

ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»
МІНІСТЕРСТВА ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ

Н.В. Колісник
Л.О. Омелянчик

ОСНОВИ КЛІНІЧНОЇ БІОХІМІЇ
Навчальний посібник
для студентів освітньо-кваліфікаційних рівнів «спеціаліст» та «магістр»
напряму підготовки «Біологія»

Затверджено
Вченою радою ЗНУ
Протокол № _____ від _____ 2013 р.

Запоріжжя 2013

УДК:

ББК:

Колісник Н.В., Омелянчик Л.О. Основи клінічної біохімії: навчальний посібник для студентів освітньо-кваліфікаційних рівнів «спеціаліст» та «магістр» напряму підготовки «Біологія». – Запоріжжя: ЗНУ, 2013. – 117 с.

Навчальний посібник містить сучасні теоретичні уявлення та актуальні питання з основ клінічної біохімії. Посібник призначений для спеціалістів та магістрів напряму підготовки «Біологія».

Рецензент О.Ф. Рильський

Відповідальний за випуск Н. В. Колісник

Вміст

	Передмова	5
1	Білки плазми крові	6
1.1	Функції білків плазми	6
1.2	Загальний білок та клінічно значущі специфічні білки сироватки крові	9
1.3	Білки сироватки крові при патології	10
1.4	Білки гострої фази запалення (БГФ)	13
1.5	Небілковий азот (НБА) плазми, складові	14
2	Система гемостазу. Гемостаз.	19
2.1	Первинний або тромбоцитарно-судинний гемостаз	20
2.1.1	Судини: роль у гемостазі	20
2.1.2	Тромбоцити, роль у гемостазі	20
2.2	Вторинний або коагуляційний гемостаз	24
2.2.1	Компоненти вторинного гемостазу	24
2.2.1.1	Плазмові фактори	25
2.2.1.2	Фосфоліпідні фактори	26
2.2.2	Реакції зовнішнього шляху активації коагуляційного гемостазу	26
2.2.3	Реакції внутрішнього шляху активації коагуляційного гемостазу	27
2.2.4	Реакції загального шляху активації коагуляційного гемостазу	28
2.3	Система фізіологічних антикоагулянтів	30
2.4	Плазмінова (фібринолітична) система, функції в гемостазі	31
2.5	Патологія гемостазу, клінічні прояви	34
2.6	Лабораторні методи дослідження системи гемостазу	36
2.6.1	Методи дослідження тромбоцитарно-судинного (первинного) гемостазу	36
2.6.2	Методи дослідження коагуляційного (вторинного) гемостазу	37
2.7.	Алгоритм лабораторних досліджень при порушенні гемостазу	45
2.8	Преаналітичні аспекти дослідження гемостазу	46
3	Ліпіди та ліпопротеїди плазми крові	47
3.1	Дисліпопротеїдемії.	51
3.2	Ліпідний профіль	52
4	Обмін вуглеводів	53
4.1	Цукровий діабет, класифікація	53
4.2	Характеристика діабету типу 1	55
4.3	Інсулінонезалежний цукровий діабет (ІНЦД): тип 2	58
4.4	Цукровий діабет та метаболічний синдром (МС)	59

4.5	Діагностика та диференційна діагностика цукрового діабету	60
5	Біомаркери і ферменти сироватки крові в діагностиці захворювань органів та систем	61
5.1	Біомаркери	65
5.2	Ферменти сироватки крові	66
5.2.1	Клініко-діагностичне значення визначення окремих ферментів	70
5.2.2	Ферментні профілі в діагностиці захворювань окремих органів	80
6.	Пігментний обмін	83
6.1	Структура та синтез гемму	83
6.2	Клінічні прояви порушення біосинтезу гемму	84
6.3	Катаболізм гемму, утворення білірубіну	85
6.4	Жовтяниці	87
6.4.1	Печінкові жовтяниці	87
6.4.2	Надпечінкова жовтяниця	90
6.4.3	Підпечінкова жовтяниця	90
7	Тести для перевірки знань з курсу «Основи клінічної біохімії»	91
7.1	Контроль знань з теми «Білки плазми крові»	91
7.2	Контроль знань з теми «Система гемостазу»	96
7.3	Контроль знань з теми «Ліпіди плазми крові»	100
7.4	Контроль знань з теми «Обмін вуглеводів»	102
7.5	Контроль знань з теми «Біомаркери і ферменти сироватки крові в діагностиці захворювань органів та систем»	106
7.6	Контроль знань з теми «Пігментний обмін»	111

ПЕРЕДМОВА

Теоретична база клінічної біохімії визначається досягненнями досліджень патогенезу захворювань людини з використанням специфічних та чутливих методів молекулярної біології, біохімії та імунології.

Мета курсу: Вивчити біохімічні основи порушень основних видів обміну речовин в організмі при різних патологічних станах і можливості використання біохімічного аналізу в діагностиці захворювання, ефективності його терапії та реабілітації пацієнта, біохімічні маркери захворювання окремих органів і систем.

Завдання курсу полягає в тому, щоб ознайомити студентів освітньо-кваліфікаційних рівнів «спеціаліст» та «магістр» напряму підготовки «Біологія», по перше, з основами патології обміну білків, вуглеводів, ліпідів, пігментів; проявами патології на рівні біохімічного складу сироватки або плазми крові, з лабораторними методами виявлення патології того чи іншого обміну; по друге, з можливостями діагностики захворювань окремих органів за рівнем біомаркерів і станом активності ферментів сироватки крові, в третьому, з принципами оцінки результатів лабораторних досліджень. Виконання завдання курсу забезпечується викладом програмного матеріалу з урахуванням новітніх даних в області клінічної біохімії; контрольними питаннями до матеріалу з кожного розділу той чи іншої теми та тестовими питаннями до тем, що розглядаються.

У навчальному посібнику розглянути такі теми. Білки плазми крові в нормі та патології, лабораторна діагностика стану білків плазми крові. Остатковий азот та його компоненти. Система гемостазу в нормі та патології, лабораторна діагностика порушень в системі первинного та вторинного гемостазу. Обмін вуглеводів: глюкоза крові в нормі та патології, лабораторна діагностика цукрового діабету I, II типів та метаболічного синдрому. Ліпіди та ліпопротеїди плазми крові в нормі та патології, лабораторна діагностика стану обміну ліпідів та ліпопротеїдів. Ферменти сироватки крові. Ферменти в діагностиці захворювань окремих органів. Біохімічні маркери захворювань окремих органів і систем. Метаболізм гему в нормі та патології. Жовтяниці. Лабораторна діагностика патогенезу жовтяниць.

У результаті вивчення навчальної дисципліни студент повинен

знати:

обмін білків, жирів, вуглеводів та пігментів в умовах патології;

- зміни активності клінічно значущих ферментів та вмісту біомаркерів при ураженні

- серцево-судинної системи,

- печінки та нирок,

- підшлункової залози,

- кісток та інших тканин,

- лабораторні тести на напрям їх змін при порушеннях системи гемостазу,

вміти:

- скласти алгоритм лабораторної оцінки стану білків плазми крові, ліпідів та ліпопротеїдів, діагностики цукрового діабету, діагностики гіпо- та гіперкоагуляційних станів;
- скласти алгоритм лабораторної оцінки стану окремих органів і систем;
- оцінити дані клініко-біохімічних досліджень з урахуванням даних клінічної картини захворювання.

1 Білки плазми крові та їх функції

Плазма та сироватка крові. Плазма крові – рідка частина крові, в якій зважені формені елементи – друга частина крові (гематокрит). Вміст плазми в крові становить 52-61%. Макроскопічно плазма являє собою однорідну дещо каламутну (іноді майже прозору) жовтувату рідину, яка збирається у верхній частині судини з кров'ю після осадження формених елементів. Гістологічно плазма є міжклітинною речовиною рідкої тканини крові. За допомогою центрифуги кров поділяють на еритроцитарну масу і плазму. Плазма крові складається з води, в якій розчинені речовини – білки (7-8% від маси плазми) та інші органічні і мінеральні сполуки. Основними білками плазми є альбуміни – 4-5%, глобуліни – 3% і фібриноген – 0,2-0,4%. У плазмі крові розчинені також поживні речовини (зокрема глюкоза і ліпіди), гормони, вітаміни, ферменти, проміжні і кінцеві продукти обміну речовин, а також неорганічні іони. У середньому 1 літр плазми людини містить 900-910 г води, 65-85 г білка і 20 г низькомолекулярних сполук. Щільність плазми становить від 1,025 до 1,029 г/см³, рН – 7,34-7,43.

Для отримання плазми венозну кров стабілізують додаванням антикоагулянтів (цитрату натрію, гепарину, ЕДТА), відділяють клітини центрифугуванням.

Сироватка крові: плазма, позбавлена фібриногену та інших білків згортання крові.

Отримання сироватки. Венозну кров набирають у чисту скляну або пластмасову пробірку. До утворення згустка кров залишують на 30 хв. – 1 годину при кімнатній температурі (рекомендується) або поміщають в термостат/на водяну баню при 37°C. Згусток, що утворився, відокремлюють від стінок скляною паличкою, іноді досить струшування пробірки. Після цього кров центрифугують 10-15 хв. при 1000-1500 об/хв. (пластмасові пробірки можна центрифугувати при 2000-3000 об/хв. менший час). Отримана сироватка переноситься в іншу чисту пробірку.

1.1 Функції білків плазми

Плазма крові містить більше 200 індивідуальних білків, яким притаманні як загальні функції, так і специфічні.

До загальних функцій білків плазми крові відносяться:

1) *Транспортна, яку здійснюють*

- трансферин – транспорт заліза;
- церулоплазмін – транспорт міді;

- альбумін – транспорт жирних кислот, білірубину, кальцію, багатьох ліків;
- транскортин – транспорт кортизолу та кортикостерону;
- ретинолзв'язуючий білок – транспорт ретинолу;
- ліпопротеїди – транспорт ліпідів;
- гаптоглобін – транспорт вільного гемоглобіну;
- тироксинзв'язуючий глобулін – транспорт тироксину.

2) Осмотична регуляція

Плазмові білки є колоїдами і не здатні до дифузії через напівпроникні мембрани; вони здатні чинити осмотичний (онкотичний) тиск, який допомагає підтримувати нормальний об'єм крові та нормальний вміст води в міжклітинній рідині і тканинах. Найбільш важливим у регуляції осмотичного колоїдного або онкотичного тиску є вміст альбуміну. При зниженні вмісту альбуміну рівень втрати води з крові в інтерстиціальний простір збільшується, що викликає набряки.

3) Каталітична функція (ферменти)

Ряд білків плазми крові мають ферментативні властивості та утворюють ферментативні системи. Це білки систем: комплементу, калікреїн-кінінової, ангіотензин-ренінової, згортання крові, фібринолізу. У нормі ферменти систем циркулюють у вигляді зимогенів, активація яких здійснюється з використанням каскадного принципу, шляхом обмеженого протеолізу. Всі ферменти систем – серинові протеази з відносною субстратною специфічністю. Це означає, що активна форма ферменту однієї системи може активувати профермент – субстрат іншої системи, тобто ініціювати системну активацію.

4) Захисна функція:

- імуноглобуліни – пов'язують чужорідні антигени й ініціюють їхнє видалення;
- система комплементу руйнує чужорідні клітини;
- інгібітори ферментів – блокують ферменти, утворюючи з ними комплекси; наприклад, α 1-антитрипсин утворює комплекс з еластазою і трипсином і захищає легені від протеолітичного ушкодження.
- вміст деяких білків збільшується протягом гострої фази запалення і вони сприяють захисту тканин в умовах запалення. Наприклад, α 1-антитрипсин, α 2-макроглобулін.

5). *Згортання крові*: багато білків (факторів) беруть участь у механізмі згортання крові та запобігають втраті її надмірної кількості; наприклад, фактори згортання крові IX, VIII, тромбін, фібриноген і т.д.; порушення в системі цих білків призводить до розвитку кровотеч або тромбозів.

6). *Антизсідальна* (антикоагулянтна) активність – білки, з функцією інгібіторів активації згортання крові.

7). *Фібринолітична активність* – білки, що визначають розчинення тромбів.

8). *Буферна ємність*: білки плазми крові допомагають підтримувати кислотно-лужний баланс.

Специфічні функції білків плазми крові. Ряд білків плазми виконує специфічні функції (табл. 1.1).

Таблиця 1.1 – Специфічні функції білків сироватки крові

Білок	Вміст у плазмі (г/л)	Функція
Преальбуміни	0,4	Зв'язування та транспорт Т3 і Т4
Альбумін	40	Транспорт, колоїдно-онкотичний тиск
альфа1-глобуліни: альфа1-антитрипсин	3,0	Антипротеїнази
альфа2-глобуліни: церулоплазмін, гаптоглобін	0,4 1,2	Транспорт міді, зв'язування вільного гемоглобіну.
альфа2-макроглобулін	3,	Транспорт, антипротеїназа
Бета-глобуліни: трансферин, гемопексин, плазміноген, фібриноген	2,5 1,0 0,7 4,0	Зв'язування заліза, зв'язування гему, фібриноліз, гемостаз
гамма-глобуліни: IgA,	0.9–4.5	Ig зовнішніх секретів
IgM,	0,7 –2,8	синтезуються першими;
IgG,	8,0–18,0	основний клас Ig
IgE,		Ig, що бере участь в алергії
IgD	-	—

Контрольні питання

- 1) Дайте визначення поняттям: кров, плазма, сироватка.
- 2) Як отримати плазму крові?
- 3) Як отримати сироватку крові?
- 4) Перерахуйте загальні функції білків плазми.
- 5) Перерахуйте функціональні системи білків плазми.
- 6) Перерахуйте білки плазми, що виконують специфічні функції.

1.2 Загальний білок та клінічно значущі специфічні білки сироватки крові

Сукупність усіх білків плазми крові, що кількісно визначається біуретовим методом, називають загальним білком. Клінічне значення має концентрація загального білка і концентрація декількох специфічних білків. Нормальний діапазон загального білка сироватки становить 60-83 г/л. Трохи більше половини загального сироваткового білка (35-50 г/л) припадає на альбумін, який синтезується в печінці. Загальна концентрація всіх фракцій глобулінів сироватки становить 20-35 г/л.

Фракції глобулінів включають різні транспортні білки, білки-реагенти гострої фази (в альфа- та бета-фракціях), синтезовані печінкою, та імуноглобуліни (гамма-фракція), синтезовані плазматичними клітинами. Трохи більше половини загального сироваткового глобуліну припадає на імуноглобуліни в гамма-зоні. Помітні зміни в загальному білку сироватки майже завжди пов'язані зі змінами співвідношення імуноглобуліни і/або альбумін, тому що концентрації окремих білків в альфа- й бета-групах є відносно низькими, зміни в їх концентрації рідко впливають на загальний білок сироватки або значення загального глобуліну.

Альбумін підвищується тільки при зневодненні, але знижується при низці патологічних станів. Збільшення загального білка сироватки або загального глобуліну майже завжди пов'язане зі збільшенням імуноглобулінів. Багато з окремих альфа- і бета-глобулінів мають клінічне значення і визначаються специфічними кількісними методами.

Загальний білок сироватки крові та альбумін визначають звичайними рутинними методами, загальні глобуліни розраховують як різницю між вмістом загального білка та альбумінів (табл. 1.2.1).

Таблиця 1.2.1 – Визначення концентрації альбумінів та глобулінів у сироватці крові

Загальний білок	Біуретовий реактив Cu ²⁺ – лужне середовище	Синьо-фіолетове забарвлення комплексу Cu-пептидні зв'язки
Альбумін	Бром крезоловий зелений (БКЗ)	Інтенсивно-зелене забарвлення (комплекс БКЗ-альбумін)
Сироваткові глобуліни	Загальний білок мінус альбумін	

Клінічно значущі білки сироватки крові більш низької концентрації визначають з використанням специфічних методів (табл. 1.2.2).

Таблиця 1.2.2 – Визначення концентрації клінічно значущих білків плазми за допомогою специфічних методів

Ліпопротеїди	Фарбування на ліпіди смуг електрофореграми; визначення ліпідів, визначення апопротеїнів.
--------------	---

Тироксинзв'язуючий глобулін	Здатність зв'язувати радіоактивно мічений триїодтіронін (Т3).
Трансферин	Визначення або залізоzv'язуючої здатності або імунохімічним методом
α 1-антитрипсин	Імунохімічні методи
IgG, IgM, IgA	
C3 и C4 компонент комплементу	
C-реактивний білок	

Контрольні питання

- 1) Назвіть методи, за допомогою яких можна розділити білки плазми крові.
- 2) Принцип електрофорезу білків сироватки крові.
- 3) Електрофорез у вільному потоці.
- 4) Зональний електрофорез.
- 5) Підтримуючі середовища для зонального електрофорезу?
- 6) Протеїнограма.
- 7) Назвіть зони протеїнограми та їх нормальний діапазон.
- 8) Що таке М-градієнт?
- 9) Загальний білок?
- 10) Перерахуйте клінічно значущі специфічні білки сироватки крові.

1.3 Білки сироватки крові при патології

Зміни вмісту загального білка. У нормі вміст загального білка в сироватці крові становить 60-83 г/л. При вмісті білка менше 60 г/л говорять про гіпопротеїнемію, при перевищенні загального білка 90 г/л говорять про гіперпротеїнемію.

Гіпопротеїнемія може бути наслідком:

- підвищеної гідратації (розведення плазми сольовими розчинами) або як артефакт при взятті крові з вени руки з крапельницею;
- посиленої втрати білків (через нирки, (переважно альбумінів) при нефротичному синдромі;
- через шкіру при опіках;
- через слизові при ентеропатії;
- при голодуванні,
- при тяжких захворюваннях печінки,
- при порушенні перетравлення та всмоктування білків (мальабсорбція).

При підвищенні вмісту гамма-глобулінів загальний білок може залишатися в нормі.

Гіперпротеїнемія – підвищення вмісту білка в одиниці об'єму плазми. Гіперпротеїнемія нерідко розвивається як наслідок дегідратації при втраті частини внутрішньосудинної рідини. Це відбувається при важких травмах, великих опіках, холері. При гострих інфекціях концентрація загального білка часто підвищується внаслідок дегідратації та одночасним зростанням синтезу

білків гострої фази. При хронічних інфекціях вміст загального білка в крові може наростати в результаті активації імунологічних процесів і підвищеного утворення Ig. Гіперпротеїнемія виникає при появі в крові парапротеїнів – патологічних білків, що виробляються у великій кількості при мієломній хворобі, при хворобі Вальденстрема.

На величину загальної концентрації білка можуть впливати положення тіла і фізична активність. Активна фізична робота та зміна положення тіла з горизонтального на вертикальне підвищує вміст білка на 10%.

Парапротеїнемія – поява в плазмі білків, відсутніх у нормі – парапротеїнів. Як правило, це мієломна хвороба та хвороба Вальденстрема. У літніх осіб так само можуть виявитися парапротеїни (електрофорез), але вони не мають клінічного значення.

Диспротеїнемія – стан, при якому порушено нормальне співвідношення між окремими фракціями протеїнограми, насамперед співвідношення альбуміни/глобуліни. У нормі воно близько до 1.

Зміна вмісту альбуміну. Альбумін – білок, що превалює у плазмі крові (приблизно половина загального білка). Синтезується в печінці. Період напівжиття ($T_{1/2}$) = 15-19 днів.

Основні функції альбуміну: підтримка балансу рідин, транспортна, антиоксидантна активність і буферні властивості.

Вміст альбуміну в нормі становить 32-52 г/л. При концентрації альбуміну нижче 32 г/л говорять про гіпоальбумінемію.

З гіпоальбумінемією пов'язані: загальний набряк (едема), гіпокальціємія, зміни рівня речовин, для яких альбумін є білком-носієм (білірубін, жирні кислоти).

Причинами гіпоальбумінемії можуть бути:

а) зниження синтезу при важких ураженнях печінки, недоїданні, алкоголізмі;

в) підвищені втрати при:

нефротичному синдромі (білок у сечі, протеїнурія); масивних опіках – втрата альбуміну через шкіру; ентеропатіях (інтенсивні втрати білка через шлункове кишковий тракт, при виразках шлунково-кишкового тракту);

с) гемоделюції при гіпергідротації та в останньому триместрі вагітності;

d) неспецифічні загальні причини:

при багатьох гострих захворюваннях, включаючи гострі вірусні інфекції верхніх дихальних шляхів, при взятті крові у пацієнта у вертикальному положенні, у новонароджених;

е) підвищений катаболізм альбуміну: ідіопатичний, сімейна ідіопатична гіперкатаболічна гіпопротеїнемія.

Протеїнограма. У разі відхилення від норми показників вмісту загального білка, альбуміну та/або загального сироваткового глобуліну призначають електрофорез білків сироватки крові. Електрофорез проводять на ацетат целюлозі, або на пластинках із гелем агарози. При високій напрузі білки мігрують зі швидкістю, яка визначається величиною електричного заряду та їх розміром. Візуалізацію фракцій білків здійснюють за допомогою барвника,

інтенсивність забарвлення якого еквівалентна вмісту білка в зоні. Окремі білки можуть бути візуалізовані за допомогою спеціальних барвників. Наприклад, ліпопротеїди виявляють за допомогою барвників на жир, ізоферменти – за допомогою субстратів, продукти перетворення яких пофарбовані. Профіль електрофореграми та кількість білка в окремих зонах визначають за допомогою денситометра. При поділі білків сироватки крові за допомогою електрофорезу виявляється 5 зон: альбумін – 54-58%, альфа1-глобуліни – 6-7%, альфа2-глобуліни – 8-9%; бета-глобуліни – 13-14%; гамма-глобуліни – 11-12%. При гострому запальному процесі збільшуються зони з альфа-1 і альфа-2 глобулінів як відображення синтезу в печінці білків гострої фази. При хронічному запальному процесі внаслідок активації В лімфоцитів і перетворення їх у плазматичні клітини підвищується синтез поліклональних антитіл, імуноглобулінів, що проявляється збільшенням гама-зони. Поява незвично вираженої смуги в гамма-зоні (М-градієнт) відображає присутність однорідного класу імуноглобулінів, злоякісної проліферації плазматичних клітин з однієї клітини (множинна міелома), на відміну від широких, гетерогенних, або поліклональних імуноглобулінів при хронічному запаленні. Моноклональний клас імуноглобулінів виявляється й при макроглобулінемії Вальденстрема (завжди виражено підвищення IgM).

Альфа1-глобуліни. Нормальний рівень у сироватці крові 1-3 г/л. З цієї групи найбільш часті зниження альфа1-ліпопротеїдів – транспортерів ліпідів: дуже рідко як наслідок генетичних порушень (танжерська хвороба), при гіпертрофії мигдаликів, гепатомегалії та лімфаденопатії. До фракції альфа1-глобулінів належить і альфа-фетопроїєїн (АФП). АФП синтезується у плода на 14-40 тижнях вагітності. У новонародженого рівень АФП швидко знижується після 2-х тижневого віку. У дорослих його наявність асоційована з раком печінки. АФП – біохімічний маркер для діагностики первинного раку печінки.

