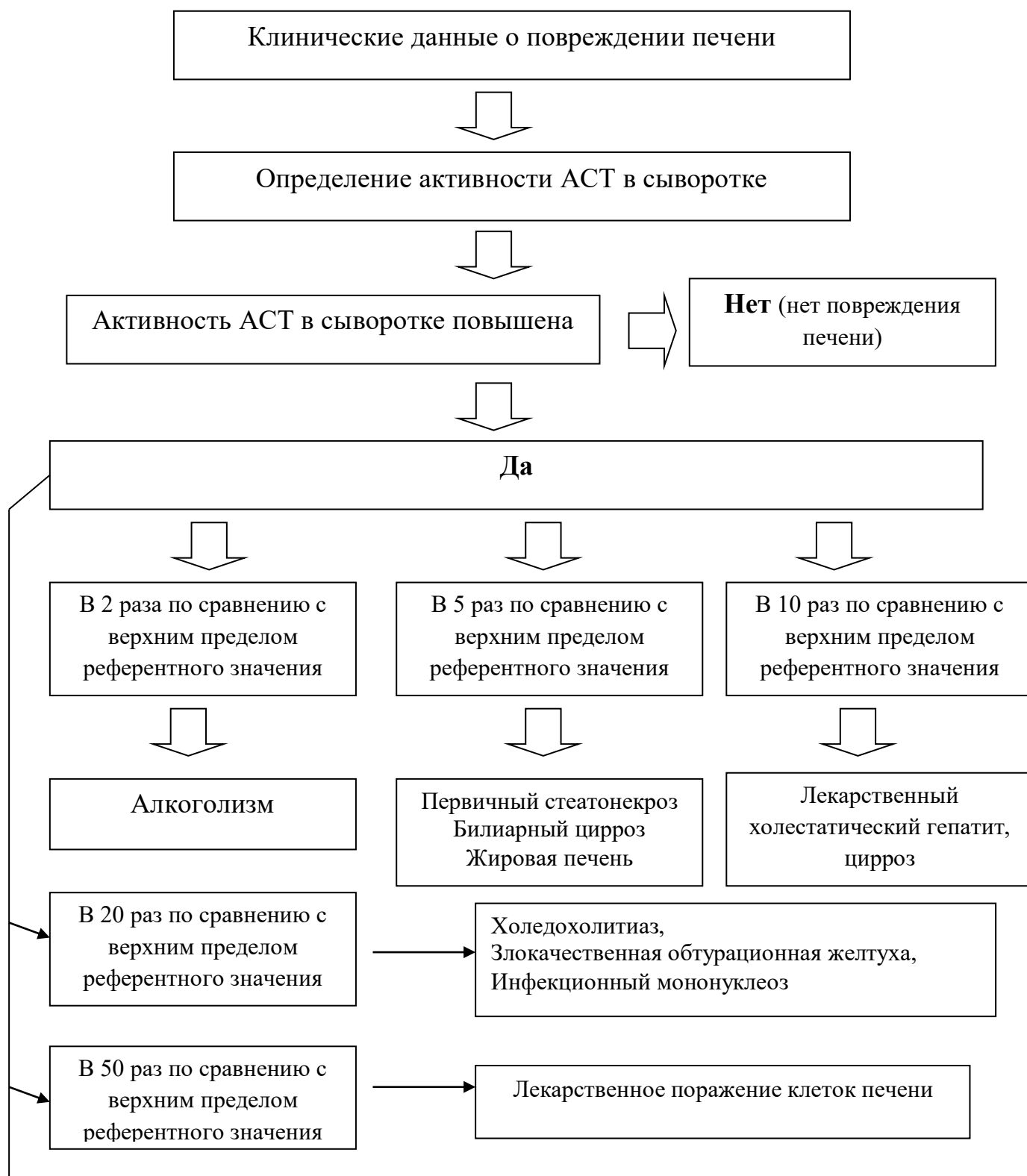
Активность АСТ повышена у 93–98% пациентов с инфарктом миокарда (ИМ) в 2–20 раз. При ИМ АСТ повышается в сыворотке через 6–8 ч, максимальной активности она достигает через 24–36 ч и снижается до нормального уровня к 5–6-му дню. Расширение зоны инфаркта приводит ко второму циклу повышения активности. Степень повышения активности АСТ является мерой массы миокарда, вовлеченной в патологический процесс. Иногда активность АСТ повышается еще до возникновения электрокардиографических признаков ИМ, а отсутствие снижения ее уровня после 3–4-го дня заболевания прогностически неблагоприятно.

При стенокардии активность АСТ, как правило, остается в пределах нормы. Однако повышение АСТ обнаруживают при тяжелой форме коронар

ной недостаточности в первые 24 ч после приступа (нормализация происходит на 2-й, реже 3-й день после приступа), а также при длительных приступах пароксизмальной тахикардии.

АСТ повышается также при остром гепатите и других тяжелых поражениях гепатоцитов. Умеренное увеличение наблюдается при механической желтухе, у пациентов с метастазами в печень и циррозом. Коэффициент Де Ритиса, т.е. отношение АСТ/АЛТ, в норме равно 1,33, при заболеваниях печени ниже этой величины, а при заболеваниях сердца – выше.

Алгоритм для принятия клинических решений при установлении этиологии поражения печени по значению активности уровня АСТ.



В клинической практике нашло широкое применение одновременное определение в крови активности АСТ и АЛТ; поскольку оно намного информативнее с клинической точки зрения (позволяет судить о локализации и глубине поражения, активности процесса и прогнозировать исход болезни).

Аланинаминотрансфераза (АЛТ).

Референтные величины активности АЛТ в сыворотке: 0–7–40 Ед/л. АЛТ содержится в скелетной мускулатуре, печени, сердце. В сердечной мышце ее значительно меньше, чем АСТ. Самых больших концентраций АЛТ достигает в печени. Повышение активности аминотрансфераз (АСТ и АЛТ) в 1,5–5 раз по сравнению с верхней границей нормы рассматривают как умеренную гиперферментемию, в 6–10 раз – как гиперферментемию средней степени, более чем в 10 раз – как высокую. Степень подъема активности аминотрансфераз говорит о выраженности цитолитического синдрома, но не указывает прямо на глубину нарушений собственно функции органа.

При ИМ повышение активности АЛТ в сыворотке крови выявляется в 50–70% случаев, чаще при обширных некрозах сердечной мышцы. Наибольшее увеличение активности АЛТ отмечается в острой фазе, достигая в среднем 130–150% от нормы и заметно уступает таковому АСТ, составляющему в среднем 450–500% от нормы.

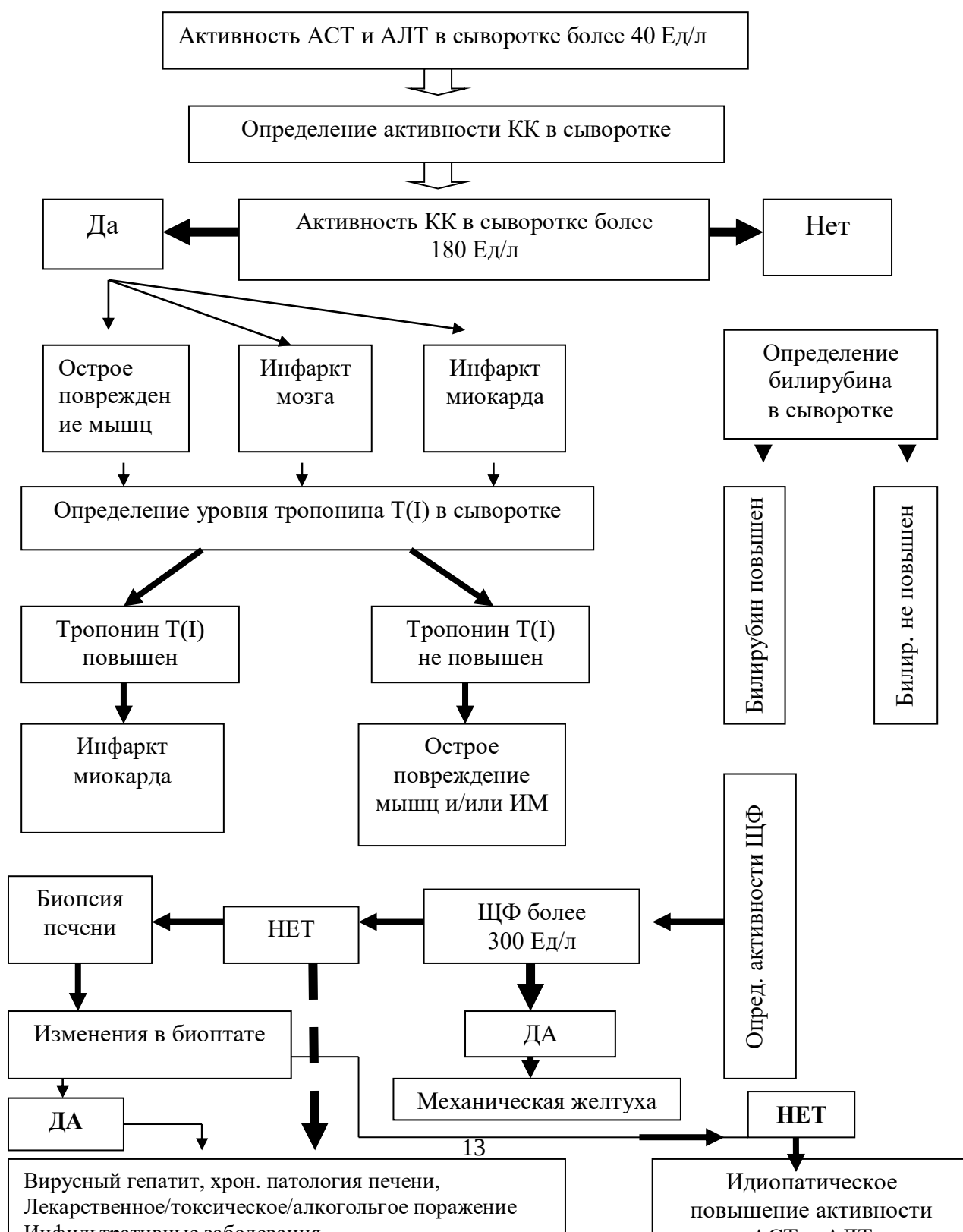
При заболеваниях печени прежде всего и наиболее значительно по сравнению с АСТ изменяется активность АЛТ. При остром гепатите, независимо от его этиологии, активность аминотрансфераз повышается у всех больных. Особенно изменяется активность АЛТ, содержащейся в цитоплазме, что способствует быстрому выходу ее из клетки и поступлению в кровяное русло, поэтому АЛТ – более чувствительный тест ранней диагностики острого гепатита, чем АСТ. Период полураспада АЛТ около 50 ч. АСТ расположена преимущественно в митохондриях, период полураспада около 20 ч, реагирует на более тяжелые повреждения гепатоцита. При остром вирусном гепатите АЛТ и АСТ повышаются за 10–15 дней до появления желтухи при гепатите А, и за много недель при гепатите В, причем повышаются они одновременно, но АЛТ – значительно больше. При типичном течении вирусного гепатита активность АЛТ достигает максимума на 2–3-й неделе заболевания. При благоприятном его течении активность АЛТ нормализуется через 30–40 сут, активность АСТ – через 25–35 сут. Повторное или прогрессирующее повышение активности аминотрансфераз свидетельствует о новом некрозе или рецидиве болезни. Удлинение периода повышенной активности аминотрансфераз часто служит неблагоприятным признаком, так как может свидетельствовать о переходе острого процесса в хронический.

В остром периоде вирусного гепатита при всех формах, кроме тяжелой, коэффициент Де Ритиса колеблется от 0,55 до 0,65 при тяжелом течении заболевания этот коэффициент составляет в среднем 0,83, что отражает более значительное повышение активности АСТ. В дифференциально-диагностическом отношении имеет некоторое значение то, что при

алкогольных поражениях печени, в противоположность вирусным, характерно преимущественное повышение активности АСТ и коэффициента Де Ритиса более 2. Для хронических гепатитов характерна умеренная и средняя гиперферментемия.

При латентных формах цирроза печени повышения активности ферментов не наблюдается. При активных формах стойкий, хотя и незначительный подъем активности аминотрансфераз встречается в 74–77% случаев.

Алгоритм лабораторной диагностики причин повышения активности трансаминаз.



Повышение активности АЛТ и АСТ может быть выявлено у практически здоровых носителей поверхностного антигена гепатита В, что указывает на наличие внешне бессимптомных активных процессов в печени. Активность АСТ и АЛТ, а также щелочной фосфатазы (ЩФ) повышается при разрешении хронической сердечной недостаточности (пик обычно на 3-й–4-е сутки).

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ).

Референтные величины активности ЛДГ в сыворотке 120—480 Ед/л. Наибольшая активность ЛДГ обнаружена в почках, сердечной мышце, скелетной мускулатуре и печени. ЛДГ содержится не только в сыворотке, но и в значительном количестве в эритроцитах, поэтому сыворотка для исследования должна быть без следов гемолиза.

Большинство органов и тканей человека содержит пять изоферментов ЛДГ. Характер изоферментного спектра ЛДГ и тип обмена веществ в ткани коррелируют между собой. В тканях с преимущественно аэробным обменом веществ (сердце, мозг, почки) наибольшей ЛДГ-активностью обладают изоферменты ЛДГ1 и ЛДГ2 (или гидроксибутиратдегидрогеназа). В тканях с выраженным анаэробным обменом веществ (печень, скелетная мускулатура) преобладают изоферменты ЛДГ4 и ЛДГ5. В сыворотке крови здорового человека постоянно обнаруживаются все пять изоферментов ЛДГ. Имеется закономерность в отношении активности изоферментов ЛДГ: активность ЛДГ2

> ЛДГ1 > ЛДГ3 > ЛДГ4 > ЛДГ5. Повреждение того или иного органа изменяет изоферментный спектр сыворотки крови, причем эти изменения обусловлены спецификой изоферментного состава поврежденного органа.

В лаборатории наиболее часто определяют активность общей ЛДГ (сумму всех пяти изоферментов), но могут определять более специфичный для сердечной мышцы изофермент ЛДГ1 (гидроксибутиратдегидрогеназа) или ЛДГ5 – для заболеваний печени.

Повышенная активность ЛДГ в физиологических условиях наблюдается у беременных, новорожденных, а также после интенсивных физических нагрузок.

Повышение активности ЛДГ при ИМ отмечается через 8–10 ч после его начала. Спустя 48–72 ч достигается максимум активности (повышение обычно в 2–4 раза), и она остается увеличенной в течение 10 сут. Эти сроки могут

варьировать в зависимости от величины участка поврежденной мышцы сердца. Увеличение активности общей ЛДГ у пациентов с ИМ происходит за счет резкого повышения ЛДГ1 и частично ЛДГ2. У пациентов со стенокардией

повышения активности ЛДГ не наблюдается, что позволяет применять

определение ЛДГ в пределах 2–3 сут после ангинозного приступа как высоконадежный критерий отсутствия поражения сердечной мышцы.

Умеренное увеличение общей ЛДГ наблюдается у большинства пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) (без инфаркта), миокардитом, у больных хронической сердечной недостаточностью, с застойными явлениями в печени. У больных аритмией сердца определяются нормальные величины ЛДГ, а применение электроимпульсной терапии иногда ведет к ее увеличению.

Источником увеличения активности ЛДГ может быть легочная ткань при эмболии и инфаркте легких. Сочетание нормальной активности АСТ, увеличенной ЛДГ и повышения концентрации билирубина может служить диагностической триадой легочной эмболии и дифференциации ее от ИМ. При пневмониях активность фермента иногда может не повышаться.

При миопатиях (мышечные дистрофии, травматические повреждения мышц, воспалительные процессы, расстройства, связанные с эндокринными и метаболическими заболеваниями) отмечается увеличение активности ЛДГ; при нейрогенных заболеваниях мышц активность ЛДГ не повышается.

При остром вирусном гепатите активность ЛДГ в сыворотке крови увеличена в первые дни желтушного периода, и при легкой и среднетяжелой формах заболевания довольно быстро возвращается к нормальному уровню. Тяжелые формы вирусного гепатита, и особенно развитие печеночной недостаточности, сопровождаются выраженным и более длительным повышением ЛДГ. При механической желтухе на первых стадиях закупорки желчных протоков активность ЛДГ в норме, на более поздних стадиях наблюдается подъем активности ЛДГ вследствие вторичных повреждений печени.

Щелочная фосфатаза (ЩФ).

ЩФ широко распространена в тканях, особенно в слизистой оболочке кишечника, остеобластах, стенках желчных протоков печени, плаценте и лактирующей молочной железе. В сыворотке крови можно определить активность общей ЩФ (ее называют печеночной), а также отдельно активность костной и интестинальной (кишечной) ЩФ.

Референтные величины активности ЩФ в сыворотке крови.

Возрастная группа	Общая ЩФ (Ед/л)
Новорожденные	Менее 420
Дети	Менее 480
Взрослые	Менее 150

Примерно лишь у 65% госпитализированных пациентов высокая активность ЩФ обусловлена заболеваниями печени. Активность ЩФ наиболее часто повышается вследствие повреждения или деструкции гепатоцитов или нарушения оттока желчи (холестаз). Некроз печеночных клеток как причина повышения активности ЩФ играет ведущую роль при вирусных и аутоиммунных гепатитах, токсических и лекарственных повреждениях печени. Холестаз как причина повышения активности ЩФ в крови развивается при внепеченочной обструкции желчных протоков например, при закупорке камнем

или развитии послеоперационной стриктуры), сужении внутрипеченочных протоков (например, при первичном склерозирующем холангите), повреждении желчных протоков (например, при первичном билиарном циррозе печени) или нарушении транспорта желчи на уровне мелких желчных протоков

(при применении ряда лекарственных препаратов, например, хлорпромазина). В ряде случаев активность ЩФ повышается при одновременном действии обоих механизмов повреждения.

У 30% желтушных пациентов с циррозом печени выявляется увеличение активности ЩФ. Повышение активности ЩФ наблюдается у 90% больных первичным раком печени и при метастазах в печень. Резко возрастает активность ЩФ при отравлениях алкоголем на фоне хронического алкоголизма. Она может повышаться при приеме лекарственных средств, обладающих гепатотоксическим эффектом (тетрациклин, парацетамол, фенацетин, 6-меркаптопурин, салицилаты и др.). Приблизительно у 50% пациентов с инфекционным мононуклеозом на 1-ой неделе заболевания отмечается повышение активности ЩФ.

Закупорка внепеченочных желчных протоков сопровождается резким увеличением активности ЩФ. При тяжелой обструктивной желтухе активность ЩФ в сыворотке крови может превышать верхний предел нормы в 10 раз и более.

У женщин, принимающих противозачаточные препараты, содержащие эстроген и прогестерон, может развиваться холестатическая желтуха и с повышением активности ЩФ. Очень высокие цифры активности фермента наблюдаются у женщин с преэклампсией, что является следствием повреждения плаценты. Низкая активность ЩФ у беременных говорит о недостаточности развития плаценты.

Помимо названных, повышение активности ЩФ определяется при следующих заболеваниях и состояниях: повышенном метаболизме в костной ткани (при заживлении переломов); первичном и вторичном гиперпаратиреозе, остеомалиции, почечном рахите, обусловленном витамин-D-резистентным рахитом, сочетающимся с вторичным гиперпаратиреозом; цитомегаловирусной инфекции у детей, внепеченочном сепсисе, язвенном

колите, регионарном илеите, кишечных бактериальных инфекциях, тиреотоксикозе. Это обусловлено тем, что ЩФ вырабатывается не только в печени, но и в других органах – костях, кишечнике.

Значения уровня активности ЩФ (пороги для принятия клинических решений) при установлении клинического диагноза поражения печени представлены на рисунке. Ряд цифр представляет собой множители, на которые умножается значение верхнего референтного предела для ЩФ.

Снижение активности фермента отмечается при гипотиреозе, цинге, выраженной анемии, квашиоркоре, гипофосфатемии.

Алгоритм для принятия клинических решений при установлении этиологии поражения печени по значениям активности ЩФ.



Костная щелочная фосфатаза (остаза).

Костная ЩФ продуцируется остеобластами кости. У детей ЩФ повышена до периода полового созревания. Референтные величины активности костной ЩФ в сыворотке крови представлены в таблице.

Референтные величины активности костной ЩФ в сыворотке.

Возраст	Активность, Ед/л
1 месяц	60 – 181
3 года	60 – 121
10 лет	90 – 181
Взрослые до 31 года	23 – 55
Взрослые старше 31 года	16 – 46

Увеличение активности общей и костной ЩФ сопровождает рахит любой этиологии, болезнь Педжета, костные изменения, связанные с гиперпаратиреозом. Быстро растет активность фермента при остеогенной саркоме, метастазах рака в кости, миеломной болезни, лимфогранулематозе с поражением костей. При лечении гипокальциемии витамином D необходимо контролировать его по уровню активности ЩФ в крови. Нормализация активности ЩФ является показанием к прекращению лечения.

При болезни Педжета содержание кальция и фосфатов в крови обычно в пределах нормы, но характерен очень высокий уровень активности ЩФ, в связи с чем следует регулярно мониторировать уровень ЩФ. Быстрое нарастание уровня ЩФ может указывать на малигнизацию пораженной кости.

Остеопороз, в основе которого лежит первичное уменьшение массы матрикса костной ткани (потеря кальция при этом вторична), сопровождается нормальным уровнем общей ЩФ в крови или незначительным ее повышением, плохо коррелирует с параметрами костеобразования. Однако костная ЩФ служит чувствительным маркером ускоренного метаболизма кости во время менопаузы.

Гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ).

Референтные величины активности ГГТ в сыворотке: у мужчин – 10–70 Ед/л; у женщин – 6–45 Ед/л.

В значительных концентрациях ГГТ обнаружена в печени, поджелудочной железе, почках и предстательной железе (поэтому у мужчин активность ГГТ в сыворотке крови приблизительно на 50% выше, чем у женщин).

Повышение активности ГГТ в сыворотке крови может быть обусловлено следующими причинами:

- усилением синтеза в результате активации ферментов, обеспечивающих этот процесс, алкоголем и лекарственными препаратами;
- повреждением клеточных мембран под действием токсических агентов (в том числе спирта), при ишемическом повреждении и инфекционном поражении печени;
- освобождением фермента от связи с клеточными мембранами в результате детергентного действия поверхностно активных желчных кислот при всех видах холестаза.

Изменение активности ГГТ в сыворотке имеет большое диагностическое значение при заболеваниях печени и гепатобилиарного тракта. Этот фермент более чувствителен к нарушениям в клетках печени, чем АЛТ, АСТ, ЩФ и т.д. Отсутствие повышенной активности этого фермента при костных заболеваниях позволяет дифференцировать источник повышения ЩФ.

Особенно чувствительна ГГТ к влиянию на печень длительного потребления алкоголя. У лиц, злоупотребляющих алкоголем, уровень ГГТ в сыворотке коррелирует с количеством принимаемого алкоголя. Тест особенно ценен для контроля лечения алкоголизма. Прекращение приема алкоголя снижает активность фермента приблизительно на 50% в течение 10 дней.

Определение активности ГГТ используется для установления гепатотоксичности и положительно в 90% случаев заболеваний печени. В большинстве случаев у таких больных в крови наблюдается повышение активности трансаминаз и ГГТ. Изолированное повышение активности ГГТ наблюдают у 6–20% пациентов с патологией гепатобилиарной системы. Повышение активности ГГТ более чем в 3 раз вызывают антиконвульсантные препараты, жировая дистрофия печени и сердечная недостаточность.

При острых гепатитах активность ГГТ повышается раньше, чем активность АСТ и АЛТ. На высоте заболевания активность ГГТ ниже (повышена в 2–5 раз), чем активность АСТ и АЛТ, и нормализуется медленнее. Это позволяет использовать ГГТ при контроле за выздоровлением пациента.