Альфа2-глобуліни. Нормальний рівень α_2 -глобулінів сироватки – 6-10 г/л. Більшу частину фракції α_2 -глобулінів становить α_2 -макроглобулін. Це велика молекула, не здатна до фільтрації при нефротичному синдромі, тому рівень її при нефротичному синдромі або не змінюється, або підвищується. Другий білок фракції альфа2-глобулінів – гаптоглобін. Гаптоглобін зв'язує вільний гемоглобін з утворенням комплексу гаптоглобін/гемоглобін. Цей комплекс катаболізує швидше, ніж вільний гемоглобін. Рівень гаптоглобіну знижується при явищах внутрішньосудинного гемолізу.

Бета-глобуліни. Нормальний рівень β -глобулінів у сироватці крові 7-11 г/л. У складі фракції β -глобулінів мігрує β -ліпопротеїд – переносник холестерину сироватки крові. Повна відсутність β -ліпопротеїду (аліпопротеїдемія) поєднується з відсутністю пребета-ліпопротеїдів і хіломікронів. Аліпопротеїдемія обумовлена або порушенням транспорту ліпідів з кишечника і печінки, або дефіцитом холестерину. Клінічно цей стан проявляється посиленою пігментацією, стеатореєю (жирний стул), ретинітом і зміною форми еритроцитів. Високий рівень β -глобулінів виявляється під час вагітності, обструкції жовчних проток, нефротичному синдромі.

До фракції β -глобулінів належить і трансферин. Функція білка – зв'язувати вільне залізо в сироватці. Зазвичай він насичений залізом на одну третину. Вміст трансферину знижений при захворюваннях печінки (наприклад, цироз печінки), хронічних інфекціях, нефрозі, вродженій атрансферинемії. Рівень трансферину підвищено у зв'язку з посиленням його синтезу при залізодефіцитній анемії. Трохи більше половини загального сироваткового глобуліну припадає на імуноглобуліни гама-зони. Помітні зміни в загальному білку сироватки майже завжди пов'язані зі змінами співвідношення імуноглобуліни/альбумін, тому що концентрації окремих білків в α - і β -групах є відносно низькими, зміни в їх концентрації рідко впливають на загальний білок сироватки або значення загального глобуліну.

1.4 Білки гострої фази запалення (БГФ)

Білки гострої фази – це клас білків, концентрація яких у плазмі збільшується (позитивні білки гострої фази, табл. 1.4.1) або зменшується (негативні білки гострої фази) у відповідь на запалення. Ця відповідь називається реакцією гострої фази. У відповідь на травму, місцеві клітини запалення (нейтрофіли і макрофаги) виділяють у кров низку цитокінів, у тому числі інтерлейкіни IL-1, IL-6, IL-8 і TNF- α . Серед клітин-мішенів цих цитокінів – гепатоцити. У відповідь печінка продукує велику кількість певних білків гострої фази; в той же час синтез низки інших білків в органі знижується, ці білки називають "негативними" білками гострої фази.

Таблиця 1.4.1 – Позитивні білки гострої фази

Білок	Функція в імунній системі
С-реактивний білок (СРБ)	Опсонін мікробів
Сироватковий амілоїд Р	Опсонін
Сироватковий амілоїд А	Хематрактан, що рекрутує клітини імунної системи у вогнище запалення; індуктор ферментів, що руйнують матрикс.
Фактори комплементу	Опсонізація, лізис і склеювання клітин-мішеней, хемотаксис.
Маноза-зв'язуючий лектин	Активація системи комплементу по шляху маноза-зв'язуючого лектину
Фібриноген, протромбін, фактор VIII, фактор Віллебранда	Фактори згортання, поглинають у тромб мікроби, що вторглися; деякі з них хематрактанти
Плазміноген	Деградація тромбів
Феритин	Зв'язує залізо, перешкоджає поглинанню заліза мікробами
Церулоплазмін	Зв'язує залізо, перешкоджає поглинанню заліза мікробами
Гаптоглобін	Зв'язує гемоглобін, інгібує поглинання

	заліза мікробами
Орозомукоїд (альфа1-кислий глікопротеїн, АКП)	Транспорт стероїдів

Як впливає з даних таблиці 1.4.1, позитивні білки гострої фази виконують різні фізіологічні функції імунної системи. Деякі сприяють знищенню мікробів, пригнічують їх ріст. Альфа2-макроглобулін і фактори згортання як прокоагулянти обмежують інфекцію шляхом уловлювання мікроорганізмів до утворених згустків крові. Крім того, деякі продукти згортання збільшують проникність судин і діють як хематрактанти фагоцитів.

Негативні білки гострої фази включають альбумін, трансферин, транстіретін, ретинолзв'язуючий білок, антитромбін, транскортин. Фізіологічна роль зниження синтезу таких білків визначається збереженням амінокислот для синтезу позитивних білків гострої фази. Наявність або відсутність запалення може бути діагностовано за рівнем білків гострої фази (БГФ). При цьому позитивні білки гострої фази підвищуються, а негативні знижуються. Як індикатори запалення БГФ використовуються в поєднанні з показниками швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ), лейкоцитозом і температурою.

Клінічні показання для оцінки БГФ. Визначення білків гострої фази доцільно для:

- виявлення наявності запального захворювання;
- диференціальної діагностики запальних захворювань;
- оцінки кінцевої точки терапії;
- моніторингу терапевтичної ефективності;
- спостереження в післяопераційному періоді в пацієнтів з ризиком післяопераційних інфекцій;
- моніторингу хворих із злоякісними пухлинами.

Контрольні питання

- 1) Що називають гіпо- та гіперпротеїнемією, парапротеїнемією, диспротеїнемією?
- 2) При яких станах знижується вміст альбуміну?
- 3) Назвіть преальбуміни.
- 4) Показання до визначення преальбумінів.
- 5) Назвіть білки-переносники з фракцій альфа1-, альфа2-і бета-глобулінів.
- 6) Назвіть стани, при яких змінюється рівень білків-переносників?
- 7) Визначення поняття "Білки гострої фази".
- 8) Перелічіть відомі Вам білки гострої фази та їх функції.
- 9) Поняття "позитивні білки гострої фази", "негативні білки гострої фази".

Приклади.

- 10) Механізм підвищення рівня білків гострої фази запалення.

1.5 Небілковий азот (НБА) плазми, складові

Азотовмісні сполуки плазми або сироватки, які не є білками або поліпептидами, називають небілковим азотом. Оскільки компоненти небілкового азоту визначають в супернатанті після осадження білків ТХУ і відділення осаду, небілковий азот називають залишковим. Визначення небілкових азотистих речовин крові традиційно використовується для контролю функції нирок. Корисну клінічну інформацію одержують шляхом визначення окремих компонентів фракції НБА. Фракція НБА включає 15 з'єднань, що представляють продукти обміну білків і нуклеїнових кислот. У таблиці 1.5.1 відображені клінічно значущі сполуки НБА.

Таблиця 1.5.1 – Клінічно значущі сполуки НБА.

Сполуки	Приблизна концентрація в плазмі (% від загального НБА)
Сечовина	45
Амінокислоти	20
Сечова кислота	20
Креатинін	5
Амоній	1-2

Сечовина, азотемії. Найбільша фракція азот сечовини крові (АСК), основний кінцевий продукт білкового обміну. Синтезується в печінці з CO₂ та амонієм, що утворюється при дезамінуванні амінокислот. Аналізи на сечовину, засновані на вимірі азоту, називають азот сечовини крові (АСК). Сечовина виводиться нирками, при цьому 40% її реабсорбується в канальцях; <10% від загального вмісту в крові виводяться через шлунково-кишковий тракт і шкіру. Концентрацію сечовини визначають з метою оцінки функції нирок, стану гідратації, визначення азотистого балансу і для перевірки адекватності діалізу.

Дуже висока концентрація сечовини в плазмі, що супроводжує ниркову недостатність, називається уремією, або уремічним синдромом. Розрізняють такі причини збільшення сечовини в плазмі: преренальні, ренальні, постренальні.

Преренальна азотемія – підвищення сечовини за рахунок зниження функціонального об'єму крові, що фільтрується нирками: застійна серцева недостатність, шок, крововиливи, зневоднення, дієта з високим вмістом білка або підвищений катаболізм білків (гарячка, важка хвороба, стрес).

Ренальна азотемія – підвищення вмісту сечовини в крові, обумовлене зниженням її екскреції нирками: гостра і хронічна ниркова недостатність, клубочковий нефрит, некроз канальців та інші внутрішні захворювання нирок.

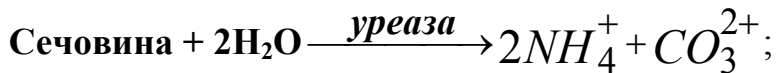
Постренальна азотемія – підвищення вмісту сечовини в крові через перешкоду відтоку сечі: камені в нирках, пухлини сечового міхура або передміхурової залози, тяжкі інфекції.

Зниження вмісту азоту сечовини може бути пов'язано або з низьким синтезом (низьким білком у раціоні), або його відсутністю (захворювання печінки). При сильній блювоті і/або діарейі зниження сечовини обумовлено її втратами. Зниження вмісту сечовини можливо на тлі збільшення синтезу білка в організмі.

Визначення сечовини. Аналізи сечовини, засновані на вимірі кількості азоту в зразка крові (АМК). Ця група аналітичних методів відображає результати визначення сечовини терміном «азот сечовини», а не концентрація сечовини. Для вираження результату в одиницях концентрації сечовини, азот сечовини множать на 2,14.

Конверсія азоту сечовини в сечовину в зразка. Атомна маса азоту = 14 г/моль; Молекулярна маса сечовини = 60,06 г/моль. Сечовина містить два атоми азоту в молекулі. Азот сечовини (N карбаміду) становить 46,6% за вагою сечовини (28 ділиться на 60,06). Таким чином: 10 мг/дл азоту в зразка ділимо на 0,466 = 21,46 мг/дл сечовини.

Аналітичні методи. Уреазний метод: уреаза гідролізує сечовину з утворенням іона амонію, а потім визначають іон амонію. У більшості методів уреазна реакція сполучена з глутамат дегідрогеназою:



НАД

Визначення іона амонію можна здійснювати з використанням кольорового індикатора, зміна забарвлення якого пропорційна концентрації іона амонію.

Кондуктометричний метод. Гідроліз неіонізованої сечовини до іона амонію і карбонат іона супроводжується збільшенням провідності. Референтні значення азоту сечовини: у сироватці або плазмі від 6 до 20 мг/дл; у добовій сечі – 12 – 20 г.

Контрольні питання

- 1) Залишковий азот і небілковий азот.
- 2) Назвіть клінічно значущі компоненти залишкового азоту.
- 3) Що таке сечовина?
- 4) З якою метою визначають сечовину в крові?
- 5) Що таке азотемія і уремія?
- 6) Причини підвищення сечовини в крові.
- 7) Преренальна азотемія.
- 8) Ренальна азотемія.
- 9) Постренальна азотемія.
- 10) Які стани супроводжуються зниженням сечовини в крові?
- 11) Методи визначення сечовини.
- 12) Референтні значення сечовини в сироватці і сечі.

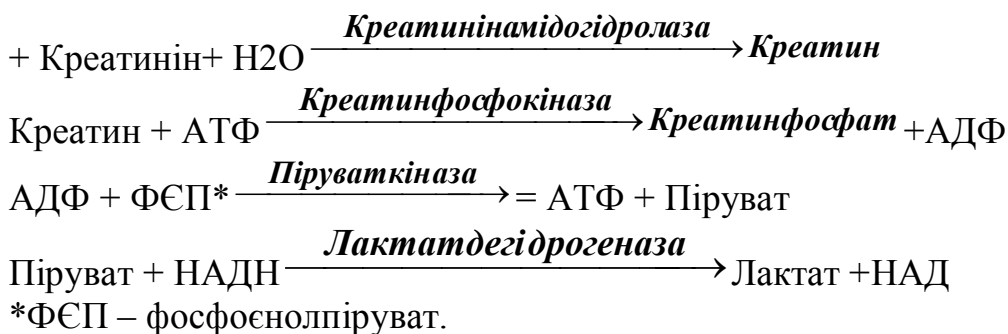
Креатинін/креатин. Креатин синтезується в печінці з аргініну, гліцину і метіоніну. У м'язах конвертується в креатинфосфат – макроерг для м'язових тканин. Креатинін утворюється як побічний продукт креатину і креатин фосфату:

- 1) креатин фосфат мінус фосфорна кислота = креатинін;
- 2) креатин мінус вода = креатинін.

Креатинін звільняється в кровообіг з постійною швидкістю, пропорційно м'язовій масі. Фільтрується клубочками і виводиться з сечею. Не піддається реабсорбції в нирках. Концентрація креатиніну в плазмі є функцією відносної м'язової маси, швидкості обороту креатину і функції нирок. Добова екскреція креатиніну досить стабільна, що дозволяє використовувати цей показник як дуже хороший тест для оцінки функції нирок. Вимірювання концентрації креатиніну використовують для оцінки функції нирок; ступеня тяжкості ушкодження нирок; контролю прогресування захворювання нирок. Для оцінки функції нирок визначають кліренс креатиніну – кількість креатиніну, елімінованого в одиницю часу нирками з крові. Концентрація креатиніну в плазмі обернено пропорційна кліренсу. Тому підвищення рівня креатиніну в плазмі відображає зниження швидкості фільтрації (ШКФ). ШКФ – обсяг плазми (V), фільтрованої клубочками в одиницю часу.

Методи визначення креатиніну включають:

- 1) **Реакція Яффе.** Найбільш частіше використовувана, була вперше описана в 1886 році. Креатинін реагує з пікриновою кислотою в лужному середовищі з утворенням червоно-оранжевого хромогену.
- 2) **Ферментативний метод.** Використання сполучених реакцій креатинкінази, піруваткінази і лактатдегідрогенази.



Референтні значення нормального діапазону креатиніну плазми відображено у табл. 1.5.2.

Таблиця 1.5.2 – Референтні інтервали креатиніну плазми або сироватки (мг/дл, мкмоль/л)

Популяція	Яффе	Ензиматичний
Жінки	0,6-1,1 (53-97)	0,5-0,8 (44-71)
Чоловіки	0,9-1,3 (80-115)	0,6-1,1 (53-97)
Діти	0,3-0,7 (27-62)	0-0,6 (0-53)

Креатин. Підвищується в плазмі та сечі при м'язовій дистрофії, гіпертиреозі і травмі. Аналіз зразків на вміст креатину здійснюють до і після нагрівання кислих розчинів зразків з використанням методу Яффе. Нагрівання перетворює креатин на креатинін, а різниця між двома зразками є концентрацією креатину.

Контрольні питання

- 1) Креатинін і креатин.
- 2) Чому креатинін крові використовують як маркер функціонального стану нирок?
- 3) Кліренс креатиніну.
- 4) Методи визначення креатиніну.

Сечова кислота. Подагра. Сечова кислота є кінцевим продуктом обміну пуринів (аденін/гуанін) у печінці людини. Сечова кислота транспортується в нирки і фільтрується (70%); 98% сечової кислоти первинної сечі реабсорбується в проксимальних канальцях, деяка частина секретується в дистальних канальцях. Із сечею виділяється 6-12% від вихідного вмісту в крові; 30% виділяється через шлунково-кишковий тракт. У плазмі сечова кислота присутня у вигляді мононатрію урату, який при рН плазми відносно нерозчинний. Концентрація сечової кислоти в плазмі $> 6,8$ мг/дл є насичувальна. В умовах насичення сечова кислота утворює кристали уратів, які утворюють осадки в тканинах. Вміст сечової кислоти визначають при: оцінці спадкових порушень метаболізму пуринів, підтвердження діагнозу та контролю лікування подагри, для надання допомоги в діагностиці природи ниркових каменів, для виявлення дисфункції нирок.

Подагра. В першу чергу хворіють чоловіки, початок захворювання 30-50 років. Маркер захворювання – концентрація сечової кислоти вище 6,0 мг/дл. Клінічно проявляється болем і запаленням суглобів внаслідок осадження кристалів уратів натрію в тканинах. Підвищений ризик – у 25-30% утворення ниркових каменів. Основний метод визначення сечової кислоти – ферментний. Уриказа (урат оксидаза) конвертує сечову кислоту в алантоїн. Далі використовують принцип диференціального поглинання: сечова кислота має пік поглинання при 293 нм, у той час як алантоїн в цій зоні не поглинає. Референтні значення; чоловіки – 0,5-7,2, жінки – 2.6-6.0 мг/дл.

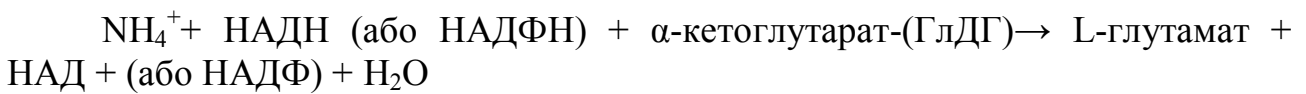
Контрольні питання

- 1) Сечова кислота продукт обміну.
- 2) За яких умов сечова кислота утворює осадження в тканинах?
- 3) Принцип кількісного визначення сечової кислоти в плазмі.
- 4) З якою метою призначається аналіз визначення концентрації сечової кислоти крові?

Амоній. Концентрація аміаку в крові становить від 11 до 78 ммоль/л. Основною причиною гіперамоніємії є гострі та хронічні захворювання печінки (гострий гепатит, гостра жирова дистрофія) або портосистемне шунтування (цироз печінки, хірургічні портосистемні шунти). Основна його кількість продукується в товстому кишечнику за участю мікрофлори, звідки аміак шляхом пасивної дифузії надходить у кров і в нормі піддається поглинанию печінкою при першому проходженні. Крім того, деяка кількість аміаку утворюється в нирках, тонкій кишці, м'язах. Утилізується він шляхом синтезу кінцевого продукту сечовини або нетоксичного глютаміну. Велика частина аміаку включається в сечовину в печінці за участю орнітину в циклі сечовини, інша частина – в глютамін у печінці, головному мозку та скелетних м'язах.

Лише в невеликій кількості аміак може виділятися у вигляді іона амонію з сечею і фекаліями, а також у газоподібному стані – з повітрям, що видихається через легені. У тканинах і рідинах аміак існує у вигляді іонів амонію NH_4^+ в рівновазі з невеликою концентрацією неіонізованого аміаку NH_3 . Аміак – токсична для організму людини речовина, особливо для головного мозку, шкідлива дія якого проявляється печінковою енцефалопатією, що представляє собою синдромокомплекс потенційно зворотних психічних і неврологічних змін. Коли порушення свідомості досягають тяжкого ступеня, використовують термін «печінкова кома».

Для визначення аміаку запропоновано ряд методів: ферментативний, з використанням іон селективних електродів, хроматографічний. Найбільш доступним і простим є *ферментативний метод*, який відрізняється високою точністю та специфічністю. Метод заснований на такій реакції:



Реакція відновного амінування α -кетоглутарової кислоти в глутамат у присутності ферменту глутаматдегідрогенази (ГлДГ) сполучена з окисненням НАДН (або НАДФН) до НАД (НАДФ) в еквівалентних кількостях. Зменшення поглинання НАДН, яке реєструється при 340 нм, прямо пропорційне концентрації аміаку в плазмі. Визначення рівня аміаку можна проводити в сечі, сироватці та плазмі венозній та артеріальній крові. У капілярній крові дослідження менш інформативне, оскільки вміст аміаку може підвищуватися за рахунок його виділення активованими тромбоцитами.

Контрольні питання

- 1) Джерела аміаку в крові.
- 2) Шляхи знешкодження аміаку в тканинах печінки, мозку, м'язах.
- 3) Методи визначення аміаку в КДЛ.

2. Система гемостазу. Гемостаз

Система гемостазу – біологічна система, що забезпечує, з одного боку, збереження рідкого стану циркулюючої крові, а з іншого, – попередження і зупинку кровотеч, шляхом формування твердої пробки. Цей комплекс реакцій називають гемостазом. Компоненти гемостазу: клітинні фактори – судини і тромбоцити; гуморальні фактори – білки плазми крові. Виконання завдань гемостазу забезпечують функціональні системи, які формуються компонентами гемостазу. Це тромбоцитарно-судинна система, або система первинного гемостазу; система згортання крові або вторинного гемостазу; система фізіологічних антикоагулянтів; система фібринолізу.

2.1 Первинний або тромбоцитарно-судинний гемостаз

2.1.1 Судини: роль у гемостазі

Первинний гемостаз реалізується в судинах, діаметр яких менше 200 мкм. Ці судини формують мікроваскулярне русло, представлене капілярами. Загальна довжина капілярів в організмі людини становить більше двох довжин екватора (більше 100000 км). З внутрішньої сторони стінки капілярів вистелені клітинами ендотелію, з'єднаними між собою "міжклітинним цементом». Залежно від функціонального стану ендотелій судинної стінки має анти- і прокоагулянтні властивості.

Антикоагулянтні властивості проявляє неушкоджений ендотелій завдяки його здатності синтезувати і постійно продукувати:

- потужний інгібітор активації тромбоцитів простациклін, оксид азоту (NO) – синергіст простацикліну;
- ендотеліни – фактори, що розширюють судини і сповільнюють швидкість кровотоку;
- тканинний активатор плазміногену (t-PA);
- 13-гідроксіоктадекадієнову кислоту (13-HODE) – інгібітор експресії рецепторів адгезії на поверхні ендотеліальних клітин;
- тромбомодулін (TM) – мембранний глікопротеїн, що зв'язує тромбін;
- гепарин – інгібітор тромбіну і реакцій його утворення;
- інгібітор серинових протеаз НЕКСІН.
- Ушкоджений ендотелій (травми, васкуліти, автоімунна патологія, гіпоксії, вірусні інфекції та ін.) проявляє прокоагулянтні властивості.

Прокоагулянтна активність ендотелію визначається:

- втратою, скиданням у кровотік тромбомодуліну;
- синтезом тканинного тромбопластину;
- синтезом і секрецією інгібітора тканинного активатора плазміногену (PAI-1);
- секрецією фактора Віллебранда – VIII: WF;
- колаген, що оголився при ушкодженні судинної стінки – потужний активатор тромбоцитів.

Фактор фон Віллебранда – глікопротеїн плазми крові, відіграє важливу роль у гемостазі. Фактор фон Віллебранда пов'язує субендотеліальний колагеновий матрикс і тромбоцитарний рецептор GP Ib-IX-V і, таким чином, забезпечує прикріплення тромбоцитів до ділянки ушкодженої судини. Крім цього, фактор фон Віллебранда є носієм фактора згортання крові VIII, стабілізує його структуру і доставляє до місця ушкодження.