Наиболее высокую активность ГГТ (в 5–30 раз выше референтного интервала) наблюдают при внутри- и внепеченочном холестазе. Несколько меньшие значения активности фермента регистрируют при первичных опухолях печени и метастазах в печень. При злокачественных опухолях другой

локализации постепенное увеличение активности ГГТ указывает на наличие метастазов в печень. Активность ГГТ может быть использована в качестве

маркера рака поджелудочной и предстательной железы, так как отражает ремиссии и рецидивы.

Необходимо еще раз заметить, что ГГТ многозначна в диагностическом отношении. По крайней мере пять процессов повышают ее активность: цитолиз, холестаз, интоксикация алкоголем, опухолевой рост в печени, лекарственная интоксикация. Такая этиологическая разнородность механизмов повышения ГГТ требует очень тщательной оценки причин гиперферментемии. Обнаружение высокой активности ГГТ заставляет искать причину этого повышения. Как «отсеивающий» тест и метод контроля за течением известного патологического процесса, исследование ГГТ буквально незаменимо по клиническому значению.

Холинэстераза (ХЭ).

Референтные величины активности ХЭ в сыворотке: 3600–12900 Ед/л.

В тканях человека встречаются два различных фермента этого типа: ацетилхолинэстераза (истинная ХЭ), которая преимущественно находится в нервной ткани, скелетных мышцах, эритроцитах; и сывороточная, или псевдо-ХЭ, которая широко распространена, присутствует в печени, поджелудочной железе, секретируется печенью в кровь.

Определение активности ХЭ в сыворотке представляет наибольший клинический интерес для диагностики отравлений фосфорорганическими отравляющими веществами и инсектицидами, а также как показатель состояния белково-синтетической функции печени. Отравления фосфорорганическими веществами и инсектицидами сопровождаются выраженным снижением активности ХЭ.

Активность ХЭ наиболее резко снижается при тяжелых хронических заболеваниях печени, особенно при циррозе. Значительное снижение активности ХЭ наблюдается при распространенных blastomatosных поражениях печени. В начальных стадиях обтурационной желтухи снижение активности ХЭ встречается очень редко.

Ярким проявлением снижения белково-синтетической функции печени у пациентов с вирусным гепатитом при развитии острой печеночной недостаточности служит резкое снижение активности ХЭ, при этом степень снижения активности ХЭ обратно пропорциональна тяжести течения заболевания. Наиболее низкие показатели отмечаются у пациентов за несколько дней до развития печеночной комы. Однако длительный период полураспада сывороточной ХЭ (7–10 дней) снижает ее возможности в диагностике острой печеночной недостаточности.

При ИМ резкое падение активности ХЭ отмечается к концу первых суток заболевания и обусловлено шоком, который приводит к тяжелому повреждению печени.

В последнее время исследование этого фермента широко используется для контроля за применением релаксантов в хирургической практике. Курареподобные вещества (дитилин, сукцинилхолин), применяемые в хирургии для расслабления мышц, обычно быстро разрушаются. Тяжелые последствия применения этих средств (длительное апноэ, холинергический шок) возможны как при приобретенном недостатке ХЭ (чаще при хронических заболеваниях печени), так и при врожденном ферментном дефекте.

При нефротическом синдроме наблюдается повышение активности ХЭ. Это связано с увеличением синтеза альбуминов печенью из-за быстрой потери мелкодисперсной фракции белков с мочой.

Повышение ХЭ наблюдается также иногда при ожирении и экссудативной энтеропатии. Небольшое повышение активности ХЭ иногда отмечается при артериальной гипертензии, сахарном диабете, депрессивных неврозах, тревоге, маниакально-депрессивном психозе.

Альфа-амилаза в сыворотке и моче.

Референтные величины активности α -амилазы: в сыворотке: 10–100 Ед/л; в моче – 30–640 Ед/л.

Наиболее богаты α -амилазой поджелудочная и слюнные железы. Плазма крови человека содержит α -амилазы двух типов: панкреатическую (Ртип), вырабатываемую поджелудочной железой, и слюнную (S-тип), продуцируемую слюнными железами.

В физиологических условиях амилаза сыворотки крови состоит на 40% из панкреатической амилазы и на 60% из слюнной амилазы.

Определение активности α -амилазы имеет важное значение в диагностике заболеваний поджелудочной железы. Повышение активности α -

амилазы в сыворотке крови в 2 и более раз должно расцениваться как симптом поражения поджелудочной железы. Небольшая гиперاميлаземия дает

основание заподозрить патологию поджелудочной железы, но может иногда наблюдаться при заболеваниях других органов.

С мочой выделяется в основном Р-амилаза, что является одной из причин большей информативности о функциональном состоянии поджелудочной железы уроамилазы, чем амилазы сыворотки крови. 65% амилазной активности мочи обусловлено панкреатической амилазой. Этим объясняется то обстоятельство, что при остром панкреатите именно она увеличивается в сыворотке (до 89%) и особенно в моче (до 92%), без

изменения
амилазы слюнных желез.

показателей

При остром панкреатите активность амилазы крови и мочи увеличивается в 10–30 раз. Гиперамилаземия наступает в начале заболевания (уже через 4–6 ч), достигает максимума через 12–24 ч, затем быстро снижается и приходит к норме на 2–6-й день. Уровень повышения сывороточной амилазы не коррелирует с тяжестью панкреатита.

Активность амилазы в моче (используется суточная моча или разовая порция мочи) начинает повышаться через 6–10 ч после острого приступа панкреатита и возвращается к норме через 3 сут. В некоторых случаях уровень амилазы в моче имеет две волны повышения в течение 3 сут. Гиперамилазурия при остром и обострении хронического панкреатита регистрируется у 50% пациентов через 8–12 ч, у 25% – через 12–18 ч, у 66,6% – через 18–24 ч, у 75% – через 24–36 ч, у 100% – через 36–48 ч и у 62,5% – через 48–72 ч. Диагностическая чувствительность определения амилазы в сыворотке для острого панкреатита составляет 95%, специфичность – 88%.

Острые панкреатиты могут протекать без повышения активности амилазы (в частности, при панкреонекрозе). Более точную информацию получают при исследовании активности амилазы в суточном объеме мочи. Важное, а в ряде случаев и решающее значение для распознавания рецидивирующей формы острого панкреатита имеет повторное повышение активности амилазы крови и мочи во время повторяющихся рецидивов болевого синдрома. Данный признак имеет исключительно важное значение для распознавания легких форм рецидивирующего острого панкреатита. Поэтому следует еще раз подчеркнуть необходимость повторных исследований активности α -амилазы мочи на протяжении первых 2 сут заболевания. При различных формах острого панкреатита динамика повышения α -амилазы в крови и моче носит различный характер. Так, для отечного панкреатита характерна кратковременная амилаземия на 1-е-3-и сутки заболевания; для панкреонекроза – высокая и длительная амилаземия или, наоборот, кратковременная гиперамилаземия на 3-й сутки заболевания.

Выявление гиперамилаземии и гиперамилазурии является важным, но не специфичным маркером острого панкреатита; кроме того, повышение ее активности может быть кратковременным. Для большей информативности полученных результатов исследования полезно сочетать определение активности амилазы крови и мочи с параллельным определением концентрации креатинина в моче и сыворотке крови. На основании этих данных рассчитывается индекс амилазо-креатининового клиренса по формуле:

$$AM \times KpC$$

$$\text{КрМ} \times \text{АС} \times 100,$$

где АМ – амилаза мочи; АС – амилаза сыворотки; КрМ – креатинин в моче; КрС – креатинин в сыворотке.

В норме амилазо-креатининовый индекс не выше 3, превышение считается признаком панкреатита. При остром панкреатите уровень амилазы сыворотки и показатель амилазо-креатининового клиренса обычно повышены за счет подавления почечного механизма канальцевой реабсорбции амилазы. При заболеваниях, протекающих под маской панкреатита, содержание амилазы сыворотки может увеличиваться, но показатель амилазо-креатининового клиренса остается нормальным, так как отсутствует канальцевый дефект. Для этого исследования очень важно проводить взятие крови и мочи в одно и то же время.

При хроническом панкреатите активность амилазы в крови и моче повышается (у 10–88 и у 21–70% пациентов соответственно) в период обострения процесса и при возникновении препятствий к оттоку панкреатического сока (воспаление, отек головки поджелудочной железы и СДавление протоков, рубцовый стеноз сосочка двенадцатиперстной кишки и др.). При склеротической форме панкреатита гиперاميлаземия определяется также степенью нарушения проходимости протоков и функциональной способностью оставшейся части железы. При хронических панкреатитах с фиброзными изменениями поджелудочной железы обострения, нередко выраженные и распространенные, сопровождаются сравнительно небольшим подъемом активности амилазы. Вследствие нарушения функциональной способности поджелудочной поджелудочной железы гиперاميлаземия нередко может отсутствовать при остром гнойном панкреатите (при обширных «тотальных» некрозах поджелудочной железы).

При раке поджелудочной железы уровень амилазы в крови и моче в одних случаях повышается; в других же случаях может оставаться нормальным и даже понижаться.

Оценка результатов исследования активности амилазы в крови и моче затруднена тем, что фермент содержится в слюнных железах, толстой кишке, скелетных мышцах, почках, легких, яичниках, маточных трубах, предстательной железе. Поэтому уровень амилазы может быть повышен при многих заболеваниях, имеющих сходную картину с острым панкреатитом: острым аппендиците, перитоните, перфоративной язве желудка и двенадцатиперстной кишки, кишечной непроходимости, холецистите, тромбозе брыжеечных сосудов, а также при феохромоцитоме, диабетическом ацидозе, после операций по поводу пороков сердца, после резекции печени, приема больших доз этанола, употребления препаратов опия, сульфаниламидов, морфина, тиазовых диуретиков, пероральных контрацептивов. Повышение амилазной активности при этих заболеваниях

обусловлено разными причинами и носит в большинстве случаев реактивный характер. Вследствие значительных запасов амилазы в ацинарных клетках любое нарушение их целостности или малейшее затруднение оттока секрета поджелудочной железы может привести к значительному попаданию амилазы в кровь. У больных перитонитом увеличение амилазной активности может наблюдаться в результате развития образующих амилазу бактерий. Обычно активность α -амилазы при перечисленных заболеваниях повышается в крови в 3–5 раз.

Снижение активности α -амилазы в крови может быть обнаружено при тиреотоксикозе, ИМ, некрозе поджелудочной железы.

Панкреатическая α -амилаза.

Референтные величины активности панкреатической α -амилазы: сыворотка: 30–55% от общей амилазы в сыворотке (в среднем 43%) или 13–53 Ед/л; моча: 60–70% от общей амилазы в моче (в среднем 65%).

Основная ценность определения Р-типа α -амилазы заключается в том, что увеличение ее активности высокоспецифично для заболеваний поджелудочной железы. Панкреатическая α -амилаза повышается при остром панкреатите. Активность общей амилазы в этом случае повышена за счет панкреатической фракции. Диагностическая чувствительность панкреатической фракции амилазы в сыворотке крови для острого панкреатита составляет 92%, специфичность – 85%.

Определение активности панкреатической фракции амилазы особенно важно при хроническом панкреатите у пациентов с нормальным уровнем общей амилазы. У пациентов с хроническим панкреатитом панкреатическая амилаза составляет 75–80% общей амилазы крови. Повышение панкреатической амилазы указывает на атаку хронического панкреатита, а снижение – на экзокринную недостаточность поджелудочной железы при атрофии ацинарной ткани и фиброзе органа у пациентов, длительно страдающих данным заболеванием.

Активность панкреатической α -амилазы помимо диагностики острого панкреатита определяют также после операции на органах брюшной полости с целью ранней диагностики развития осложнения – послеоперационного панкреатита. Панкреатическая α -амилаза в моче повышается при остром панкреатите, причем составляет основную часть общей амилазы, так как выводится с мочой лучше, чем слюнная фракция.

Активность панкреатической фракции амилазы, в отличие от общей, не повышается при паротите, диабетическом кетоацидозе, раке легкого, острых гинекологических заболеваниях. Вместе с тем, тест может быть ложноположительным при других непанкреатических заболеваниях.

Липаза.

Референтные величины активности липазы в сыворотке: 0–190 Ед/л.

Определение активности липазы в крови служит наиболее информативным критерием диагностики острого панкреатита. В отличие от α -амилазы, активность липазы не повышается при паротите, внематочной беременности, аппендиците. Содержание липазы увеличивается и снижается параллельно повышению и снижению активности амилазы, но нормализация ее уровня происходит позже нормализации амилазы. Иногда уровень липазы в крови повышается раньше, чем увеличивается активность амилазы, и остается повышенным длительное время.

При остром панкреатите активность липазы в крови увеличивается в течение нескольких часов после острого приступа, достигая максимума через 12–24 ч (увеличивается до 200 раз), и остается повышенной в течение 10–12 дней. Прогноз заболевания плохой, если уровень липазы в крови повышается в 10 и более раз и не снижается до 3-кратного превышения нормы в течение ближайших нескольких дней. Диагностическая чувствительность липазы в сыворотке крови для острого панкреатита составляет 86%, специфичность – 99%. Одновременное определение уровня α -амилазы (кровь и моча) и липазы – основа диагностики острого панкреатита. Повышение обоих или одного из ферментов выявляется у 98% больных с острым панкреатитом. При 3-кратном повышении активности липазы в сыворотке крови диагностическая чувствительность теста в отношении острого панкреатита составляет 100%, специфичность – 99%, в то время как аналогичные изменения активности амилазы имеют чувствительность 72%, специфичность – 99%.

Активность липазы сыворотки крови обладает высокой чувствительностью в отношении диагностики острого алкогольного панкреатита, в то время как для пациентов с закупоркой желчевыводящих путей, большого дуоденального сосочка и панкреатических протоков характерен высокий уровень амилазы. В связи с этим для установления этиологии острого панкреатита иногда определяют липазо-амилазовый коэффициент: отношение активности липазы к активности амилазы в сыворотке крови. Величина липазо-амилазового коэффициента выше 2,0 позволяет диагностировать острый алкогольный панкреатит (чувствительность – 91%, специфичность – 76%). Только у пациентов с острым алкогольным панкреатитом коэффициент может быть выше 5,0.

Повышение активности липазы в крови может иметь место при инфаркте кишки, перитоните, желчной колике. Отмечено повышение активности липазы в крови при разрушении жировой ткани – костных переломах, ранениях мягких тканей, после операций, при раке молочной железы.

Креатинкиназа (КК) общая.

Референтные величины активности общей КК в сыворотке: мужчины – 39–308 Ед/л, женщины – 26–192 Ед/л.

Наибольшее диагностическое значение имеют следующие изоферменты КК: КК-ММ (мышечный), КК-МВ (сердечный), КК-ВВ (мозговой). Повышение активности КК в сыворотке крови наблюдается из-за выхода фермента из клеток при их повреждении.

Определение активности КК используют для выявления и мониторинга цитолитического синдрома при заболеваниях миокарда и скелетной мускулатуры. При ИМ поступление КК из сердечной мышцы в сыворотку опережает другие ферменты, поэтому определение активности КК широко использовалось для ранней диагностики ИМ. Увеличение активности КК находят у 95 – 99% пациентов с ИМ. КК повышается уже через 2–4 ч после острого приступа, достигая максимума через 24–36 ч, и превышает нормальные величины в 5–20 раз. Следует подчеркнуть, что уровень КК сравнительно быстро возвращается к норме (на 3-й–6-й день). Поэтому в случаях, когда определение КК не было выполнено в этот период после развития инфаркта, трудно рассчитывать на помощь данного показателя в диагностике. В то же время именно быстрота динамики КК делает определение этого фермента особенно ценным для распознавания повторных инфарктов, которые, не давая четких электрокардиографических изменений, могут вызывать повторный подъем активности КК (для выявления их рекомендуется проведение повторных регулярных исследований). Исследование активности КК существенно важно при атипичном течении ИМ и отсутствии характерных электрокардиографических изменений, что может наблюдаться при наличии блокады пучка Гиса, аритмиях, после терапии дигиталисом и в тех случаях, когда у больного уже был инфаркт.

Изменение активности ферментов при остром ИМ.

Фермент	Начало увеличения активности, часы	Максимум увеличения активности, часы	Возвращение к норме, сутки	Кратность увеличения, раз
АСТ	4-6	24-48	4-7	2-20
КК	2-4	24-36	3-6	3-30
ЛДГ	8-10	48-72	8-9	2-4

МВ-фракция креатинкиназы.

Референтные величины активности МВ-фракции КК в сыворотке составляют 6% от общей активности КК или 0–25 Ед/л.

Повышение активности КК-МВ более специфично для ИМ. При ИМ КК-МВ составляет более 6% общей КК, увеличение наблюдается уже после острого приступа, максимум достигается через 12–24 ч, на 3-й сутки активность КК-МВ возвращается к нормальным значениям при

неосложненном течении ИМ. При расширении зоны инфаркта активность КК-МВ повышена дольше, что позволяет диагностировать инфаркт пролонгированного и рецидивирующего течения. Максимум активности КК-МВ часто достигается

раньше максимума активности общей КК. Величина повышения КК и КК-МВ соответствует величине пораженной зоны миокарда. Если в первые часы ИМ больному начали проводить тромболитическую терапию, то пик активности КК и КК-МВ может появиться раньше, чем обычно, что объясняется вымыванием фермента из пораженной зоны (результат реперфузии – восстановления проходимости тромбированной коронарной артерии). Активность КК-МВ при ИМ колеблется от 6 до 25%.

Различные опухоли могут продуцировать КК-МВ, на долю которой приходится до 60% и более общей активности КК. В этой связи, если КК-МВ составляет более 25% общей КК, необходимо думать о злокачественном новообразовании как причине повышения активности фермента. Присутствие в крови ВВ-фракции может имитировать увеличение МВ-фракции, вплоть до превышения уровня МВ-фракции над общей КК. ККВВ появляется при нарушении гематоэнцефалического барьера (после операций на мозге или при травме мозга). ВВ-фракция также возникает при серьезных повреждениях кишечника и после родов (при кесаревом сечении).

Повышение фракции КК-МВ в отдельных случаях наблюдается при миокардитах и миокардиодистрофиях различного течения (наиболее часто при миодистрофии Дюшена), однако КК-МВ составляет менее 3% общей КК. При остром миокардите КК и КК-МВ могут быть нормальными или сильно увеличенными, похожими на ИМ, в зависимости от характера повреждения миокарда.

Повреждение скелетной мускулатуры сопровождается значительным увеличением ММ-фракции, которая может имитировать повышение МВ-фракции. При рабдомиолизе диагностическая чувствительность исследования активности КК (повышается в 5 раз и более) выше, чем АСТ и ЛДГ.

Заболевания и состояния, сопровождающиеся повышением уровня активности КК и КК-МВ.

1. Физический стресс и травмы мышц:

- увеличение мышечной массы в результате физических упражнений;
- физический стресс (перегрузка);
- хирургические вмешательства, прямая травма, внутримышечные инъекции;
- острый психоз, острое повреждение мозга, кома (некроз мышц при пролежнях);
- спазмы (эпилепсия, тетанус), роды;
- сильные ожоги; поражения электрическим током.

2. Дегенеративные и воспалительные повреждения:

- мышечная дистрофия;
- миозит (коллагенозы, вирусные инфекции, трихенелез);
- миокардит.

3. Токсические поражения мышц:

- острое алкогольное отравление, белая горячка;
- экзогенная интоксикация (бромиды, барбитураты, угарный газ);
- тетания;
- медикаменты (клофибрат, бронхолитики);
- токсический рабдомиолиз (героин, амфетамины);
- злокачественная гипертермия.

4. Метаболические поражения мышц:

- гипотиреоз;
- метаболический рабдомиолиз (гипокалиемия, гипофосфатемия, гиперосмолярные состояния);
- гликогеноз (тип V).

5. Гипоксические поражения мышц: шок, периферическая эмболия, гипотермия.

Очень высокая активность КК часто наблюдается при спазмах, гипоксии скелетных мышц, вызванной шоком, токсическим повреждением и очень редко генетическими нарушениями метаболизма гликогена или липидов.

Кислая фосфатаза.

Референтные величины активности кислой фосфатазы в сыворотке:
0–6 Ед/л.

У мужчин половину содержащейся в сыворотке кислой фосфатазы вырабатывает предстательная железа, остальную часть – печень и разрушающиеся тромбоциты и эритроциты. У женщин фермент вырабатывается печенью, эритроцитами и тромбоцитами.

Определение активности кислой фосфатазы в клинической практике проводится для диагностики рака предстательной железы. Активность кислой фосфатазы повышается при раке предстательной железы далеко не всегда: только у 20–25% пациентов без метастазов и у 60% больных с метастазами. Степень повышения активности кислой фосфатазы особенно велика у пациентов при наличии костных метастазов рака предстательной железы. Определение активности кислой фосфатазы может быть использовано для дифференциальной диагностики метастазов рака предстательной железы в кости и заболеваний костной ткани, в частности остеодистрофий, при которых обычно повышена активность ЩФ, в то время как при метастазах

рака

предстательной железы в крови повышается активность в крови как щелочной, так и кислой фосфатазы.

Следует иметь в виду, что массаж предстательной железы, катетеризация, цистоскопия, ректальные исследования повышают активность кислой

фосфатазы, поэтому кровь на исследования надо брать не раньше чем через 48 ч после перечисленных процедур.

Повышение активности кислой фосфатазы может иметь место при повышенном разрушении тромбоцитов (тромбоцитопения, тромбоэмболии и др.), гемолитической болезни, прогрессирующей болезни Педжета, метастатических поражениях костей, миеломной болезни (не всегда), болезни Гоше и Нимана-Пика, через 1–2 дня после операции на предстательной железе или после биопсии.

Простатическая фракция кислой фосфатазы.

Референтные величины активности простатической фракции кислой фосфатазы в сыворотке равны 0,05–2,6 Ед/л.

Определение простатической фракции кислой фосфатазы – более специфический тест для диагностики рака предстательной железы, чем определение общей активности кислой фосфатазы. Повышение ее активности характерно для рака предстательной железы, особенно с метастазами, наблюдается также при инфаркте простаты после катетеризации мочевого пузыря. При болезни Гоше и Нимана-Пика повышения активности фермента не наблюдается, если отсутствует кистозное изменение предстательной железы. По своей чувствительности и специфичности для скрининга рака предстательной железы общая и простатическая фракция кислой фосфатазы уступают исследованию простатического специфического антигена (ПСА), поэтому не используются широко в клинической практике.

Субстраты и продукты биохимических реакций.

Исследование показателей пигментного обмена.

В клинических лабораториях измеряют концентрацию общего и прямого билирубина, по разнице рассчитывают концентрацию непрямого билирубина. Если общий билирубин не превышает референтных пределов, допустимо не проводить измерение прямого билирубина.

Общий билирубин.

Референтные величины содержания общего билирубина в сыворотке 1,7–21,0 мкмоль/л.

При гипербилирубинемии более 27–34 мкмоль/л развивается синдром желтухи (легкая форма – до 85 мкмоль/л, среднетяжелая – 86–169 мкмоль/л, тяжелая форма – свыше 170 мкмоль/л), обусловленный накоплением билирубина в тканях организма с появлением желтой окраски кожи и конъюнктивы.

Это состояние может быть следствием трех основных групп заболеваний:

- болезней, связанных с повышенным образованием билирубина (в большем количестве, чем то, которое нормальная печень может экскретировать), при этом печень и желчные пути обычно не вовлечены в патологический процесс; наиболее частое заболевание этой группы – гемолитическая анемия, для которой характерно усиленное разрушение эритроцитов;
- болезней, связанных с повреждением клеток печени или врожденными ферментопатиями, а следовательно, с нарушением их способности конъюгировать билирубин (болезни печени);
- болезней, связанных с нарушением оттока желчи (следовательно, снижением экскреции билирубина), вследствие закупорки желчевыводящих протоков печени (болезни желчевыводящих путей).

В зависимости от того, какой тип билирубина присутствует в сыворотке крови – неконъюгированный (непрямой) или конъюгированный (прямой), гипербилирубинемия классифицируется как неконъюгированная и конъюгированная соответственно. В клинической практике наиболее широкое распространение получило деление желтух на гемолитические, паренхиматозные и обтурационные. Гемолитические и паренхиматозные желтухи – это неконъюгированная, а обтурационные – конъюгированная гипербилирубинемия.