2.1.2 Тромбоцити, роль у гемостазі

Тромбоцити утворюються в червоному кістковому мозку гігантськими поліплоїдними клітинами – мегакаріоцитами, від цитоплазми яких вони відщеплюються у вигляді округлих або овальних плоских дисків діаметром від 2 до 4 мкм. Тривалість життя тромбоцитів людини складає 7-10 днів. Після виходу з кісткового мозку вони циркулюють у крові і частково депонуються в селезінці та печінці (близько 20-25% усіх клітин), звідки походить їх вторинний вихід у кровообіг. У крові здорових людей міститься $170-350 \times 10^9/\text{л}$

тромбоцитів. Зменшення кількості тромбоцитів до $80 \times 10^9/\text{л}$ сприяє появі кровоточивості, ризик якої різко зростає при рівні нижче $20 \times 10^9/\text{л}$, а збільшення вище $800 \times 10^9/\text{л}$ створює загрозу розвитку тромбозів. Участь тромбоцитів у гемостазі визначається такими притаманними їм функціями: ангіотрофічна – здатністю підтримувати нормальну структуру і функцію стінок мікросудин, в тому числі життєздатність і репарацію ендотеліальних клітин; здатністю підтримувати спазм ушкоджених судин шляхом секреції (вивільнення) вазоактивних речовин – серотоніну, катехоламінів, що містяться в щільних гранулах тромбоцитів; здатністю утворювати в місці ушкодження судини тромбоцитарної пробки, що забезпечується процесами адгезії до субендотелію окремих клітин та агрегатів; участю тромбоцитарних факторів у процесі згортання крові та регуляції фібринолізу; стимуляцією процесу репарації судинної стінки в місці її ушкодження фактором зростання тромбоцитів (ФЗТ) – цитокіном, стимулюючим розмноження і переміщення гладком'язових клітин та ендотелію, утворення колагену.

Тромбоцити – без'ядерні клітини, в гіалоплазмі яких міститься два типи гранул, вміст яких відображено у табл. 2.1.1.

Таблиця 2.1.1 – Компоненти гранул тромбоцитів

δ-гранули (електронно-щільні)	α-гранули	
	Компонент (Р)	Функція
АДФ – активація тромбоцитів	Тромбоцитарний фактор росту	Репарація за рахунок активації ділення фібробластів
	Трансформуючий фактор росту β (ТФР-β)	Контроль репарації тканин
Ca ²⁺ - активація тромбоцитів	Тромбоцитарний фактор 4 (ТФ4)	Нейтралізація гепарину
Mg ²⁺ –активація тромбоцитів	β-тромбоглобулін (β-ТГ)	Запалення, репарація тканини
	Фактор Віллебранда (ФВ)	Адгезія тромбоцитів, носій ф. VIII
	Тромбоспондіни (TSP-1, TSP- 2)*	Адгезія та агрегація тромбоцитів
Серотонін – дилатація артеріол	Фібриноген	Згортання крові, адгезія та агрегація тромбоцитів
	Фактор V	Згортання крові

Адреналін – спазм ушкодженої судини	Протеїн S	Антикоагулянт
ДОФА спазм ушкодженої судини	Альбумін	Зв'язування гормонів, токсинів, ліків
	Імуноглобуліни	Регуляція імунної відповіді

*Тромбоспондин (TSP-1) – глікопротеїд з м.м. 165 кДа. Найбільша кількість TSP-1 представлена в α -гранулах тромбоцитів і секретується в плазму у відповідь на їх активацію гормонами і цитокінами. Відомо безліч біологічних реакцій, ініційованих TSP-1: ангиогенез, апоптоз, регуляція імунної відповіді. TSP-1 утворює комплекси з колагеном, гепарином, опосередковує адгезію тромбоцитів до субендотелія.

**Тромбоспондин-2 (TSP-2) – білок сімейства тромбоспондинів з м.м. 150 кДа. Аналогічно TSP-1, він викликає безліч біологічних реакцій: проліферацію, агрегацію, клітинну рухливість, ангиогенез, загоєння ран. TSP-2 регулює формування колагенового матриксу, впливаючи на функцію фібробластів. Також TSP-2 забезпечує взаємодію клітин з екстрацелюлярним матриксом, що можна віднести до його основної функції.

З усіх перерахованих факторів специфічними для гранул тромбоцитів є два: TФ4 – антигепариновий фактор, і β -тромбоглобулін, визначення яких у плазмі крові використовують як ранні надійні маркери активації тромбоцитів. Регуляція функцій тромбоцитів здійснюється як і всіх клітин організму, шляхом взаємодії сигнальних молекул (лігандів) з рецепторами їх мембран – глікопротеїдами (табл. 2.1.2).

Таблиця 2.1.2 – Рецептори тромбоцитів та їх ліганди

Рецептор	Ліганди	
	Первинні	Вторинні
GP IIb-IIIa	Фібриноген	Фактор Віллебранда, фібронектин, вітронектин, фібриноген
GP Ib-IX	Фактор Віллебранда	Тромбін
GP Ia-IIa	Колаген	
GP Ic-IIa	Фібронектин *	
Рецептор вітронектину	Вітронектин **	Тромбоспондин

* Фібронектин (ФН) – глікопротеїн з високою м.м., що складається з двох практично ідентичних поліпептидних ланцюгів (кожна по 220 кДа). Він

синтезується і секретується печінкою, нормальна концентрація циркулюючого ФН в кровотоці становить приблизно 330 мкг/мл плазми. ФН належить до сімейства адгезивних білків позаклітинного матриксу. Димерна структура дозволяє йому функціонувати як молекулярний клей, що з'єднує різні молекули завдяки його зв'язуючим доменам, що зв'язують. Плазмовий ФН виконує важливу роль у запальних, регенеративних процесах і механізмах гемостазу.

** Вітронектин (ВН) – поліфункціональний глікопротеїн (м.м. 78 кДа), компонент крові та позаклітинного матриксу, виконує функції, аналогічні ФН. ВН синтезується в печінці, нормальна концентрація в плазмі складає 250-450 мкг/мл. ВН взаємодіє з комплементом, гепарином, комплексом тромбін-антитромбін.

Фізіологічна активація тромбоцитів ініціюється тільки при ушкодженні судинного ендотелію й оголенні субендотеліального позаклітинного матриксу. Першою ініціюється адгезія тромбоцитів. З рецептором GP Ib-IX специфічно зв'язується фактор Віллебранда, який другою ділянкою зв'язується з GP Ib-IIIa тромбоцитарної мембрани. Субендотеліальний колаген зв'язується з мембранним рецептором GP Ia-IIa. Адгезія ініціює активацію тромбоцитів, яка виражається в істотній зміні їх форми, незворотній дегрануляції α -гранул, агрегації тромбоцитів з утворенням гемостатичної тромбоцитарної пробки.

Активація тромбоцитів призводить до конформаційних змін GP Ib-IIIa, з яким пов'язується фібриноген, та утворює містки між тромбоцитами, формуючи агрегати. Комплекс ліганд-рецептор ініціює трансдукцію сигналу в клітині з утворенням других посередників (месенджерів): діацилгліцеролу (ДАГ), інозитолтрифосфату (ІФ3) і підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} . Другі посередники активують відповідні протеїнкінази, які ініціюють реакції фосфорилювання/дефосфорилювання і зміну метаболізму тромбоцитів. У мембранах активованих тромбоцитів з арахідонової кислоти синтезується і надходить у мікрооточення тромбоксан A₂ і фактор активації тромбоцитів (ФАТ). Обидві сполуки є потужними активаторами тромбоцитів та їх агрегації. Звільнення з гранул факторів вторинного гемостазу визначає локальне утворення тромбіну і формування ниток фібрину на поверхні агрегатів тромбоцитів, що адгезуються. Процес формування первинного тромбу, пробки в місці ушкодження судини, займає проміжок часу від 30 секунд до 3 хвилин.

В умовах норми процес "установки латок" на судинах мікроциркуляторного русла здійснюється постійно, але маркери активації тромбоцитарно-судинного гемостазу в кровотоці не визначаються, оскільки процес активації носить локальний характер, обумовлений нейтралізуючою дією антикоагулянтних факторів неушкодженого ендотелію. Мембрани активованих тромбоцитів, пластинковий фактор 3 (Зпф) виконують функцію фосфоліпідної матриці, обов'язкової складової молекулярної машини активації гуморальних факторів внутрішнього і загального шляху згортання крові. Тромбоцити забезпечують поверхні для збірки та активації комплексів згортання й генерації тромбіну. Тромбін перетворює фібриноген у фібрин. Нитки фібрину пов'язують агреговані тромбоцити, забезпечуючи формування гемостатичного тромбу, який не змивається потоком крові. Отже, для реалізації

первинного гемостазу необхідні субендотелій стінки судин, тромбоцити та два глікопротеїни плазми: фібриноген і фактор Віллебранда, які також представлені в тромбоцитах. У нормі кровотеча з дрібних судин припиняється не більше ніж через 5 хвилин.

Контрольні питання

- 1) Роль ендотелію судин у гемостазі: про- та антикоагулянтні властивості ендотелію судин.
- 2) Що являють собою тромбоцити?
- 3) Склад гранул тромбоцитів.
- 4) Рецептори тромбоцитів та їхня функція.
- 5) Назвіть ліганди рецепторів тромбоцитів.
- 6) Послідовність формування тромбоцитарного тромбу.
- 7) Зворотні та незворотні реакції при утворенні первинного тромбу.
- 8) Первинний гемостаз – це що, назвіть складові тромбоцитарно-судинного гемостазу?

2.2 Вторинний або коагуляційний гемостаз

Постійна гемостатична пробка, вторинний тромб, формується при утворенні тромбіну в процесі активації каскаду зсідання крові. Тромбін відіграє визначальну роль у виникненні, зростанні та локалізації тромбу. Він викликає необоротну агрегацію тромбоцитів і відкладення фібрину на тромбоцитарних агрегатах у місці судинної травми. Фібрин-тромбоцитарна сіточка є морфологічним бар'єром, який запобігає витіканню крові із судини та ініціює процес репарації тканини. Активація системи згортання крові – приклад каскаду посилення сигналу з одночасною активацією та інгібуванням багатьох ферментів. Це біологічний каскад взаємозв'язаних реакцій, що протікають у складі комплексів на поверхні фосфоліпідних мембран при участі протеолітичних ферментів та їх кофакторів.

Фосфоліпідна мембрана виконує функцію матриці, що забезпечує зближення, необхідну орієнтацію та оптимальне співвідношення фермент/субстрат/кофактор і, як наслідок, прискорення реакції активації на 4-6 порядків в порівнянні зі швидкістю її протікання в розчині. На кожному ступені каскаду попередник (профермент, неактивний фактор, субстрат) перетворюється на відповідну серинову протеазу, яка каталізує перетворення наступного проферменту (свого субстрату) у серинову протеазу, наступну в каскаді згортання. На цій підставі систему згортання крові називають каскадно-комплексною з посиленням сигналу на виході.

2.2.1 Компоненти вторинного гемостазу

При ушкодженні крупних кровоносних судин зупинка кровотечі здійснюється активацією коагуляційного або вторинного гемостазу. В реакціях коагуляції беруть участь проферменти, кофактори, фосфоліпіди, іони кальцію. Більшість білків, що беруть участь у коагуляції, є проферменти (позначаються римськими цифрами). Їх активація здійснюється з використанням принципів

молекулярної машини шляхом обмеженого протеолізу в складі комплексів, що включають фосфоліпіди (матриця), профермент, кофактор і фермент, іони Ca^{2+} .

2.2.1.1 Плазмові фактори

Особливість плазмових факторів – у фізіологічних умовах циркулюють у крові як проферменти. При ініціації згортання крові послідовно активуються у ферменти з утворення активного тромбіну та нерозчинного фібрину.

1) I, фібриноген – попередник фібрину.

2) II, протромбін – попередник тромбіну, який конвертує фібриноген у фібрин, активує фактори V, VIII, XI та XIII, зв'язується з тромбомодуліном для активації протеїну C. Вітамін K-залежний.

3) V – проакцелерін. Активується у фактор Va – кофактор ферменту Xa , який у комплексі Xa/Va/фосфоліпіди конвертує протромбін в тромбін. Присутній в α -гранулах тромбоцитів. Фактор Va інактивується активованим протеїном C в комплексі з білком S. Вітамін K-залежний.

4) VII – проконвертин. Зв'язується з тканинним фактором (TF) і конвертується в активну форму. Комплекс VIIa/TF активує IX та X фактори. Вітамін K-залежний.

5) VIII – антигемофільний глобулін. В активній формі VIIIa виконує роль кофактора ферменту IXa. Комплекс IXa/VIIIa/фосфоліпіди активує фактор X. Фактор VIIIa інактивується активованим протеїном C в комплексі з білком S (як фактор Va). Це великий білок кофактор (як фактор V). Циркулює в плазмі пов'язаним з мультимером фактора Віллебранда.

6) IX – Кристмас-фактор, антигемофільний фактор B, плазмовий компонент тромбопластину. Активна форма фактора IXa, як фермент він включається в комплекс IXa/VIIIa/фосфоліпід, активуючий фактор X. Вітамін K-залежний.

7) X – фактор Стюарта-Прауера. Активна форма фактора Xa, який є ферментом, у складі комплексу Xa/Va/фосфоліпід розщеплює протромбін до тромбіну. Вітамін K-залежний.

8) XI – плазмовий попередник тромбопластину. Активна форма фактора XIa, який активує фактор IX, в реакції потрібні іони Ca^{2+} .

9) Прекалікреїн – фактор Флетчера. Активується фактором XIIa в каллікреїн. Як каллікреїн каталізує подальшу активацію фактора XII у фактор XIIa. Циркулює як макромолекулярний комплекс із ВМК.

10) Високомолекулярний кініноген (ВМК) – фактор Фіцджеральда-Фложе. Циркулює як бімолекулярний комплекс з прекалікреїном. Кофактор контактної активації каллікреїну й активації фактора XII, необхідний кофактор XIIa в активації XI, попередник брадикініну, потужного судинорозширювача та індуктора скорочення гладеньких м'язів.

11) XII – фактор Хагемуна. Активується на контактній поверхні у фактор XIIa, активує прекалікреїн в каллікреїн і фактор XI у фактор XIa – тригери внутрішнього шляху згортання крові *in vitro*.

12) XIII – фібринстабілізуючий фактор (фібриназа). При активації тромбіном каталізує утворення пептидних зв'язків між сусідніми мономерами фібрину, що сприяє зміцненню і стабілізації фібринового згустка.

13) Протеїн С. Активується тромбіном, пов'язаним із тромбомодуліном, у присутності білка S і фосфоліпідів як кофакторів, розщеплює VIIIa і Va, перешкоджаючи, таким чином, утворенню тромбіну. Вітамін K-залежний.

14) Протеїн S. Циркулює в плазмі як вільний білок S і як білок S, пов'язаний з C4b – білком системи комплементу. Функціонує у вільній формі і як кофактор активованого протеїну С. Вітамін K-залежний.

15) Протеїн Z. Не має ферментативної активності, структурно пов'язаний з карбоксиглутаматними залишками декількох серинових протеаз каскаду згортання: фактори VII, IX і X (які вимагають вітамін K). Мабуть, основна роль білка Z – деградація фактора Xa. Білок Z пов'язує інгібітор протеази Xa фактора. Дані про роль у гемостазі суперечливі.

16) Тромбомодулін (ТМ). Поверхневий глікопротеїн ендотеліальних клітин, пов'язує тромбін; у комплексі тромбін-ТМ тромбін втрачає активність, але пов'язується з протеїном С і активує його.

2.2.1.2 Фосфоліпідні фактори

Тканинний фактор (TF) або тканинний тромбопластин. Це ліпопротеїд, який конститутивно присутній на мембрані клітин певних тканин, у тому числі периваскулярних фібробластів, клітинах граничного епітелію (наприклад, в епітеліальних клітинах шкіри, амніону, ШКТ, а також гліальних клітинах нервової системи). При патологічних станах може експресуватись на активованих моноцитах, макрофагах та активованому ендотелії судин. Присутній на деяких пухлинних клітинах. Пов'язує фактор VII, який ініціює зовнішній шлях згортання.

Прокоагулянтні фосфоліпіди – кислі фосфоліпіди (в першу чергу фосфатиділсерин), представлені на поверхні активованих тромбоцитів та інших клітин тканин. Є складовою частиною комплексів IXa/VIIIa/фосфоліпід – активатора фактора X і Xa/Va/фосфоліпід – активатора протромбіну. Функціонують як ліпідна частина тканинного тромбопластину.

2.2.2 Реакції зовнішнього шляху активації коагуляційного гемостазу

Зовнішній шлях (extrinsic pathway) згортання крові ініціюється ушкодженням судини, контактом фактора VII з фосфоліпідною мембраною клітин тканини ушкодженої судини – з тканинним фактором (TF, III фактор).

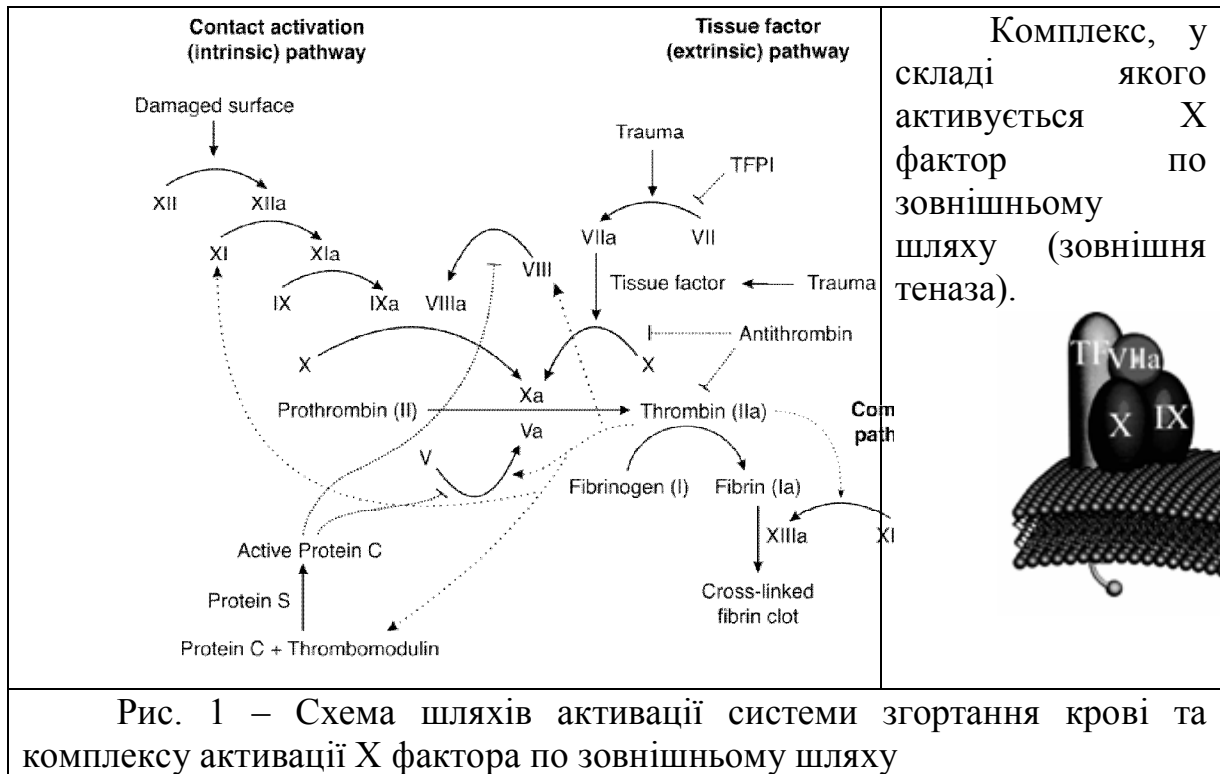


Схема послідовності реакцій зовнішнього шляху згортання відображена на рис. 1. На поверхні TF за участю іонів Ca^{2+} формується комплекс TF/VIIa/X/IX, у складі якого безпосередньо активується X в Xa і IX в IXa (рис. 1). Одночасно із зовнішнім шляхом активації Xa ініціюється активація внутрішнього шляху.

2.2.3 Реакції внутрішнього шляху активації коагуляційного гемостазу

Внутрішнім шлях (intrinsic pathway) названий тому, що тригером його активації є початкове присутній у крові фактор (рис. 1). Внутрішній шлях включає VIII, IX, X, XI та XII фактори згортання крові, прекалікреїн (ПК) і ВМК, а також іони кальцію. Кожна з цих складових шляху необхідна для перетворення фактора X у фактор Xa.

В даний час розглядаються три моделі ініціації активації внутрішнього шляху. У відповідності з першою моделлю, реакції контактної фази активації внутрішнього шляху включають контакт прекалікреїну, ВМК, фактора XI і XII з негативно зарядженою поверхнею фосфоліпідів циркулюючих хіломікронів, ЛДНЦ та окисленими ЛПНЦ.

При контакті плазми з негативно зарядженою поверхнею ліпідів XII фактор пов'язується з нею і автоактивується в XIIa. Фактор XIIa потім активує прекалікреїн в каллікреїн. Каллікреїн взаємно активує фактор XII. Реальна поверхня, що визначає автоактивацію фактора XIIa, невідома, однак цей процес підтримують гемутиг, жирні кислоти, кристали уратів, протопорфирин, гепарин, хондроїтин сульфати суглобового хряща, ендотоксин, L-гомоцистеїн і β -амілоїдні білки. Контактна активація каллікреїнової системи ініціює наступну фазу активації внутрішнього шляху. Активована молекула фактора Хагемуна (XIIa) перетворює фактор XI в XIa. У цій реакції бере участь каллікреїн, який

також активується фактором XIa. У свою чергу, фактор XIa активує фактор IX. Фактор IXa формує комплекс на *фосфоліпідних мембранах активних тромбоцитів*, який включає фермент Xa, кофактор VIIa, субстрат – X фактор – внутрішня теназа. Внутрішня теназа (рис. 2) в 50-100 разів активніше зовнішньої.



Рис. 2 – Комплекс активації X фактора по внутрішньому шляху (внутрішня теназа). У складі комплексу ендопептидаза IXa перетворює фактор X в його активовану форму.

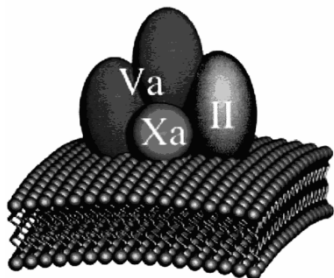
Відповідно з другою моделлю, першою реакцією внутрішнього шляху є контактна активація XIIa. Друга модель згортання крові розглядає участь ВМК та прекалікреїну в активації не згортання крові, а фібринолізу.

Відповідно до третьої моделі активація XI фактора здійснюється тромбіном, який утворюється при активації зовнішнього шляху.

2.2.4 Реакції загального шляху активації коагуляційного гемостазу

Утворення Xa (зовнішній та внутрішній шляхи) індукує збірку наступного у каскаді комплексу – фермент Xa, кофермент – Va, субстрат – фактор II, фосфоліпідна матриця – мембрани активованих тромбоцитів, іони Ca^{2+} (рис. 3). Продукт цього комплексу – тромбін.

Рис. 3 – Комплекс активації II фактора, протромбіна.



У сучасній моделі згортання крові підкреслюється той факт, що для активації X фактора по зовнішньому шляху *необхідні фосфоліпиди клітинних мембран*, тканинний фактор; комплекс Xa/Va/II/ формується тільки на *мембранах активованих тромбоцитів*, тобто тромбоцитарному тромбопластині. Час утворення тромбіну за зовнішнім шляхом – до 5 секунд. Слідові кількості тромбіну як серинової протеази з відносною субстратною специфічністю активують шляхом обмеженого протеолізу коферменти V і VIII; проферменти XI, IX і XIII.