При гемолитической желтухе гипербилирубинемия сочетается с повышенным выделением уробилиногена с мочой и калом, так как он образуется в кишечнике в большом количестве. Кроме гемолитических анемий гемолиз усилен при В₁₂-дефицитной анемии, малярии, массивных кровоизлияниях в ткани, инфаркте легкого, при синдроме разможнения мягких тканей (неконъюгированная гипербилирубинемия). Частой формой гемолитической желтухи и гипербилирубинемии является физиологическая желтуха у новорожденных (встречается у 60% младенцев в первые недели жизни).

Гемолитическими по своему происхождению могут быть желтухи, вызванные действием лекарственных средств, усиливающих распад эритроцитов (например, ацетилсалициловой кислоты, тетрациклина и др.).

При паренхиматозной желтухе наступает деструкция гепатоцитов, нарушается экскреция прямого (конъюгированного) билирубина в желчные капилляры. Прямой билирубин попадает непосредственно в кровь, где его содержание значительно увеличивается. Кроме того, снижается способность печеночных клеток синтезировать билирубин-глюкурониды; вследствие чего количество непрямого билирубина также увеличивается. Повышение концентрации в крови прямого билирубина приводит к его появлению в моче вследствие фильтрации через мембрану почечных клубочков. Непрямой билирубин, несмотря на увеличение концентрации в крови, в мочу не поступает. Поражение гепатоцитов сопровождается нарушением их способности

разрушать всосавшийся из тонкого кишечника мезобилиноген (уробилиноген). Повышение содержания уробилиногена в моче может наблюдаться еще

в дожелтушный период. В разгар вирусного гепатита возможно снижение и даже исчезновение уробилиногена в моче. Это объясняется тем, что увеличивающийся застой желчи в печеночных клетках ведет к уменьшению выделения билирубина и, следовательно, к уменьшению образования уробилиногена в желчевыводящих путях. В дальнейшем, когда функция печеночных клеток начинает восстанавливаться, желчь выделяется в большом количестве, и уробилиноген снова появляется в больших количествах, что в данной ситуации расценивается как благоприятный прогностический признак. Стеркобилиноген попадает в большой круг кровообращения и выделяется почками с мочой в виде уробилина.

Основные причины паренхиматозных желтух – острые и хронические вирусные гепатиты, цирроз печени, токсические вещества (хлороформ, четыреххлористый углерод, ацетаминофен), массивное распространение в печени раковой опухоли, альвеолярный эхинококк и множественные абсцессы печени. При вирусных гепатитах степень билирубинемии коррелирует с тяжестью заболевания. Так, при легкой форме течения вирусного гепатита В содержание билирубина в сыворотке крови не выше 90 мкмоль/л, при среднетяжелой – в пределах 90–170 мкмоль/л, при тяжелой – выше 170 мкмоль/л.

При развитии печеночной комы уровень билирубина может повышаться до 300 мкмоль/л и выше.

К различным типам гипербилирубинемии (паренхиматозная желтуха) относятся также некоторые редко встречающиеся синдромы – Криглера-Наяра, Жильбера, Дабина-Джонсона, Ротора.

При обтурационной желтухе (конъюгированная гипербилирубинемия) нарушается желчевыведение, вследствие закупорки общего желчного протока камнем или опухолью, как осложнение гепатита, при первичном

циррозе

печени, при приеме лекарств, вызывающих холестаза. Нарастание давления в желчных капиллярах приводит к увеличению проницаемости или нарушению их целостности и попаданию билирубина в кровь. Механическая желтуха обычно приводит к наиболее высокому уровню прямого (конъюгированного) билирубина в крови, величина которого иногда достигает 800–1000 мкмоль/л. В кале резко снижается содержание стеркобилиногена, полная обтурация желчного протока сопровождается полным отсутствием желчных пигментов в кале. Если концентрация конъюгированного (прямого) билирубина превышает почечный порог (13–30 мкмоль/л), то билирубин выделяется с мочой.

В клинической практике определение билирубина в сыворотке крови применяется для решения следующих задач:

- определение увеличенного содержания билирубина в крови в тех случаях, когда при осмотре больного желтуха не выявляется или наличие ее вызывает сомнение. Желтушная окраска кожи наблюдается при уровне содержания билирубина в крови, превышающем 30–35 мкмоль/л.
- объективная оценка степени билирубинемии;
- дифференциальная диагностика различных видов желтух;
- оценка течения заболевания путем повторных исследований.

Уменьшение содержания билирубина диагностического значения не имеет.

Прямой билирубин.

Референтные величины содержания прямого билирубина в сыворотке 0,0–5,0 мкмоль/л.

Исследование обычно проводится с целью дифференциальной диагностики форм желтух.

При паренхиматозной желтухе наступает деструкция печеночных клеток, нарушается экскреция прямого билирубина в желчные капилляры, и он попадает непосредственно в кровь, где содержание его значительно увеличивается. Кроме того, снижается способность печеночных клеток синтезировать билирубин-глюкурониды; вследствие этого количество непрямого билирубина в крови также увеличивается.

При механической желтухе нарушено желчевыделение, что приводит к резкому увеличению содержания прямого билирубина в крови. Несколько повышается в крови и концентрация непрямого билирубина. При гемолитической желтухе содержание прямого билирубина в крови не изменяется.

Непрямой билирубин.

Референтные величины содержания непрямого билирубина в сыворотке 3,4–13,7 мкмоль/л.

Исследование непрямого билирубина играет важнейшую роль в диагностике гемолитических анемий. В норме в крови 75% общего билирубина

приходится на долю непрямого (свободного) билирубина и 25% на долю прямого (связанного) билирубина.

Непрямой билирубин повышается при гемолитических анемиях, пернициозной анемии, при желтухе новорожденных, синдроме Жильбера, синдроме Криглера–Найяра, синдроме Ротора. Повышение непрямого билирубина при гемолитической анемии обусловлено интенсивным образованием его вследствие гемолиза эритроцитов, и печень оказывается

к образованию столь большого количества билирубин-глюкуронидов. При перечисленных синдромах нарушена конъюгация непрямого билирубина с глюкуроновой кислотой.

Ниже приведена патогенетическая классификация желтухи, которая позволяет легко установить этиологию гипербилирубинемии.

Преимущественно непрямая гипербилирубинемия

1. Избыточное образование билирубина:

- гемолиз (внутри- и внесосудистый);
- неэффективный эритропоэз.

2. Сниженный захват билирубина в печени:

- длительное голодание;
- сепсис.

3. Нарушение конъюгации билирубина:

3.1 Наследственная недостаточность глюкуронилтрансферазы:

- синдром Жильбера (легкая недостаточность глюкуронилтрансферазы);
- синдром Криглера–Найяра II типа (умеренная недостаточность глюкуронилтрансферазы);
- синдром Криглера–Найяра I типа (отсутствие активности глюкуронилтрансферазы).

3.2 Физиологическая желтуха новорожденных (преходящая недостаточность глюкуронилтрансферазы; повышенное всасывание непрямого билирубина).

3.3 Приобретенная недостаточность глюкуронилтрансферазы:

- прием некоторых препаратов (например, хлорамфеникола).
- желтуха от материнского молока (угнетение активности глюкуронилтрансферазы прегнандиолом и жирными кислотами, содержащимися в грудном молоке).
- поражение паренхимы печени (гепатиты, цирроз).

Преимущественно прямая гипербилирубинемия.

1. Нарушение экскреции билирубина в желчь.

1.1 Наследственные нарушения:

- синдром Дабина-Джонсона.
- синдром Ротора.
- доброкачественный рецидивирующий внутрипеченочный холестаз;
- холестаз беременных.

1.2 Приобретенные нарушения:

- поражение паренхимы печени (например, при вирусном или лекарственном гепатите, циррозе печени);
- прием некоторых препаратов (пероральные контрацептивы, андрогены, хлорпромазин);
- алкогольное поражение печени;
- сепсис;
- послеоперационный период;
- парентеральное питание;
- билиарный цирроз печени (первичный или вторичный).

2. Обструкция внепеченых желчных путей:

1.1. Обтурация:

- холедохолитиаз;
- пороки развития желчных путей (стриктуры, атрезия, кисты желчных протоков);
- гельминтозы (клонорхоз и другие печеночные трематодозы, аскаридоз);
- злокачественные новообразования (холангиокарцинома, рак фатерова соска);
- гемобилия (травма, опухоли);
- первичный склерозирующий холангит.

2.2 СДавление:

- злокачественные новообразования (рак поджелудочной железы, лимфомы, лимфогранулематоз, метастазы в лимфатические узлы ворот печени);
- воспаление (панкреатит).

Исследование показателей азотистого обмена.

Для детального анализа состояния азотистого обмена в клинической практике целесообразно определять в крови концентрацию основных составляющих веществ остаточного азота (мочевина, азот аминокислот, мочевая кислота, креатинин, аммиак). При этом на долю мочевины

приходится

около 50% всего небелкового азота, поэтому уровень мочевины крови в большинстве случаев наиболее адекватно отражает состояние всего азотистого обмена в организме человека.

Мочевина.

Референтные пределы мочевины в сыворотке крови 2–8 ммоль/л.
Определение уровня мочевины используется для оценки и мониторинга выделительной функции почек, а также для оценки мочевинообразующей функции печени при печеночной недостаточности различной этиологии.

Причины снижения концентрации мочевины в сыворотке крови:

- диета с низким содержанием белков;
- беременность – приводит к увеличению скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и, как следствие, к повышению скорости выведения мочевины;
- болезни печени – основная причина патологического снижения уровня мочевины в крови.

Причины повышения концентрации мочевины в сыворотке крови:

1. внепочечные – связаны с повышенным образованием мочевины в организме при нормальной выделительной функции почек – продукционная уремия:

- потребление очень большого количества белковой пищи;
- длительное голодание, которое сопровождается усилением катаболизма белков собственных тканей; возросший распад белков приводит к повышению синтеза мочевины; данная ситуация может также наблюдаться при различных воспалительных процессах, у тяжелых больных, находящихся в отделении реанимации;
- обезвоживание в результате рвоты, поноса; при дегидратации количество реабсорбированной из почечных канальцев в кровь мочевины (после клубочковой фильтрации) увеличивается;
- желудочно-кишечные кровотечения из язв;
- варикозно-расширенных вен пищевода, опухолей; кровь попадает в кишечник, в результате всасывание белков (кровь содержит большое количество белка) увеличивается и, следовательно, вызывает активацию синтеза мочевины.

Однако при этих состояниях избыток мочевины быстро удаляется из организма почками и ее концентрация в крови становится нормальной. Повышение уровня мочевины в крови наиболее часто возникает в результате нарушения выделительной функции почек. Уровень мочевины в крови возрастает, если СКФ снижается.

В соответствии с приведенными выше факторами, способствующими снижению СКФ, все причины, определяющие развитие почечной недостаточности, можно разделить на 3 группы:

- преренальные (уменьшение притока крови к почкам);
- ренальные (повреждение собственно почечного фильтра);
- постренальные (затруднение оттока мочи).

Патология, лежащая в основе преренальных механизмов нарушения функции почек, приводит к повышению уровня мочевины в крови и характеризуется низкой СКФ вследствие уменьшения тока крови через почечные

клубочки. При этом структура нефрона остается в норме, но нарушается его функция. Причинами преренальной дисфункции почек являются:

- дегидратация и снижение ОЦК: шок, сильное кровотечение, тяжелая диарея, обильная рвота;

- острая или хроническая сердечно-сосудистая недостаточность; снижение АД или недостаточность сократительной функции миокарда.

Ренальная патология сопровождается низкой СКФ вследствие «блокирования» клубочкового фильтра. Структура нефронов нарушена, и соответственно нарушена их функция. Причинами нарушения функции почек могут

быть следующие формы патологии:

- острые и хронические гломерулонефриты (ГН); при остром ГН повышение уровня мочевины наблюдается редко и кратковременно; при хроническом ГН уровень мочевины может колебаться, повышаясь при обострении процесса и снижаясь при его затихании;

- хронические пиелонефриты; повышение уровня мочевины зависит от выраженности нефросклероза и воспалительного процесса в почках;

- нефросклерозы, вызванные отравлениями токсическими веществами;

- синдром длительного СДавливания (размозжения); уровень мочевины в крови оказывается очень высоким, что объясняется сочетанием задержки выведения мочевины с повышенным распадом белков;

- диабетическая нефропатия;

- гипертоническая болезнь со злокачественным течением;

- подагра;

- гидронефроз, выраженный поликистоз, туберкулез почки;

- амилоидный или амилоидно-липоидный нефроз; повышение мочевины в крови наблюдается только на поздних стадиях заболевания.

Патология, лежащая в основе постренальных механизмов нарушения функции почек, проявляется низкой СКФ вследствие блокирования мочевыводящих путей. Она возникает при задержке выделения мочи из-за какого-либо препятствия в мочевыводящих путях (камень, опухоль, в частности, аденома или рак предстательной железы).

Значительное и продолжительное повышение уровня мочевины в крови ($>10,0$ ммоль/л) всегда свидетельствует о поражении почек, более умеренное повышение этого показателя (от 6,5 до 10,0 ммоль/л) является признаком другой патологии.

Необходимо помнить, что нормальная концентрация мочевины в крови не исключает ранней стадии почечного заболевания. Увеличение концентрации мочевины в крови отмечается только при значительном снижении функции почек. Концентрация мочевины в крови не выходит за пределы нормы до тех пор, пока СКФ не становится ниже 40 мл/мин, т.е. менее 50% от нормального значения. При развитии острого повреждения почек концентрация мочевины крови нередко достигает очень высоких величин – 133,2–149,8 ммоль/л.

Креатинин крови и мочи.

Содержание креатинина в крови здоровых людей – величина довольно постоянная и мало зависящая от питания и других внепочечных факторов.

Референтные величины содержания креатинина в сыворотке.

Возраст	Содержание креатинина в сыворотке	
	мкмоль/л	мг/дл
Новорожденные	27-88	0,3-1,0
Дети до 1-го года	18-35	0,2-0,4
Дети от 1-го года до 12 лет	27-62	0,3-0,7
Подростки	44-88	0,5-1,0
Взрослые: женщины	62-132	0,7-1,4
мужчины	44-97	0,5-1,1

Снижение уровня креатинина в крови не имеет, за редким исключением, существенного значения. Его уровень может снижаться при беременности в результате увеличения экскреции креатинина почечными канальцами.

При любом заболевании, сопровождаемом существенным снижением мышечной массы (например, мышечная дистрофия), может отмечаться патологическое снижение уровня креатинина в сыворотке крови.

Причины повышения уровня креатинина в крови.

Уровень креатинина в крови, в отличие от мочевины, не повышается при сепсисе, травмах, лихорадочных состояниях, не зависит от степени гидратации организма, повышенного потребления белка.

Определение креатинина широко используется в диагностике и мониторинге заболеваний почек. Креатинин в меньшей степени, чем

мочевина, зависит от уровня катаболизма, не реабсорбируется в почках, поэтому в большей мере отражает степень нарушения фильтрационной и выделительной

функций почек. В большинстве случаев повышение уровня креатинина в крови – это признак нарушения функций почек.

Гипертиреоз, акромегалия, гигантизм, сахарный диабет, кишечная непроходимость, мышечная дистрофия, обширные ожоги, также могут сопровождаться повышением уровня креатинина в крови.

Определение концентрации креатинина в крови и моче значительно расширяет диагностические возможности оценки функционального состояния почек.

Референтные величины содержания креатинина в моче.

Возраст	Содержание креатинина в сыворотке	
	мг/(кг в сутки)	мкмоль/(кг в сутки)
Дети до 1-го года	8-20	71-177
Дети от 1-го года до 12 лет	8-22	71-194
Подростки	8-30	71-265
Взрослые: женщины и мужчины	11-20	97-177
	14-26	124-230
Взрослые: мужчины и женщины	800-2000	7,1-17,7
	600-1800	5,3-15,9

В клинической практике важное значение имеет определение отношения креатинина в моче (Км) к креатинину сыворотки крови (Ккр).

Клиренс эндогенного креатинина (проба Реберга-Тареева).

Концентрация мочевины и креатинина в сыворотке крови отражает СКФ и влияет на нее, однако не позволяет прямо измерить СКФ. Это обусловлено тем, что уровни этих метаболитов в крови не увеличиваются существенно до тех пор, пока почки не теряют свою функцию (образовывать первичную мочу) на 50%. Поэтому концентрации мочевины и креатинина в сыворотке крови являются слабыми индикаторами незначительных нарушений

функции почек на ранних стадиях почечных заболеваний. В связи с этим для повышения информативности оценки СКФ в клинической практике определяют клиренс креатинина (проба Реберга–Тареева). Определение клиренса

креатинина также имеет некоторые недостатки, тем не менее это довольно адекватный и доступный метод прямого измерения СКФ и следовательно более чувствительный и специфичный способ диагностики почечной недостаточности на ранних ее стадиях, чем оценка содержания мочевины и креатинина в крови. Клиренс креатинина – это объем плазмы крови, который

очищается от креатинина за 1 минуту при прохождении через почки. Чем эффективнее работают почки по очищению крови от креатинина и выведению его с мочой, тем выше клиренс.

В норме клиренс креатинина, или СКФ, у здоровых людей колеблется от 80 до 160 мл/мин, составляя 120 ± 25 мл/мин у мужчин и 95 ± 20 мл/мин у женщин. При заболеваниях почек величину клиренса креатинина (СКФ) принято считать достаточно корректным критерием оценки массы действующих нефронов, параметра важного, в том числе с позиций клинической фармакологии, поскольку фармакокинетика многих медикаментов зависит от величины этого показателя.

Общепринятой методикой оценки СКФ служит исследование клиренса креатинина (проба Реберга–Тареева). Креатинин, будучи низкомолекулярным веществом, беспрепятственно проходит из крови в состав первичной мочи в процессе клубочковой фильтрации безбелковой плазмы крови. Таким образом, концентрация креатинина в фильтрате, т.е. первичной моче, соответствует его плазматической концентрации – концентрации креатинина в исследуемой сыворотке крови ($K_{кр}$). Следовательно, количество креатинина ($mmol/min$), поступающее в фильтрат, соответствует произведению концентрации креатинина в фильтрате на минутный объем фильтрата:

$$K_{кр} \times V.$$

Порядок проведения пробы Реберга–Тареева.

Специальной подготовки пациента не требуется. Пациент в течение суток собирает мочу (всю выделенную мочу за 24 ч). Утром он идет в туалет. Обязательно фиксируется это время (нулевое время). Первую утреннюю порцию пациент не собирает (выпускает в унитаз), а собирает все последующие порции точно до этого же времени следующего дня (за сутки в емкость 3 л). По окончании сбора мочу перемешивают, измеряют объем и указывают

его в направлении; около 50 мл мочи отливают в отдельную посуду и доставляют в лабораторию. Утром дня окончания сбора мочи у пациента берется

венозная кровь для определения концентрации креатинина.

Для получения точных результатов чрезвычайно важно полностью собрать мочу за 24 ч и указать в направлении на исследование, что это суточная моча. Неправильный сбор мочи приведет к ложным результатам.

В лаборатории определяют концентрацию $K_{кр}$ и $K_{м}$ пациента, а также рассчитывают минутный диурез – D , исходя из суточного объема мочи, собранного пациентом. Например, за сутки пациент выделил 1350 мл мочи;

это

количество в мл необходимо разделить на 24 ч, переведенные в минуты – 1440 мин; следовательно, в данном примере минутный диурез составил 0,94 мл/мин. *Клиренс креатинина рассчитывают по следующей формуле:*

$$\text{клиренс креатинина} = \frac{K_m}{K_{кр}} \times D$$

Проба Реберга–Тареева может выполняться и за более короткий отрезок времени (например, за 1–2 ч). Однако, проводя исследование клиренса креатинина в более короткий отрезок времени, необходимо учитывать возможность значительной ошибки при сборе небольшого объема мочи из-за неучета «остаточной мочи» в мочевом пузыре, низкого диуреза и аналитической вариации метода определения концентрации креатинина. Для повышения адекватности определения клиренса креатинина желательно добиваться

диуреза у обследуемого пациента в объеме не менее 1,5 мл/мин, что обеспечивается дополнительной небольшой водной нагрузкой в объеме 1–2 стаканов воды.

Порядок проведения пробы Реберга–Тареева за короткий промежуток времени. Больной утром мочится, выпивает 200 мл воды, и затем натошак в состоянии полного покоя собирает мочу за точно определенное непродолжительное время (2 ч). Посередине этого отрезка времени берут кровь из вены. При направлении проб в лабораторию для получения правильных результатов определения СКФ в направлении на исследование очень важно указать за какой отрезок времени собрана моча.

В норме величины клубочковой фильтрации наиболее низки утром, повышаются до максимальных величин в дневные часы и вновь снижаются вечером. У здоровых людей снижение СКФ происходит под влиянием тяжелой физической нагрузки и отрицательных эмоций; возрастает после питья жидкости и приема высококалорийной пищи.

Так как определение клиренса креатинина является прямым методом измерения СКФ, его величина снижается при уменьшении СКФ. Уменьшение величины клиренса креатинина по сравнению с нормой свидетельствует

о повреждении почек. По уровню снижения клиренса креатинина можно судить о тяжести их поражения, но не о диагнозе, так как СКФ уменьшается при заболеваниях почек разной этиологии. Этот показатель – более чувствительный индикатор ранних стадий почечной дисфункции.

На СКФ оказывают влияние экстраренальные факторы. Так, СКФ снижается при сердечной и сосудистой недостаточности, обильном поносе и рвоте, гипотиреозе, механическом затруднении оттока мочи (опухоли предстательной железы), при поражении печени. В начальной стадии острого ГН снижение СКФ происходит не только вследствие нарушения проходимости клубочковой мембраны, но и в результате системных расстройств гемодинамики. При хроническом ГН снижение СКФ может быть обусловлено также азотемической рвотой и поносом.

Ряд лекарственных препаратов (например, циметидин, триметоприм) снижает тубулярную секрецию креатинина, способствуя повышению его концентрации в сыворотке крови. Антибиотики группы цефалоспоринов, вследствие интерференции, приводят к ложноповышенному уровню креатинина в сыворотке.

Повышение СКФ наблюдается при хроническом ГН с нефротическим синдромом, в ранней стадии гипертонической болезни; высокие цифры СКФ отмечаются и при нефрозах.

Наряду с определением СКФ в пробе Реберга-Тареева также оценивают состояние канальцевой реабсорбции, которая рассчитывается по формуле:

$$КР = \frac{СКФ - Д}{СКФ} \times 100$$

В норме канальцевая реабсорбция составляет от 95 до 99% клубочкового фильтрата.

Канальцевая реабсорбция может значительно меняться в зависимости от физиологических факторов, снижаясь до 90% при водной нагрузке. Выраженное снижение реабсорбции происходит при форсированном диурезе, вызванном мочегонными средствами. Наибольшее снижение канальцевой реабсорбции наблюдается у больных несахарным диабетом.

При различных заболеваниях почек периоды (время) возникновения нарушения (снижения) СКФ и канальцевой реабсорбции могут существенно отличаться, что используется для оценки динамики заболеваний.

При острых и хронических ГН, нефросклерозах, когда первично поражается фильтр почечного клубочка, канальцевая реабсорбция снижается позже, чем СКФ, т.е. СКФ, как правило, уменьшается намного раньше, чем происходит снижение концентрационной функции почек и накопление в крови мочевины и креатинина. При первичных клубочковых поражениях недостаточность концентрационной функции почек выявляется при резком снижении СКФ (приблизительно на 40-50%).

При пиелонефритах канальцевая реабсорбция снижается раньше уменьшения СКФ. Это обусловлено тем, что при хронических пиелонефритах первоначально поражается преимущественно дистальный отдел канальцев нефрона, а только затем гломерулярный клубочек, поэтому СКФ уменьшается позже, чем канальцевая реабсорбция.

Мочевая кислота.

Референтные значения мочевой кислоты в сыворотке:

до 14 лет: 120–320 мкмоль/л;

старше 14 лет, мужчины: 210–420 мкмоль/л,

женщины: 150–350 мкмоль/л.