У початковому періоді активації згортання крові тромбін утворюється з відносно низькою швидкістю, потім у процесі настає перелом, і його швидкість різко зростає. Відповідно, в утворенні тромбіну виділяють дві фази – ініціації і поширення (тромбіновий спалах). Причому ці фази забезпечуються різними факторами й регулюються різними інгібіторами. Фаза ініціації забезпечується теназою зовнішнього шляху, а її основним регулятором є інгібітор шляху тканинного фактора. Фаза поширення забезпечується теназою внутрішнього шляху, її основними регуляторами є антитромбін III і протеїн C.

При згортанні крові *in vitro* утворення фібрину (згустка) відбувається приблизно в точці переходу фази ініціації у фазу поширення, коли кількість

утвореного тромбіну складає ~ 5% від максимального. Додатковий тромбін, який утворюється вже після згортання фібриногену, відіграє важливу роль у стабілізації тромбів. Дефіцит факторів VIII і IX (гемофілія А або В), що визначають фазу поширення утворення тромбіну, пов'язаний із кровоточивістю, а дефіцит інгібіторів, що обмежують дію антитромбіну III або системи протеїну С, підвищує ризик тромбозів.

Перетворення фібриногену у фібрин. Специфічним субстратом тромбіну є фібриноген. Це глікопротеїн з м.м. 340 кДа. Циркулює в плазмі в концентрації ~ 2-4г/л, період напіврозпаду 4 дні, швидкість катаболізму ~ 25%. Молекула фібриногену – гексамери, що складається з трьох парних поліпептидних ланцюгів (A α , B β , γ). Синтезується в гепатоцитах під контролем трьох різних генів.

Фібриноген має доменну структуру: центральний E-домен (N-кінці трьох поліпептидів) і два D-доменів (C-кінці трьох поліпептидів). Фібриноген – субстрат для утворення згустка фібрину; забезпечує агрегацію та адгезію тромбоцитів; відіграє важливу роль в загоєнні ран. У молекулі фібриногену є сайти зв'язування тромбіну, фактора XIII, тканинного активатора плазміну (ТАП), α 2-антиплазміну і сайт зв'язування тромбоцитів. Тромбін, зв'язуючись з фібриногеном, відщеплює з N-кінця 2A і 2B пептиди, залишок молекули – фібрин мономери. Фібрин мономери спонтанно полімеризуються шляхом комплементарного нековалентно зв'язування D-домену (γ ланцюга) однієї молекули з центральним E-доменом (α - і β -) сусідніх фібрин мономерів, формуючи фібринову мережу як за рахунок поздовжніх, так і суміжних комплементарних взаємодій. Продукт спонтанної полімеризації фібрин мономерів – розчинний фібрин. Фактор XIIIа каталізує утворення ковалентних пептидних зв'язків між γ - γ , γ - α та α - α ланцюгами. Продукт цієї реакції – нерозчинний фібрин – основа постійного тромбу. Клітинною складовою тромбу є тромбоцити. Вони залучені в тромб, оскільки генерація тромбіну відбувається на тромбоцитах і фібрин має сайти зв'язування тромбоцитів. Тромб закриває місце ушкодження судини. Формування тромбу по зовнішньому шляху займає 12-20 секунд, по внутрішньому – 4-10 хвилин. Згусток фібрину, що утворився, стискається, ретрагує. Ретракція тромбу забезпечується скорочувальним білком тромбоцитів тромбостеніном і залежить від концентрації фібриногену. Ступінь ретракції визначає гемостатичні властивості тромбу. Вже через 2 – 3 години згусток стискається до 25-50% від свого початкового обсягу.

Контрольні питання

- 1) Назвіть компоненти, що беруть участь у вторинному гемостазі.
- 2) Зовнішній шлях утворення тромбіну.
- 3) Внутрішній шлях утворення тромбіну.
- 4) Яка роль фосфоліпідних мембран в активації вторинного гемостазу?
- 5) Назвіть склад комплексів, утворення яких забезпечує активацію системи згортання крові.
- 6) Фази згортання крові і фактори, що приймають у них участь.
- 7) Послідовність реакцій перетворення фібриногену у фібрин під дією тромбіну та фібрин стабілізуючого фактора.

2.3 Система фізіологічних антикоагулянтів

Коагуляційний потенціал крові надзвичайно високий. Рідкий стан крові забезпечується балансом факторів системи згортання крові/система фізіологічних антикоагулянтів + система фібринолізу. Життєво важливо, щоб формування гемостатичного тромбу обмежувалося тільки областю ушкодженої судини. В умовах норми це досягається одночасним включенням як механізмів активації згортання крові, так і його блокування. Плазмові фактори, що попереджують та обмежують процес згортання крові, називають антикоагулянтами. Їх сукупність формує систему антикоагулянтів.

Одна група антикоагулянтів завжди присутня в крові (первинні антикоагулянти), інші утворюються як продукти процесу згортання крові (вторинні антикоагулянти). Первинні антикоагулянти включають інгібітор шляху тканинного фактора, систему протеїну С і антитромбін III.

Інгібітор шляху тканинного фактора (TFPI). TFPI – головний інгібітор, блокуючий гіперактивацію системи гемостазу при підвищених концентраціях тканинного фактора (фактор III, TF). TFPI циркулює в плазмі у вигляді комплексу з ліпопротеїдами низької та високої щільності. Близько 10% TFPI знаходиться в тромбоцитах, при активації їх тромбіном TFPI вивільняється в плазму. Тому при агрегації тромбоцитів рівень TFPI підвищується. TFPI інгібує активацію VII і X факторів. Крім того, завдяки властивостям С-кінцевого фрагмента TFPI з високим ступенем афінності взаємодіє з гепарином, що дозволяє йому додатково ефективно інгібувати фактор Ха.

Система протеїну С. Головний інгібітор процесів коагуляції по внутрішньому шляху – система протеїну С, в яку входять: протеїн С, тромбомодулін на мембранах ендотелію капілярів і протеїн S. Протеїн С – глікопротеїн з м.м. 62 кДа. К-залежний синтез протеїну С у вигляді зимогену здійснюється в гепатоцитах. Концентрація у здорової людини становить 230 ± 140 нг/мл. Приблизно у 10% пацієнтів, схильних до тромбозів, концентрація протеїну С значно знижена. Спадковий гетерозиготний дефіцит протеїну С асоційований з підвищеним ризиком тромбозу вен, а загальна гомозиготна недостатність цього білка виявлена у новонароджених із швидкоплинною формою геморагічного васкуліту – хвороби Шенлейна-Геноха.

Реалізується антикоагулянтна активність системи протеїну С таким чином. При утворенні тромбіну в системі капілярів він з високим ступенем афінності зв'язується тромбомодуліном, втрачає прокоагулянтну активність і набуває здатність пов'язувати зимоген протеїну С та активувати його. Кофактор ферменту протеїну С – протеїн S, специфічні субстрати – фактори Va і VIIIa. Розщеплення VIIIa критично знижує активацію Ха по внутрішньому шляху, а протеоліз Va – генерацію тромбіну з протромбіну. Активований протеїн С розщеплює інгібітори тканинного активатора плазміногену (ПАІ-1), сприяючи таким чином активації плазміногену (профібринолітична дія протеїну С).

Протеїн S – глікопротеїн, синтезується печінкою, вітамін К-залежний механізм синтезу. У нормі протеїн S в плазмі представлений двома формами: вільною (близько 40% від загальної кількості) і в комплексі з фрагментом

комплементу C4b. Кофактором протеїну C при протеолізі Va і VIIIa є тільки вільна форма протеїну S. Дефіцит протеїнів C і S може бути вродженим і набутиим. Набутий дефіцит білків спостерігається при захворюваннях печінки, ДВЗ синдромі, дефіциті вітаміну K, лікуванні кумаринами, септичному шоку та хіміотерапії. Найпоширенішим симптоматичним проявом дефіциту протеїнів C і S є тромбоз глибоких вен, легенева емболія, втрати плоду.

Антитромбін III (АТ-III). АТ-III – альфа 2-глобулін з м.м. 58 кДа. У нормі рівень АТ-III в плазмі становить 50-150 мкг/мл (50-150%). АТ-III утворює неактивні комплекси з активованими факторами згортання, що відносяться до серинових протеаз, за винятком фактора VII. Його активність різко збільшується при взаємодії з гепарином на поверхні ендотелію. Зв'язування антитромбіну III з гепарином на 3 порядки підвищує швидкість інгібування активних факторів згортання. У кровоносних судинах активація антитромбіну III забезпечується глікопротеїдами люмінальної поверхні ендотелію, що містять гепарансульфат. Зв'язування антитромбіну з цими структурами є одним із механізмів, що забезпечують антитромботичні властивості ендотелію. Недолік функціональної активності АТ-III призводить до тромботичних ускладнень.

Вторинні антикоагулянти. Вторинними антикоагулянтами є похідні взаємодії фібрин-мономерів, пептидів А і В з фібриногеном, так звані розчинні комплекси фібрин-мономерів (РКМФ). Ці комплекси блокують дію тромбіну на фібриноген і полімеризацію фібрин-мономерів, обмежуючи, таким чином, утворення фібрину. Антикоагулянтну дію мають і продукти деградації фібрину (ПДФ) плазміном. Патологічний вплив ПДФ включає антитромбінову активність, перешкоди при полімеризації мономерів фібрину, блокування активності тромбоцитів.

Контрольні питання

- 1) Дайте визначення поняттю «антикоагулянти».
- 2) Первинні та вторинні антикоагулянти.
- 3) Перерахуйте системи фізіологічних антикоагулянтів.
- 4) Механізм антикоагулянтної дії TFPI.
- 5) Склад та механізм дії системи протеїну C.
- 6) Клінічні прояви вродженого або набутого дефіциту системи протеїну C.
- 7) Антитромбін III, механізм дії.
- 8) РКМФ та ПДФ – вторинні антикоагулянти. Утворення вторинних антикоагулянтів та механізм дії.

2.4 Плазмінова (фібринолітична) система, функції в гемостазі

Тромб – тимчасова тканина, функція якої попередження втрати крові з ушкодженої судини і репарація стінки судини. У міру виконання свого призначення тромб підлягає обов'язковому видаленню для відновлення нормального кровотоку в тканині. Система, що здійснює фізіологічний лізис тромбу і попереджує їх формування в кровоносних судинах у нормі, називається плазміновою або фібринолітичною. Компонентами плазмінової системи є плазміноген (профібринолізин), плазмові та тканинні активатори

плазміногену, інгібітори активаторів плазміногену, інгібітори плазміну. Центральною ланкою плазмінової системи є плазмін, який в циркулює в крові у вигляді зимогену плазміногену.

Плазміноген та шляхи його активації. Плазміноген – неактивний попередник плазміну. Це глікопротеїн, синтезується в печінці. Нормальна концентрація плазміногену в плазмі приблизно 200 мкг/мл, період напіввиведення білка – 2,2 дня. Плазміноген характеризується високою афінністю до фібрину. При утворенні фібрину плазміноген негайно зв'язується з ними. У нормі активація плазміногену в плазмін здійснюється на поверхні його субстрату – фібрину, шляхом обмеженого протеолізу. Активатори плазміногену – серинові протеази. Залежно від джерела активаторів розрізняють такі шляхи активації плазміногену: внутрішній, зовнішній, екзогенний.

Активація по внутрішньому шляху індукується комплексом факторів контактної фази згортання: каллікреїн, XIIa, ВМК (табл. 2.4.1)

Тригером активації плазміногену за зовнішнім шляхом служить тканинний активатор плазміногену (ТАП, tPA), джерелом якого є ендотелій мікросудинного русла і тромбоцити.

Екзогенний шлях активації плазміногену здійснюється фармакологічними препаратами, призначеними з метою лізису тромбів при тромбозах (табл. 2.4.1).

Таблиця 2.4.1 – Активатори та інгібітори плазмінової системи

Внутрішня активація	Зовнішня активація	Інгібітори	Стимулятори ПАІ-1
Ф XIIa, XIa, ПК, ВМК	Тканинний активатор плазміну (ТАП)	ІАП-1	Тромбін, ТФР-β, ІЛ-1, ФНО-α, глюкокортикоїди, ендотоксини
	Урокіназа одноланцюгова		
Плазміноген	Плазмін	α2-антиплазмін α2-макроглобулін α1-антитрипсин Антитромбін III C1-інгібітор	
Фізіологічна активація	Урокіназа двохланцюгова	ІАП -1, ІАП-2	Інгібітор ІАП-1
Стрептокіназа, стафілокіназа, Антистреплаза	Фібриноген, фібрин	ПДФ (фібрину и фібриногену)	Активованний протеїн С

Інгібітори плазмінової системи. Головний природний інгібітор плазміну – глікопротеїн α2-антиплазмін. Інгібітор пов'язує вільний плазмін у плазмі (нейтралізація плазміну); пригнічує зовнішній шлях активації плазміногену –

активність калікреїну плазми і активність серинових протеаз XIIa, XIa, Pa і Xa. Зниження активності α 2-антиплазміну спостерігають при важких гепатитах, цирозі печінки, хронічних тонзилітах, ДВЗ синдромі, тромболітичній терапії стрептокіназою. Підвищення концентрації α 2-антиплазміну в крові можливо у хворих на цукровий діабет, що перенесли стрептококову інфекцію, у осіб зі злоякісними новоутвореннями, гострими тромбозами, після оперативних втручань.

Другий природний інгібітор плазмінової системи – глікопротеїн плазми α 2-макроглобулін. Інгібує плазмін та активні компоненти згортання.

Третій найважливіший природний інгібітор плазмінової система системи α 1-антитрипсин. Інактивує плазмін повільно, але не пов'язує його поки ним насичені α 2-антиплазмін та α 2-макроглобулін. Пригнічує згортання, надаючи потужну інгібуючу дію на фактор XIa.

Контроль активності ТАП здійснює система інгібіторів тканинного активатора плазміну (ПАІ). Найпотужніший з цієї групи ПАІ-1, відомий як ендотеліальний інгібітор активатора плазміногену або серпін E1. Попереджує активацію плазміну як за зовнішнім, так і внутрішнім шляхом. Інші інгібітори фібринолізу: антитромбін III, який інгібує фібриноліз шляхом інгібування плазміну та калікреїну; інгібує плазмін і C1 інактиватор системи комплементу (табл. 2.4.1).

Деградація фібрину плазміном. Плазміноген є частиною будь-якого згустка, оскільки специфічно зв'язується нитками фібрину. Незалежно від шляху активації плазміногену в нормі плазмін утворюється в згустка, поступово розчиняє тромб, залишаючи час для відновлення тканин. Вільний плазмін, який надходить в плазму, негайно зв'язується антиплазміном та інактивується. При патологічних процесах коагуляції вільний плазмін циркулює в плазмі. У цій ситуації наявні антиплазміни виснажуються і плазмін здійснює протеоліз, крім фібрину фібриногену, факторів V, VIII. У процесі деградації фібрину та фібриногену плазміном утворюються специфічні фрагменти їх молекул, які називаються продуктами деградації фібрину (фібриногену) – ПДФ. Ці продукти розпаду видаляються ретикулоендотеліальною системою та іншими органами. При реакціях деградації фібрину (фібриногену) плазміном послідовно утворюються фрагменти: X, Y, D (DD димер) та E. Фрагменти X і Y називаються ранніми продуктами розпаду; фрагменти D і E – пізніми продуктами розпаду. Фрагмент X утворюється першим і є найбільшим фрагментом (м.м. 250 кДа). Фрагмент X – результат розщеплення плазміном кінцевої частини альфа (α) ланцюгів у полімері фібрину. Фрагмент X розщеплюється плазміном з утворенням двох фрагментів, званих Y (YY), і проміжного комплексу (DXD). Цей комплекс при подальшому розщепленні утворює проміжні комплекси DED і DY/DY, поки, нарешті, не утворюються фрагменти E і D (DD димер). Один фрагмент D має м.м. 90000 дальтон, DD димер – 180000 дальтон. Наявність DD димеру в плазмі є конкретним зазначенням на фібриноліз *in vivo*, а саме на наявність внутрішньосудинного тромбіну, який призводить до формування фібрину і подальшої його деградації. В умовах патології, при появі в циркуляції ПДФ

вони проявляють антитромбінову активність (X і Y), ускладнюють полімеризацію мономерів фібрину (X і Y), фрагмент E є потужним інгібітором тромбіну. Всі чотири фрагменти, але особливо з низькою молекулярною вагою, високо афінні до мембрани тромбоцитів, зв'язуються з нею і блокують функції тромбоцитів, викликаючи клінічно значущі прояви їх дисфункції, інгібування агрегації.

Роль плазміну в гемостазі. В таблиці 2.4.2 підсумовані дані про роль плазміну в гемостазі.

Таблиця 2.4.2 – Роль плазміну у гемостазі

Роль плазміну	Коментарі
Здійснює фібриноліз	Розщеплює фібрин і фібриноген з утворенням продуктів деградації X, Y, D, E
Активує внутрішній шлях згортання	Активація XII в XIIa безпосередньо посилюється плазміном
Впливає на внутрішній та загальний шляхи	Руйнує фактори VIIIa і Va
Блокує перетворення фібриногену у фібрин тромбіном	ПДФ зв'язуються з фібриногеном у сайтах, атакованих тромбіном

Контрольні питання

- 1) Дайте визначення поняттю « плазмінова система».
- 2) Складові плазмінової системи.
- 3) Механізм активації плазміногену в плазмін.
- 4) Назвіть субстрати плазміну.
- 5) Чому в нормі плазмін розщеплює фібрин?
- 6) Назвіть фактори, що здійснюють контроль утворення та дії плазміну.
- 7) Назвіть послідовність реакцій утворення пептидів при розщепленні фібрину (фібриногену) плазміном.
- 8) Антикоагулянтна дія ПДФ.

2.5 Патологія гемостазу, клінічні прояви

Вроджені і набуті порушення в системі гемостазу проявляються кровотечами, тромбозами і тромбогеморагічними станами.

Кровоточивість та її типи. Залежно від переважного ураження тієї чи іншої ланки гемостазу розвивається досить характерний тип кровоточивості. Визначення типу кровоточивості дозволяє зорієнтуватися в основній причині розвитку геморагічного діатезу і намітити найбільш раціональний шлях обстеження хворого. Виділяють п'ять типів кровоточивості: гемутонний, петехіально-плямистий, змішаний, судинно-пурпурний та ангіоматозний.

Для гемутонного типу кровоточивості характерні масивні та дуже хворобливі крововиливи в крупні суглоби, м'язи, підшкірну та забрюшинну клітковину, серозні оболонки. Можливо здавлення нервових стовбурів,

кровоносних судин з порушенням їх прохідності. Такий тип кровоточивості спостерігається при порушеннях у системі вторинного, коагуляційного гемостазу. Наприклад, при гемофілії, передозуванні антикоагулянтів і т.п.

Петехіально-плямистий (мікроциркуляторний) тип кровоточивості викликається кількісним або якісним дефектом тромбоцитів. Особливостями даного типу є дрібні, розмірами від точки до шпилькової головки, шкірні крововиливи, які виникають при мінімальних ударах, або ніби спонтанно, що носять назву петехій. Поряд з ними можуть з'являтися синці і синці великих розмірів – екхімози, що виникають у результаті просочування кров'ю шкіри і слизових оболонок. Вони безболісні, ненапружені, не здавлюють навколишні тканини. Множинні поверхневі петехії та екхімози не зникають при натисканні. Поверхневі порізи і подряпини супроводжуються тривалою кровоточивістю. Поряд із шкірними проявами для тромбоцитарного дефекту характерні геморагії на слизових оболонках. Дуже часті носові та ясенні кровотечі, можуть виникати ниркові і маткові кровотечі. Дуже небезпечні хірургічні втручання на органах порожнини рота та в області носоглотки. Екстракція зубів і видалення мигдалин нерідко викликає масивні кровотечі, що загрожують життю хворого. Гематоми відсутні.

При змішаному (мікроциркуляторно-гематомному) типі кровоточивості мають місце ознаки гематомного і петехіально-плямистого типів. Однак це не просто поєднання двох типів, а переважання мікроциркуляторної кровоточивості. Гематоми в суглобах рідкісні, розташовуються в підшкірній або забрюшинній клітковині і можуть імітувати картину гострого живота, кишкової непрохідності або апендициту. Такий тип кровоточивості найчастіше спостерігається при гострому та підгострому варіантах синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання (ДВЗ-синдром), званого також тромбогеморагічним синдромом, або коагулопатією споживання. Ураження ендотелію судин запального або імунного характеру виявляються судинно-пурпурним типом кровоточивості. Шкірні петехії та геморагічні висипання зазвичай розташовуються на шкірі нижніх кінцівок, внизу живота та тулуба. Висипання симетричні, яскраво-червоного кольору. Характерна кровоточивість із слизових оболонок різної локалізації, яка легко викликається або спонтанна. Про судинні ураження як причини геморагічного синдрому можна говорити лише за відсутності патології з боку тромбоцитів і фібриноутворення. Даний тип кровоточивості дуже типовий для геморагічного васкуліту (хвороба Шенлейна-Геноха), вузликового артеріїту, васкулітів при інфекційних захворюваннях і впливах ліків.

Ангіоматозний тип кровоточивості обумовлений кровотечею з місць, де є телеангіектазії або ангіоми. Як правило, при цьому типі геморагічного синдрому відзначаються дуже запеклі кровотечі – носові, рідше маткові, легеневі та шлунково-кишкові. Не буває спонтанних і посттравматичних крововиливів. Наявність телеангіектазії визначається відсутністю в окремих ділянках судин еластичної мембрани і м'язових волокон, тобто стінка судини складається лише з ендотелію.

Тромботичні порушення. Артеріальні та венозні тромби. У здорових людей має місце гомеостатична рівновага між прокоагулянтним потенціалом та антикоагулянтним і фібринолітичним. Численні генетичні, набуті та екологічні фактори можуть схилити чашу терезів на користь згортання, що призводить до патологічного утворення тромбів. Тромбоз може статися у венозному або артеріальному кровообігу і розвивається в результаті складної взаємодії між циркулюючими білками коагуляції, тромбоцитами і стінками кровоносних судин. Артеріальний тромбоз – це гострий інфаркт міокарда (ІМ) та мозкові інсульти. Венозні тромбози – тромбоз глибоких вен та легенева емболія. Артеріальний тромбоз зазвичай розвивається в результаті загальних судинних порушень: атеросклероз, рідше васкуліт. Згустки, що формують артеріальний тромб, називають «білими тромбами» у зв'язку з тим, що вони складаються з тромбоцитів і фібрину. Артеріальні тромби формуються в результаті розриву або тріщини атеросклеротичної бляшки. Тромби венозній системи називають червоними, вони великі за розміром і складаються в основному з фібрину, в якому заплуталися клітини крові, включаючи еритроцити. Розвиток тромбу визначають застій крові, зсув рівноваги в системі гемостазу в бік коагуляції. Венозний тромбоз може виникнути спонтанно в осіб з генетичними аномаліями, пов'язаними з гіперкоагуляцією.

Тромбогеморагічний стан. Тромбогеморагічним станом називають ДВЗ-синдром. ДВЗ – неспецифічний загальнопатологічний процес, пов'язаний із надходженням у кровотік активаторів згортання крові та агрегації тромбоцитів, дисемінованим мікрозгортанням крові, активацією та виснаженням плазмових протеолітичних систем, споживанням факторів згортання крові, фізіологічних антикоагулянтів та інгібіторів фібринолізу – розвитком важкого тромбогеморагічного синдрому.

Контрольні питання

- 1) Перерахуйте типи кровоточивості.
- 2) Яке значення має знання типу кровоточивості для лікаря-лаборанта?
- 3) Тромбози.
- 4) Механізм утворення артеріальних та венозних тромбів.
- 5) ДВЗ синдром як тромбогеморагічний стан.

2.6 Лабораторні методи дослідження системи гемостазу

2.6.1 Методи дослідження тромбоцитарно-судинного (первинного) гемостазу

Дослідження системи гемостазу в пацієнта при клінічних проявах порушення в системі передбачає знання таких важливих моментів: сімейний анамнез, тривалість (недавній початок або з дитинства), тривалість кровотечі, обставини кровотечі (спонтанне, після травми або операції).

Наступне обов'язкове питання: тип кровоточивості.

Перелік та порядок проведення лабораторних досліджень при клінічних проявах порушень тромбоцитарно-судинного гемостазу відображені в таблиці 2.6.1.

Таблиця 2.6.1 – Лабораторні дослідження тромбоцитарно-судинного гемостазу

Тест	Нормальні значення	Примітка
Підрахунок тромбоцитів	150000-400000/мкл	
Середній об'єм змінюється обернено пропорційно їх кількості	Кількість клітин в 1 полі зору при 100-кратному збільшенні множать на 12 000-1500 0	При відхиленні від норми – зробити аналіз мазка периферичної крові (сателізм, помилкова тромбоцитопенія)
Вимірювання об'єму тромбоцитів		Наявність у мазку периферичної крові значної кількості великих тромбоцитів – діагностичний маркер тромбоцитопенії споживання
Час кровотечі (ЧК) – єдиний клінічний тест для виявлення дисфункції тромбоцитів	Норма – 3-8 хв.	Відхилення від норми: 1) тромбоцитопенія <100000 2) якісна дисфункція будь-якого типу 3) рідко при аномалії судин
Дослідження агрегації (стандартна концентрація). Оптичний тест (індуктори: адреналін, колаген, тромбін, ристоцетин)	Вимірюють приріст світлопропускання у %. Дві хвили: первинна і вторинна (реакція звільнення I і реакція звільнення II)	Ристоцетин забезпечує агрегацію шляхом асоціації з рецептором ФВ ГПІІ, активує цю молекулу для зв'язування ФВ
Тест толерантності до аспірину: при нормальному ЧК після звичайної дози аспірину per os, ЧК надмірно подовжується (прихована дисфункція тромбоцитів)		

У разі пролонгованого часу кровотечі при нормальній кількості тромбоцитів виконують тести:

- 1) визначення резистентності капілярів;
- 2) визначення фактора Віллебранда;
- 3) функціональні тести тромбоцитів (адгезія, агрегація).

2.6.2 Методи дослідження коагуляційного (вторинного) гемостазу

Наразі для оцінки коагуляційного гемостазу використовують методи, засновані на:

- 1) фіксації часу утворення згустка (клотінг-тести);
- 2) використанні хромогенних субстратів;

3) реакціях взаємодії антиген-антитіло (імунохімічні реакції).

Тести можуть виконуватися вручну або бути автоматизовані.

Тести, засновані на оцінці часу утворення згустка (клотінг-тести):

1) *Час згортання цілісної крові (тест Лі-Уайта)*

Принцип методу: біля ліжка хворого в пробірку відбирають 1-2 мл крові, визначають час утворення тромбу. Норма – 4-10 хвилини. Дефект тромбоцитів не позначається на часі згортання крові. Тест відображає стан балансу в системі гуморальної ланки гемостазу. Тест не дуже чутливий: час згортання подовжується при дуже значному зниженні факторів згортання (нижче 40-50%).

2) *Активованій час рекальцифікації (АЧР)*

Це варіант постановки тесту Лі-Уайта, при якому кров відбирають у пробірку з каоліном, негайно перемішують і визначають час її згортання. За допомогою АВЧ ведуть контроль стану згортання в умовах операції на відкритому серці або судинах. Нормальні значення АВЧ – 120 – 180 с.

3) *Протромбіновий час (ПЧ)*

Тест визначення активності зовнішнього шляху, активності вітамін К – залежних факторів (II, VII, IX, X). Принцип методу: до цитратної плазми пацієнта додають тромбoplastин і кальцію хлорид. Визначають час утворення згустка. Норма ПЧ 12-15 с. У практиці ведення пацієнтів з тромбозами прийнято визначати протромбін за Квіком у % з використанням калібрувального графіка для конкретної партії тромбoplastину. Отже, ПВ за Квіком дозволяє оцінити чи є в пацієнта зниження рівня факторів протромбінового комплексу та на скільки відсотків. Вузьке місце у визначенні ПЧ – нестандартизованість тромбoplastинів, отриманих із різних джерел і за різними протоколами. У рутинних дослідженнях цей недолік методу обходять шляхом визначення протромбінового індексу (ПТІ) як відношення ПЧ здорової людини до ПЧ пацієнта (ПТІ за Туголуковим).

В останній час проблема вирішена таким чином. Комітет експертів ВООЗ, Міжнародний комітет з вивчення тромбозів і гемостазу та Міжнародний комітет зі стандартизації в гемутології затвердили протокол отримання тромбoplastину з мозку людини (загиблі в аваріях), стандарт тромбoplastину, активність якого прийняли за 1. Постачальники тромбoplastину зобов'язані порівнювати активність свого тромбoplastину зі стандартом і розраховувати у скільки разів відрізняється їх тромбoplastин від стандарту. Ця величина називається міжнародним індексом чутливості тромбoplastину – МІЧ, International Sensitivity Index of thromboplastin, ISI. Тромбoplastин, отриманий таким чином називають стандартизованим. Величина МІЧ наноситься на ампули ліофілізованого тромбoplastину. Співвідношення значення МІЧ і ПЧ відображені в табл. 2.6.2.1

Таблиця 2.6.2.1 – Співвідношення МІЧ і ПЧ

МІЧ	ПЧ (с)
1,0 – 1,5	13 – 17
1,7 – 2,1	11 – 14
2,4 – 2,8	11-13

Результат визначення ПЧ у пацієнтів видають у вигляді нормалізованого міжнародного відношення (МНВ), яке розраховують за формулою 1:

$$\text{МНВ} = \frac{\text{ПЧ} \cdot \text{стандартної} \cdot \text{плазми}}{\text{ПЧ} \cdot \text{пацієнта}} \text{МІЧ} \quad (1)$$

Відношення зводиться у ступінь МІЧ використовуваного тромбoplastину; нормальне значення МНВ 0,8-1,2. МНВ – математична корекція, за допомогою якої проводиться стандартизація ПЧ, вимірюного за допомогою різних тромбoplastинів, що мають різну чутливість. МНВ дозволяє лікареві оцінити результати, навіть якщо вони отримані в різних лабораторіях і ПЧ визначалося різними методами. Оптимальні межі МНВ, які повинні бути досягнуті в ході лікування непрямими антикоагулянтами, залежать від терапевтичних цілей і визначаються лікарем. У таблиці 2.6.2.2 відображені діапазони безпечних значень МНВ в умовах застосування непрямих антикоагулянтів при терапії і профілактиці тромбозів.

Таблиця 2.6.2.2 – Критерії діагностичного моніторингу при пероральному прийомі антикоагулянтів

Показання	МНВ
Венозний тромбоз	2,0 – 3,0
Профілактика (високий ризик виникнення тромбозу при хірургічній операції)	2,0 – 3,0
Лікування тромбозу глибоких вен і легеневої емболії	2,0 – 3,0
Механічні протези клапанів серця	2,5 – 3,5
Інфаркт міокарда (для профілактики рецидиву)	2,5 – 3,5
Зворотна системна емболія	2,5 – 3,5

ПЧ – важливий тест, бо він відображує наявність та активність п'яти різних факторів згортання крові (фактори I, II, V, VII і X). Визначення ПЧ використовують при моніторингу терапії кумаринами. Тест найбільш чутливий до зміни в рівні VII фактора: він подовжується в тому випадку, коли вміст фактора VII становить 55% від нормального; фактори II і X знижуються через кілька днів.

4) Частково активований тромбoplastиновий час (АЧТЧ) або каолін кефаліновий час (ККЧ). Залежить від активності усіх факторів внутрішнього і загального шляху, за винятком VII і XIII. Принцип методу: визначається час згортання бідної тромбоцитами цитратної плазми пацієнта при додаванні фосфоліпиду кефаліну, каоліну та іонів Ca^{2+} . Тест стандартизований за контактною фазою каоліном – активація фактора XII, XI і за фосфоліпідами (видаляють тромбоцити пацієнта, і в надлишку додають кефалін, аналог Зпф). Нормальне значення тесту – 25-35 секунд. Використовується для моніторингу терапії гепарином і скринінгу хворих на гемофілію. Адекватна доза гепарину

подовжує АЧТЧ в 2-2,5 рази в порівнянні з вихідним значенням. АЧТЧ подовжується при наявності в плазмі гепарину, інгібіторів тромбіну і ПДФ.

Тест подовжується при зниженні факторів згортання нижче 30% від нормального.

5) Тромбіновий час (ТЧ)

Тест для виявлення дефектів у процесі перетворення фібриногену у фібрин. ТЧ виконується в рамках дослідження епізоду кровотечі, тромбозу або невиношування вагітності, коли ПЧ і/або тест АЧТЧ пролонговані, вимірюють час згортання цитратної плазми пацієнта при додаванні тромбіну.

Пролонгування ТЧ може бути обумовлено:

- 1) низьким фібриногеном;
- 2) дисфібриногенемією;
- 3) присутністю гепарину;
- 4) наявністю в плазмі вторинних антикоагулянтів, мієломних білків, що перешкоджають як прояву активності тромбіну, так і полімеризації мономерів фібрину.

За допомогою ТЧ здійснюють моніторинг терапії гірудином і гірулоїдами: при адекватній дозі антикоагулянту ТЧ подовжено в 2-2,5 рази, МНВ і ПЧ в нормі або видовжене.

Виявлення дефіциту фактора XIII (фібрин-стабілізуючий фактор).

Дефіцит фактора виявляють у тесті розчинності фібрину в 5М сечовині або 1% монохлороцтової кислоти (при нормальної активності фактора XIII згусток не розчиняється).

Тромбоеластографія (ТЕГ) – метод графічної реєстрації процесів згортання крові і фібринолізу. Дослідження здійснюють на спеціальному приладі – тромбоеластографі, результат дослідження – тромбоеластограма.

Основна частина приладу – кювета з нержавіючої сталі, в неї опускається металевий циліндр, підвішений на чутливому реєструвальному пристрої. Кювету заповнюють досліджуваною кров'ю (плазмою), опускають у неї циліндр. При дослідженні кювета здійснює коливальні рухи навколо вертикальної осі. При зортанні крові згусток прилипає до стінок кювети і циліндра. У міру утворення та поступового ущільнення згустка циліндр здійснює коливальні рухи з відповідною амплітудою. Обертальні рухи циліндра реєструють на фотоплівці або на папері. При повному утворенні згустка коливання циліндра максимальні. У міру розчинення згустка (фібриноліз) амплітуда коливань циліндра зменшується. Аналіз тромбоеластограми ведуть відповідно з інструкцією до приладу. Тромбоеластограма відображує безперервний профіль всіх етапів утворення згустка, забезпечуючи більш точну картину процесу коагуляції в природних умовах. Тест дозволяє оцінити стани: норми, тромбоцитопенії, дисфункції тромбоцитів, дефіцит факторів згортання, фібриноліз, гіперкоагуляцію.

Визначення окремих факторів згортання (фактори II – XII). Хромогенний аналіз. Зараз ідентифікація та ступінь дефіциту білків згортання крові визначаються з використанням імунологічних методів: твердофазного імуноферментного аналізу та кількісного імуноелектрофорезу. Активність

окремих факторів згортання визначають за допомогою хромогенного аналізу. Хромогенний аналіз – по суті ферментний аналіз, розроблений на початку 1970-х років. У хромогенному аналізі використовують синтетичні субстрати, які складаються з кольорових хімічних речовин – хромогенів, пов'язаних з амінокислотним залишком пептиду, зв'язок якого специфічно розщеплюється ферментом коагуляційного каскаду. У складі пептиду хромоген знаходиться в незабарвленій формі. У результаті дії ферменту хромоген звільняється, забарвлює інкубаційну суміш. Інтенсивність забарвлення визначають з використанням спектрофотометрії. Хромогенні субстрати схожі за структурою на рідні субстрати ферменту, що визначає вибірковість їх дії. Інші переваги хромогенних аналізів включають стабільність реагенту та адаптованість до широкого діапазону інструментів в автоматизованій лабораторії хімії або імунології. Селективність хромогенного субстрату для конкретного ферменту залежить від відносної концентрації ферменту в зразка, умов проведення реакції (наприклад, рН, температура, тип буфера і його концентрація, іонна сила), наявності інгібіторів, розчинності субстрату, його стабільності та інших факторів. Кращі субстрати мають високу спорідненість до ферменту. Найбільш поширений хромоген пара-нітроанілін (ПНА), максимумом поглинання якого 405 нм.

Для визначення багатьох факторів згортання використовують хромогенний субстрат фактора X. Наприклад, VIII фактор є кофактором IX фактора. Активований фактор IX активує фактора X, який гідролізує свій хромогенний субстрат з визволенням ПНА. Якщо аналіз проводити в умовах належного контролю, інтенсивність забарвлення відображує кількість VIII фактора. Хромогенний метод характеризують хороша точність, відсутність впливу вовчакових антитіл, гепарину та інших антикоагулянтів. У продажу є хромогенні субстрати для тромбіну, ТАП, урокінази, IX, X і XII факторів зсідання крові та ін.

Визначення концентрації фібриногену. Кінцева мета активації системи згортання в умовах норми – формування тромбу шляхом перетворення розчинного фібриногену в нерозчинний фібрин. Гемостатичні властивості тромбу в першу чергу залежать від концентрації фібриногену. Фібриноген – переважаючий за Вмістом білок згортання плазми. Його нормальний рівень у плазмі 2,0 – 4,0 г/л. Кількісне визначення фібриногену плазми відіграє важливу роль у діагностиці та лікуванні багатьох коагулопатій. Крім того, оскільки рівень фібриногену плазми збільшується в пацієнтів з інфарктом міокарда та інсультом, визначення фібриногену важливо для оцінки ризику тромбозу. Фібриноген – білок гострої фази, його визначення в післяопераційному періоді дозволяє попередити ускладнення запального характеру.

Для кількісного визначення фібриногену запропоновано безліч різних методик, свідчення яких часто вельми значно відрізняються одне від одного і тому мало порівнянні. У практиці вітчизняних лабораторій використовується гравіметричний метод Рутберга. Він заснований на перетворенні фібриногену у фібрин тромбіном або тромбoplastином; фібрин, що утворився, після підсушування фільтрувальним папером зважується.

Недоліки методу. Перший – помилково занижені результати (аж до повної незгортаємості, що імітує афібриногенемію) при гепаринізації та накопиченні в плазмі ПДФ, блокуючих полімеризацію фібрин-мономерів (ДВЗ синдрому). Метод, по суті, визначає не вміст фібриногену в плазмі, а кількість фібриногену, яка згортається під впливом тромбіну.

Другий недолік цього методу криється в тому, що при порушеннях згортання крові часто утворюється дуже пухкий, що легко розпадається і втрачає свої частини, згусток, або утворюється безліч дрібних згустків. У подібній ситуації зібрати весь фібрин, що утворився, без значних втрат дуже важко, що вносить суттєву помилку в результати дослідження. Паралельне використання різних коагулянтів дозволяє виявити значну частину заблокованого фібриногену.

У практиці зарубіжних лабораторій використовують оптичний метод визначення фібриногену (кінетичний метод Клауса).

Принцип методу: з використанням спектрофотометрії визначають час згортання розведеної цитратної плазми надлишком тромбіну. Розведення плазми необхідно тому, що при перетворенні фібриногену у фібрин тромбіном лінійна залежність швидкості реакції від концентрації фібриногену зберігається до 1 г/л, великі концентрації фібриногену насичують тромбін. Отже, час згортання пропорційно концентрації фібриногену при його низьких концентраціях. Ця кінетична особливість тромбіну використовується для визначення його концентрації за каліброваним графіком у координатах: концентрація фібриногену – оптична щільність. Кінетичний аналіз є швидким, економічним, може бути повністю автоматизованим. Високі, не терапевтичні, рівні гепарину або гирудину можуть вплинути на показники вмісту фібриногену, як і в пацієнтів з високим рівнем фібринолітичної активності. ПДФ завищують показники оптичної щільності, а отже, і вміст фібриногену.

Дослідження плазмінової системи. Евглобуліновий фібриноліз. Тест евглобулінового фібринолізу відображає загальну фібринолітичну активність плазми, баланс активатори/інгібітори плазмінової системи.

Принцип: визначають час повного лізису евглобулінового згустка, який отримують з евглобулінової фракції, тобто фракції, яка осаджується з плазми 1% оцтовою кислотою. Фракція відносно вільна від інгібіторів фібринолізу. Осад розчиняють і додають кальцій для формування згустка фібрину. Отриманий згусток служить субстратом плазміну, який утворюється з плазміногену під дією активаторів. Згусток інкубують при 37°C, оцінку фібринолізу здійснюють візуально протягом 30 хв. Підвищення фібринолітичної активності характерно для ДВЗ, захворювань печінки, післяопераційного періоду, злоякісних новоутворень, у жінок при прийомі контрацептивів, під час менструацій. Лізис евглобулінового згустка знижений при вагітності через підвищення концентрації фібриногену та інгібітору активатора плазміногену. Лізис згустка швидше, ніж за 30 хв., вказує на стан гіперфібринолізу. Якщо фібриноген вище 6 г/л, то час лізису збільшується, при зниженні вмісту фібриногену невеликий згусток лізується нормальною фібринолітичною системою швидше, тому результати важко інтерпретувати.

Час лізису згустка скорочується при дефіциті фактора XIII, оскільки утворений згусток фібрину погано зшитий і більш швидко лізується. Тромбоцити пролонгують час лізису у зв'язку з їх антиплазміною активністю, тому тест виконується на плазмі, бідній тромбоцитами. Тест можна ставити для хворих, які отримують гепарин, оскільки він віддаляється в процесі осадження еуглобулінів. Одна з проблем, пов'язана з цим тестом, – відсутність стандартизації. Буфер готується в порядку виконання тесту, а ступінь протеолізу залежить від рН; визначення стану згустка є суб'єктивним. У практиці лабораторій гемостазу виконання тесту доручають завжди одному й тому ж лаборанту, тест повинен виконуватися у двох паралелях. Результат – середнє двох визначень.

Визначення вмісту $\alpha 2$ -антиплазміну. Основний інгібітор плазміну визначають або за допомогою хромогенного методу, або імуноферментного аналізу (ІФА). При використанні хромогенного методу визначають залишкову активність плазміну в плазмі крові. При наявності в циркуляції $\alpha 2$ -антиплазміну весь плазмін пов'язаний з ним в неактивний комплекс. Чим більше вільного плазміну в циркуляції, тим менше $\alpha 2$ -антиплазміну, тим інтенсивніше розщеплюється хромогенний субстрат плазміну, тим вище колір р-нітроаніліну. Таким чином, поглинання р-нітроаніліну при 404 нм зворотно пропорційно вмісту $\alpha 2$ -антиплазміну.

Тест-системи ІФА дозволяють визначити вміст $\alpha 2$ -антиплазміну. Принцип ІФА методу: на твердій фазі фіксують плазмін, потім вносять досліджувану плазму, $\alpha 2$ -антиплазмін утворює комплекс з плазміном, вільний антиплазмін відмивають, в лунки планшета вносять моноклональні антитіла до $\alpha 2$ -антиплазміну, не пов'язані антитіла відмивають, додають антитіла до антитіл, мічені пероксидазою хрому, знову відмивають, додають субстрат пероксидази, реакцію зупиняють відповідно до кольору позитивного контролю, інтенсивність забарвлення визначають за допомогою фотометра. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна вмісту $\alpha 2$ -антиплазміну. Зниження рівня $\alpha 2$ -антиплазміну може відігравати важливу роль у збільшенні потужності фібринолізу. Визначення $\alpha 2$ -антиплазміну корисно при лікуванні тромбозів, гострої легеневої емболії, захворюваннях печінки.

Визначення продуктів деградації фібрину. Виявлення та напівкількісну оцінку продуктів деградації фібрину (ПДФ) і D-димерів здійснюють у реакціях латекс-аглютинації. При визначенні ПДФ частинки латексу сенсibiliзують поліклональними антитілами до ПДФ, а D-димерів – моноклональними антитілами до D-димеру. При наявності в плазмі крові пептидів, специфічних антигенів моноклональних антитіл, відбувається реакція антиген-антитіло, з утворенням преципітату, появу якого фіксують або візуально, або використовуючи метод нефелометрії чи турбодиметрії.

Специфічним маркером внутрішньосудинного розщеплення фібрину (не фібриногену) є D-димер. D-димери – продукти деградації плазміном фібрину, зшитого активним фактором XIII. Таким чином, вимір зшитих продуктів розпаду, на відміну від загальних ПДФ – конкретна оцінка ступеня фібринолізу. У більшості турбодиметричних методів визначення D-димерів

використовуються латексні кульки або інші мікрочастинки, покриті моноклональними антитілами, специфічними для D-димерів або фрагмента D фібрину, але не фібриногену. Підвищення вмісту D-димерів спостерігається при ДВЗ, легеневій емболії, артеріальних і венозних тромбозах, сепсисі, цирозі печінки, раку та після оперативних втручань. Однак, аналіз D-димерів використовується в основному в оцінці пацієнтів з підозрою на тромбоемболічні захворювання, особливо тромбоемболії легеневої артерії та тромбозу глибоких вен. При неефективній тромболітичній терапії тести на ПДФ позитивні, а на D-димер – негативні. Продукти деградації фібриногену та фібрину присутні на пізніх термінах вагітності та близько 48 годин після операцій.

Скринінг циркулюючих інгібіторів факторів згортання крові та антикоагулянтів. Пролонгування часу тестів згортання (ПЧ, АЧТЧ та/або ТЧ) вказує на наявність дефіциту фактора зовнішнього чи внутрішнього шляху або присутність інгібітору згортання крові. Перший крок у з'ясуванні причин подовження часу згортання – тест змішування плазм. Мета тесту змішування плазмів – з'ясування можливості виправлення подовженого часу згортання додаванням до досліджуваного зразка рівного об'єму пулу цитратних нормальних плазмів. Навіть глибокий дефіцит VIII фактора згортання крові (1% VIII фактора, який зустрічається при важкій формі гемофілії), буде виправлений при змішуванні до нормального діапазону, адже 50% рівень будь-якого фактора дає нормальні значення часу згортання крові.

Якщо мала місце корекція, то проводять процедуру виявлення дефіциту конкретного фактора згортання крові. Відсутність корекції часу згортання крові в змішаному тесті вказує на наявність речовини, яка перешкоджає згортанню.