Повышение уровня мочевой кислоты в крови (гиперурикемия) может возникнуть вследствие избыточной продукции мочевой кислоты, нарушения ее экскреции или сочетания этих факторов.

Основные причины, которые приводят к увеличению концентрации мочевой кислоты в плазме крови.

Увеличение образования мочевой кислоты	Снижение почечной экскреции мочевой кислоты
Первичное	Первичное
Увеличение синтеза пуринов: идиопатическое (неустановленное) наследственное нарушение метаболизма	Идиопатическое
Вторичное	Вторичное
Избыточное поступление пуринов с пищей. Нарушение метаболизма АТФ: • алкоголь; • гипоксия тканей. Увеличение обмена нуклеиновых кислот: • злокачественные новообразования; • псориаз; • цитотоксические препараты; • ионизирующее излучение; лучевая терапия	Хроническая болезнь почек. Увеличение почечной реабсорбции/уменьшение секреции: • тиазидные диуретики; • салицилаты (низкие дозы); • свинец; • органические кислоты (например, молочная кислота, в том числе вследствие приема алкоголя)

Определение содержания в крови мочевой кислоты имеет особенно большое значение в диагностике бессимптомной гиперурикемии (мочевая кислота в крови у мужчин – выше 480 мкмоль/л, у женщин – выше 350

мкмоль/л) и скрытого развития подагрической почки (у 5% мужчин). У 5–10% больных с бессимптомной гиперурикемией возникает острый подагрический артрит. Примерно у 25% пациентов с симптомами подагры обнаруживают камни мочевой кислоты и 25% пациентов с камнями мочевой кислоты страдают подагрой. Гиперурикемия у пациентов с подагрой непостоянна,

может носить волнообразный характер. Периодически содержание мочевой кислоты может снижаться до нормальных цифр, однако часто наблюдается повышение в 3–4 раза по сравнению с нормой.

Во время острого приступа подагры у 39–42% пациентов уровень мочевой кислоты в сыворотке крови снижается до нормальных значений. Поэтому при нормальных значениях мочевой кислоты таким пациентам необходимо повторить анализы крови через 3–5 суток после купирования приступа для получения объективных величин концентрации этой кислоты.

Для получения точных данных о содержании мочевой кислоты в крови, наиболее адекватно отражающих уровень эндогенного образования мочевой кислоты, необходимо в течение 3 дней перед исследованием назначать пациентам малопуриновую диету.

Снижение уровня мочевой кислоты в крови встречается редко, в основном при врожденных нарушениях метаболизма (генетические дефекты синтеза ферментов, участвующих в образовании мочевой кислоты) и дефектах реабсорбции мочевой кислоты в почечных канальцах. Гипоурикемия наблюдается при врожденном дефиците фермента ксантиноксидазы (катализирует превращение гипоксантина в ксантин и ксантина в мочевую кислоту), который сопровождается ксантинурией. Тяжелые заболевания печени, поражения почечных канальцев (например, синдром Фанкони), прием аллопуринола приводят к снижению уровня мочевой кислоты в крови.

Гомоцистеин.

Референтные величины содержания гомоцистеина в сыворотке составляют: у женщин – 5–12 мкмоль/л, у мужчин – 5–15 мкмоль/л.

Высокие уровни гомоцистеина служат важнейшим фактором, определяющим риск развития раннего атеросклероза и тромбоза. Гипергомоцистеинемия встречается у 13–47% больных ИБС. Поэтому в настоящее время определение гомоцистеина в сыворотке крови используется в качестве маркера прогноза исхода ИБС. Высокие уровни гомоцистеина у больных ИБС – четкие предвестники острых явлений, которые могут привести к летальному исходу. По степени выраженности гипергомоцистеинемии

делят на легкую – уровень гомоцистеина – 15–25 мкмоль/л, умеренную – 25–50 мкмоль/л и тяжелую – 50–500 мкмоль/л. У больных ИБС с уровнем

гомоцистеина в крови ниже 10 мкмоль/л стеноз коронарных артерий обычно менее 50%, при уровне 10–15 мкмоль/л – 80%, выше 15 мкмоль/л – 90%.

Врожденная гомоцистинурия представляет собой моногенный дефект метаболизма, обусловленный дефицитом метилен-тетрагидрофолатредуктазы. Пациенты с таким довольно редким заболеванием (1 на 200 000 новорожденных) обычно страдают тяжелой задержкой умственного развития, патологией скелета и ранним развитием атеросклеротической болезни. В сыворотке крови концентрация гомоцистеина очень высокая – от 50 до 500 мкмоль/л.

Гипергомоцистеинемия встречается как одно из проявлений неопластического процесса, в частности при раке молочной железы, яичников и поджелудочной железы, остром лимфобластном лейкозе. Увеличение уровня гомоцистеина в сыворотке крови может отмечаться при гипотиреозе, тяжелом течении псориаза, длительном приеме препаратов теофиллина, эстрогенсодержащих контрацептивов, цитостатиков (метотрексат) и противоэpileптических препаратов (фенитоин, карбамазепин), вследствие нарушения метаболизма и всасывания витамина В₁₂ и фолиевой кислоты.

Исследование показателей углеводного обмена.

Глюкоза крови и мочи.

Концентрация глюкозы в сыворотке крови примерно на 11–14% выше, чем в цельной крови, из-за разведения растворенной в плазме глюкозы форменными элементами крови. Концентрация глюкозы в гепаринизированной плазме на 5% ниже содержания глюкозы в сыворотке. Вследствие утилизации глюкозы в тканях цельная венозная кровь содержит меньше глюкозы, чем капиллярная кровь из пальца (натошак примерно на 0,1 ммоль/л, после приема пищи – на 15–20%, большая разница может быть у пациентов с нарушениями микроциркуляции, например при шоке).

Референтные пределы глюкозы.

Возраст	Глюкоза сыворотки крови ммоль/л	Глюкоза цельной (капиллярной) крови ммоль/л
Новорожденные	2,8-4,4	2,4-4,1
Дети	3,9-5,8	3,3-5,5
Взрослые	4,0-6,1	3,3-5,5

Определение уровня глюкозы в клинической практике используется для следующих целей:

- диагностики и мониторинга сахарного диабета, диабета беременных, нарушения толерантности к глюкозе;
- выявления и мониторинга нарушений углеводного обмена при недостаточности надпочечников, гипопаратиреозе, заболеваниях печени, сепсисе, шоке и других критических состояниях;
- скрининг нарушений углеводного обмена в группах риска развития сахарного диабета (ожирение, возраст старше 45 лет, сахарный диабет 1-го типа в семейном анамнезе);
- дифференциальной диагностики комы (гипо- и гипергликемической).

Увеличение концентрации глюкозы (гипергликемию) вызывают:

- умеренная физическая нагрузка;
- эмоциональный стресс, боль;
- сахарный диабет;
- увеличение продукции гипергликемических гормонов (феохромоцитома, тиреотоксикоз, акромегалия, гигантизм, синдром Кушинга);
- снижение продукции инсулина при заболеваниях поджелудочной железы (острый и хронический панкреатит, опухоли поджелудочной железы);
- травма, опухоли, операционные повреждения головного мозга, кровоизлияние в мозг.

Уменьшение концентрации (гипогликемию) вызывают:

- передозировка гипогликемических препаратов, инсулина;
- повышение продукции инсулина (аденома или карцинома β -клеток островков Лангерганса – инсулинома);
- снижение продукции гипергликемических гормонов (недостаточность α -клеток островков Лангерганса, болезнь Аддисона, адреногенитальный синдром, гипопитуитаризм, гипотиреоз);
- ослабление гликогенной функции печени при циррозе, тяжелых гепатитах разной этиологии, первичном раке печени, гемохроматозе, алкогольной интоксикации;
- ферментопатии (болезнь Гирке, галактоземия, нарушенная толерантность к фруктозе);
- длительное голодание;

- синдром мальабсорбции;
- интенсивная физическая нагрузка;
- лихорадочные состояния.

Диагностические критерии сахарного диабета и других категорий гипергликемии, рекомендованные ВОЗ (1999).

Диагноз	Момент взятия пробы	Цельная кровь		Плазма венوزной крови
		Венозная	Капиллярная	
Норма	Натощак	3,3 – 5,5	3,3 – 5,5	4,0 – 6,1
	Через 2 ч после нагрузки глюкозой	<6,7	<7,8	<7,8
Нарушение толерантности к глюкозе	Натощак	<6,1	<6,1	<7,0
	Через 2 ч после нагрузки глюкозой	≥6,7 и <10,0	≥7,8 и <11,1	≥7,8 и <11,1
Сахарный диабет	Натощак	≥6,1	≥6,1	≥7,0
	Через 2 ч после нагрузки глюкозой	≥10,0	≥11,1	≥11,1

Глюкоза в моче.

Референтные пределы: менее 0,08 ммоль/сутки (большинство тестсистем нечувствительны к такой концентрации и дают отрицательный результат).

Определение глюкозы в моче используется для следующих целей:

- мониторинга сахарного диабета беременных, нарушения толерантности к глюкозе;
- диагностики и мониторинга почечного диабета, патологий почек с нарушением канальцевой реабсорбции.

С мочой глюкоза в норме не выводится, поскольку после фильтрации в почечных клубочках полностью реабсорбируется в проксимальных канальцах. При гипергликемии выше 9–10 ммоль/л (почечный порог для глюкозы) развивается глюкозурия. Глюкозурия не является диагностическим критерием сахарного диабета, поскольку экскреция глюкозы с мочой зависит не только от уровня гликемии, отражающей инсулярную функцию, но и от функционирования почек – способности почечных канальцев реабсорбировать глюкозу, скорости клубочковой фильтрации. Глюкозурия на

фоне нормогликемии может развиваться при некоторых заболеваниях почек из-за снижения почечного порога, а также во время нормальной беременности из-за того, что физиологическое повышение клубочковой фильтрации неадекватно абсорбционной способности канальцев. Одним из критериев компенсации сахарного диабета 2-го типа является аглюкозурия, при сахарном диабете 1-го типа допускается потеря глюкозы с мочой 20–30 г/сут. При диабетическом гломерулосклерозе почечный порог для глюкозы возрастает, поэтому аглюкозурия не развивается даже при выраженной гипергликемии.

Увеличение экскреции глюкозы (глюкозурия) связано:

- с гипергликемией при сахарном диабете, гипертиреозе, стероидном диабете, синдроме Кушинга, феохромоцитоме, заболеваниях поджелудочной железы и других состояниях;
- со снижением почечного порога для глюкозы при тубулоинтерстициальных поражениях почек любой этиологии, врожденных тубулопатиях.

На уровень глюкозы в моче оказывает влияние (в сторону повышения) прием глюкокортикоидов, нестероидных противовоспалительных препаратов, некоторых диуретиков.

К тестам, которые используются в диагностике и мониторинге патологии углеводного обмена, относятся определение уровня гликозилированного гемоглобина, фруктозамина, а также альбумина в моче (тест на микроальбуминемию).

Гликозилированный гемоглобин.

Гликозилированный (или гликированный) гемоглобин (HbA1c) образуется в результате неферментативной реакции между гемоглобином А, содержащимся в эритроцитах, и глюкозой сыворотки крови. Для определения уровня HbA1c необходима цельная венозная кровь, взятая с антикоагулянтом.

Референтные величины содержания HbA1c в крови составляют 4,0–5,2% от общего гемоглобина.

Степень гликозилирования гемоглобина (а, следовательно, его концентрация) зависит от концентрации глюкозы в крови и от длительности контакта глюкозы с гемоглобином (срока жизни эритроцита). Эритроциты, циркулирующие в крови, имеют разный возраст, поэтому для усредненной характеристики уровня связанной с ними глюкозы ориентируются на полупериод жизни эритроцитов – 60 сут. Существуют три варианта гликозилированного гемоглобина: HbA1a, HbA1b, HbA1c, но только вариант HbA1c количественно преобладает и дает более тесную корреляцию со степенью выраженности сахарного диабета.

Исследование концентрации глюкозы в крови недостаточно для эффективного мониторинга лечения сахарного диабета. Определив уровень глюкозы в крови, можно оценить текущий (сиюминутный) уровень глюкозы, который может зависеть от: 1) приема (или неприема) пищи; 2) ее состава, 3) физических нагрузок и их интенсивности, 4) эмоционального состояния пациента, 5) времени суток. Поэтому при исследовании только текущего уровня

глюкозы в крови высока вероятность того, что ее значения не будут отражать действительную степень компенсации сахарного диабета, а это может привести либо к передозировке лекарственных препаратов, либо к неоправданному уменьшению дозировки. Ценность определения HbA1c состоит в том, что он характеризует средний уровень глюкозы в крови на протяжении длительного промежутка времени, т.е. действительную степень компенсации сахарного диабета на протяжении последних 1–2 месяцев.

В целом определение HbA1c дает усредненное, интегрированное представление об уровне гликемии при всех формах сахарного диабета.

Взаимосвязь между концентрациями глюкозы в крови и уровнем HbA1c.

Уровень HbA1c	Концентрация глюкозы в крови	
	ммоль/л	мг/дл
4,0	2,6	50
5,0	4,7	80
6,0	6,3	115
7,0	8,2	150
8,0	10,0	180
9,0	11,9	215
10,0	13,7	250
11,0	15,6	280
12,0	17,4	315
13,0	19,3	350
14,0	21,1	380

Результаты исследования HbA1c оценивают следующим образом: 4–6% свидетельствует о хорошей компенсации сахарного диабета в последние 1–2 месяца, 6,2–7,5% – удовлетворительный уровень, выше 7,5% – неудовлетворительный уровень. Для оценки эффективности лечения целесообразно повторить исследование через 2–3 мес.

Уровень HbA1c не зависит от времени суток, физических нагрузок, приема пищи, назначенных лекарственных средств, эмоционального состояния пациента.

Ложные сниженные значения HbA1c имеют место при уремии, острых и хронических геморрагиях, а также при состояниях с уменьшением длительности жизни эритроцитов (например, при гемолитической анемии).

Фруктозамин.

Референтные величины содержания фруктозамина в сыворотке – 205–285 мкмоль/л.

Фруктозамин представляет собой продукт необратимого гликозилирования белков плазмы крови. Степень гликозилирования белков плазмы зависит от концентрации глюкозы в крови и длительности периода полураспада белков. Количество фруктозамина в крови служит хорошим показателем для ретроспективного контроля за содержанием глюкозы в крови у пациентов с сахарным диабетом и позволяет оценивать эффективность проводимого лечения без отягощающего больного ежедневного контроля за уровнем гликемии в крови.

В отличие от HbA1c, фруктозамин отражает средний уровень глюкозы в крови за 2-3 нед. до измерения. Это обусловлено периодом полураспада гликозилированных белков, для альбумина он составляет 20 дней, тогда как для гемоглобина он определен длительностью полураспада эритроцитов (60 дней). При оценке результатов исследования фруктозамина как критерия компенсации сахарного диабета, считают, что при содержании его в крови от 280 до 320 мкмоль/л компенсация удовлетворительная, выше 320 мкмоль/л – декомпенсация.

Альбумин в моче (микроальбуминурия).

Микроальбуминурия – это экскреция альбумина с мочой, превышающая допустимые нормальные значения, но не достигающая степени протеинурии. В норме экскретируется не более 30 мг альбумина в сутки, что эквивалентно концентрации альбумина в моче менее 20 мг/л при ее разовом анализе. При появлении протеинурии экскреция альбумина с мочой превышает 300 мг/сут. Поэтому диапазон колебаний концентрации альбумина в моче при микроальбуминурии составляет от 30 до 300 мг/сут или от 20 до 200 мкг/мин.

Исследование на микроальбуминурию используют для скрининга поражения почек и необходимости лечения диабетической нефропатии. Своевременное начало лечения нефропатии существенно снижает затраты и улучшает прогноз в отношении развития почечной недостаточности. Если в суточной моче концентрация альбумина выше 30 мг и эти значения

повторяются несколько раз, необходимо проводить лечение, так как данные изменения характерны для начинающейся диабетической нефропатии.

Классификация видов альбуминурии.

Вид альбуминурии	Экскреция альбумина с мочой		Концентрация альбумина в моче мг/л
	При однократном сборе мочи (утренняя порция), мкг/мин	За сутки, мг	
Нормоальбуминурия	Менее 20	Менее 30	Менее 20
Микроальбуминурия	20-200	30-300	20-200
Макроальбуминурия	Более 200	Более 300	Более 200

В настоящее время тест на микроальбуминурию необходимо рассматривать как показатель оценки функции плазматических мембран высокодифференцированных клеток. В норме отрицательно заряженный альбумин не проходит через гломерулярный фильтр почек, прежде всего вследствие наличия высокого отрицательного заряда на поверхности эпителиальных

клеток. Этот заряд обусловлен структурой фосфолипидов клеточных мембран. Снижение количества двойных связей в ацильных остатках фосфолипидов уменьшает отрицательный заряд, и альбумин начинает фильтроваться в первичную мочу в повышенном количестве. Все эти изменения

возникают при развитии атеросклероза, поэтому микроальбуминурия наблюдается у пациентов с генетическими формами дислипидемии, у пациентов с ИБС, эссенциальной гипертензией, у 10% практически здоровых людей при скрининговых исследованиях и у пациентов с нарушением толерантности к глюкозе. Так как изменение структуры фосфолипидов плазматических мембран

высокодифференцированных клеток развивается при атеросклерозе и немедленно сказывается на заряде мембран, микроальбуминурия представляет собой тест раннего определения заболевания.

Конечный уровень знаний.

1. *В сыворотке крови в отличие от плазмы отсутствует:*
 - 1) фибриноген
 - 2) альбумин
 - 3) комплемент
 - 4) калликреин
 - 5) антитромбин

2. ***Понятие «абсорбция» в фотометрии идентично понятию:***

- 1) отражение
- 2) пропускание
- 3) рассеивание
- 4) оптическая плотность
- 5) тушение

3. ***Биохимические анализаторы позволяют:***

- 1) повысить производительность работы в лаборатории
- 2) проводить исследования кинетическими методами
- 3) расширить диапазон исследований
- 4) выполнять сложные виды анализов
- 5) все_перечисленное

4. ***К методам срочной лабораторной диагностики следует отнести определение:***

- 1) активности кислой фосфатазы
- 2) белковых фракций
- 3) опухолевых маркеров
- 4) общего холестерина
- 5) билирубина у новорожденных

5. ***Усиливают анаболизм белков:***

- 1) тироксин
- 2) глюкокортикоиды
- 3) СТГ, половые гормоны
- 4) инсулин
- 2) паратгормон

6. ***К белкам плазмы относят***

- 1) кератины
- 2) эластин
- 3) глобулины
- 4) склеропротеины
- 5) коллагены

7. ***Определение альфа-фетопротейна имеет диагностическое значение при:***

- 1) эхинококкозе печени
- 2) первичном раке печени
- 3) инфекционном гепатите
- 4) 4 раке желудка

5) 5 осложненном инфаркте миокарда

8. К клеткам, продуцирующим гамма-глобулины, относятся:

- 1) плазматические клетки
- 2) моноциты
- 3) базофилы
- 4) макрофаги
- 5) тромбоциты

9. Фибриноген снижается в крови при:

- 1) инфаркте миокарда
- 2) циррозе печени
- 3) ревматизме
- 4) уремии
- 5) остром воспалении

10. Парапротейны появляются в крови при:

- 1) болезни Вальденстрема
- 2) миеломе
- 3) болезни тяжелых цепей
- 4) болезни легких цепей
- 5) всех перечисленных заболеваний

11. Трансферрин - это соединение апо-ферритина с:

- 1) цинком
- 2) железом
- 3) натрием
- 4) кобальтом
- 5) калием

12. Содержание креатинина в крови увеличивается при:

- 1) хронической почечной недостаточности
- 2) гепатите
- 3) гастрите
- 4) язвенном колите
- 5) всех перечисленных состояниях

13. Определение клиренса эндогенного креатинина применимо для:

- 1) оценки секреторной функции канальцев почек
- 2) определения концентрирующей функции почек
- 3) оценки количества функционирующих нефронов
- 4) определения величины почечной фильтрации

- 3) ни для одной из перечисленных задач

14. Мочевая кислота повышается в сыворотке при:

- 1) гастрите, язвенной болезни
- 2) гепатитах
- 3) лечении цитостатиками
- 4) эпилепсии, шизофрении
- 5) всех перечисленных заболеваний

15. Основная физиологическая роль гаптоглобина:

- 1) связывание гемоглобина
- 2) антипротеолитическая активность
- 3) участие в реакции иммунитета
- 4) участие в свертывании крови
- 5) все перечисленное верно

16. Гипогаммаглобулинемия наблюдается при:

- 1) лимфосаркоме
- 2) миеломной
- 3) облучении
- 4) длительных хронических заболеваниях
- 5) при всех перечисленных состояниях

17. Наиболее выраженное повышение С-реактивного белка наблюдается при:

- 1) вирусных инфекциях
- 2) склеродермии
- 3) бактериальных инфекциях
- 4) лейкемии
- 5) все перечисленное верно

18. Гипоальбуминемия наблюдается при:

- 1) циррозе печени
- 2) кровотечении
- 3) гипертиреозе
- 4) нефротическом синдроме
- 5) все перечисленное верно

19. Альфа-1 - антитрипсин – это:

- 1) белок острой фазы
- 2) ингибитор сериновых протеиназ
- 3) ингибитор лейкоцитарной эластазы
- 4) все перечисленное верно

5) все перечисленное неверно

20. *Всасывание углеводов происходит главным образом в:*

1) ротовой полости

2) желудке

3) тонкой кишке

4) толстой кишке

5) все перечисленное верно

ТЕМА: КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ РАССТРОЙСТВ ГЕМОСТАЗА.

Основные вопросы темы.

- 1) Функции системы гемостаза в организме
- 2) Виды гемостаза
- 3) Составляющие элементы первичного гемостаза
- 4) Роль тромбоцитов в гемостазе
- 5) Характеристика коагуляционного гемостаза. Плазменные факторы коагуляции
- 6) Основные компоненты фибринолитической системы
- 7) Методы исследования сосудисто-тромбоцитарного гемостаза
- 8) Методы исследования коагуляционного гемостаза. Методы оценки коагуляционного гемостаза
- 9) Понятие о протромбиновом времени. Способы выражения ПТВ
- 10) Методы определения фибриногена

Актуальность темы.

Гемостаз – это функция организма, обеспечивающая, с одной стороны, сохранение крови в кровеносном русле в жидком агрегатном состоянии, а с другой стороны – остановку кровотечения и предотвращение кровопотери при повреждении кровеносных сосудов.

Система гемостаза включает в себя:

1. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз (первичный).
2. Коагуляционный гемостаз (вторичный).
3. Фибринолиз.

Составляющие элементы первичного гемостаза:

А. Сосуды и ткани:

- Сосуды различного калибра спазмируются в ответ на выделение сосудосуживающих субстанций, таких как серотонин, адреналин, норадреналин и др.;
- эндотелий сосудов в неповрежденном виде обладает антикоагуляционными свойствами (гепариноиды на поверхности эндотелия), а при повреждении становится мощным прокоагулянтом.

Б. Морфологические элементы крови:

- тромбоциты;
- эритроциты;
- лейкоциты.

Роль тромбоцитов в гемостазе:

- на поверхности тромбоцитов происходит большинство реакций плазменного гемостаза;

- адгезия тромбоцитов – способность активированных тромбоцитов прилипать к стенке сосуда на месте повреждения;
- агрегация тромбоцитов – способность их прилипать друг к другу с образованием агрегатов.

Роль тромбоцитов в гемостазе:

- на поверхности тромбоцитов происходит большинство реакций плазменного гемостаза;
- адгезия тромбоцитов – способность активированных тромбоцитов прилипать к стенке сосуда на месте повреждения;
- агрегация тромбоцитов – способность их прилипать друг к другу с образованием агрегатов.

Коагуляционный гемостаз.

Коагуляционный гемостаз обеспечивается протеолитической активацией плазменных факторов, в результате из растворимого белка фибриногена образуется нерастворимый фибрин. Ключевой реакцией гемостаза является генерация тромбина.

Плазменные факторы коагуляции:

Фактор I (фибриноген) – белок, который синтезируется в печени.

Концентрация фибриногена в крови составляет 2-4 г/л. Уменьшение концентрации менее 1 г/л угрожает пациенту кровотечением.

Фактор II (протромбин) – гликопротеид, синтезируется в печени. Для синтеза этого фактора необходим витамин К. В результате воздействия на него мультиферментного комплекса протромбиназы образуется ключевой фермент гемостаза – тромбин.

Фактор III (тканевой фактор) – рецепторный белок мембраны клеток, находится во всех органах и тканях организма, в том числе и эндотелии сосудов. Является рецептором для VII фактора и обеспечивает активацию гемостаза.

Фактор IV (кальций) – участвует во всех этапах плазменного гемостаза.

Фактор V (проакцелерин) – синтезируется в печени, принимает участие в активации протромбина, являясь частью мультиферментного комплекса протромбиназы. При недостатке развивается парагемофилия.

Фактор VI / VII (проконвертин/конвертин) – витамин К зависимый белок, синтезирующийся в печени. Около 1% циркулирует в крови в активной форме VIIa. VIIa на поверхности поврежденного эндотелия образует комплекс с тканевым фактором, который в свою очередь активирует фX, таким образом обеспечивая генерацию микроколичеств тромбина, что играет ключевую роль в усилении процесса свертывания крови.

Факторы VIII, IX, XI – антигемофильные факторы. Активированные факторы VIIIa и IXa на фосфолипидной поверхности мембран образуют

теназный комплекс, который образует главный компонент протромбиназы – фактор Ха.

Фактор X (фактор Стюарта) – является ключевым энзимом протромбиназы, которая трансформирует протромбин в тромбин.

Фактор XII (фактор Хагемана) – фактор контакта. Дефицит этого фактора обычно клинически не проявляется.

Фактор XIII (фибринстабилизирующий фактор). Образует Д=Д связи в нестабильном полимере фибрина, что стабилизирует последний.

Основные компоненты фибринолитической системы.

1. **Плазминоген** – это профермент из которого образуется фибринолитический энзим плазмин.

2. **Активаторы плазминогена** – превращают плазминоген в плазмин:

- тканевой активатор плазминогена (ТПА) – является главным активатором в плазме;
- урокиназный активатор плазминогена (УПА) – является главным активатором в тканях.

3. Ингибиторы активаторов плазминогена (ИАП):

- ИАП1 – образуется в эндотелии сосудов;
- ИАП2 – образуется в плаценте.

4. **Ингибиторы плазмина:** α 2-антиплазмин, α 2-макроглобулин и α 1-антитрипсин.

5. **Рецепторы урокиназного активатора плазминогена** – обеспечивает протекание фибринолиза в тканях.

6. Рецептор плазминогена.

7. Тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза (TAFI).

Методы исследования сосудисто-тромбоцитарного гемостаза.

1. Определение времени кровотечения.

Многочисленные модификации теста основаны на точном измерении длительности кровотечения из ранки на мочке уха, дистальной фаланги пальца руки или верхней трети ладонной поверхности предплечья.

Метод Дьюке.

Стерильным скарификатором или плоским ланцетом прокалывают нижний валик мочки уха (глубина прокола 3,5-4 мм) и включают секундомер. Предварительно мочку уха согревают. Выступающие капли крови каждые 30 с промокают фильтровальной бумагой, не прикасаясь к ранке. В момент, когда новые капли крови не образуются, выключают секундомер и определяют общую длительность кровотечения, а также оценивают размеры капель.

В норме время кровотечения по Дьюку не превышает **4 мин.** Его увеличение наблюдается при выраженных тромбоцитопениях или/и тяжелых нарушениях их функции (тромбоцитопатиях). Следует помнить также, что у 60% больных с этой патологией тест оказывается отрицательным.

Метод Айви.

Несколько более чувствительным является тест Айви, когда оценивают время кровотечения из надрезов на коже ладонной поверхности верхней трети предплечья на фоне искусственного повышения венозного давления с помощью манжеты для определения АД, в которой поддерживают давление 40 мм рт. ст. По ходу предплечья прикладывают соответствующий шаблон и скальпелем делают два надреза длиной 9 мм и глубиной 1 мм. Засекают время. Не касаясь надрезов, осторожно промокают кровь фильтровальной бумагой каждые 30 с до остановки кровотечения в обеих ранках. Рассчитывают среднее время по двум надрезам. В норме время кровотечения по Айви не превышает 7 минут.

2. Подсчет количества тромбоцитов.

В настоящее время используется три метода подсчета тромбоцитов в крови:

- В камере Горяева;
- в мазках крови;
- автоматический метод.

Подсчет в камере Горяева. Является самым точным, но достаточно трудоемким. Подсчет тромбоцитов в 1 л проводится по стандартной методике с учетом разведения крови и объема большого квадрата счетной сетки Горяева с применением фазово-контрастного микроскопа для лучшего контрастирования тромбоцитов.

Исследуемую кровь разводят в 200 раз раствором аммония оксалата или раствором, содержащим натрия хлорид, фурацилин и дистиллированную воду. Разведенную кровь перемешивают и оставляют на 30 минут для гемолиза эритроцитов. Затем заполняют камеру Горяева и подсчитывают тромбоциты в 25 больших квадратах.

Подсчет в мазках крови. Метод основан на подсчете числа тромбоцитов на 1000 эритроцитов с последующим пересчетом на 1 л крови. Кровь смешивают с раствором магнeзии сульфата или ЭДТА. Мазки готовят на предметных стеклах и окрашивают их по Романовскому-Гимзе. В каждом поле зрения микроскопа подсчитывают число эритроцитов и тромбоцитов, передвигая мазок до тех пор, пока не будут просчитаны 1000 эритроцитов. Зная число эритроцитов в 1 л крови, рассчитывают количество тромбоцитов в этом объеме.

Автоматический метод. Данный метод с использованием современных анализаторов значительно облегчает и ускоряет исследование, в связи с чем находит все большее распространение в клинической практике.

3. Оценка агрегации тромбоцитов.

Определение агрегационной способности тромбоцитов можно выполнить с помощью следующих методов:

Качественные методы (общее ориентировочное представление об агрегационной активности) основаны на визуальном определении тромбоцитарных агрегатов, образующихся при смешивании тромбоцитарной плазмы с различными, чаще естественными, стимуляторами агрегации:

- **в пробирке** – макроскопический способ;
- **на предметном стекле** – микроскопический способ.

В качестве стимуляторов агрегации используют растворы АДФ, тромбина, адреналина, коллагена, ристомидина. Регистрируют время образования крупных агрегатов тромбоцитов, которое в норме обычно не превышает **10-60 с**.

Количественная фотометрия – это регистрация процесса агрегации с помощью агрегометров (наиболее полная оценка агрегационной способности тромбоцитов). Метод заключается в графической регистрации изменения оптической плотности тромбоцитарной плазмы при перемешивании ее со стимуляторами агрегации.

Образование тромбоцитарных агрегатов ведет к увеличению светопропускающей способности тромбоцитарной плазмы.

Полученные при этом агрегатограммы анализируют по нескольким количественным параметрам:

1. Времени начала агрегации после добавления соответствующего стимулятора.
2. Амплитуде агрегатограммы на 2-й и 6-й минутах исследования.
3. Общей площади агрегатограммы.

В зависимости от используемого стимулятора и его дозы агрегатограмма может иметь различную форму:

- при использовании в качестве стимуляторов агрегации тромбоцитов коллагена, тромбина, ристомидина регистрируют одну большую волну агрегации;
- при добавлении к тромбоцитарной плазме малых доз АДФ – двухволновую агрегатограмму.

Отсутствие на агрегатограммах, полученных при использовании в качестве стимулятора малых доз АДФ, второй волны агрегации свидетельствует об уменьшении в тромбоцитах гранул, содержащих биологически активные вещества (недостаточность пула хранения), или о нарушении реакции высвобождения этих веществ из тромбоцитов.

Методы исследования коагуляционного гемостаза.

В основе большинства лабораторных тестов оценки плазменного звена гемостаза лежит **клотинговый метод**.

Принцип всех клотинговых тестов основан на определении времени образования фибринового сгустка (*clot* – сгусток) после добавления в исследуемую плазму ионов кальция и активатора того этапа коагуляционного гемостаза который нас интересует.

Методы оценки коагуляционного гемостаза АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время).

АЧТВ используется как скрининговый тест для оценки внутреннего пути активации коагуляционного гемостаза, скрининговой диагностики волчаночного антикоагулянта и мониторинга за антикоагулянтным действием гепарина.

Метод основан на измерении времени свертывания бестромбоцитарной плазмы при добавлении в нее оптимального количества кальция хлорида или каолина, что обеспечивает стандартизацию контактной активизации факторов свертывания. Реагент для АЧТВ содержит контактный активатор (суспензия каолина) и фосфолипиды (кефалин). Контакт плазмы с частицами каолина стимулирует продукцию активного фактора XII (XIIa), предоставляя поверхность для функционирования высокомолекулярного кининогена, калликреина и фактора XIIa. Фосфолипиды необходимы для образования комплексов с активным фактором X (Xa) и протромбином.

После определённого времени инкубации в реакционную смесь добавляется хлорид кальция. Тем самым имитируется запуск свертывания по внутреннему пути и выявляется возможный дефицит факторов, участвующих в нем, либо наличие ингибиторов свертывания.

Укорочение АЧТВ иногда определяется у больных с тромбофилией. Это может быть связано с резистентностью фактора V к активному протеину C, повышенным уровнем фактора VIII или активированных факторов свертывания. Однако чаще всего укорочение АЧТВ объясняется нарушениями работы с кровью на преаналитическом этапе.

Удлинение АЧТВ происходит при:

- врожденном или приобретенном дефиците факторов II, V, VIII, IX, X, XI, XII, прекалликреина, снижении активности ф-VIII на фоне болезни Виллебранда;
- лечении гепарином, гирудином или аprotинином (ингибитор контактной фазы коагуляции);
- присутствии в крови ПДФ, волчаночного антикоагулянта;
- нарушении функции печени;
- коагулопатии потребления (ДВС-синдром);
- тяжелой дисфибриногенемии или афибриногенемии.

Протромбиновое время (ПТВ).

Протромбиновое время – широко используемый скрининговый тест для оценки внешнего пути активации коагуляционного гемостаза. ПТВ обычно используется для определения активности фактора VII и контроля за лечением непрямыми антикоагулянтами.

ПТВ представляет собой коагуляционный тест, в котором определяют время свёртывания плазмы пациента после добавления к ней смеси тканевого тромбoplastина и ионов кальция, что приводит к запуску свертывания по внешнему пути.

ПТВ удлиняется при: дефиците факторов VII, X, V, протромбина и фибриногена, в том числе при тяжелых заболеваниях печени, наличии аутоантител против факторов свертывания.

Существует несколько способов выражения ПТВ:

- **Протромбиновый индекс (ПТИ)** = $\frac{\text{ПВстандартной плазмы}}{\text{ПВпациента}}$ (0,8-1,2). Увеличение свидетельствует о гиперкоагуляции, а уменьшение о гипокоагуляции.

- **Протромбиновое отношение (ПО или PR)** = $\frac{\text{ПВпациента}}{\text{ПВстандартной плазмы}}$ (0,94-1,1).

- **Международное нормализованное отношение (МНО или INR)**, которое рассчитывается следующим образом:

$$\text{МНО} = \text{ПО}^{\text{МИЧ}}$$

МИЧ (ISI) – международный индекс чувствительности, соотносящий активность тканевого фактора из животных источников со стандартом тканевого фактора у человека (рекомендуемое ВОЗ значение МИЧ до 1,2).

Тромбиновое время (ТВ).

Метод заключается в определении времени свертывания плазмы при добавлении в нее раствора стандартного тромбина, который обладает способностью индуцировать превращение фибриногена в фибрин без участия других факторов свертывания крови.

Определение тромбинового времени позволяет оценить конечный этап коагуляционного гемостаза (фибринообразование). ТВ зависит от концентрации фибриногена, его свойств и наличия в крови ингибиторов тромбина (гепарин, антитромбин III). Определение ТВ используют в целях выявления дисфибриногенемий и оценки антикоагулянтной активности крови.

Пролонгированное ТВ наблюдается при значительном снижении уровня фибриногена крови (менее 0,5 г/л), наличии продуктов деградации фибрина, в том числе при ДВС-синдроме, тромболитической терапии или присутствии в крови аномальных

форм фибриногена (при врожденной патологии и вследствие заболеваний печени).

Присутствие антикоагулянтов прямого действия, в частности гепарина, также вызывает удлинение тромбинового времени (комплекс гепарин-антитромбин нейтрализует добавленный тромбин). Антикоагулянты непрямого действия не влияют на результаты теста. Удлинение тромбинового времени, помимо этого, может быть связано с присутствием аутоантител к тромбину или наличием в плазме парапротеинов, которые препятствуют полимеризации мономеров фибрина.

Удлинение тромбинового времени наблюдается при:

- гипофибриногемии (менее 0,5 г/л);
- дисфибриногемии (наследственные, приобретенные);
- повышенном содержании в крови продуктов деградации фибрина (ДВС-синдром; фибринолитическая терапия);
- присутствии в крови антикоагулянтов прямого действия (гепарина, гирудина, синтетических антитромбинов);
- парапротеинемии.

Укорочение тромбинового времени может произойти при:

- повышенном риске тромбообразования (I-я стадия ДВС-синдрома);
- значительном повышении концентрации фибриногена в крови.

Фибриноген.

Фибриноген представляет собой белок, синтезирующийся в печени и являющийся предшественником фибрина. Определение концентрации фибриногена в плазме крови является один из рутинных тестов коагулограммы.

Методы определения.

Определение по Клауссу.

Определение фибриногена по Клауссу считается наиболее адекватным тестом, выполняется на коагулометрах. Оно основано на определении времени образования сгустка при добавлении высокой концентрации тромбина к разбавленной в 10-20 раз плазме. При этом логарифм времени образования сгустка прямопропорционален логарифму концентрации фибриногена. Если время свертывания очень короткое (<5 с), то тест проводится с использованием разведенной плазмы. Гепарин не оказывает влияния на результаты определения.

Гравиметрический метод.

Принцип данного метода заключается в высушивании и взвешивании сгустка, который образуется при добавлении к плазме 0,2 мл стандартного раствора тромбина.

Турбидиметрический метод.

При этом определение фибриногена осуществляется по изменению мутности плазмы с использованием батроксомбина. Метод широко используется при автоматических вариантах определения фибриногена.

Иммунохимические методы.

Методы из данной группы основаны на турбидиметрическом или нефелометрическом способе регистрации, использовании поликлональных антител и адаптированы к иммунохимическим анализаторам. Как правило, для каждого иммунохимического анализатора применяется специфический тест-набор на фибриноген. Недостатком данных методов является то, что они не дифференцируют нативный фибриноген и продукты его деградации. Это особенно важно при ведении больных, которым проводится тромболитическая терапия, при обширных тромбозах и ДВС-синдроме, когда происходит значительное увеличение в плазме ПДФ.

Клиническое значение:

Фибриноген - острофазный белок. Его концентрация увеличивается при тяжелых бактериальных инфекциях, травмах и тромбозах. К значительному росту уровня фибриногена приводят заболевания почек (пиелонефрит, гломерулонефрит, гемолитикоуремический синдром), коллагенозы (ревматоидный артрит, узелковый периартериит), ночная пароксизмальная гемоглобинурия, новообразования (рак легких). При атеросклерозе наблюдается устойчивое увеличение фибриногена, трудно поддающееся лекарственным препаратам. Риск развития сердечно-сосудистых заболеваний при этом повышается пропорционально росту его уровня. Повышение концентрации фибриногена в плазме крови больных сердечно-сосудистыми заболеваниями предшествует развитию инфаркта миокарда и инсульта. Корреляция между уровнем данного белка и развитием этих осложнений особенно четко прослеживается у пациентов молодого возраста. Определение уровня фибриногена является одним из наиболее чувствительных тестов для выявления бессимптомных стадий поражения периферических сосудов.

Дисфибриногенемия представляет собой относительно часто встречающееся состояние, причем оно может определяться несколькими мутациями, одни из которых не сопровождаются, а другие сопряжены с кровотечениями.

Снижение концентрации фибриногена в плазме наблюдается при:

- врожденном дефиците;
- печеночно-клеточной недостаточности;
- ДВС-синдроме;
- острых фибринолитических состояниях;
- поражениях костного мозга (лейкоз, опухолевые метастазы).

Референтные значения:

2-4 г/л.

Определение высокомолекулярных производных фибриногена.

Наиболее важными в практическом отношении высокомолекулярными производными фибриногена являются:

1) *Растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК).*

Они представляет собой высокомолекулярные растворимые комплексы фибрин-мономера с фибриногеном и с продуктами расщепления фибриногена/фибрина. В норме РФМК не обнаруживаются. Их появление в плазме свидетельствует о нарушении процесса нормальной полимеризации фибрин-мономеров.

2) *Продукты деградации фибриногена (ПДФ).* Вещества, в не больших количествах образующиеся и в норме в результате расщепления фибрина.

Определение растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК).

Для выявления РФМК в клинике чаще используются так называемые *паракоагуляционные тесты*. Они основаны на феномене неферментативного свертывания РФМК при добавлении к плазме, в которой содержатся РФМК, 50% раствора этанола или 1% раствора протамина сульфата.

Проба с 50% раствором этанола является более чувствительной. В пробирку набирают 0,15 мл 50% этанола и 0,5 мл плазмы. Её встряхивают и помещают в штатив при комнатной температуре. Проба расценивается как положительная, если через 1–10 мин в пробирке образуется гель.

Проба с протамином сульфатом позволяет выявить не только полимеризацию фибрин-мономеров, высвобождающихся из РФМК, но и обнаружить осаждение ранних продуктов расщепления фибриногена/фибрина. Перед началом исследования предварительно готовят 5 разведений 1% раствора протамина сульфата (в 5, 10, 20, 40 и 80 раз). В каждое из приготовленных разведений добавляют 0,2 мл плазмы. Пробирки оставляют на 30 мин при комнатной температуре. Оценка результатов проводится так же, как и в пробе с этанолом. В норме отрицательный результат обнаруживают во всех разведениях протамина сульфата. Если хотя бы в одном из разведений образуется гель, результат оценивается как положительный.

Положительная проба с этанолом, а также положительный результат протаминсульфатной пробы в первых двух разведениях свидетельствует о наличии в плазме РФМК. Образование геля во всех разведениях протамина сульфата больше характерно для повышения уровня ранних продуктов расщепления фибриногена/фибрина.

Положительные результаты обеих проб встречаются при ДВС-синдроме, а также массивных тромбозах и тромбоэмболиях, сопровождающихся активацией системы фибринолиза.

Определение продуктов деградации фибрина (ПДФ) D-димеры.

D-димеры – это специфические продукты деградации фибрина, образующиеся в процессе лизиса сгустка крови под влиянием плазмينا и некоторых неспецифических фибринолитиков. Концентрация D-димеров в сыворотке пропорциональна активности фибринолиза и количеству лизируемого фибрина. Этот тест позволяет судить об интенсивности процессов образования и разрушения фибриновых сгустков.

Определение D-димеров может проводиться иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител, иммунодиффузии, методом турбидиметрии, а также латекс-агглютинации.

Повышение уровня D-димеров в крови наблюдается при венозных тромбозах, атеротромбозе, тромбоэмболии легочной артерии, ДВС-синдроме, при массивных оперативных вмешательствах.

На содержание D-димеров влияют такие факторы, как размер тромба, время от начала клинических проявлений до назначения антикоагулянтной терапии, длительность приема антикоагулянтов.

Конечный уровень знаний.

1. Тромбоциты образуются в:

- 1) селезенке
- 2) костном мозге
- 3) лимфатических узлах
- 4) все ответы правильные
- 5) правильного ответа нет

2. Тромбоцитопения характерна для:

- 1) краснухи новорожденных
- 2) лучевой болезни
- 3) ДВС-синдрома
- 4) ВИЧ-инфекции
- 5) все перечисленное верно

3. Пойкилоцитоз - это изменение:

- 1) формы эритроцитов
- 2) размера эритроцитов
- 3) интенсивности окраски эритроцитов
- 4) объема эритроцитов
- 5) всех перечисленных параметров

4. Подсчет эритроцитов рекомендуется проводить сразу после взятия крови при:

- 1) железодефицитных анемиях
- 2) гемолитических анемиях
- 3) апластических анемиях
- 4) В₁₂- дефицитных анемиях
- 5) всех перечисленных анемиях

5. Основным энергетическим субстратом в эритроцитах является:

1. глюкоза
2. фруктоза (балл - 0)
3. липиды (балл - 0)
4. глутатион (балл - 0)
5. гликоген (балл - 0)

6. Для подсчета тромбоцитов может быть использован любой из перечисленных методов, кроме:

- 1) в камере с применением фазово-контрастного устройства
- 2) в мазках крови
- 3) в камере Горяева
- 4) на гематологическом анализаторе
- 5) тромбоэластограммы

7. Основную массу тромбоцитов периферической крови здоровых людей составляют:

- 1) юные
- 2) зрелые
- 3) старые
- 4) формы раздражения
- 5) регенеративные

8. Снижение количества тромбоцитов в периферической крови происходит в результате:

- 1) редукции мегакариоцитарного аппарата костного мозга, нарушения отшнуровки тромбоцитов от мегакариоцитов
- 2) снижения продолжительности жизни тромбоцитов
- 3) повышенного потребления тромбоцитов
- 4) разрушения тромбоцитов антитромбоцитарными антителами
- 5) всех перечисленных причин

9. Реактивный тромбоцитоз возможен при:

- 1) кровотечении
- 2) оперативном вмешательстве
- 3) малых дозах ионизирующей радиации
- 4) злокачественных новообразованиях

5) всех перечисленных состояниях

10. Повышение количества тромбоцитов наблюдается при любом из перечисленных заболеваний, кроме:

- 1) начального периода хронического миелолейкоза
- 2) миелофиброза
- 3) эритремии
- 4) В₁₂-дефицитной анемии
- 5) всех перечисленных состояниях

11. Выраженная тромбоцитопения наблюдается при:

- 1) лучевой болезни
- 2) дефиците витамина В₁₂ и фолиевой кислоты
- 3) апластических анемиях
- 4) остром лейкозе
- 5) всех перечисленных заболеваниях

12. В процессах гемостаза тромбоциты выполняют функцию:

- 1) ангиотрофическую
- 2) адгезивную
- 3) коагуляционную
- 4) агрегационную
- 5) все перечисленные функции

13. Подсчитано 80 тромбоцитов на 1000 эритроцитов, количество эритроцитов в крови равно $4,0 \times 10^{12}/л$, число тромбоцитов в крови составляет:

- 1) $240 \times 10^9/л$
- 2) $280 \times 10^9/л$
- 3) $300 \times 10^9/л$
- 4) $320 \times 10^9/л$
- 5) $340 \times 10^9/л$

14. Тромбоциты образуются из:

- 1) плазмобласта
- 2) миелобласта
- 3) мегакариобласта
- 4) фибробласта
- 5) лимфобласта

15. Тромбоцитопатии не сопровождаются:

- 1) удлинением времени кровотечения
- 2) удлинением времени свертывания

- 3) нарушением образования протромбиназы
- 4) К-авитаминозом
- 5) ни одним из перечисленных эффектов

16. Тромбоцитопенией сопровождаются все перечисленные заболевания, кроме:

- 1) гиперспленизма
- 2) ДВС-синдрома
- 3) гемофилии
- 4) синдрома Казабаха-Меритта
- 5) ни одного из перечисленных

17. Фибринообразование следует контролировать:

- 1) Фибриногеном
- 2) Протромбиновым временем
- 3) Активированным частичным тромбопластиновым временем (АЧТВ)
- 4) Антитромбином III
- 5) Определением протеина С.