Виявлення конкретного інгібітору – складне завдання, оскільки існує декілька різних типів інгібіторів (так званих «циркулюючих антикоагулянтів»). Конкретні інгібітори – це імуноглобуліни специфічні до фосфоліпідів (вовчаковий антикоагулянт) або до конкретних факторів згортання крові (інгібітори факторів). До неспецифічних інгібіторів, що впливають на процес згортання крові, відносяться ПДФ фібрину і фібриногену, деякі патологічні антитіла, такі як моноклональні парапротеїни, лікарські препарати (гепарин). Для з'ясування типу інгібітору необхідні клінічні дані. Так при вовчакових антитілах відсутні кровотечі, а при антитілах до факторів згортання крові часті кровотечі. Як правило, при антитілах до факторів згортання при тривалій преінкубації суміші час згортання досягає нормальних значень, при специфічних антитілах час згортання практично не корегується. Часткова корекція часу згортання вказує на циркулюючі антитіла до факторів згортання. Наявність гепарину і неспецифічних інгібіторів може бути підтверджено іншими тестами коагуляції, таких як тромбіновий час згортання і рептилазний час. Вовчакові антитіла визначають з фосфоліпід-чутливим тестом – час згортання цитратної плазми, розбавленою отрутою гадюки Рассела. Отрута гадюки Рассела безпосередньо активує X фактор, минаючи фактор VII зовнішнього шляху, а також контактні і антигемофільні фактори внутрішнього шляху.

Розрізняють негайні мікст-тести – тести часу згортання (ПЧ, АЧТЧ або ТЧ) проводять негайно після змішування рівних кількостей тестованої плазми і пулу донорських плазмів. Більшість факторів швидко реагують інгібіторами, негайно гальмують згортання крові і не потребують інкубації. Навпаки, інгібітори фактора VIII і деякі вовчакові антикоагулянти є слабкими і/або залежними від часу – повільно реагують інгібітори, і вимагають інкубації суміші плазмів 1:1 при кімнатній температурі або 37°C протягом одного або двох годин. За наявності гепарину в крові або в пробірці тромбіновий час корегують шляхом додавання толуїдинового синього, який специфічно зв'язує гепарин, або визначають рептилазний час (рептилаза не чутлива до гепарину та не інгібується антитромбіном III). Якщо тести з толуїдиновим синім і рептилазний час подовжені, то мають місце проблеми полімеризації фібрину: або через дисфібриногенемію, або гальмування полімеризації білками мієломи, або ПДФ.

2.7 Алгоритм лабораторних досліджень при порушенні гемостазу

Дослідження при кровотечах включають тести:

- 1) Аналіз специфічного фактора згортання крові.
- 2) Проби на функціональний стан тромбоцитів (адгезія, агрегація, секреція, прокоагулянтна активність).
- 3) Аналіз ФВ (кількість і функція).
- 4) Визначення інгібітора (наприклад, визначення вовчакового антикоагулянту або інгібітора специфічних факторів VIII або IX).
- 5) Скринінгові проби на ДВЗ (ПЧ, АЧТЧ, кількість тромбоцитів, рівень фібриногену і визначення ПДФ або D-димеру).
- 6) Проби на визначення порушень фібринолізу (евглобуліновий фібриноліз).
- 7) Специфічні проби на активацію згортання крові (визначення маркерів тромбінемії та фібринолізу).

Скринінг тести дослідження при тромбозах включають:

- 1) ПЧ;
- 2) АЧТЧ;
- 3) ТЧ.

Лабораторну діагностику патогенезу тромбозів необхідно проводити після того як мине гострий тромботичний стан; у стабільних хворих, які не отримують антикоагулянти – через 1-2 тижні після закінчення підтримуючої терапії антикоагулянтами, яка проводилася протягом 6 місяців.

Лабораторне тестування дефіциту АТIII, PC та PS показано хворим у віці до 40 років з обтяженим анамнезом – визначається концентрація і функція кожного інгібітору.

Скринінг-тести діагностики гострого ДВЗ синдрому.

В таблиці 2.7.1 відображено скринінг-тести та їх значення при гострому ДВЗ.

Таблиця 2.7.1 – Скринінг-тести та їх значення при гострому ДВЗ синдромі

Показники	ДВЗ	Норма
Кількість тромбоцитів	<150 000	150000 – 400 000/мкл
ПЧ	>15с	12-14с
АЧТЧ	>37с	25-38 с
Фібриноген	< 1,50г/л	1,50-3,50 г/л
ПДФ	>20 мкг/мл	2-10 мкг/мл
D-димер	Позитивний	Негативний

2. 8 Преаналітичні аспекти дослідження гемостазу

Підготовка пацієнта. При дослідженні тромбоцитарно-судинного гемостазу пацієнт повинен:

- уникати фізичної активності до взяття крові;
- утриматися від куріння і напоїв з кофеїном.

При оцінці функції тромбоцитів:

за 7-10 днів до тесту на маркери тромбофілії не використовують антиагреганти; за 7 днів до дослідження не використовують вітамін К антагоністи.

Правила взяття крові для досліджень гемостазу. Лабораторна діагностика порушень гемостазу вельми чутлива до дотримання відомих правил взяття, зберігання та підготовки крові для дослідження. Безумовне значення для якісного обстеження мають адекватна підготовка хворого до здачі крові, сама методика кровопускання і стабілізації крові. Стан стресу (психологічного або фізичного) може викликати підвищення агрегаційних властивостей тромбоцитів і тромбінемію. У деяких клінічних ситуаціях, наприклад, при шоку, витяг крові з ліктьової вени важко здійснити через низький тиск. Спроби повільно набрати кров за допомогою шприца часто закінчуються невдачею – кров згортається. У таких випадках можна вдаватися до взяття крові з підключичного катетера, проте варто пам'ятати про можливість забруднення такої крові гепарином. Кров беруть вранці натщесерце з ліктьової вени голкою з широким просвітом (0,8 мм). Можливе лише короточасне накладення джгута. Використання шприца неприпустимо через активацію тромбоцитів та факторів згортання турбулентним рухом крові та її змішування з повітрям (спінювання). Використання вакуумних пробірок, призначених для отримання венозної крові, стабілізованої цитратом у співвідношенні 9:1, має великі переваги через гарну стандартизацію процедури і відповідність санітарним нормам, але у разі істотних відхилень гематокриту при анемії або поліглобулії (поліцитемії) їх використання не рекомендовано. При високому гематокриті (понад 70%) у плазмі крові створюється надмірна концентрація цитрату, що призводить до «помилкової» гіпокоагуляції; навпаки, при зниженні гематокриту (нижче 35%), наприклад при анемії, виявляється «помилкова» гіперкоагуляція, і кров при її змішуванні з цитратом у відношенні 9:1 може згорнутися в пробірці ще до дослідження.

При підозрі на захворювання, що супроводжуються анемією або поліглобулією, рекомендовано перед здачею крові на параметри гемостазу провести дослідження показника гематокриту. Перерахунок об'єму

стабілізатора відповідно до показника гематокриту дозволяє уникнути цієї помилки (табл. 2.7.1).

Таблиця 2.7.1 – Співвідношення об'ємів 3,8% розчину цитрату натрію і крові залежно від величини гематокриту

Показник гематокриту	Об'єм цитрату, мл	Об'єм крові, мл
20-21	1,4	8,6
22-27	1,3	8,7
28-33	1,2	8,8
34-39	1,1	8,9
40-45	1,0	9,0
46-51	0,9	9,1
52-57	0,8	9,2
58-60	0,7	9,3
Вище за 65	9,5	0,5

3 Ліпіди та ліпопротеїди плазми крові

Основними ліпідами плазми крові людини є холестерин (ХС), ефіри ХС (ЕХС), тригліцериди (ТГ), фосфоліпіди (ФЛ), а також довголанцюгові жирні кислоти (ЖК) у складі ТГ, ЕХС і ФЛ.

Холестерин. Синтез холестерину відбувається у всіх клітинах організму, але найбільш інтенсивно в гепатоцитах. ХС синтезується з ацетил-коензима А (КоА), реакція каталізується ферментом β -гідрокси- β -метилглутарил-КоА-(ГМГ-КоА)-редуктазою, який є ключовим на етапі перетворення ГМГ-КоА в мевалонову кислоту.

У мембранах клітин холестерин впливає на їх біофізичний стан, зокрема забезпечує жорсткість і проникність мембрани. У цитоплазмі клітин холестерин знаходиться у вигляді ефірів холестерину, які утворюють ліпідні вакуолі. Процес естерифікації холестерину відбувається за участю ферменту ацил-холестерин ацилтрансферази (АХАТ). Ефіри ХС є формою запасу внутрішньоклітинного холестерину, який при необхідності вивільняється з ефірів і входить до складу клітинних мембран. На відміну від внутрішньоклітинної реакції естерифікації, естерифікація холестерину в плазмі крові відбувається за участю ферменту лецитин-холестерин-ацилтрансферази (ЛХАТ).

Холестерин, що синтезується в печінці, надходить в органи, тканини та утилізується самою печінкою. Більша частина холестерину використовується для утворення жовчних кислот і в складі жовчі виявляється в тонкому кишечнику, з дистальних відділів якого приблизно 97% їх абсорбується з наступним поверненням у печінку (так звана ентерогепатична циркуляція холестерину). Чіткого уявлення про нормальні рівні холестерину в плазмі немає. До недавнього часу нормальним вмістом загального холестерину плазми крові вважали 4,0-6,5 ммоль/л, проте наразі рівень ЗХС ≥ 5 ммоль/л вважається

підвищеним. Після одноразового прийому жирної їжі рівень ХС у крові не підвищується, однак якщо їжу з високим вмістом насичених жирів вживати регулярно і довгостроково, то це, безсумнівно, призведе до підвищення концентрації ЗХС в крові.

Тригліцериди (ТГ). ТГ являють собою складні ефіри триатомного спирту гліцерину з трьома вищими жирними кислотами. ТГ накопичуються в жировій тканині і є формою запасання жирних кислот. Розпад тригліцеридів у жирових депо на вільні жирні кислоти і гліцерин здійснюється гормонзалежною ліпазою (ГЗЛЖТ). У нормі рівень тригліцеридів у сироватці крові, взятої натщесерце, коливається від 0,5 до 2,0 ммоль/л у чоловіків і до 1,5 ммоль/л у жінок; рівень $\text{TГ} \geq 1,7$ ммоль/л вважається фактором ризику серцево-судинних захворювань. Рівень ТГ у крові різко зростає в перші години після прийому їжі, особливо жирної.

Фосфоліпіди плазми. Основними ФЛ плазми крові є фосфатидилхолін (лецитин) і сфінгомієлін. У молекулі ФЛ виділяють полярну «головку», утворення фосфорних кислот і азотистих основ, яка орієнтована до зовнішньої водної фази, та ділянку неполярних ланцюгів насичених і/або ненасичених ЖК, спрямованих до гідрофобного ядра ліпопротеїнової частинки. ФЛ відіграють роль прикордонного шару між плазмою крові та гідрофобним ядром ліпопротеїнової частинки, яка складається з ЕХС і ТГ.

Рівень ФЛ в сироватці крові в нормі коливається від 2,3 до 3,0 ммоль/л.

Неестерифіковані жирні кислоти (НЕЖК). Неестерифіковані жирні кислоти (НЕЖК) або вільні жирні кислоти (ВЖК) транспортуються в плазмі крові в пов'язаній з альбуміном формі з місця їх зберігання у складі ТГ жирової тканини до місць утилізації – печінки і м'язам. У результаті дії ГЗЛЖТ в плазму крові вивільняються НЕЖК і гліцерин. Цей процес стимулюється адреналіном і стероїдними гормонами, голодуванням і недостатністю інсуліну. Швидкість обміну НЕЖК дуже велика. Основними місцями їх окислення в стані спокою є печінка і серце, а під час фізичних навантажень – скелетні м'язи. Значна частина НЕЖК захоплюється печінкою і піддається реестерифікації, з утворенням ТГ і ФЛ. Концентрація НЕЖК у плазмі крові людини в нормі коливається від 0,4 до 0,8 ммоль/л.

Транспортні форми ТГ та холестерину в плазмі. Холестерин і ТГ переносяться в плазмі тільки у складі білково-ліпідних комплексів – ліпопротеїдів. Ліпопротеїди – сферичні частинки із зовнішнім шаром білків – апопротеїнів (скорочено – «апо») і ліпідним (холестерин і тригліцериди) ядром. Співвідношення вмісту більш легких компонентів ядра і більш важких апопротеїнів визначає різну щільність і різну електрофоретичну рухливість частинок. При класифікації за щільністю виділяють чотири головні класи ліпопротеїдів:

- 1) хіломікрони (ХМ),
- 2) ліпопротеїди дуже низької щільності (ЛПДНЩ),
- 3) ліпопротеїди низької щільності (ЛПНЩ),
- 4) ліпопротеїди високої щільності (ЛПВЩ).

При електрофорезі сироватки крові ХМ залишаються на старті, вони не переміщуються в електричному полі; ЛПДНЩ виявляються у зоні перед бета-глобулінами, тому ЛПДНЩ називають пребета-ліпопротеїдами. ЛПНЩ переміщуються разом з бета-глобулінами, тому ЛПНЩ і бета-ліпопротеїди – синоніми. ЛПВЩ мігрують разом з альфа-глобулінами, тому їх називають альфа-ліпопротеїдами.

Всі основні види ліпопротеїдів характеризує загальна структура. Ядро цих сферичних частинок містить в основному ефіри холестерину і тригліцеридів, які оточені оболонкою з білків і фосфоліпідів, що мають амфіпатичними властивостями, тобто вони мають полярні та неполярні регіони.

Хіломікрони (ХМ). ХМ найбільші транспортні форми ліпідів. Вони насичені тригліцеридами та бідні холестерином. Утворюються в ентероцитах тонкого кишківника з аліментарних жирів; несуть 10 апопротеїнів. ХМ зв'язуються зі специфічними рецепторами жирових клітин та активують ліпопротеїнову ліпазу (ЛПЛ), що розщеплює тригліцериди ядра ХМ. Жирні кислоти надходять у клітини, ХМ трансформуються в ремнантні (залишкові) частинки, які приносять у печінку екзогенний холестерин і повністю руйнуються. Маркер ХМ – апопротеїн В-48. Атерогенність ХМ не доведена, хоча їхні ремнанти відносяться до атерогенної фракції.

Ліпопротеїди дуже низької щільності (ЛПДНЩ). Синтезуються в печінці з ендогенних джерел і містять багато тригліцеридів і мало холестерину; в їх складі знаходиться 5 апопротеїнів. Функція ЛПДНЩ – транспорт тригліцеридів як енергетичного джерела в м'язову тканину, де ядро тригліцеридів ЛПДНЩ гідролізується ЛПЛ, а ремнанти (інакше – ліпопротеїди проміжної щільності – ЛППП), транспортуються в печінку. У печінці на основі ЛППП здійснюється синтез ЛПНЩ. Підвищення в плазмі рівня ЛПДНЩ асоційоване із зростанням ризику атерогенезу.

Ліпопротеїди низької щільності (ЛПНЩ). ЛПНЩ – головний клас ліпопротеїдів, що містить холестерин. ЛПНЩ синтезуються в печінці, їх ядро містить холестерин, який вони транспортують до всіх клітин тканин. Розпізнавання ЛПНЩ та їхня фіксація на клітинній мембрані відбувається при взаємодії В/Е рецепторів з єдиним апопротеїном ЛПНЩ – апо-В100. Рівень холестерину ЛПНЩ прямо пропорційний ризику розвитку ІХС. На цій підставі холестерин ЛПНЩ називають «поганий холестерин».

Ліпопротеїди високої щільності. ЛПВЩ – найдрібніші частинки. Синтезуються в печінці. ЛПВЩ, що надходять у кровообіг практично не містять холестерину, багаті білками і фосфоліпідами. Це унікальний антиатерогенний клас ліпопротеїдів, який забезпечує виведення надлишку холестерину із стінок артерій та тканин. Бідні холестерином ЛПВЩ, що залишають печінку, повертаються до органу, навантажені ним. У печінці холестерин ЛПВЩ метаболізує в жовчні кислоти. ЛПВЩ запобігають розвитку атеросклерозу. Механізм їх дії не зовсім зрозумілий. Швидше за все, ЛПВЩ видаляють надлишок холестерину, який накопичується в артеріях, або запобігають окислення ЛПНЩ. Холестерин ЛПВЩ називають «добрий холестерин». Рівні ліпопротеїдів у крові є основними чинниками, що

визначають ризик розвитку атеросклерозу коронарних артерій. З використанням поки невідомих механізмів ЛПНЩ та їх метаболіти інфільтрують інтиму артерій та позаклітинний матрикс. Деякі з ліпопротеїдів поглинаються макрофагами та клітинами гладких м'язів судин; можливо, для цього спочатку потрібна хімічна модифікація ліпідів, така як окислення. Результатом патологічних змін ендотелію судин є відкладення в них холестерину, що призводить до зменшення діаметра артерій.

Загальний холестерин плазми, холестерин ЛПНЩ і ЛПВЩ. У сироватці крові натще можуть бути визначені три основні класи ліпопротеїдів: ЛПДНЩ, ЛПНЩ і ЛПВЩ. ЛПНЩ містять зазвичай 60-70%, ЛПВП – 20-30%, ЛПДНЩ 10-15% загального холестерину сироватки (табл. 3.1). Сума холестерину цих трьох фракцій являє собою загальний холестерин.

Таблиця 3.1 – Основні характеристики ліпопротеїдів плазми крові

Клас ЛП	Ліпіди	Аполіпопротеїди	Щільність, г/мл	Діаметр, А
ХМ	ТГ>>ХС	А-I, А-II, А-IV, В-48, С-I, С-II, С-III, Е	<0,95	800–5000
ЛПДНЩ	ТГ>>ХС	В-100, С-I, С-II, С-III, Е	<1,006	300–800
ЛПНЩ	ХС>ТГ	В-100	1,019–1,063	180–280
ЛПВЩ	ХС>>ТГ	А-I, А-II, С-I, С-II, С-III, Е	1,125–1,210	50–90

Оскільки більша частина сироваткового холестерину знаходиться в складі ЛПНЩ, то концентрація загального холестерину добре корелює з концентрацією холестерину ЛПНЩ. Таким чином, хоча в дійсності зусилля зі зниження вмісту холестерину спрямовані на холестерин ЛПНЩ, замість останнього для початкової оцінки вмісту ліпідів у сироватці пацієнта можна використовувати концентрацію загального холестерину. Тести на загальний холестерин більш доступні, дешевші, не вимагають, щоб у пацієнта брали кров натщесерце. З іншого боку, ступінь ризику більш точно оцінюється за вмістом холестерину ЛПНЩ, тому потрібно приймаючи рішення про вибір впливу, що знижує рівень холестерину крові, переважно використовувати цей показник (особливо у тих випадках, коли пацієнту призначається лікарська терапія).

Результати лабораторних досліджень можна вважати достовірними при дотриманні цілої низки умов. До останніх відносяться такі як стандартизовані тести визначення ліпідів; у лабораторній служби є надійний контрольно-калібрувальний (референтний) матеріал з відомим вмістом холестерину; дотримується однаковий підхід до збору, обробки та зберіганню зразків крові. Важливо, щоб поза хворого під час забору крові була стандартизована; проба з вени повинна братися, уникаючи довгого стазу, джгут використовується на короткий час для введення голки і знімається до того, як розпочато забір крові; аналізується плазма, отримана з *трилоном Б (ЕДТА)* як антикоагулянт; плазма

відразу ж ставиться в холодильник; зберігання проб здійснюється максимально короткий час.

3.1 Дисліпопротеїдемії

Стани, при яких відзначається підвищення вмісту ліпідів і ліпопротеїдів вище оптимальних значень і/або можливе зниження рівнів деяких фракцій ліпідного спектра – ЛПВЩ, або альфа-ліпопротеїдів, називають дисліпідемії. Кожна дисліпідемія більшою мірою є лабораторним симптомокомплексом, меншою – клінічним.

У спектрі дисліпопротеїдемії переважають гіперліпідемії. Класифікація гіперліпопротеїдемії (табл. 3.1.1) з відображенням усього спектра ліпопротеїдів при найбільш поширених гіперліпідеміях розроблена ВООЗ. В її основі класифікація Фрідріксона без урахування причин порушень – генетично детерміновані або вторинні (в результаті впливу умов навколишнього середовища або основного захворювання).

Таблиця 3.1.1 – Класифікація гіперліпопротеїдемії за Фрідріксоном

Тип	ХС	ХС ЛПНЩ	ТГ	Порушення	Атерогенність	Поширеність	Клінічні ознаки
I	↑ або N	↑↑ або N	↑↑	↑↑↑ ХМ	Не доведена	<1%	Абдоміналії, гепатомегалія, ліпемічна ретинопатія, ксантоми
IIa	↑↑ або N	↑↑	N	ЛПНЩ ↑↑↑	+++	10%	Ксантоми, ранній атеросклероз
IIb	↑↑	↑↑	↑↑	ЛПНЩ і ЛПДНЩ ↑↑↑	+++	40%	Ксантоми, ксантелазми, ранній атеросклероз
III	↑↑	N	↑↑	ХМ і ЛППЩ ↑↑	+++	<1%	Ожиріння, поширений атеросклероз, ксантоми
IV	↑↑ або N	N	↑↑	ЛПДНЩ ↑↑	+	45%	Абдоміналії, атеросклероз судин
V	Підвищено ↑↑	N	↑↑	ХМ і ЛПДНЩ ↑↑	+	5%	Абдоміналії, панкреонекроз, ожиріння, ксантоми

З урахуванням рідкості гіперліпопротеїдемій I, III і V типів (I і V – в основному в дітей), у дорослих зазвичай потрібно ідентифікувати IIa, IIb і IV типи, що нескладно зробити при врахуванні концентрацій холестерину і тригліцеридів.

3.2 Ліпідний профіль

Ліпідний профіль – набір специфічних аналізів крові, що дозволяє визначити відхилення в жировому обміні організму, необхідних для визначення ризику атеросклерозу. Ліпідний профіль включає загальний холестерин, ХС ЛПНЩ, ХС ЛПВЩ і ТГ. За результатами дослідження розраховують коефіцієнт атерогенності (КА) як співвідношення кількості холестерину в "поганих" і "хороших" ліпопротеїдах. Для його обчислення з концентрації загального холестерину потрібно відняти концентрацію холестерину, ліпопротеїдів високої щільності, результат розділити на величину холестерину ліпопротеїдів високої щільності:

$$КА = (\text{загальний ХС} - \text{ХС ЛПВЩ}) / \text{ХС ЛПВЩ} (1).$$

Нормальні значення КА <3,5.

Параметри жирового обміну, до яких треба прагнути, відображає правило «п'ятірки»:

- 1) холестерин – менше 5 ммоль/л;
- 2) коефіцієнт атерогенності – менше 4 ммоль/л;
- 3) холестерин ЛПНЩ – менше 3 ммоль/л;
- 4) тригліцериди – менше 2 ммоль/л;
- 5) холестерин ЛПВЩ – менше 1 ммоль/л.

Визначення ліпідного профілю доцільно при ішемічній хворобі серця; після інфаркту міокарда; при судинних захворюваннях мозку.

У таблиці 3.2.1 відображена загальноприйнята оцінка (класифікація) показників ліпідного профілю.