18. Антикоагулянты непрямого действия можно контролировать:

- 1. Временем свертывания
- 2. Тромбиновым временем
- 3. Протромбиновым временем (МНО)
- 4. Продуктами деградации фибрина
- 5. Антитромбином III

19. При гемофилии имеется дефицит факторов

- 1) Плазмы
- 2) Тромбоцитов
- 3) Лейкоцитов
- 4) Эндотелия сосудов
- 5) Фибринолиза

20. Тромбинообразование следует контролировать:

- 1) Тромбиновым временем
- 2) Фактором XIII
- 3) Толерантностью плазмы к гепарину
- 4) Протромбиновым временем
- 5) Антитромбином III

ТЕМА: БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА - ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА, ИОНИЗИРОВАННЫЙ КАЛЬЦИЙ И ФОСФАТЫ.

Основные вопросы темы.

- 1) Образование костной ткани
- 2) Функции костной ткани
- 3) Механизмы разрушения костной ткани
- 4) Состояние межклеточного матрикса
- 5) Характеристика биохимических маркеров костного метаболизма
- 6) Значение кальция, витамина D и паратгормона в функционировании костной ткани; мишени и механизмы действия кальция.

Актуальность темы.

Метаболизм костной ткани характеризуется двумя противоположными процессами: образованием новой костной ткани остеобластами и резорбцией (деградацией) старой остеокластами. Масса кости зависит от баланса между резорбцией и образованием кости в данный период времени в зависимости от количества активированных участков ремоделирования (которому подвергается от 2 до 10% скелета в год). В норме количество новообразованной ткани эквивалентно разрушенной. При всех заболеваниях скелета происходят нарушения процессов ремоделирования кости, что сопровождается возникновением отклонений в уровне биохимических маркеров.

Имеются общие маркеры формирования новой костной ткани, такие как костно-специфическая щелочная фосфатаза, остеокальцин плазмы, проколлаген I, пептиды плазмы. К биохимическим маркерам резорбции кости относятся кальций в моче и гидроксипролин, пиридинолин мочи и дезоксипиридинолин, являющиеся производными поперечных волокон коллагена, специфичных для хрящей и костей. Эти маркеры вероятно приобретут еще большее значение в будущем, так как они являются высокочувствительными. Другими маркерами резорбции кости являются кислая тартрат-резистентная фосфатаза плазмы, коллагеновых телопептиды I типа в плазме и в моче и некоторых др.

По-видимому, особенно важным может быть определение дефекта карбоксилирования остеокальцина плазмы, так как таким образом можно выявить дефекты в костном матриксе, и, соответственно, дефекты качества кости с учетом дефицита витаминов D и K. Выявление этих дефектов является прогностическим признаком повышенного риска перелома пяточной кости из-за повышения ее хрупкости.

Щелочные фосфатазы - мембранные ферменты, высвобождающиеся в плазму крови. Костная щелочная фосфатаза неспецифична, так как дает перекрестные реакции с другими изоферментами. Известно, что костная

щелочная фосфатаза участвует в созревании матрикса кости и его минерализации и осуществляет свое действие при участии 1,25-диоксиголекальциферола.

Остеокальцин - неколлагеновый кальцийсвязывающий белок с молекулярной массой 5700 Да, синтезируемый остеобластами и одонтобластами, который определяется в сыворотке крови. Остеокальцин обогащен гамма-карбоксиглутаминовой кислотой и для его синтеза требуется витамин К.

Проколлагеновые пропептиды. Коллаген I типа синтезируется остеобластами в виде проколлагена I типа, который является большой молекулой, содержащей карбокси- и аминоконцевые пропептиды, отделяющиеся от основной молекулы после выброса проколлагена из клетки. Очищенная молекула коллагена I типа включается в построение фибрилл костного матрикса, а проколлагеновые пропептиды выбрасываются в экстрацеллюлярную жидкость. Соотношение между количеством коллагена, откладываемого в костный матрикс, и количеством проколлагеновых пропептидов, поступающих в кровоток, теоретически равняется 1, поэтому уровень проколлагеновых пропептидов позволяет судить о возможности остеобластов продуцировать коллаген I типа.

Пиридинолин и дезоксипиридинолин представляют собой образуемые из лизина и гидроксизина пиридиновые соединения, формирующие перекрестно-связанные ковалентные связи, стабилизирующие молекулу коллагена. При исследовании особенностей распределения пиридиновых связей коллагена в различных типах соединительной ткани было установлено, что костная ткань является основным источником пиридинолина биологических жидкостей организма. Хотя в количественном отношении пиридинолина как межмолекулярная связь коллагеновых молекул преобладает в хрящевой ткани, сухожилиях и связках, более активный метаболизм костной ткани всегда приводит к тому, что определяемый в моче пиридинолин имеет преимущественно костное происхождение. Дезоксипиридинолин в отличие от пиридинолина обнаруживается в основном в коллагене костной ткани, в которой соотношение (пиридинолин):(дезоксипиридинолин) составляет 4:1. Следует отметить, что это соотношение сохраняется в моче взрослых, где на долю дезоксипиридинолина приходится 20-22% от общего уровня экскреции пиридиновых связей коллагена, что является еще одним косвенным доказательством специфичности обоих аналогов для костной ткани.

Наиболее точным маркером костного образования в настоящее время признают исследование содержания остеокальцина в крови. Наиболее информативным маркером костной резорбции является дезоксипиридинолин.

В последнее время актуальным становится подход, согласно которому по одному анализу мочи или крови можно вычислить для данного

индивидуума потерю костной массы, оценивая наличие определенных биохимических маркеров с учетом возраста, массы тела и роста. Подобное исследование, проведенное вскоре после наступления менопаузы, может помочь определить, есть ли необходимость в проведении медикаментозной терапии, если выявляется повышенный риск возникновения переломов. Кроме того, облегчается подбор дифференцированной терапии («быстрая или медленная потеря костной ткани»), можно более эффективно мониторировать течение заболевания (то есть изменения фенотипа) и более того, успех в лечении достигается быстрее без применения сложного оборудования. Такой подход к постановке диагноза оптимален только в комплексе с точными измерениями плотности кости, так как таким образом определяются две наиболее важные детерминанты остеопороза, а именно наличие ускоренной потери костной массы и низкой массы кости.

Таким образом, по биохимическим показателям можно:

1. при профилактическом обследовании выявить пациентов с метаболическими нарушениями процессов ремоделирования и резорбции костной ткани;
2. оценить и прогнозировать уровень потери костной массы;
3. быстро оценить эффективность терапии, адекватность дозы препарата и его переносимость (уже через 2-3 месяца), то есть костные маркеры полезны для оценки эффективности терапии в сравнительно короткие промежутки времени, когда денситометрическое исследование еще не информативно; полагают, что повторные денситометрические исследования надо выполнять не чаще одного раза в год;
4. выбрать наиболее эффективный препарат и определить оптимальный уровень его дозировки индивидуально для каждого пациента, а, следовательно, существенно сократить материальные и временные затраты пациента на лечение.

Вопросы, касающиеся ценности постановки диагноза остеопороза, в настоящее время являются типичными для медицины вообще. Если сравнивать остеопороз с цереброваскулярной болезнью и ишемической болезнью сердца, осложнениями в этих случаях являются инсульт и инфаркт миокарда соответственно. Общеизвестными факторами риска в этих случаях являются гипертензия, гиперхолестеринемия и гиперлипопротеинемия. Общепризнанна важность профилактического лечения или устранения указанных факторов риска во избежание осложнений. Если перенести эту ситуацию на остеопороз, осложнением является возникновение переломов, а фактором риска является хрупкость костей скелета. Параметры, которые необходимо исследовать в последнем случае — это масса костей (существующий риск) с одной стороны и биохимические маркеры в плазме и моче, которые являются предикторами потери костной массы (риск в будущем), с другой стороны. Рассмотрение этих факторов специалистами медиками и подключение их, например, к профилактическим программам

страховой системы должны стать основным направлением профилактики остеопороза.

Высокие уровни маркеров резорбции костей, превышающие норму в 2 раза, связывают с двукратным увеличением риска переломов; пациенты с остеопорозом, имеющие уровни маркеров резорбции костей, превышающие нормы в 3 раза, имеют другую метаболическую костную патологию (включая злокачественную).

Регуляция остеогенеза кости и плотных тканей зуба белками.

В костной ткани, разновидностью которой являются дентин и цемент зуба, содержится до 1 % белков, регулирующих остеогенез. К ним относятся морфогены, митогены, факторы хемотаксиса и хемоаттракции.

Морфогены – это гликопротеины, выделяющиеся из разрушающейся костной ткани и действующие на полипотентные клетки, вызывая их дифференцировку в нужном направлении.

Важнейший из них – морфогенетический белок кости, состоящий из четырёх субъединиц с общей молекулярной массой 75,5 кДа. Остеогенез под влиянием этого белка протекает по энхондральному типу, т.е. сначала образуется хрящ, а затем из него кость. Этот протеин получен в чистом виде и применяется при плохой регенерации кости.

Выделен, но мало изучен фактор Тильманна с молекулярной массой 500-1000 кДа, который быстро вызывает интрамембранозный остеогенез (без образования хряща), но в малом объёме. По такому механизму развивается кость нижней челюсти. Из дентина получен морфогенетический фактор – белок, стимулирующий рост дентина. В эмали морфогены не обнаружены.

Митогены (чаще всего гликофосфопротеины) действуют на преддифференцированные клетки, сохранившие способность к делению, увеличивают их митотическую активность. В основе биохимического механизма действия лежит инициация репликации ДНК. Из кости выделено несколько таких факторов: костно-экстрагируемый фактор роста, фактор роста скелета. В дентине и эмали митогенов пока не обнаружено.

Факторы хемотаксиса и хемоаттракции – это гликопротеины, определяющие движение и прикрепление новообразованных структур под действием морфо- и митогенов. Наиболее известны из них: фибронектин, остеонектин и остеокальцин. За счёт фибронектина осуществляется взаимодействие между клетками и субстратами, этот белок способствует прикреплению ткани десны к челюсти. Остеонектин, являясь продуктом остеобластов, определяет миграцию преостеобластов и фиксацию апатитов на коллагене, то есть при его помощи происходит связывание минерального компонента с коллагеном. Остеокальцин – белок, маркирующий участки кости, которые должны подвергаться распаду (резорбции). Его присутствие в старом участке кости (к которому должен прикрепляться остеокласт для разрушения данного участка) способствует хемотаксису остеокластов в это место. Протеин содержит γ -карбоксиглутаминовую кислоту и является

витамин-К-зависимым. Следовательно, остеокальцин принадлежит к группе так называемых gla-белков, являющихся инициаторами минерализации и создающих ядра кристаллизации. В эмали аналогичные функции выполняют амелогенины.

Морфогены, митогены, факторы хемотаксиса и хемоаттракции выполняют важную биологическую функцию, объединяя процесс деструкции и новообразования ткани. Разрушаясь, клетки выделяют их в среду, где эти факторы вызывают образование новых участков тканей, воздействуя на разные стадии дифференцировки клеток-предшественников.

Возможности регуляции белковых факторов.

Обнаружены соединения, называемые *кейлонами*, действие которых противоположно влиянию морфо- и митогенов. Они прочно связываются с морфо-, митогенами и препятствуют регенерации кости. В связи с этим возникает важная проблема разработки приёмов регуляции синтеза морфо-, митогенов, факторов хемотаксиса.

Известно, что синтез морфогенов кости стимулируется активными формами витамина D (кальцитриолами) и тирокальцитонином, а подавляется глюкокортикостероидами и половыми гормонами. Следовательно, снижение продукции половых гормонов в период климакса, а также применение глюкокортикостероидов уменьшают регенерационные возможности кости и способствуют развитию остеопороза. Осложнения хода процессов сращения (консолидации) переломов возможно в тех случаях, когда больному уже проводили курс лечения глюкокортикостероидами или анаболическими стероидами. Кроме того, длительное использование анаболических стероидов может спровоцировать перелом, так как активный рост массы мышц будет сопровождаться уменьшением прочности скелета. Также необходимо отметить, что скорость и полнота замещения дефекта кости при костной пластике определяется количеством морфогенов в подсаженной ткани. Поэтому, чем старше возраст донора, тем меньше вероятность успешного замещения дефекта. Кость, взятая у молодых доноров, будет замещаться плохо, если у них в ближайшем анамнезе было лечение глюкокортикостероидами или анаболическими гормонами. Эти моменты биохимической регуляции остеогенеза необходимо учитывать в практике дентальной имплантологии.

Маркеры резорбции кости.

Поскольку для большинства заболеваний скелета характерно ускорение ремоделирования с усилением резорбции, для контроля лечения используют, главным образом, маркеры резорбции кости. Биохимические маркеры резорбции кости – это в основном различные фрагменты коллагена I типа, а также неколлагеновые белки (сиалопротеин и костная кислая фосфатаза), попадающие в кровоток из зоны резорбции костного матрикса. Эти маркеры определяются в моче или в сыворотке крови. Основными биохимическими

показателями, используемыми в клинической практике в качестве критерия резорбции костной ткани, служат гидроксипролин мочи, пиридиновые сшивки коллагена и продукты деградации коллагена I типа – N- и С-телопептиды. Поскольку гидроксипролин присутствует также и в коже и других тканях, его определение относительно неспецифично для оценки резорбции костной ткани. Пиридиновые производные обеспечивают прочность кости за счет ковалентных связей между некоторыми аминокислотами, входящими в состав полипептидной цепи коллагена. Длительное время определение пиридиниевых производных было возможно только с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Однако серьезной проблемой является необходимость использования дорогостоящего и сложного оборудования. Сейчас возможно их измерение методом ELISA.

Зубы располагаются в костных лунках - отдельных ячейках альвеолярных отростков верхней и нижней челюстей. Костная ткань - разновидность соединительной ткани, развивающаяся из мезодермы и состоящая из клеток, межклеточного неминерализованного органического матрикса (остеоид) и основного минерализованного межклеточного вещества.

Организация и строение костной ткани альвеолярных отростков.

Поверхность кости альвеолярного отростка покрыта *надкостницей (периост)*, образованной преимущественно плотной волокнистой соединительной тканью, в которой различают 2 слоя: наружный - волокнистый и внутренний - остеогенный, содержащий остеобласты. Из остеогенного слоя надкостницы в кость проходят сосуды и нервы. Толстые пучки прободающих коллагеновых волокон связывают кость с надкостницей. Надкостница осуществляет не только трофическую функцию, но и участвует в росте и регенерации кости. Вследствие этого костная ткань альвеолярных отростков обладает высокой регенеративной способностью не только в физиологических условиях, при ортодонтических воздействиях, но и после повреждения (переломы).

Минерализованный матрикс организован в трабекулы - структурно-функциональные единицы губчатой костной ткани. В лакунах минерализованного матрикса и по поверхности трабекул располагаются клетки костной ткани - остециты, остеобласты, остеокласты.

В организме постоянно происходят процессы обновления костной ткани путём сопряженного по времени костеобразования и рассасывания (резорбция) кости. В этих процессах активно участвуют различные клетки костной ткани.

Клеточный состав костной ткани

Клетки занимают всего лишь 1-5% общего объёма костной ткани скелета взрослого человека. Различают 4 типа клеток костной ткани.

Мезенхимальные недифференцированные клетки кости находятся главным образом в составе внутреннего слоя надкостницы, покрывающей поверхность кости снаружи - периоста, а также в составе эндоста, выстилающего контуры всех внутренних полостей кости, внутренние поверхности кости. Их называют *выстилающими*, или *контурными*, клетками. Из этих клеток могут образовываться новые клетки кости - остеобласты и остеокласты. В соответствии с этой их функцией их также называют *остеогенными* клетками.

Остеобласты - клетки, находящиеся в зонах костеобразования на внешних и внутренних поверхностях кости. Остеобласты содержат достаточно большое количество гликогена и глюкозы. С возрастом это количество уменьшается в 2-3 раза. Синтез АТФ на 60% связан с реакциями гликолиза. По мере старения остеобластов реакции гликолиза активируются. В клетках протекают реакции цитратного цикла, и наибольшей активностью обладает цитратсинтаза. Синтезируемый цитрат используется в дальнейшем на связывание Ca^{2+} , необходимого для процессов минерализации. Поскольку функцией остеобластов является создание органического межклеточного матрикса кости, эти клетки содержат большое количество РНК, необходимых для синтеза белков. Остеобласты активно синтезируют и выделяют во внеклеточное пространство значительное количество глицерофосфолипидов, которые способны связывать Ca^{2+} и участвовать в процессах минерализации. Клетки сообщаются между собой через десмосомы, которые позволяют проходить Ca^{2+} и цАМФ. Остеобласты синтезируют и выделяют в окружающую среду фибриллы коллагена, протеогликаны и гликозаминогликаны. Они также обеспечивают непрерывный рост кристаллов гидроксиапатитов и выступают в качестве посредников при связывании минеральных кристаллов с белковой матрицей. По мере старения остеобласты превращаются в остеоциты.

Остеоциты - древовидные клетки костной ткани, включенные в органический межклеточный матрикс, которые контактируют друг с другом через отростки. Остеоциты взаимодействуют и с другими клетками костной ткани: остеокластами и остеобластами, а также с мезенхимальными клетками кости.

Остеокласты - клетки, выполняющие функцию разрушения кости; образуются из макрофагов. Они осуществляют непрерывный управляемый процесс реконструкции и обновления костной ткани, обеспечивая необходимый рост и развитие скелета, структуру, прочность и упругость костей.

Межклеточное и основное вещество костной ткани

Межклеточное вещество представлено органическим межклеточным матриксом, построенным из коллагеновых волокон (90-95%) и основным минерализованным веществом (5-10%). Коллагеновые волокна в основном расположены параллельно направлению уровня наиболее вероятных

механических нагрузок на кость и обеспечивают упругость и эластичность кости.

Основное вещество межклеточного матрикса состоит главным образом из внеклеточной жидкости, гликопротеинов и протеогликанов, участвующих в перемещении и распределении неорганических ионов. Минеральные вещества, размещённые в составе основного вещества в органическом матриксе кости представлены кристаллами, главным образом гидроксиапатитом $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Соотношение кальций/фосфор в норме составляет 1,3-2,0. Кроме того, в кости обнаружены ионы Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , SO_4^{2-} , HCO_3^- , гидроксильные и другие ионы, которые могут принимать участие в образовании кристаллов. Минерализация кости связана с особенностями гликопротеинов костной ткани и активностью остеобластов.

Основными белками внеклеточного матрикса костной ткани являются коллагеновые белки I типа, которые составляют около 90% органического матрикса кости. Наряду с коллагеном I типа присутствуют следы других типов коллагена, таких как V, XI, XII. Не исключено, что эти типы коллагена принадлежат другим тканям, которые и находятся в костной ткани, но не входят в состав костного матрикса. Например, коллаген V типа обычно обнаруживается в сосудах, которые пронизывают кость. Коллаген XI типа находится в хрящевой ткани и может соответствовать остаткам кальцифицированного хряща. Источником коллагена XII типа могут быть «заготовки» коллагеновых фибрилл. В костной ткани коллаген I типа содержит производные моносахаридов, имеет меньшее количество поперечных связей, чем в других видах соединительной ткани, и эти связи формируются посредством аллизина. Ещё одним возможным отличием является то, что N-концевой пропептид коллагена I типа фосфорилирован и этот пептид частично сохраняется в минерализованном матриксе.

Неколлагеновые белки костной ткани. В костной ткани содержится около 10% неколлагеновых белков. Они представлены гликопротеинами и протеогликанами (рис. 5.1).

Из общего количества неколлагеновых белков 10% приходится на долю протеогликанов. Вначале синтезируется большой хондроитин-содержащий протеогликан, который по мере формирования костной ткани разрушается и замещается двумя малыми протеогликанами: декорином и бигликаном. Малые протеогликаны внедряются в минерализованный матрикс. Декорин и бигликан активируют процессы дифференцировки и пролиферации клеток, а также вовлечены в регуляцию отложения минералов, морфологию кристалла и объединение элементов органического матрикса. Первым синтезируется бигликан, содержащий дерматансульфат; он влияет на процессы клеточной пролиферации.



Рис. Содержание неколлагеновых белков в межклеточном матриксе костной ткани [по Gehron R. P., 1992].

В фазу минерализации появляется бигликан, связанный с хондроитинсульфатом. Декорин синтезируется позднее, чем бигликан, в стадию отложения белков для формирования межклеточного матрикса; он остаётся и в фазе минерализации. Предполагают, что декорин «отшлифовывает» молекулы коллагена и регулирует диаметр фибрилл. В ходе формирования кости оба белка продуцируются остеобластами, но когда эти клетки становятся остеоцитами, они синтезируют только бигликан.

Из костного матрикса в небольших количествах были выделены и другие типы малых протеогликанов, которые выступают в качестве рецепторов и облегчают связывание факторов роста с клеткой. Эти типы молекул находятся в мембране или прикрепляются к клеточной мембране посредством фосфоинозитоловых связей.

В костной ткани также присутствует гиалуроновая кислота. Вероятно, она играет важную роль в морфогенезе этой ткани.

Помимо протеогликанов в кости определяется большое количество разнообразных белков, относящихся к гликопротеинам.

Как правило, эти белки синтезируются остеобластами и способны связывать фосфаты или кальций; таким образом они принимают участие в формировании минерализованного матрикса. Связываясь с клетками, коллагенами и протеогликанами, они обеспечивают образование надмолекулярных комплексов матрикса костной ткани.

В остеоиде присутствуют протеогликаны: фибромодулин, бигликан, декорин, коллагеновые белки и морфогенетический белок кости. В минерализованном матриксе замурованы остеоциты, которые связаны с коллагенами. На коллагенах фиксированы гидроксиапатиты, остеокальцин, остеоадерин. В минерализованном межклеточном матриксе остеоадерин

связывается с остеонектином, а остеокальцин с коллагеном. Морфогенетический белок кости располагается в приграничной зоне между минерализованным и неминерализованным матриксом. Остеопонтин регулирует активность остеокластов.

Свойства и функции белков костной ткани представлены в таблице.

Физиологическая регенерация костной ткани.

В процессе жизнедеятельности кость постоянно обновляется, то есть разрушается и восстанавливается. При этом в ней происходят два противоположно направленных процесса - резорбция и восстановление. Соотношение этих процессов называется ремоделированием костной ткани.

Известно, что каждые 30 лет костная ткань изменяется почти полностью. В норме кость «растет» до 20-летнего возраста, достигая пика костной массы. В этот период прирост костной массы составляет до 8% в год. Далее до 30-35-летнего возраста идет период более или менее устойчивого состояния. Затем начинается естественное постепенное снижение костной массы, составляющее обычно не более 0,3-0,5% в год. После наступления менопаузы у женщин отмечается максимальная скорость потери костной ткани, которая достигает 2-5% в год и продолжается в таком темпе до 60-70 лет. В итоге женщины теряют от 30 до 50% костной ткани. У мужчин эти потери обычно составляют 15-30%.



Рис. Участие различных белков в образовании матрикса костной ткани.

Процесс ремоделирования костной ткани происходит в несколько этапов (рис.). На первом этапе участок костной ткани, подле жаций резорбции запускают остеокиты. Для активации процесса необходимо участие паратиреоидного гормона, инсулиноподобного фактора роста, интерлейкинов-1 и -6, простагландинов, кальцитриола, фактора некроза

опухоли. Тормозится этот этап ремоделирования эстрогенами. На данном этапе поверхностные контурные клетки изменяют свою форму, превращаясь при этом из плоских округлых клеток в кубические.