Таблиця 3.2.1 – Клінічна класифікація вмісту ХС-ЛПНЩ, загального холестерину, ХС-ЛПВЩ та тригліцеридів (мг/дл, ммоль/л)

Холестерин ЛПНЩ	
< 100 (< 2,6)	Оптимальний
100 – 129 (2,6 – 3,3)	Вище оптимального
130 – 159 (3,4 – 4,0)	Гранично високий
160 – 189 (4,1 – 4,8)	Високий
> 190 (> 4,9)	Дуже високий
Загальний холестерин	
< 200 (< 5,2)	Нормальний
200 – 239 (5,2 – 6,1)	Гранично високий
>240 (> 6,2)	Високий
Холестерин ЛПВЩ	
< 40 (<1,0)	Низький
> 60 (>1,6)	Високий

Тригліцериди	
< 150 (<1,7)	Оптимальний
150 – 199 (1,7 – 2,2)	Гранично високий
200 – 499 (2,3 – 4,4)	Високий
> 500 (>4,5)	Дуже високий

Аналіз ліпопротеїдів (ліпопротеїновий профіль) включає визначення натще рівнів загального холестерину, загальних тригліцеридів і холестерину ЛПВЩ. Концентрація холестерину ЛПНЩ (у системі СІ, ммоль/л) розраховується за формулою Фрідвальда (2):

$$\text{ЛПНЩ-ХС} = \text{Загальний ХС} - \text{ЛПВЩ-ХС} - \text{ТГ}/2,2 \text{ (ммоль/л)} \quad (2)$$

Формулу можна використовувати при значеннях ТГ <400 мг/дл (4,5 ммоль/л). При визначенні показника в мг/дл в знаменнику замість індексу 2,2 використовується індекс 5.

4 Обмін вуглеводів

Основним проявом патології вуглеводного обміну є зміна рівня глюкози в крові. Нормальний вміст глюкози в плазмі: 3,9-5,5 мМ/л. Рівень глюкози крові жорстко регулюється гормонами. Інсулін знижує рівень глюкози в плазмі; глюкагон, адреналін, кортизол і гормон росту підвищують.

Найчастіше зустрічаються порушення вуглеводного обміну, що характеризуються підвищенням рівня глюкози крові – гіперглікемією. Гіперглікемія – клінічний симптом, що позначає збільшення вмісту глюкози в сироватці крові порівняно з нормою.

Ступінь тяжкості гіперглікемії визначається рівнем глюкози в сироватці крові:

- легка гіперглікемія – 6,7-8,2 ммоль/л;
- середньої тяжкості – 8,3-11,0 ммоль/л;
- важка гіперглікемія – понад 11,1 ммоль/л;

При показнику глюкози крові понад 16,5 ммоль/л розвивається прекома; при показнику понад 55,5 ммоль/л настає гіперосмолярна кома.

4.1 Цукровий діабет, класифікація

Діабет – будь-яке захворювання, що характеризується надмірним виділенням сечі. Найбільш поширеною формою діабету є цукровий діабет, при якому має місце порушення обміну речовин, нездатність клітин окисляти вуглеводи через порушення функції інсуліну. Цукровий діабет характеризується підвищеним рівнем глюкози в плазмі та епізодичним кетоацидозом. Додаткові симптоми цукрового діабету включають підвищену спрагу, глюкозурію, поліурію, ліпемію, підвищений апетит. Якщо це захворювання не лікувати, то можливий фатальний кетоацидоз. Інші форми цукрового діабету включають нецукровий діабет і лабільний діабет.

Нецукровий діабет – прояв дефіциту антидіуретичного гормону (АДГ). Основний симптом нецукрового діабету – надмірне виділення неконцентрованої сечі в результаті нездатності нирок до зворотного всмоктування води.

Лабільний діабет є однією з форм, що характеризується незрозумілими коливаннями гіпоглікемії та ацидозу.

Діабет новонароджених. Діабет новонароджених відноситься до станів, при яких гіперглікемія протягом перших 6 місяців життя обумовлена дисфункцією інсуліну. Ця форма діабету не є типовим цукровим діабетом 1 типу (СД1), оскільки СД1 включає в себе імунне руйнування β-клітин підшлункової залози, а для цього потрібно кілька років латентного періоду. Діабет новонароджених може бути тимчасовим або постійним. Якщо дитина страждає від перехідних форм, то вона піддається підвищеному ризику розвитку СД1 в подальший час життя.

Критерії цукрового діабету:

- 1) глюкоза крові натще перевищує 126 мг/дл (7 ммоль/л); нормальний рівень повинен бути менше, ніж 100 мг/дл (5.6 ммоль/л);
- 2) або у тесті толерантності до глюкози в межах 2 годин після прийому глюкози вміст її в плазмі крові повинно перевищувати 200 мг/дл (11 ммоль/л).

Типи цукрового діабету. Цукровий діабет є гетерогенним клінічним захворюванням з численними причинами. Існують дві основні класифікації цукрового діабету: ідіопатичний і вторинний.

Ідіопатичний діабет поділяється на два основних типи: інсулінозалежний та інсулінонезалежний. Інсулінозалежний цукровий діабет, ІЗЦД (більш відомий як цукровий діабет 1 типу) характеризується розвитком кетоацидозу за відсутністю інсулінотерапії. Цукровий діабет 1 типу найчастіше проявляється в дитячому віці (так званий ювенільний діабет) і є результатом аутоімунного руйнування β-клітин підшлункової залози. Інсулінонезалежний цукровий діабет, ІНЦД (більш відомий як цукровий діабет 2 типу) характеризується стійкою гіперглікемією, але рідко призводить до кетоацидозу. Діабет 2 типу зазвичай проявляється після 40 років і, отже, має застарілу назву цукровий діабет дорослих. До цукрового діабету 2 типу можуть призвести дефекти генетики, які викликають як резистентність до інсуліну та інсулінової недостатності. Існують дві основні форми цукрового діабету 2 типу:

- 1) пізніший початок, асоційований з ожирінням;
- 2) пізніший початок, не асоційований з ожирінням.

Існує сильна кореляція між ожирінням і виникненням діабету 2 типу та пов'язана з ним резистентність до інсуліну. Зростання ожиріння серед дітей і дорослих загрожує епідемії розвитку цукрового діабету 2 типу та збільшення частки населення, яке потерпає метаболічним синдромом. Метаболічний синдром являє собою комплекс чинників ризику, що включають серцево-судинні захворювання, обумовлені атеросклерозом, і резистентність до інсуліну. Варто зазначити, що ожиріння само по собі не завжди веде до резистентності до інсуліну, оскільки деякі люди, що страждають ожирінням, не

мають резистентності до інсуліну і, навпаки, деякі люди, які проявляють резистентність до інсуліну, не страждають ожирінням. Ці останні спостереження вказують на роль генетики в придбанні резистентності до інсуліну.

Вторинні, або інші специфічні типи цукрового діабету є наслідком багатьох причин, які включають:

- 1) генетичні порушення в системі білків внутрішньоклітинної передачі сигналів з рецептора інсуліну до ядра;
- 2) захворювання підшлункової залози;
- 3) муковісцидоз і панкреатит можуть також призвести до руйнування підшлункової залози;
- 4) ендокринні захворювання – пухлини, що виробляють гормони, які протистоять дії інсуліну або пригнічують секрецію інсуліну (глюкагон, адреналін, гормон росту та кортизол);
- 5) мутації в гені інсуліну;
- 6) мутації в гені рецептора інсуліну.

4.2 Характеристика діабету типу 1

Цукровий діабет 1-го типу – захворювання ендокринної системи, що характеризується абсолютною недостатністю інсуліну, викликаною деструкцією β -клітин підшлункової залози. Діабет 1 типу може розвинути в будь-якому віці, однак найчастіше хворіють особи молодого віку (діти, підлітки, дорослі люди молодше 30 років). У клінічній картині переважають класичні симптоми: спрага, поліурія, втрата ваги, кетоацидотичний стан. У патогенезі цукрового діабету виділяють дві основні ланки:

- 1) недостатнє утворення інсуліну ендокринними клітинами підшлункової залози;
- 2) порушення взаємодії інсуліну з клітинами тканин організму (інсулінорезистентність) як наслідок зміни структури або зменшення кількості специфічних рецепторів для інсуліну, зміни структури самого інсуліну або порушення внутрішньоклітинних механізмів передачі сигналу від рецепторів метаболічним системам клітини.

По суті ЦД 1-го типу – повільний автоімунний процес, обумовлений автоантитілами.

1. Антитіла до білків цитоплазми клітин острівців. Знайдено у 90% хворих діабетом 1 типу (ICA, Autoantibodies to islet cells, антитіла до цитоплазми клітин острівців). В осіб, що не хворіють на діабет, частота ICA складає всього 0,5% – 4%. Наявність ICA є дуже точним провісником майбутнього розвитку ІЗЦД. ICA не є специфічними для β -клітин і розпізнають антигени в інших типах клітин в острівці. Тим не менш, автоімунні атаки вибірково руйнують β -клітини. Таким чином, ICA можуть відігравати основну роль у руйнуванні острівцевих клітин.

2. Антитіла до антигенів клітинної поверхні острівців (ICSA, islet cell surface autoantibodies). Описано у 80% хворих діабетом 1 типу. Титр як ICCA,

так і ICSA знижується протягом часу. ICSA були виявлені у деяких пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу.

3. Специфічні антитіла до антигенів-мішеней острівців: антитіла до декарбоксілази глутамінової кислоти (GAD, glutamic acid decarboxylase autoantibodies) виявлені у більш ніж 80% пацієнтів з ІЗЦД. При перебігу хвороби титр анти-GAD, як і ICCA антитіл у хворих діабетом 1 типу зменшується з часом. Наявність анти-GAD антитіл є сильним предиктором майбутнього розвитку ІЗЦД в групах високого ризику. Анти-антитіла до інсуліну (IAA, antibodies to insulin) були виявлені в ІЗЦД пацієнтів і родичів з ризиком розвитку ІЗЦД. Ці IAA виявляються ще до початку інсулінотерапії хворих діабетом 1 типу. IAA виявляються приблизно у 40% маленьких дітей з ІЗЦД.

Патофізіологія цукрового діабету 1 типу. Автоімунні руйнування β -клітин підшлункової залози призводить до дефіциту секреції інсуліну. Саме ця втрата секреції інсуліну призводить до метаболічних порушень, пов'язаних з ІЗЦД. На додаток до втрати секреції інсуліну, α -клітини підшлункової залози функціонують ненормально. У хворих ІЗЦД існує надмірна секреція глюкагону. Як правило, гіперглікемія приводить до зниження секреції глюкагону. Тим не менш, у пацієнтів з ІЗЦД, секреція глюкагону не пригнічується гіперглікемією. Підвищений рівень глюкагону посилює метаболічні дефекти, пов'язані з дефіцитом інсуліну. Найбільш вираженим прикладом цих метаболічних порушень є те, що у пацієнтів з ІЗЦД швидко розвивається діабетичний кетоацидоз при відсутності введення інсуліну. Особливо проблематичними для пацієнтів ІЗЦД є порушення здатності до секреції глюкагону у відповідь на гіпоглікемію. Це призводить до потенційно смертельної гіпоглікемії у відповідь на лікування інсуліном цих пацієнтів.

Поряд з дефіцитом інсуліну – первинним дефектом в ІЗЦД, у пацієнтів з погано контрольованим ІЗЦД є також дефекти в здатності тканин-мішеней до відповідей на введення інсуліну. Є кілька біохімічних механізмів, здатних пояснити порушення тканин реагувати на інсулін. Нестача інсуліну призводить до підвищення рівня вільних жирних кислот в плазмі в результаті неконтрольованого ліполізу в жировій тканині. Вільні жирні кислоти пригнічують метаболізм глюкози в периферичних тканинах, таких як скелетні м'язи. Це погіршує дію інсуліну в цих тканинах, тобто сприяння утилізації глюкози. Крім того, дефіцит інсуліну знижує експресію ряду генів, білки яких необхідні для нормальної реакції тканин-мішеней на інсулін. Це гени глюкокінази в печінці і GLUT 4 класу транспортерів глюкози в жировій тканині. Основними метаболічними порушеннями, викликаними дефіцитом інсуліну при ІЗЦД, є метаболізм глюкози, ліпідів і білків.

Метаболізм глюкози. Неконтрольований ІЗЦД призводить до збільшення продукції глюкози печінкою. По-перше, запаси глікогену в печінці, що мобілізуються до початку глюконеогенезу, використовуються для утворення глюкози. Дефіцит інсуліну також погіршує утилізацію глюкози в жировій і м'язовій тканинах. У нормі глюкоза поглинається цими тканинами шляхом інсулін-опосередкованого транспорту глюкози через плазматичну

мембрану цих тканин. Зменшення поглинання глюкози в периферичних тканинах, у свою чергу, призводить до зниження швидкості метаболізму глюкози. Крім того, рівень печінкової глюкокінази регулюється інсуліном. Таким чином, зниження темпів фосфорилювання глюкози в гепатоцитах призводить до збільшення її в крові. Інсулін впливає на інші ферменти, що беруть участь у метаболізмі глюкози (насамперед за рахунок ковалентних модифікацій). Поєднання підвищеної продукції глюкози печінкою (глюконеогенез) та зниження її метаболізму в периферичних тканинах призводять до підвищення рівня глюкози в плазмі крові. Коли рівень глюкози в крові досягає величини, що перевищує можливості нирок до її реабсорбції (10 ммоль/л), глюкоза з'являється в сечі – розвивається глюкозурія.

Глюкоза є осмотичним діуретиком, збільшення втрати глюкози нирками супроводжується втратою води та електролітів, тобто поліурією. У результаті втрати води активується механізм спраги (полідипсія).

Негативний енергетичний баланс призводить до збільшення апетиту і споживання їжі (ненажерливість, поліфагія).

Ліпідний обмін. Одна з важливих ролей інсуліну – запасання енергетичних субстратів їжі. Це накопичення енергії у вигляді глікогену в гепатоцитах і скелетних м'язах. Крім того, в гепатоцитах інсулін стимулює синтез тригліцеридів і відкладення їх у жировій тканині. У той же час інсулін інгібує ліполіз у жировій тканині. При неконтрольованому ІЗЦД відбувається швидка мобілізація тригліцеридів, що супроводжується збільшенням рівня вільних жирних кислот у плазмі. Вільні жирні кислоти поглинаються тканинами (але не мозком) і метаболізують із звільненням енергії. Вільні жирні кислоти також поглинаються печінкою.

У присутності інсуліну рівень малоніл-КоА високий. Цей високий рівень малоніл-КоА інгібує карнітин пальмітоїлтрансферазу-1, ферменту, необхідного для транспортування ацил-КоА в мітохондрії, де вони піддаються окисленню для синтезу АТФ. Таким чином, у відсутність інсуліну, вміст малоніл-КоА падає і транспорт ацил-КоА в мітохондрії збільшується. Мітохондріальне окислення жирних кислот утворює ацетил-КоА, який окислюється в ЦТК. Проте, в гепатоцитах більшість ацетил-КоА не окислюється в циклі ЦТК, але метаболізує в кетоніві тіла – ацетоацетат і β -оксибутират. Ці кетоніві тіла залишають печінку та використовуються для виробництва енергії скелетних м'язів, мозку і серця. При ІЗЦД підвищення доступності вільних жирних кислот і кетонівих тіл посилює знижену утилізацію глюкози, сприяючи подальшій гіперглікемії. Синтез кетонівих тіл, що перевищують здатність організму використовувати їх, призводить до кетоацидозу. У діабетиків це можна легко діагностувати за запахом із рота. Спонтанним продуктом розпаду ацетоацетату є ацетон, який випаровується легеньми з утворенням характерного запаху. Як правило, плазмові тригліцериди під дією ліпопротеїнази (ЛПЛ), ферменту на поверхні ендотеліальних клітин, що вистилають судини, вилучаються з циркуляції та спрямовуються в адіпоцити для зберігання. Активність ЛПЛ контролюється інсуліном. У відсутність інсуліну спостерігається гіпертригліцеридемія.

Білковий обмін. Інсулін регулює стан багатьох генів, що або позитивно, або негативно впливає на загальний обмін речовин. Інсулін має глобальний вплив на білковий обмін, збільшуючи швидкість синтезу білка і зменшуючи швидкість деградації білків. Таким чином, дефіцит інсуліну призведе до збільшення катаболізму білків. Збільшення швидкості протеолізу призводить до підвищення концентрації в плазмі крові амінокислот. Ці амінокислоти є попередниками глюконеогенезу в печінці та нирках. У печінці збільшення глюконеогенезу робить додатковий внесок у гіперглікемію при ІЗЦД.

4.3 Інсулінонезалежний цукровий діабет (ІНЦД), тип 2

Етіологія цукрового діабету 2 типу. Цукровий діабет 2 типу характеризується відсутністю потреби в інсуліні для запобігання кетоацидозу. Цукровий діабет 2 типу відноситься до розповсюдженої форми ідіопатичного ІНЦД. Цукровий діабет 2 типу не є автоімунним захворюванням, проте існує сильна кореляція з генетичною сприйнятливістю до цієї форми цукрового діабету. Ожиріння є основним фактором ризику того, що схиляє до діабету типу 2. Генетичні дослідження на мишах і щурах показали зв'язок між генами, відповідальними за ожиріння, та тими, що викликають цукровий діабет.

Патофізіологія цукрового діабету 2 типу. На відміну від пацієнтів з цукровим діабетом 1 типу, пацієнти з діабетом 2 типу, мають визначувані рівні циркулюючого інсуліну. На підставі ТТГ та тестування основних елементів цукрового діабету 2 типу можна розділити на 4 окремі групи: 1) з нормальною толерантністю до глюкози; 2) хімічний цукровий діабет (з порушеною толерантністю до глюкози); 3) цукровий діабет з мінімальною гіперглікемією натще (глюкоза плазми натще <140 мг/л); 4) цукровий діабет у поєднанні з відкритою гіперглікемією натще (глюкоза в плазмі натще > 140 мг/дл). Багато експертів приходять до висновку, що резистентність до інсуліну є основною причиною цукрового діабету 2 типу, однак інші стверджують, що дефіцит інсуліну є основною причиною, тому що помірна ступінь резистентності до інсуліну не є достатньою, щоб викликати діабет 2 типу. Основні клінічні ускладнення цукрового діабету 2 типу є результатом стійкої гіперглікемії, що призводить до численних патофізіологічних наслідків. Оскільки рівень глюкози підвищується в крові, то кров стає більш в'язкою, що ускладнює циркуляцію крові в дрібних капілярах. Зниження швидкості кровоплину визначає прогресивний розвиток судинних ускладнень, що ведуть до діабетичної ретинопатії (іменовані діабетичною сліпотою), периферичної невропатії (в результаті оніміння кінцівок і поколювання в пальцях рук і ніг), погане загоєння ран, та еректильної дисфункції. На додаток до цих основних клінічних ускладнень, організм реагує на підвищення рівня глюкози поліурією. При виведенні глюкози з сечею здійснюється супутня втрата води для підтримки нормальної осмолярності сечі. Втрата води призводить до надмірної спраги, що називається полідипсією.

4.4 Цукровий діабет та метаболічний синдром (МС)

Ключові компоненти МС, які включаються в додаток до резистентності до інсуліну (особлива ознака синдрому) – артеріальна гіпертензія, дисліпідемія, хронічні запалення, порушення фібринолізу, прокоагулянтний стан і центральне ожиріння (табл. 4.4.1).

Таблиця 4.4.1 – Критерії МС

Критерії	Параметри критеріїв
Глюкоза надще	≥ 100 мг/дл (≥ 5.6 ммоль/л)
Підвищена окружність талії	≥ 102 см у чоловіків ≥ 88 см у жінок
Підвищення рівня тригліцеридів	≥ 150 мг/дл (≥ 1.7 ммоль/л)
Зменшення рівня холестерину ЛПВЩ	< 40 мг/дл (< 1.03 ммоль/л) у чоловіків
Підвищений кров'яний тиск	< 50 мг/дл (< 1.3 ммоль/л) у жінок
Підвищений кров'яний тиск	≥ 130 мм Hg сист. або ≥ 85 мм Hg діаст.

Метаболічні порушення при МС. МС визначається як сукупність факторів ризику, які включають атеросклеротичні серцево-судинні захворювання, вісцеральне ожиріння, резистентність до інсуліну, низький рівень ЛПВЩ і системні прозапальні стани. Є ключові компоненти метаболічного синдрому, які включають в додаток до резистентності до інсуліну (ознака особливості синдрому), артеріальну гіпертензію, дисліпідемію, хронічні запалення, порушення фібринолізу, прокоагулянтний стан і центральне ожиріння.

Роль жирової тканини пов'язано з тим, що це є орган активної секреції цитокінів, так званих адипоцитокінів. До них відносяться фактор некрозу пухлини- α (ФНП- α), інтерлейкін-6 (ІЛ-6), лептин, адіпонектин та резистин. Лептин отримав особливу увагу пізно через його роль в ожирінні на додаток до того, що останні дані показують, що плазмові рівні лептину виявляються предикатами серцево-судинної патології. Багато лікарів і дослідники вважають, що опір інсуліну лежить в основі серцево-судинної патології метаболічного синдрому. Однією з основних причин цього є роль інсуліну в гомеостазі жиру. Ефектом резистентності до інсуліну на рівні гомеостазу жиру є збільшення циркулюючих ТГ – дисліпідемія. У зв'язку з резистентністю до інсуліну відбувається збільшення в поставках периферичних жирних кислот у печінку, які в свою чергу, призводить синтез печінкових тригліцеридів. Ці тригліцериди потім упаковуються в ліпопротеїдові частинки – ЛДНЩ (ліпопротеїди дуже низької щільності), які повертаються в оборот.

У тромбоцитів дії інсуліну спричиняють до збільшення активності ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS). Активація NO виробництва в тромбоцитах призводить до зменшення тромбін-індукованої агрегації клітин, тим самим, обмежуючи прокоагулянтні ефекти активації тромбоцитів. Ця відповідь тромбоцитів на інсулін чітко вказує, чому перебої в дії інсуліну є основним чинником, що сприяє розвитку метаболічного синдрому.

Взяті разом, резистентність до інсуліну та пов'язані з ним негативні наслідки для обміну речовин, підвищення рівня циркулюючих тригліцеридів, зниження рівня ЛПВЩ й артеріальна гіпертензія, сприяють прогресуванню атеросклерозу. Пов'язані з патологією згортання крові та фібринолізу серцево-судинні події метаболічного синдрому можуть бути руйнівними.

4.5 Діагностика та диференційна діагностика цукрового діабету

Набір специфічних аналізів крові, який дозволяє оцінити функціональний стан підшлункової залози та діагностувати цукровий діабет називають діабетичним профілем. Діабетичний профіль визначається для діагностики порушень вуглеводного обміну при наявності факторів ризику розвитку діабету, а також з метою підбору лікування хворих на цукровий діабет та оцінки його ефективності.

Показання для визначення діабетичного профілю. Інсулінозалежний та інсулінонезалежний цукровий діабет (діагностика та моніторинг захворювання); порушення толерантності до вуглеводів («преддіабет»).

Діабетичний профіль включає такі показники: глюкоза крові, глікований гемоглобін, загальний холестерин, ЛПНЩ - холестерин, ЛПВЩ - холестерин, тригліцериди, індекс атерогенності, інсулін, С-пептид.