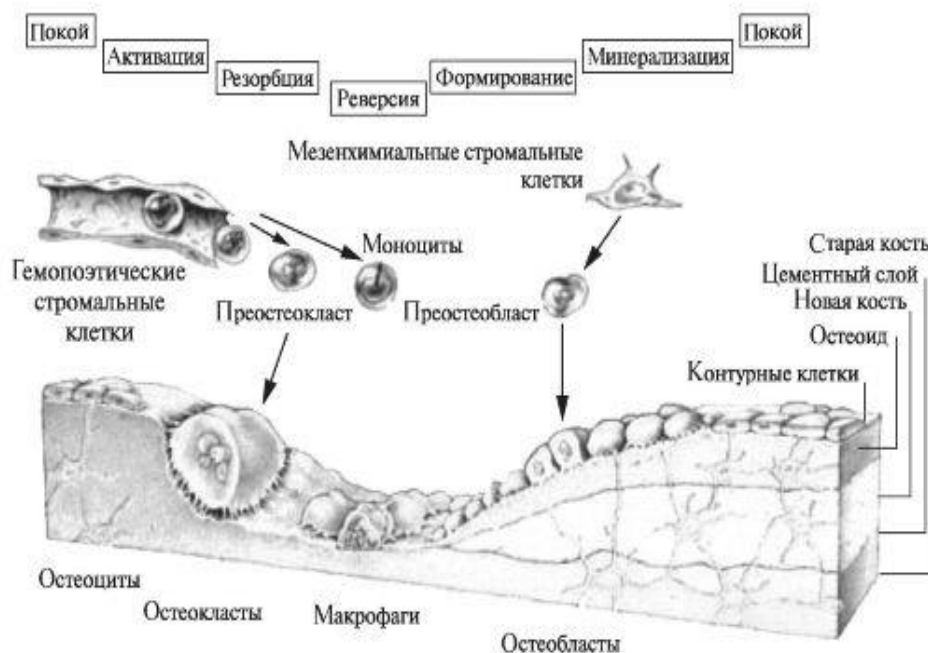


Рис. Стадии ремоделирования костной ткани [по Martin R.B., 2000, с изменениями].

Остеобласты и Т-лимфоциты секретируют лиганды рецепторов активатора фактора нуклеации каппа В (RANKL) и до определённого момента молекулы RANKL могут оставаться связанными с поверхностью остеобластов или стромальных клеток.

Из стволовой клетки костного мозга образуются предшественники остеокластов. Они имеют мембранные рецепторы, называемые рецепторами активатора фактора нуклеации каппа В (RANK). На следующем этапе RANK-лиганды (RANKL) связываются с RANK-рецепторами, что сопровождается слиянием нескольких предшественников остеокластов в одну крупную структуру и формируются зрелые многоядерные остеокласты.

Образующийся активный остеокласт создаёт на своей поверхности гофрированный край и зрелые остеокласты начинают резорбировать

костную ткань (рис. 5.4). На стороне прилегания остеокласта к разрушаемой поверхности различают две зоны. Первая зона - наиболее обширная, называемая щеточной каемкой, или гофрированным краем. Гофрированный край - это скрученная спиралью мембрана с многочисленными цитоплазматическими складками, которые обращены в сторону резорбции на костной поверхности. Через мембрану остеокласта освобождаются лизосомы, содержащие большое количество гидролитических ферментов (катепсины К, D, В, кислая фосфатаза, эстераза, гликозидазы и др). В свою очередь, катепсин К активирует матриксную металлопротеиназу-9, которая участвует в деградации коллагена и

протеогликанов межклеточного матрикса. В этот период в остеокластах растёт активность карбоангидразы. Ионы HCO_3^- обмениваются на Cl^- , которые накапливаются в гофрированном крае; туда же переносятся ионы H^+ . Секретция H^+ осуществляется за счёт очень активной в остеокластах H^+/K^+ -АТФазы. Развивающийся ацидоз способствует активации лизосомных ферментов и способствует разрушению минерального компонента.

Таблица.

Неколлагеновые белки костной ткани.

Белок	Свойства и функции
Остеонектин	Гликофосфопротеин, способный связывать Ca^{2+}
Щелочная фосфатаза	Отщепляет фосфат от органических соединений при щелочных значениях pH среды
Тромбоспондин	Белок с мол. массой 145 кДа, состоящий из трех идентичных субъединиц, связанных друг с другом дисульфидными связями. Каждая субъединица имеет несколько различных доменов, которые придают белку способность связываться с другими белками костного матрикса - гепарансодержащими протеогликанами, фибронектином, ламинином, коллагеном I и V типов и остеонектином. В N-концевой области тромбоспондина содержится последовательность аминокислот, обеспечивающая прикрепление клеток. На связывание тромбоспондина с рецепторами на поверхности клетки влияет концентрация Ca^{2+} . В костной ткани тромбоспондин синтезируется остеобластами
Фибронектин	Связывается с поверхностью клеток, фибрином, гепарином, бактериями, коллагеном. В костной ткани фибронектин синтезируется на ранних стадиях остеогенеза и сохраняется в минерализованном матриксе
Остеопонтин	Гликофосфопротеин, содержащий N- и O-связанные олигосахариды; участвует в адгезии клеток
Костный кислый гликопротеин-75	Белок с мол. массой 75 кДа, содержит сиаловые кислоты и остатки фосфата. Способен связывать ионы Ca^{2+} , присущ кости, дентину и хрящевой ростковой пластинке. Ингибирует процессы резорбции костной ткани
Костный сиалопротеин	Адгезивный гликопротеин, содержащий до 50% углеводов
Матриксный Gla-белок	Белок, содержащий 5 остатков 7-карбоксиглутаминовой кислоты; способен связываться с гидроксиапатитом. Появляется на ранних стадиях развития костной ткани; белок обнаружен также в лёгких, сердце, почках, хряще
Остеокальцин	Белок, синтезируемый остеобластами и содержащий 3 остатка 7-карбоксиглутаминовой кислоты; локализуется во внеклеточном матриксе костной ткани
Протеин S	Белок, содержащий остатки 7-карбоксиглутаминовой кислоты; установлено, какой тип клеток в костной ткани отвечает за его синтез

Вторая зона окружает первую и как бы герметизирует область действия гидролитических ферментов. Она свободна от органелл и назы-

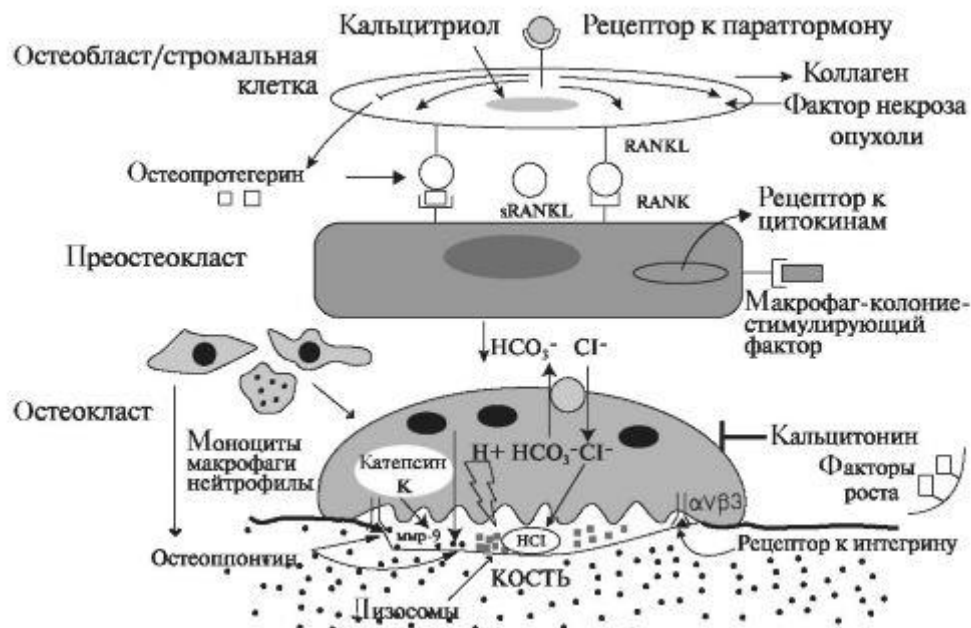


Рис. 5.4. Активация преостеокласта RANKL и формирование активным остеобластом гофрированной каймы, приводящей к резорбции костной ткани [по Edwards P. A., 2005, с изменениями].

вается чистой зоной, поэтому костная резорбция происходит только под гофрированным краем в замкнутом пространстве.

На стадии образования остеокластов из предшественников процесс может блокироваться белком остеопротегерином, который, свободно перемещаясь, способен связывать RANKL и таким образом предотвращать взаимодействие RANKL с RANK-рецепторами (см. рис. 5.4). **Остеопротегерин** - гликопротеин с мол. массой 60-120 кДа, относящийся к семейству рецепторов ФНО. Ингибируя связывание RANK с RANK-лигандом, остеопротегерин тем самым подавляет мобилизацию, пролиферацию и активацию остеокластов, поэтому увеличение синтеза RANKL приводит к резорбции костной ткани и, следовательно, к потере костной массы.

Характер ремоделирования костной ткани во многом определяется балансом между продукцией RANKL и остеопротегерина. Недифференцированные стромальные клетки костного мозга в большей степени синтезируют RANKL и в меньшей степени остеопротегерин. Возникающий дисбаланс системы RANKL/остеопротегерин при увеличении RANKL приводит к резорбции кости. Данное явление наблюдается при постменопаузальном остеопорозе, болезни Педжета, костных потерях при метастазах рака и ревматоидном артрите.

Зрелые остеокласты начинают активно поглощать кость, а завершают разрушение органической матрицы межклеточного вещества кости

макрофаги. Резорбция длится около двух недель. Затем остеокласты в соответствии с генетической программой умирают. Апоптоз остеокластов может задерживаться при недостатке эстрогенов. На последнем этапе в зону разрушения прибывают плюрипотентные стволовые клетки, которые дифференцируются в остеобласты. В дальнейшем остеобласты синтезируют и минерализуют матрикс в соответствии с новыми условиями статической и динамической нагрузки на кость.

Существует большое число факторов, стимулирующих развитие и функции остеобластов (рис. 5.5). Вовлечение в процесс перестройки кости остеобластов стимулируется различными факторами роста - ТФР-(3, морфогенетическим белком кости, инсулиноподобным фактором роста, фактором роста фибробластов, тромбоцитов, колониестимулирующим и гормонами - паратирином, кальцитриолом, а также связывающим фактором ядра α -1 и тормозится белком лептином. Лептин - белок с мол. массой 16 кДа образуется преимущественно в адипоцитах; своё действие реализует через повышение синтеза цитокинов, факторов роста эпителия и кератиноцитов.

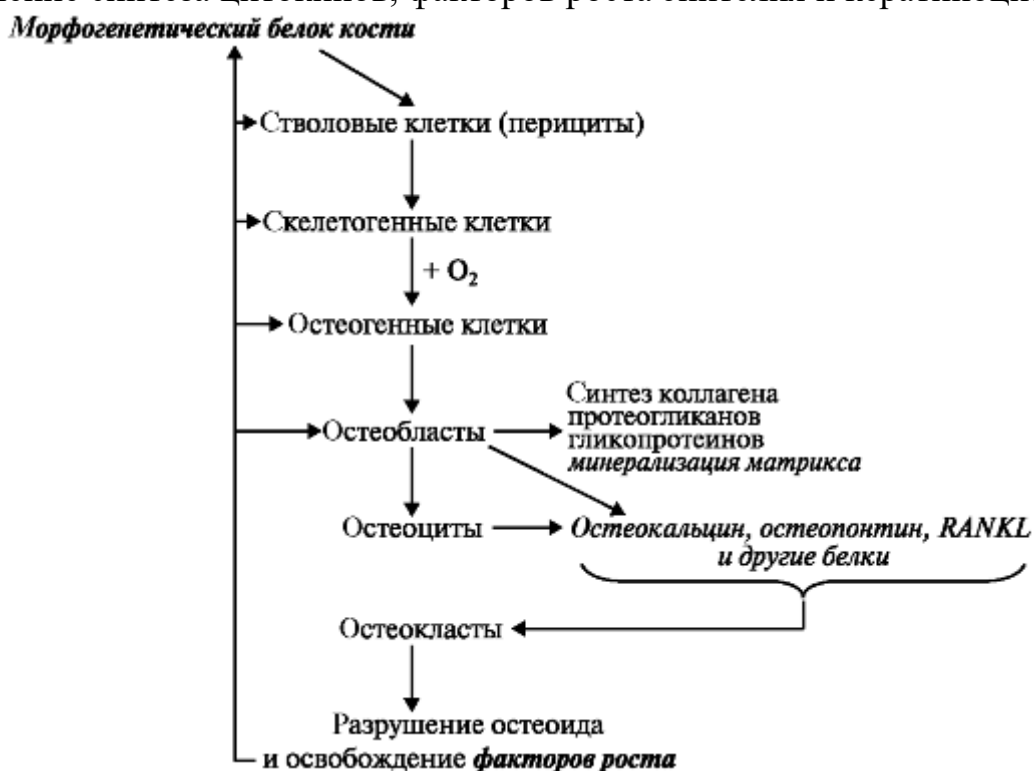


Рис. Ремоделирование костной ткани.

Активные секретирующие остеобласты создают слои остеоида - неминерализованного матрикса кости и медленно восполняют полость резорбции. При этом они секретируют не только различные факторы роста, а также белки межклеточного матрикса - остеоопонтин, остеокальцин и другие. Когда образующийся остеоид достигает диаметра $6 \cdot 10^{-6}$ м, он начинает минерализоваться. Скорость процесса минерализации зависит от содержания кальция, фосфора и ряда микроэлементов. Процесс минерализации управляется остеобластами и тормозится пирофосфатом.

Образование кристаллов минерального остова кости индуцирует коллаген. Формирование минеральной кристаллической решётки начинается в зоне, находящейся между коллагеновыми фибриллами. Затем они, в свою очередь, становятся центрами для отложения в пространстве между коллагеновыми волокнами.

Формирование кости происходит только в непосредственной близости от остеобластов, причём минерализация начинается в хряще, который состоит из коллагена, находящегося в протеогликановом матриксе. Протеогликаны повышают растяжимость коллагеновой сети. В зоне кальцификации происходит разрушение комплексов белок-полисахарид в результате гидролиза белкового матрикса лизосомальными ферментами клеток кости. По мере роста кристаллы вытесняют не только протеогликаны, но и воду. Плотная, полностью минерализованная кость, практически обезвожена; коллаген составляет 20% массы и 40% объема такой ткани; остальное приходится на долю минеральной части.

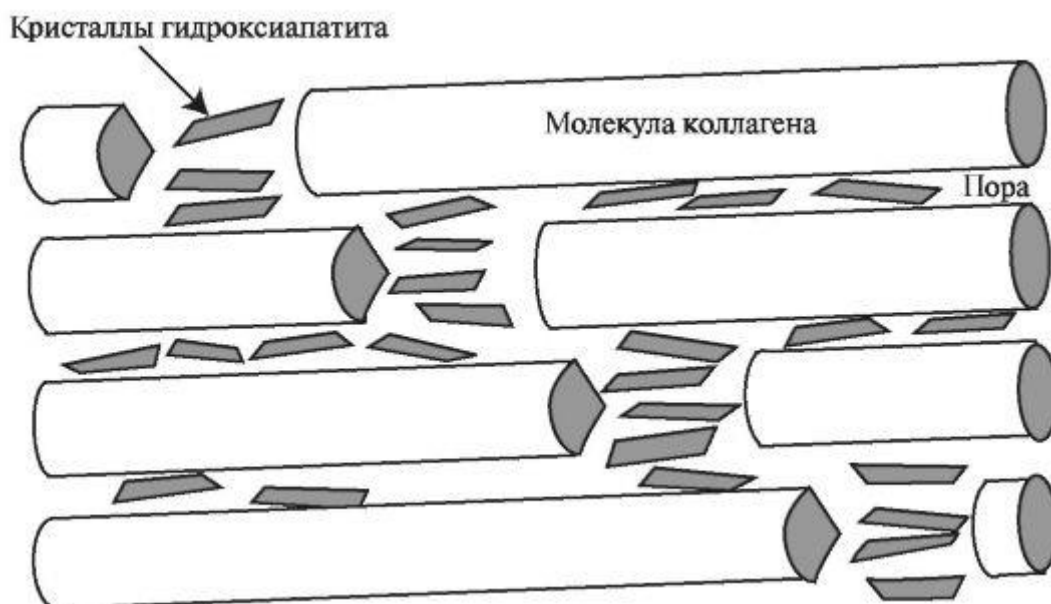


Рис. Отложение кристаллов гидроксиапатита на коллагеновых волокнах.

Начало минерализации характеризуется усиленным поглощением остеобластами молекул O_2 , активацией окислительно-восстановительных процессов и окислительного фосфорилирования. В митохондриях накапливаются ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} . Начинается синтез коллагеновых и неколлагеновых белков, которые затем после посттрансляционной модификации секретируются из клетки. Формируются различные везикулы, в составе которых переносится коллаген, протеогликаны и гликопротеины. От остеобластов отпочковываются особые образования, называемые матриксными пузырьками, или мембранными везикулами. Они содержат в большой концентрации ионы Ca^{2+} , которая превышает в 25-50 раз

содержание их в остеобластах, а также глицерофосфолипиды и ферменты - щелочную фосфатазу, пирофосфатазу,

аденозинтрифосфатазу и аденозинмонофосфатазу. Ионы Ca^{2+} в мембранных везикулах связаны преимущественно с отрицательно заряженным фосфатидилсерином. В межклеточном матриксе мембранные везикулы разрушаются с освобождением ионов Ca^{2+} , пирофосфатов, органических соединений, связанных с остатками фосфорной кислоты. Присутствующие в мембранных везикулах фосфогидролазы, и в первую очередь щелочная фосфатаза, отщепляют фосфат от органических соединений, а пирофосфат гидролизует пиррофосфатазой; ионы Ca^{2+} соединяются с PO_4^{3-} , что приводит к появлению аморфного фосфата кальция.

Одновременно происходит частичное разрушение протеогликанов, связанных с коллагеном I типа. Освобождающиеся фрагменты протеогликанов, заряженные отрицательно, начинают связывать ионы Ca^{2+} . Некоторое число ионов Ca^{2+} и PO_4^{3-} образуют пары и триплеты, которые связываются с коллагеновыми и неколлагеновыми белками, формирующими матрицу, что сопровождается образованием кластеров, или ядер. Из белков костной ткани наиболее активно связывают ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} остеонектин и матриксные Gla-белки. Коллаген костной ткани связывает ионы PO_4^{3-} через ϵ -аминогруппу лизина с образованием фосфоамидной связи.

На образовавшемся ядре возникают спиралевидные структуры, рост которых идет по обычному принципу добавления новых ионов. Шаг такой спирали равен высоте одной структурной единицы кристалла. Формирование одного кристалла приводит к появлению других кристаллов; этот процесс называется эпитахсисом, или эпитахсической нуклеацией.

Рост кристалла высоко чувствителен к присутствию других ионов и молекул, которые ингибируют кристаллизацию. Концентрация этих молекул может быть небольшой, и они оказывают влияние не только на скорость, но на форму и направление роста кристаллов. Предполагают, что такие соединения адсорбируются на поверхности кристалла и тормозят адсорбцию других ионов. Такими веществами являются, например, гексаметафосфат натрия, который тормозит преципитацию карбоната кальция. Пирофосфаты, полифосфаты и полифосфонаты также тормозят рост кристаллов гидроксиапатита.

Через несколько месяцев, после того как полость резорбции восполнится костной тканью, плотность новой кости увеличивается. Остеобласты начинают превращаться в контурные клетки, которые участвуют в непрерывном выведении кальция из кости. Некоторые

из остеобластов превращаются в остециты. Остециты остаются в кости; они связаны друг с другом длинными клеточными отростками и способны воспринимать механические воздействия на кость.

По мере дифференцировки и старения клеток меняется характер и интенсивность обменных процессов. С возрастом в 2-3 раза уменьшается

количество гликогена; освобождающаяся глюкоза в молодых клетках на 60% используется в реакциях анаэробного гликолиза, а в старых на 85%. Синтезированные молекулы АТФ необходимы для жизнеобеспечения и минерализации костных клеток. В остеocyтах остаются лишь следы гликогена, и основным поставщиком молекул АТФ является только гликолиз, за счёт которого поддерживается постоянство органического и минерального состава в уже минерализованных отделах костной ткани.

Конечный уровень знаний.

1. Что называется активным центром фермента?

- 1) участок фермента, обеспечивающий присоединение субстрата и его превращение;
- 2) место присоединения апофермента к коферменту;
- 3) часть молекулы фермента, которая легко отщепляется от апофермента;
- 4) место присоединения аллостерического эффектора.

2. Аминокислоты, входящие в активный центр фермента, располагаются:

- 1) в разных участках полипептидной цепи;
- 2) в середине полипептидной цепи;
- 3) на С-конце полипептидной цепи;
- 4) непрерывно друг за другом в одном участке полипептидной цепи.

3. Какие связи преимущественно образуются между ферментом и субстратом при формировании субстрат-энзимного комплекса?

- 1) водородные;
- 2) пептидные;
- 3) ионные;
- 4) дисульфидные.

4. Как называется вещество, с которым взаимодействует фермент?

- 1) апофермент;
- 2) кофермент;
- 3) изоэнзим;
- 4) субстрат;
- 5) холофермент.

5. С белковой частью фермента непрочно связан:

- 1) протетическая группа;
- 2) кофермент;
- 3) апофермент;

- 4) изофермент.

6. Какая часть фермента определяет специфичность его действия?

- 1) апофермент;
- 2) кофермент;
- 3) простетическая группа;
- 4) профермент.

7. Как называется участок фермента, обеспечивающий химическое превращение субстрата?

- 1) адсорбционный центр;
- 2) регуляторный центр;
- 3) каталитический центр.

8. Аллостерический центр – это участок фермента, к которому присоединяется:

- 1) квази-субстрат;
- 2) кофермент;
- 3) эффектор;
- 4) субстрат.

9. Сущность теории Фишера:

- 1) активный центр фермента и субстрат находятся в строгом пространственном соответствии;
- 2) активный центр пространственно формируется по субстрату в процессе образования субстрат-энзимного комплекса;
- 3) активный центр присоединяет группу родственных субстратов;
- 4) активный центр может взаимодействовать только с одним субстратом.

10. Сущность теории Кошланда:

- 1) активный центр фермента и субстрат находятся в строгом пространственном соответствии;
- 2) активный центр пространственно формируется по субстрату в процессе образования субстрат-энзимного комплекса;
- 3) активный центр присоединяет группу родственных субстратов;
- 4) активный центр может взаимодействовать только с одним субстратом.

11. Какова возможная причина активирующего действия на фермент ионов щелочно-земельных металлов?

- 1) способствуют образованию субстрат-энзимного комплекса;
- 2) усиливают диссоциацию субстрат-энзимного комплекса;

- 3) вызывают денатурацию апофермента;
- 4) изменяют конформацию субстрата.

12. Какие связи разрушаются под действием амилазы?

- 1) пептидные;
- 2) эфирные;
- 3) гликозидные;
- 4) водородные.

13. Ферменты, участвующие в разрыве –С-С-связей без участия воды, относятся к классу:

- 1) лиаз;
- 2) лигаз;
- 3) трансфераз;
- 4) гидролаз;
- 5) изомераз.

14. Какой фермент осуществляет гидролитический распад дисахарида?

- 1) липаза;
- 2) амилаза;
- 3) лактаза;
- 4) пептидаза.

15. К классу оксидоредуктаз относятся:

- 1) цитохромоксидаза;
- 2) глюкокиназа;
- 3) каталаза;
- 4) эндопептидаза.

16. Ионы Ca^{2+} в клетке:

- 1) активируют цАМФ-зависимую протеинкиназу;
- 2) ингибируют синтез инсулина;
- 3) участвуют в активации ряда ферментов;
- 4) активируют обмен кальмодулина;
- 5) активируют протеинкиназу С.

17. Ионы кальция являются модулятором для кальмодулина, т.к.:

- 1) кальций связывается с кальмодулином;
- 2) кальмодулин активирует уборку ионов кальция;
- 3) комплекс Ca^{2+} -кальмодулин изменяет активность ряда ферментов;
- 4) комплекс Ca^{2+} -кальмодулин способствует синтезу цАМФ;
- 5) комплекс Ca^{2+} -кальмодулин ингибирует фосфодиэстеразу.

18. Назовите гормоны, обладающие мембранным механизмом действия.

- 1) Производные арахидоновой кислоты
- 2) Производные стерана.
- 3) Производные сложных белков.
- 4) Тиреоидные гормоны.
- 5) Производные аминокислот.

19. Гормоны влияют на:

- 1) увеличение количества рецепторов.
- 2) конформацию липидов мембран.
- 3) концентрацию ферментов.
- 4) специфичность рецепторов.
- 5) транспортные системы мембран.

20. Роль гормонов передней доли гипофиза заключается в:

- 1) регуляции функций периферических эндокринных желез.
- 2) ингибировании секреции релизинг-факторов.
- 3) активации выработки статинов.

ТЕМА: ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ БАЛАНСА КАЛЬЦИЯ.

Основные вопросы темы.

- 1) Взаимосвязь между хемо- и механорецепцией
- 2) Регуляция образования и распада гормонов
- 3) Механизм действия и биологическое значение белково-пептидных гормонов
- 4) Секреция и транспорт гормонов
- 5) Молекулярные механизмы действия гормонов: изменение ионных градиентов
- 6) Молекулярные механизмы действия гормонов: мишени и механизмы действия кальция.

Актуальность темы.

Ремоделирование костной ткани регулируется системными (гормоны) и местными факторами, которые обеспечивают взаимодействие между остеобластами и остеокластами (см. табл.).

Системные факторы

Образование кости в известной степени зависит от числа и активности остеобластов. На процесс образования остеобластов влияют

Таблица.

Факторы, регулирующие процессы ремоделирования кости

Факторы	Резорбция	Остеогенез
Системные	Паратирин $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ Тироксин и кортизол (повышенная концентрация)	Соматотропин Кальцитонин $24,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ Тироксин и кортизол (физиологическая концентрация) Инсулин Эстрогены Андрогены
Локальные	Интерлейкины Интегрины, витамин А (повышенная концентрация)	γ -Интерферон Остеопротегерин Лактоферрин Паротин

соматотропин (гормон роста), эстрогены, $24,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$, которые стимулируют деление остеобластов и превращение преостеобластов в остеобласты. Глюкокортикоиды, напротив, подавляют деление остеобластов.

Паратирин (паратгормон) синтезируется в паращитовидных железах. Молекула паратирина состоит из одной полипептидной цепи, содержащей 84 аминокислотных остатков. Синтез паратирина стимулирует адреналин, поэтому в условиях острого и хронического стресса количество этого гормона увеличивается. Паратирин активизирует пролиферацию клеток-

предшественников остеобластов, продлевает время их полужизни и ингибирует апоптоз остеобластов. В костной ткани рецепторы для паратирин присутствуют в мембранах остеобластов и остеоцитов. Остеокласты лишены рецепторов для данного гормона. Гормон связывается с рецепторами остеобластов и активирует аденилатциклазу, что сопровождается увеличением количества 3'5' цАМФ. Такое повышение содержания цАМФ способствует интенсивному поступлению ионов Ca^{2+} из внеклеточной жидкости. Поступивший кальций образует комплекс с кальмодулином и далее происходит активация кальцийзависимой протеинкиназы с последующим фос-форилированием белков. Связываясь с остеобластами, паратирин вызывает синтез остеокласт-активирующего фактора - RANKL, способного связываться с преостеокластами.

Введение больших доз паратирин приводит к гибели остеобластов и остеоцитов, что сопровождается увеличением зоны резорбции, повышением уровня кальция и фосфатов в крови и моче с одновре-менным повышением экскреции гидроксипролина вследствие разрушения коллагеновых белков.

Рецепторы к паратирину располагаются и в почечных канальцах. В проксимальных отделах почечных канальцев гормон ингибирует реабсорбцию фосфата и стимулирует образование $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. В дистальных отделах почечных канальцев паратирин усиливает реабсорбцию Ca^{2+} . Таким образом, паратирин обеспечивает повышение уровня кальция и снижение фосфатов в плазме крови.

Паротин - гликопротеин, выделяемый околоушными и поднижне-челюстными слюнными железами. Белок состоит из α -, β -, и γ -субъединиц. Активным началом паротина является γ -субъединица, которая оказывает влияние на мезенхимные ткани - хрящ, трубчатые кости, дентин зуба. Паротин усиливает пролиферацию хондрогенных клеток, стимулирует синтез нуклеиновых кислот и ДНК в одонтоблестах, про-

цессы минерализации дентина и костей. Эти процессы сопровождаются понижением содержания кальция и глюкозы в плазме крови.

Кальцитонин - полипептид, состоящий из 32 аминокислотных остатков. Секретируется парафолликулярными К-клетками щитовидной железы или С-клетками паращитовидных желёз в виде высокомолекулярного белка-предшественника. Секреция кальцитонина возрастает при увеличении концентрации ионов Ca^{2+} и уменьшается при понижении концентрации ионов Ca^{2+} в крови. Она также зависит от уровня эстрогенов. При недостатке эстрогенов секреция кальцитонина снижается. Это вызывает усиление мобилизации кальция в костной ткани и способствует развитию остеопороза. Кальцитонин связывается с специфическими рецепторами остеокластов и клеток почечных канальцев, что сопровождается активацией аденилатциклазы и повышением образования цАМФ. Кальцитонин влияет на транспорт ионов Ca^{2+} через клеточные мембраны. Он стимулирует поглощение ионов Ca^{2+} митохондриями и тем самым задерживает отток

ионов Ca^{2+} из клетки. Этот зависит от количества АТФ и соотношения ионов Na^+ и K^+ в клетке. Кальцитонин угнетает распад коллагена, что проявляется уменьшением экскреции с мочой гидроксипролина. В клетках почечных канальцев кальцитонин ингибирует гидроксилирование $25(\text{OH})\text{D}_3$.

Таким образом, кальцитонин подавляет активность остеокластов и ингибирует освобождение ионов Ca^{2+} из костной ткани, а также уменьшает реабсорбцию ионов Ca^{2+} в почках. В результате тормозится резорбция костной ткани, стимулируются процессы минерализации, что проявляется понижением уровня кальция и фосфора в плазме крови.

Йодсодержащие гормоны щитовидной железы - тироксин (Т4) и трийодтиронин (Т3) обеспечивают оптимальный рост костной ткани. Тиреоидные гормоны способны стимулировать секрецию гормонов роста. Они повышают как синтез мРНК инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1), так и продукцию самого ИФР-1 в печени. При гипертиреозе подавляется дифференцировка остеогенных клеток и синтез белка в этих клетках, снижается активность щелочной фосфатазы. За счёт усиленной секреции остеокальцина активируется хемотаксис остеокластов, что ведёт к резорбции костной ткани.

Половые стероидные гормоны участвуют в процессах ремоделирования костной ткани. Воздействие эстрогенов на костную ткань проявляется в активации остеобластов (прямое и опосредованное действие), угнетении остеокластов. Они также способствуют всасыванию ионов Ca^{2+} в желудочно-кишечном тракте и его отложению в костной ткани.

Женские половые гормоны стимулируют продукцию кальцитонина щитовидной железой и снижают чувствительность костной ткани к паратирину. Они также вытесняют на конкурентной основе кортикостероиды из их рецепторов в костной ткани. Андрогены, оказывая анаболическое действие на костную ткань, стимулируют биосинтез белка в остеобластах, а также ароматизируются в жировой ткани в эстрогены.

В условиях дефицита половых стероидов, который имеет место в менопаузе, процессы костной резорбции начинают преобладать над процессами ремоделирования костной ткани, что и приводит к развитию остеопении и остеопороза.

Глюкокортикоиды синтезируются в коре надпочечников. Основной глюкокортикоид человека - кортизол. Глюкокортикоиды скоординировано действуют на разные ткани и разные процессы - как анаболические, так и катаболические. В костной ткани кортизол тормозит синтез коллагена I типа, некоторых неколлагеновых белков, протеогликанов и остеопонтина. Глюкокортикоиды также уменьшают количество тучных клеток, являющихся местом образования гиалуроновой кислоты. Под влиянием глюкокортикоидов ускоряется распад белков. Глюкокортикоиды подавляют всасывание ионов Ca^{2+} в кишечнике, что сопровождается снижением его в сыворотке крови. Это понижение приводит к выбросу паратирина, который

стимулирует образование остеокластов и резорбцию кости (рис.). Кроме того, кортизол в мышцах и костях стимулирует распад белков, что также нарушает формирование костной ткани. В конечном итоге действия глюкокортикоидов приводят к убыли костной ткани.

Витамин D₃ (холекальциферол) поступает с пищей, а также образуется из предшественника 7-дегидрохолестерола под влиянием ультрафиолетовых лучей. В печени холекальциферол превращается в 25(OH)D₃, а в почках происходит дальнейшее гидроксирование 25(OH)D₃ и образуются 2 гидроксированных метаболита - 1,25(OH)₂D₃ и 24,25(OH)₂D₃. Метаболиты витамина D₃ регулируют хондрогенез и остеогенез уже в процессе эмбрионального развития. В отсутствии витамина D₃ невозможна минерализация органического матрикса, при этом не образуется сосудистая сеть, а метафизарная кость не способна сформироваться должным образом. 1,25(OH)₂D₃ связывается с хондробластами, находящимся в активном состоянии, а 24,25(OH)₂D₃ - с клетками в состоянии покоя. 1,25(OH)₂D₃ регулирует зоны роста через образование комплекса с ядерным рецептором для этого витамина. Также показано, что 1,25(OH)₂D₃ способен связываться с мембранно-ядерным рецептором, что приводит к активации фосфолипазы C и образованию инозитол-3-фосфата. Кроме того, образующийся комплекс активируется фосфолипазой A₂. Из освобождающейся арахидоновой кислоты синтезируется простагландин E₂, который также влияет на ответ хондробластов при их связывании с 1,25(OH)₂D₃. Напротив, после связывания 24,25(OH)₂D₃ со своим мембранно-связывающимся рецептором, активируется фосфолипаза C, а затем протеинкиназа C.

В хрящевой зоне роста эпифизов костной ткани 24,25(OH)₂D₃ стимулирует дифференцировку и пролиферацию прехондробластов, которые содержат специфические рецепторы к данному метаболиту. Метаболиты витамина D₃ оказывают влияние на формирование и функциональное состояние височно-нижнечелюстного сустава.

Витамин A. При недостатке и избыточном поступлении витамина A в организм детей нарушается рост костей и происходит их деформация. Вероятно, эти явления обусловлены деполимеризацией и гидролизом хондроитинсульфата, входящего в состав хряща.



Рис. Схема влияния глюкокортикоидов на обменные процессы, приводящие к убыли костной ткани

Витамин С. При недостатке аскорбиновой кислоты в мезенхимальных клетках не происходит гидроксилирование остатков лизина и пролина, что приводит к нарушению образования зрелого коллагена. Образующийся незрелый коллаген не способен связывать ионы Ca^{2+} и таким образом нарушаются процессы минерализации.

Витамин Е. При дефиците витамина Е в печени не образуется $25(\text{OH})\text{D}_3$ - предшественник активных форм витамина D_3 . Дефицит витамина Е также может привести к снижению уровня магния в костной ткани.

Локальные факторы

Простагландины ускоряют выход ионов Ca^{2+} из кости. Экзогенные простагландины увеличивают генерацию остеокластов, которые разрушают кость. Оказывают катаболическое воздействие на обмен белков в костной ткани и ингибируют их синтез.

Лактоферрин - железосодержащий гликопротеин, в физиологической концентрации стимулирует пролиферацию и дифференцировку остеобластов, а также ингибирует остеокластогенез. Митогенный эффект лактоферрина на остеобластоподобные клетки осуществляется через специфические рецепторы. Образовавшийся комплекс путём эндоцитоза поступает в клетку, и лактоферрин фосфорилирует митоген - активирующие протеинкиназы. Таким образом, лактоферрин выполняет роль фактора роста кости и её здоровья. Может применяться в качестве анаболического фактора при остеопорозе.

Цитокины - низкомолекулярные полипептиды, обуславливающие взаимодействие клеток иммунной системы. Они обеспечивают ответную реакцию на внедрение чужеродных тел, иммунное повреждение, а также воспаления, репарации и регенерации. Они представлены пятью большими группами белков, одной из которых являются интерлейкины.

Интерлейкины (ИЛ) - белки (от ИЛ-1 до ИЛ-18), синтезируемые в основном Т-клетками лимфоцитов, а также мононуклеарными фагоцитами. Функции ИЛ связаны с активностью других физиологически активных пептидов и гормонов. В физиологической концентрации подавляют рост, дифференцировку и продолжительность жизни клеток. Снижают продукцию коллагеназы, адгезию эндотелиальных клеток к нейтрофилам и эозинофилам, продукцию NO и, как следствие, наблюдается уменьшение деградации хрящевой ткани и резорбция кости.

Процесс резорбции костной ткани может активироваться при ацидозе и большими количествами интегринов, ИЛ и витамина А, но тормозится эстрогенами, кальцитонином, интерфероном и морфогенетическим белком кости.

Маркёры метаболизма костной ткани.

Биохимические маркёры дают информацию о патогенезе заболеваний скелета и о фазах ремоделирования костной ткани. Различают биохимические маркёры формирования и резорбции кости, характеризующие функции остеобластов и остеокластов.

Прогностическая значимость определения маркёров метаболизма костной ткани:

- проведённый скрининг с использованием данных маркёров позволяет определить пациентов с высоким риском развития остеопороза; • высокие уровни маркёров резорбции костей могут быть связаны с

- увеличением риска переломов; повышение уровня маркёров метаболизма костной ткани у пациентов с остеопорозом более чем в 3 раза по сравнению с показателями нормы предполагает иную костную патологию, включая злокачественную; • маркёры резорбции могут быть использованы в качестве дополнительных критериев при решении вопроса о назначении специальной терапии при лечении костной патологии. ***Маркёры резорбции кости.*** Во время обновления костной ткани коллаген I типа, который составляет более 90% органического матрикса кости и синтезируется непосредственно в костях, деградирует, а небольшие пептидные фрагменты попадают в кровь или выделяются почками. Продукции деградации коллагена можно определять как в моче, так и в сыворотке крови. Эти маркёры можно использовать при терапии препаратами, снижающими резорбцию костей, у пациентов с болезнями, связанными с нарушениями метаболизма костной ткани. В качестве критериев резорбции костной ткани выступают продукты деградации коллагена I типа: N- и C-телопептиды и тартрат-резистентная кислая фосфатаза. При первичном остеопорозе и

болезни Педжета происходит отчетливое повышение С-концевого телопептида коллагена I типа и количество этого маркёра увеличивается в сыворотке крови в 2 раза.

Распад коллагена - единственный источник свободного гидроксипролина в организме. Преобладающая часть гидроксипролина

катаболизируется, а часть выделяется с мочой, главным образом, в составе небольших пептидов (ди- и трипептидов). Поэтому содержание гидроксипролина в крови и моче отражает баланс скорости катаболизма коллагена. У взрослого человека в сутки экскретируется 15-50 мг гидроксипролина, в молодом возрасте до 200 мг, а при некоторых болезнях, связанных с поражением коллагена, например: гиперпаратирозидизме, болезни Педжета и наследственной гипергидроксипролинемии, причиной которой является дефект фермента гидроксипролиноксидазы, количество в крови и выделяемого с мочой гидроксипролина увеличивается.

Остеокласты секретируют тартрат-резистентную кислую фосфатазу. При возрастании активности остеокластов происходит увеличение содержания тартрат-резистентной кислой фосфатазы и она попадает в повышенном количестве в кровоток. В плазме крови активность этого фермента возрастает при болезни Педжета, онкологических заболеваниях с метастазами в кость. Определение активности этого фермента особенно полезно при мониторинге лечения остеопороза и онкологических заболеваний, сопровождающихся поражением костной ткани.

Маркёры формирования кости. Формирование костной ткани оценивают по количеству остеокальцина, костного изофермента щелочной фосфатазы и остеопротегерина. Измерение количества сывороточного остеокальцина позволяет определять риск развития остеопороза у женщин, проводить мониторинг костного метаболизма во время менопаузы и гормональной заместительной терапии. Рахит у детей раннего возраста сопровождается снижением в крови содержания остеокальцина и степень снижения его концентрации зависит от выраженности рахитического процесса. У больных с гиперкортицизмом и пациентов, получающих преднизолон, значительно снижено содержание остеокальцина в крови, что отражает подавление процессов костеобразования.

Изофермент щелочной фосфатазы присутствует на клеточной поверхности остеобластов. При увеличенном синтезе фермента клетками костной ткани повышается его количество в плазме крови, поэтому определение активности щелочной фосфатазы, особенно костного изофермента, является информативным показателем костного ремоделирования.

Остеопротегерин выступает в качестве рецептора ФНО. Связываясь с преостеокластами, он ингибирует мобилизацию, пролиферацию и активацию остеокластов.

Реакция костной ткани на дентальные имплантаты.

При различных формах адентии альтернативой съёмному протезированию являются внутрикостные дентальные имплантаты. Реакцию костной ткани на имплантат можно рассматривать как частный случай репаративной регенерации.

Различают три вида соединения дентальных имплантатов с костной тканью:

- прямое приживание - остеоинтеграция;
- фиброзно-оссальная интеграция, когда вокруг дентального имплантата образуется слой фиброзной ткани толщиной около 100 мкм;
- периодонтальное соединение (самый редкий вид), образующееся в случае периодонтального связочно-подобного сращения с периимплантационными коллагеновыми волокнами или (в некоторых случаях) цементирование внутрикостного дентального имплантата.

Считают, что в процессе остеоинтеграции после постановки дентальных имплантатов образуется тонкая зона из протеогликанов, которая лишена коллагена. Зона склеивания дентального имплантата с костью обеспечивается двойным слоем протеогликанов, включающим молекулы декорина.

При фиброзно-оссальной интеграции в соединении имплантата с костной тканью также участвуют многочисленные компоненты внеклеточного матрикса. За устойчивость имплантата в его капсуле отвечают коллагены I и III типа, а фибронектин играет основную роль в связывании элементов соединительной ткани с имплантатами.

Однако через какой-то период времени под действием механической нагрузки растёт активность коллагеназы, катепсина К и кислой фосфатазы. Это приводит к убыли костной ткани в периимплантационной области и происходит дезинтеграция дентального имплантата. Ранняя дезинтеграция внутрикостных дентальных имплантатов происходит на фоне сниженного количества в кости фибронектина, Gla-белка, тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ (ТИМП-1).

Установлено, что белковый спектр костной ткани верхних и нижних челюстей различен. Для нижней челюсти по сравнению с верхней характерно более низкое содержание фибронектина и Gla-белков, и наиболее часто дезинтеграция дентальных имплантатов наблюдается именно на нижней челюсти.

Конечный уровень знаний.

1. Найдите свойства, характеризующие рецепторы гормонов:

- 1) это белки, обладающие тканевой специфичностью;
- 2) это белки, образующие гормоно-рецепторный комплекс только при больших концентрациях;

- 3) это белки, обладающие насыщенностью (1 гормон - 1 рецептор);
- 4) рецепторы имеют сродство к гормону при минимальных концентрациях;
- 5) белки-рецепторы не обладают тканевой специфичностью.

2. Выберите свойства гормонов, отличающие их от других биологических регуляторов:

- 1) действуют при очень низких концентрациях;
- 2) действуют через специфические регуляторы;
- 3) поступают в клетки-мишени из крови;
- 4) секретируются специализированными эндокринными клетками;
- 5) обладают относительной стабильностью.

3. Выберите гормоны, относящиеся к производным аминокислот:

- 1) тиреоидные гормоны;
- 2) простагландины, тканевые гормоны;
- 3) вазопрессин и окситоцин;
- 4) тиреотропный гормон;
- 5) мелатонин, гормон гипофиза.

4. Ионы Ca^{2+} в клетке:

- 1) активируют цАМФ-зависимую протеинкиназу;
- 2) ингибируют синтез инсулина;
- 3) участвуют в активации ряда ферментов;
- 4) активируют обмен кальмодулина;
- 5) активируют протеинкиназу С.

5. Ионы кальция являются модулятором для кальмодулина, т.к.:

- 1) кальций связывается с кальмодулином;
- 2) кальмодулин активирует уборку ионов кальция;
- 3) комплекс Ca^{2+} -кальмодулин изменяет активность ряда ферментов;
- 4) комплекс Ca^{2+} -кальмодулин способствует синтезу цАМФ;
- 5) комплекс Ca^{2+} -кальмодулин ингибирует фосфодиэстеразу.

6. Гормонами пептидной и белковой природы являются:

- 1) Глюкокортикоиды и минералокортикоиды.
- 2) Адреналин и норадреналин.

- 3) Андрогены и эстрогены.
- 4) Глюкагон и инсулин.

7. Вторичными посредниками гормонов в клетке являются:

- 1) ионы кальция
- 2) ц-АМФ
- 3) АТФ
- 4) ГДФ
- 5) кальмодулин

8. Наиболее точно механизму передачи информации в клетке соответствует следующая классификация гормонов:

- 1) По химическому строению.
- 2) По месту выработки.
- 3) По типу действия - анаболические, катаболические.

9. К гормонам-производным аминокислот относятся:

- 1) вазопрессин-регулятор тонуса сосудов.
- 2) АКТГ - регулятор гормонов коры надпочечников.
- 3) Меланин - красящий пигмент кожи, глаз, волос.
- 4) Глюкагон- регулятор углеводного и жирового обменов.
- 5) Адреналин - регулятор тонуса сосудов.

10. Все утверждения, касающиеся гормонов, справедливы, кроме:

- 1) Эффект гормонов проявляется через взаимодействие с рецепторами.
- 2) Все гормоны синтезируются в передней доле гипофиза.
- 3) Под влиянием гормонов происходит изменение активности ферментов.
- 4) Гормоны индуцируют синтез ферментов в клетках - мишенях.
- 5) Синтез и секреция гормонов регулируются по механизму обратной связи.

11. Назовите гормоны, обладающие мембранным механизмом действия.

- 1) Производные арахидоновой кислоты
- 2) Производные стерана.
- 3) Производные сложных белков.
- 4) Тиреоидные гормоны.

- 5) Производные аминокислот.

12. Гормоны влияют на:

- 1) увеличение количества рецепторов.
- 2) конформацию липидов мембран.
- 3) концентрацию ферментов.
- 4) специфичность рецепторов.
- 5) транспортные системы мембран.

13. Роль гормонов передней доли гипофиза заключается в:

- 1) регуляции функций периферических эндокринных желез.
- 2) ингибировании секреции релизинг-факторов.
- 3) активации выработки статинов.

14. Либерины:

- 1) небольшие пептиды
- 2) взаимодействуют с мембранными рецепторами
- 3) активируют секрецию тропных гормонов,
- 4) передают сигнал на рецепторы передней доли гипофиза,
- 5) вызывают секрецию инсулина.

15. Инозитол -3 -фосфат выполняет следующие функции:

- 1) повышает сродство протеинкиназы С к ионам Ca^{++} .
- 2) изменяет проницаемость мембран для ионов Ca^{++} .
- 3) участвует в мышечном сокращении.
- 4) влияет на обмен кальмодулина.

16. Циклические нуклеотиды:

- 1) активируют фосфодиэстеразу.
- 2) ингибируют фосфодиэстеразу.
- 3) активируют протеинкиназы, способные фосфорилировать белки.
- 4) активирует кальмодулин, входящий в состав некоторых протеинкиназ.

17. Основной функцией гормонов является:

1. защитная
2. каталитическая

- 3. регуляторная
- 4. транспортная.

18. Все перечисленные утверждения, касающиеся гормонов, справедливы, кроме: Гормоны:

- 1) различаются по механизму передачи сигнала.
- 2) образуются в клетках-мишенях.
- 3) могут менять активность и количество ферментов в клетке.
- 4) секретируются в ответ на специфический стимул.
- 5) способны избирательно связываться клетками-мишенями.

19. Катехоламины:

- 1) синтезируются в мозговом слое надпочечников.
- 2) Проявляют эффекты в клетках-мишенях через взаимодействие с рецепторами.
- 3) Передают сигналы в клетки-мишени с помощью вторичных посредников.
- 4) Стимулируют процессы запасания энергетического материала.
- 5) Изменяют активность регуляторных ферментов путем фосфорилирования.

20. Гормонами белковой и пептидной природы являются:

- 1) Адреналин и норадреналин.
- 2) Глюкокортикоиды и минералокортикоиды.
- 3) Вазопрессин и окситоцин.
- 4) Простагландины.