У таблиці 4.4.1 відображені діагностичні критерії інсулінозалежного цукрового діабету.

Таблиця 4.4.1 – Діагностичні критерії діабету 1-го типу

Симптоми діабету	Поліурія, полідипсія, поліфагія, діабетичний кетоацидоз (ДКА)
Глюкоза в плазмі крові, величина різна	≥ 200 мг/дл*
Рівень глюкози натще	≥ 126 мг/дл*
Глюкоза в тесті толерантності до глюкози (ТТГ тест) через 2 години	≥ 200 мг/дл*
Наявність автоантитіл	GADA, ICA, IA-2A, IAA
* Необхідне підтвердження повторним тестуванням.	

Глюкоза крові, плазми та капілярної крові. Нормальні показники глюкози в крові: натщесерце від 3,3 до 5,5 ммоль/л (59-99 мг%) у цільній венозній та в капілярній крові; від 4,0 до 6,1 ммоль/л (72-110 мг%) у плазмі венозній та капілярній. Через 2 години після їжі або тесту толерантності до глюкози рівень глюкози крові становить: у венозній крові – до 6,7 ммоль/л (120 мг%), у капілярній крові – до 7,8 ммоль/л (140 мг%), у капілярній плазмі – до 8,9 ммоль/л (160 мг%).

Порушення глікемії натще: рівень глюкози натще перевищує величину 5,6 ммоль/л (100 мг%), але менше 6,1 ммоль/л (110 мг%) у цільній крові (як у венозній, так і в капілярній), в плазмі цей показник має бути більше, ніж 6,1 ммоль/л (110 мг%), але менше 7,0 ммоль/л (126 мг%). Через 2 години після їжі

або тесту толерантності до глюкози рівень глюкози крові повинен бути нормальним (у венозній крові – до 6,7 ммоль/л (120 мг%), у капілярній крові – до 7,8 ммоль/л (140 мг%), в капілярній плазмі – до 8,9 ммоль/л (160 мг%).

Глюкозотолерантний тест (ГТТ). ГТТ – визначення глюкози у венозній крові натщесерце та після цукрового навантаження через 2 години. Під час проведення 2-х годинного дослідження не можна їсти, курити, вживати які-небудь рідини, при необхідності можна випити 1 – 2 ковтки води. Розшифровка результату глюкозотолерантного тесту: концентрація глюкози через 2 години після прийому глюкози: <7,8 ммоль/л – норма; 7,8 – 11,1 ммоль/л – порушення толерантності до глюкози; > 11,1 ммоль/л – цукровий діабет.

Порушення толерантності до глюкози: натщесерце рівень глюкози – понад 5,6 ммоль/л (100 мг%), але менше 6,1 ммоль/л (110 мг%) і у венозній та в капілярній крові, менше 7,0 ммоль/л (126 мг%) у венозній і капілярній плазмі (як при порушенні глікемії натще). Через 2 години після їжі або тесту толерантності до глюкози або в будь-який час дня рівень глюкози більше 6,7 ммоль/л (120 мг%), але менше 10,0 ммоль/л (180 мг%) у венозній крові; в капілярній крові – більше 7,8 ммоль/л (140 мг%), але менше 11,1 ммоль/л (200 мг%); в капілярній плазмі – більше 8,9 ммоль/л (160 мг%), але менше 12, 2 ммоль/л (220 мг%).

Цукровий діабет: натщесерце – глюкоза більше 6,1 ммоль/л (110 мг%) і у венозній, та в капілярній крові, більше 7,0 ммоль/л (126 мг%) у венозній і капілярній плазмі. Через 2 години після їжі або тесту толерантності до глюкози, або в будь-який час дня – більше 10,0 ммоль/л у венозній крові і більше 11,1 ммоль/л – у капілярній крові і у венозній плазмі, понад 12,2 ммоль/л (220 мг%) у капілярній плазмі. Таким чином, діагноз ЦД може бути поставлений тільки на підставі лабораторних даних про Вміст глюкози. Це може бути: підвищення глюкози капілярній або венозній крові вище 6,1 ммоль/л (двічі, при сумніві – тричі); підвищення глюкози капілярній крові вище 11,1 ммоль/л або венозній крові вище 10,0 ммоль/л через 2 години після ТТГ, або прийому їжі з достатнім вмістом вуглеводів, або при випадковому визначенні глюкози крові в будь-який час.

Між нормальним станом і цукровим діабетом існує проміжний стан, що визначається діагнозом: порушена толерантність до глюкози (рівень цукру крові до їжі нижче "діабетичної" цифри 6,2 ммоль/л, а через дві години після навантаження розчином глюкози – від 7,7 до 11, 3 ммоль/л). Цей діагноз говорить про те, що існує ризик розвитку цукрового діабету в майбутньому (неофіційна назва – преддіабет).

Останнім часом було введено ще одне поняття: порушена глікемія натще (рівень цукру крові натще від 5,6 до 6,2 ммоль/л, а через пару годин після навантаження розчином глюкози вже в межах норми – до 7,7 ммоль/л), яке також розглядається як можливий фактор ризику подальшого розвитку діабету. Глікемія натще – визначається натщесерце після нічного голодування протягом 8 –10 годин.

Для скринінгу ЦД застосовують тільки дослідження глюкози натще. Це роблять при зверненні в поліклініку з самих різних приводів. При отриманні

показників, що перевищують норму, дослідження повторюють. І якщо показник в цільній венозній крові знову перевищує цифру 6,1 ммоль/л, лікар має право поставити діагноз «цукровий діабет». Подальші дослідження глікемії протягом дня необхідні для вирішення питання про необхідність проведення лікарської терапії та призначення потрібних препаратів. При випадковому виявленні глікемії в цілісній крові від 5,6 до 6,1 ммоль/л потрібне подальше уточнення варіанта порушення вуглеводного обміну. Для цього застосовується або оральний тест толерантності до глюкози, або вимірювання глікемії після їжі з достатнім вмістом вуглеводів. Ці дослідження дозволяють диференціювати порушену глікемію натще та порушення толерантності до глюкози. Вся діагностика ЦД повинна проводитися без застосування дієти з обмеженням вуглеводів, у період, що виключає стресові підвищення глюкози крові (гострий період інфаркту міокарда, порушення мозкового кровообігу, гарячкових станів, травм, нервових стресів), кровотечі та переливання крові.

Глікований гемоглобін – з'єднання гемоглобіну з глюкозою, яке дозволяє оцінювати рівень глікемії за 1-2 місяці, що передують дослідженню. Утворюється в результаті повільної неферментативної хімічної реакції гемоглобіну А, що міститься в еритроцитах, з глюкозою крові. Швидкість та обсяг цієї реакції залежать від середнього рівня глюкози на протязі життя еритроцита. Існує кілька варіантів форм глікованого гемоглобіну: HbA1a, HbA1b, HbA1c. Остання форма кількісно переважає і тісніше корелює зі ступенем вираженості цукрового діабету. Глікований гемоглобін відображає гіперглікемію, що мала місце протягом періоду життя еритроцитів (до 120 діб). Еритроцити, що циркулюють у крові, мають різний вік, тому для усередненої характеристики рівня глюкози орієнтуються на напівперіод життя еритроцитів – 60 діб. Таким чином, рівень глікованого гемоглобіну показує, якою була концентрація глюкози в попередні 4-8 тижнів і є показником компенсації вуглеводного обміну протягом цього періоду. Нормалізація рівня глікованого гемоглобіну в крові відбувається на 4-6 тижні пізніше досягнення нормального рівня глюкози. У хворих на цукровий діабет рівень цього з'єднання може бути підвищений в 2-3 рази.

У відповідності з рекомендаціями ВООЗ цей тест визнаний оптимальним і необхідним для контролю цукрового діабету. Хворим на цукровий діабет рекомендується проводити дослідження рівня глікованого гемоглобіну не менше одного разу на квартал. Значення можуть різнитися між лабораторіями залежно від застосовуваного аналітичного методу, тому контроль в динаміці краще проводити в одній лабораторії або тим же методом.

При контролі за лікуванням діабету рекомендується підтримувати рівень глікованого гемоглобіну менше 7% і переглядати терапію при вмісті глікованого гемоглобіну більше 8% (вказані значення застосовні тільки для сертифікованих методів з референтними межами 4-6%). Клінічні дослідження з використанням сертифікованих методів показують, що зростання частки глікованого гемоглобіну на 1% пов'язане зі зміною, в середньому, рівня глюкози плазми приблизно на 2 ммоль/л. Глікований гемоглобін використовується як показник ризику розвитку ускладнень діабету. Зниження

частки глікованого гемоглобіну на 1/10 пов'язано з приблизно 45% зниженням ризику прогресії діабетичної ретинопатії.

Показання до призначення аналізу визначення глікованого гемоглобіну:

- 1) діагностика та скринінг цукрового діабету;
- 2) довготривалий моніторинг перебігу та контролю за лікуванням хворих на цукровий діабет;
- 3) визначення рівня компенсації цукрового діабету;
- 4) доповнення до глюкозотолерантного тесту при діагностиці преддіабету, уповільненого діабету;
- 5) обстеження вагітних жінок (прихований діабет).

Підготовка до дослідження: рівень глікованого гемоглобіну не залежить від часу доби, фізичних навантажень, прийому їжі, призначених ліків, емоційного стану пацієнта; станів, що викликають вкорочення середнього "віку" еритроцитів (після гострої крововтрати, при гемолітичній анемії), можуть хибно занижувати результат тесту.

Матеріал для дослідження: цільна кров з антикоагулянтом EDTA. Метод визначення глікованого гемоглобіну – колонкова хроматографія/спектрофотометрія (виробник BioSystems).

Одиниці виміру: відсотки від загальної кількості гемоглобіну.

Референтні значення 4,4 – 6,7% від загального вмісту гемоглобіну.

Підвищення значень глікованого гемоглобіну спостерігається при:

- 1) цукровому діабеті та інших станах з порушеною толерантністю до глюкози,
- 2) дефіциті заліза,
- 3) спленектомії.

Помилкове підвищення може бути обумовлено високою концентрацією фетального гемоглобіну (HbF).

Зниження значень глікованого гемоглобіну супроводжують:

- 1) гіпоглікемію,
- 2) гемолітичну анемію,
- 3) кровотечі,
- 4) переливання крові.

Критерії диференціальної діагностики ЦД 1 і ЦД 2 типів відображені у таблиці 4.4.2.

Таблиця 4.4.2 – Критерії диференціальної діагностики ЦД 1 і ЦД 2 типів

Ознака	Тип 1	Тип 2
Звичайний клінічний перебіг	Інсулінозалежний	Інсулінонезалежний
Вік початку захворювання	50% до 20 років і 50% після 20 років	Після 40 років, але можливо і раніше
Вага тіла	Зазвичай худий	Зазвичай огрядний
Клінічний початок	Часто гостре	Поволі, повільне
Підтверджений кетоз	Так	немає
Сімейний анамнез	≤ 15% відносно	зазвичай

* Острівкові антитіла (GADA, ICA, IA-2A, IAA)	Присутні	Відсутні
Генетично	Схильний	

* Для досягнення високого рівня інформативності необхідно визначення всіх трьох імунологічних маркерів. Визначення цих маркерів дозволяє в 97% випадків диференціювати ЦД I типу від II типу, коли клініка цукрового діабету I типу маскується під II тип.

У новій класифікації цукровий діабет 1 типу, опосередкований антитілами, називають типом 1А. Деякі рідкісні випадки ЦД, у яких автоімунні антитіла не визначаються, називаються ідіопатичними або типом 1В.

Визначення діабетичного кетоацидозу. Самим важким і небезпечним для життя ускладненням погано контрольованого діабету 1 типу є діабетичний кетоацидоз (ДКА). ДКА характеризують метаболічний ацидоз, гіперглікемія та гіперкетонемія. Діагностика ДКА здійснюється шляхом виявлення гіперкетонемії та метаболічного ацидозу (за значенням аніонного проміжку (АП, anion gap). АП визначається як різниця між концентраціями катіонів та аніонів за формулою: $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{HCO}_3^- + \text{Cl}^-)$; у нормі величина АП в крові становить 8-12 мЕкв/л. При метаболічному ацидозі значення АП збільшується. Метаболічний ацидоз може призвести до набряку мозку і коми, в кінцевому підсумку призводить до смерті. Гіперкетонемія в ДКА є результатом дефіциту інсуліну і нерегульованої секреції глюкагону α -клітинами підшлункової залози. Глюкагон стимулює звільнення жирних кислоти з тригліцеридів жирової тканини. Вільні жирні кислоти надходять в обіг і будуть поглинені в основному печінкою, де вони піддаються окисленню в ацетил-КоА. Як правило, ацетил-КоА повністю окислюється до CO_2 і води в ЦТК. Однак рівень окислення жирних кислот перевищує спроможність печінки до повного окислення надлишкового ацетил-КоА і, таким чином, сполука буде переадресована в шлях кетогенезу. Кетони (кетонові тіла) є β -оксибутират і ацетоацетат; β -оксибутират є найбільш поширеним. Ацетоацетат спонтанно (неферментативно) підлягає декарбоксілюванню з утворенням ацетону. Ацетон звільняється з легенів і дає характерний солодкуватий запах у диханні людини з гіперкапнією. Кетони випущені в обіг і тому, що вони є кислими, визначають зниження рН крові – метаболічний ацидоз.

Дефіцит інсуліну також призводить до посилення метаболізму тригліцеридів і білків у скелетних м'язах. Як наслідок у циркуляції збільшується вміст гліцерину (від метаболізму тригліцеридів) та аланіну (від катаболізму білків). Ці речовини поглинаються печінкою, де вони використовуються як субстрати для глюконеогенезу, який посилюється в умовах відсутності інсуліну і підвищення глюкагону. Збільшення швидкості утворення глюкози в печінці в поєднанні з глюкагон-опосередкованим інгібуванням зберігання глюкози в глікогені призводить до збільшення випуску глюкози з печінки і подальшої гіперглікемії. Отримана гіперглікемія викликає осмотичний діурез, що призводить до втрати води та електролітів з сечею.

Кетони також виводяться із сечею і це призводить до обов'язкової втрати Na^+ і K^+ . Втрата K^+ велика, іноді перевищує 300 мЕкв/л/24 години. Якщо K^+ сироватки не контролюється, може розвинутися небезпечна для життя гіпокаліємія.

5 Біомаркери і ферменти сироватки крові в діагностиці захворювань органів та систем

5.1 Біомаркери

Біомаркери – це біологічні молекули, які в умовах фізіології відсутні в крові, або їх Вміст незначний; при патології систем, органів чи тканин концентрація цих молекул у сироватці суттєво збільшується, що дозволяє використовувати їх для діагностики захворювання, моніторингу перебігу захворювання та оцінки ефективності терапії.

Біохімічні маркери дисфункції ендотелію. Втрата функції ендотелієм і подальше ушкодження органів є відмітними рисами системних запальних захворювань і сепсису.

1). Підвищення в циркуляції рівня **фактора Віллебранда** – маркер системної активації ендотелію та системного запалення. Високий рівень фактора Віллебранда корелює зі ступенем ураження ендотелію, і поганим виживанням пацієнтів.

2). **Ангіопоетин-1 і ангіопоетин -2** (Ang-1, Ang-2) сімейство факторів росту – біомаркери сепсису. Ступінь підвищення рівня ангіопоетинів в сироватці крові відображає тяжкість сепсису і дозволяє прогнозувати його кінець.

3). **Ендокан або специфічна молекула-1 ендотеліальних клітин.** Це протеоглікан, що конститутивно експресується на ендотелії судин легенів і нирок. Підвищення рівня прозапальних цитокінів TNF- α або IL1- β супроводжується збільшенням у циркуляції ендокану, яке корелює з важкістю SIRS (системної запальної реакції) і ступенем ушкодження ендотелію судин. Прогностична потужність тесту ушкодження ендотелію та органної недостатності 100%.

4). **Біомаркер ушкодження каналців нирок.** Визначення в сечі молекули ушкодження нирок (KIM-1) – чутливий, кількісний біомаркер ранньої діагностики травми ниркових каналців. Це неінвазивний відтворений метод для скринінгу препаратів з нефротоксичними властивостями.

5). **Серцеві біомаркери.** Визначення серцевих біомаркерів використовуються для діагностики, оцінки та моніторингу стану осіб із підозрою на гострий коронарний синдром (ГКС).

Тропонін I або T. Тропонін – це білок, який є одним із компонентів скорочувального контрактильного апарату поперечносмугастих м'язів, що дозволяє м'язовим волокнам актину і міозину ковзати відносно один одного. У саркомері білкові молекули тропоніну утворюють комплекс, що складається з трьох взаємопов'язаних одиниць: Тропонін T, тропонін C і тропонін I у співвідношенні 2:1:1. Тропонін T (молекулярна вага 39,7 кДа) забезпечує зв'язок тропонінового комплексу з волокнами тропоміозину. Тропонін C

(молекулярна вага 18 кДа) зв'язується з іонами кальцію, концентрація яких підвищується в клітинах після деполяризації клітинної мембрани, викликаючи скорочення м'язових волокон. Тропонін І (молекулярна вага 22,5 кДа) пригнічує скорочувальний акт під час відновлювальної фази. Тропонін Т і І існують у трьох ізоформах: серцево-м'язовий тип, повільний скелетно-м'язовий тип і швидкий скелетно-м'язовий тип. Ізоформа тропоніну Т, специфічна для серцевих м'язів, в ембріональний період розвитку присутня також у скелетних м'язах. На більш пізніх стадіях розвитку людського організму її можна виявити у скелетних м'язах, що відновлюються після травм, у хворих поліміозитом або м'язовою дистрофією Дюшена, а також в епітеліальних клітинах ниркових каналців. Серцева ізоформа тропоніну І досі була виявлена тільки в серцевих м'язах, що говорить про її абсолютну кардіоспецифічність. Тропонін Т і тропонін І носять також назву серцевих тропонінів. При ішемічному або якомусь іншому ушкодженні клітин міокарда тропоніновий комплекс розпадається, і молекули тропоніну потрапляють у кров. Уже через 3-4 години після події концентрацію тропонінів у крові можна виміряти сучасними лабораторними методами. На медичному ринку тропонінові тести присутні вже близько 10 років. За цей час вони пройшли значні доопрацювання і стали невід'ємною частиною діагностики інфаркту міокарда. Істотною перевагою використання тропонінів у діагностиці інфаркту є висока специфічність та чутливість сучасних методів вимірювання. Для визначення концентрації тропоніну в лабораторіях використовують сироватку крові або гепаринізовану плазму. При цьому потрібно враховувати, що концентрація тропоніну в одного і того ж пацієнта в гепаринізованій плазмі на 10-15% нижче, ніж у сироватці крові. Тому при проведенні серії досліджень протягом усього часу необхідно використовувати один і той же вид матеріалу для аналізу. У взятій пробі крові тропонін залишається стабільним протягом 1 тижня при зберіганні в холодильнику і тільки протягом 1 дня при кімнатній температурі.

Тропоніновий тест у діагностиці інфаркту міокарда. До інфаркту призводить повна або часткова закупорка одного або декількох коронарних судин, що постачають кров'ю серцевий м'яз. Ареал серця, який не отримує достатньої кількості кисню і поживних речовин, відмирає і не може більше виконувати свої скоротливі функції. Чим раніше розпізнати інфаркт і почати інтенсивне лікування, тим більше шансів на благополучний результат. Діагноз інфаркту міокарда ставиться в тому випадку, якщо після проведеного обстеження підтверджуються два з трьох нижчеперелічених пунктів:

- типові болі в області грудної клітки;
- характерні зміни електрокардіограми;
- присутність у крові специфічних кардіомаркерів.

Стратегія лабораторної діагностики останніми роками сильно змінилася. Визначення серцевих ферментів, таких як аспартатамінотрансфераза, аланінамінотрансфераза, лактатдегідрогеназа і креатинкінази, через їх недостатню специфічність і низьку чутливості тестів дозволяє діагностувати тільки гострий, трансмуральний Q-інфаркт. Нестабільна стенокардія або дрібновогнищевий інфаркт не можуть бути діагностовані з 100% гарантією. І

тільки сучасні тести визначення серцевих тропонінів у комплексі з клінічною картиною хвороби та електрокардіограмою дають можливість з великою упевненістю розпізнати також ішемічне ушкодження м'язів міокарда невеликого розміру. Концентрація серцевих тропонінів у крові підвищується вже через 3-4 години після події нападу і залишається в кров'яному руслі до двох тижнів. Таким чином, тропоніни дозволяють швидко виявити інфаркт міокарда, що дає можливість виграти час. Вони придатні також і при пізній діагностиці, коли концентрація в крові інших серцевих маркерів уже приходить у норму. Навіть у тих випадках, коли пацієнт з якихось причин не потрапив вчасно до лікарні, все одно є можливість проведення точної діагностики інфаркту міокарда. Крім того, знаючи концентрацію тропоніну, можна не тільки діагностувати інфаркт, але і з високою вірогідністю прогнозувати ризик його виникнення, а також оцінити шанси на виживання хворого, який переніс інфаркт. Разове визначення тропоніну в крові не завжди достатньо для достовірної постановки діагнозу. Негативний результат вимірювання тропоніну не гарантує відсутність інфаркту. При відповідній клініці, необхідно провести низьку вимірів концентрації тропоніну через 2 - 4 або 6 - 8 годин та 24 години після першого аналізу. І тільки в тому випадку, якщо всі наступні вимірювання виявляться негативними, можна з упевненістю говорити про відсутність інфаркту міокарда. На сьогодні не можна точно сказати, визначення якого з серцевих тропонінів (Т або І) має більше значення. Дискусія має досить гострий характер, але в ній більше замішані комерційні інтереси фірм-виробників, що випускають тропонінові тести. На перший погляд, тропонін І є більш специфічним серцевим маркером, ніж тропонін Т, але існуючі методи визначення тропоніну І менш стандартизовані. Різні виробники тестів тропоніну І використовують в своїх реагентах різні антитіла і різні методи калібрування, тому їх результати важко порівнювати. Метод же визначення тропоніну Т запатентований і цей тест випускається тільки одним виробником, що гарантує ясність і точність отриманих результатів.

Норма тропоніну в сироватці крові. Виміряна концентрація тропоніну в крові вимагає правильної оцінки результатів, яка багато в чому залежить від використовуваної методики. Так звана норма тропоніну може значно варіювати в різних лабораторіях залежно від застосовуваних тестів.

Високочутливий СРБ (HS-CRP) тест може бути використаний сам по собі, в поєднанні з іншими серцевими маркерами. HS-CRP тест з високою точністю визначає низькі концентрації С-реактивного білка, щоб допомогти передбачити ризик серцево-судинних захворювань (ССЗ) здорової людини. Високочутливий СРБ – тест для визначення ступеня ризику розвитку в людини серцево-судинних захворювань, інфарктів та інсультів. Інформативність тесту значно зростає при паралельному визначенні ліпідного профілю. Відносно високі рівні СРБ у практично здорових людей дозволяють прогнозувати підвищений ризик майбутніх серцевих нападів, інсульту, раптової серцевої смерті, і/або захворювання периферичних артерій, навіть якщо рівень холестерину в допустимих межах. Люди з високими значеннями HS-CRP мають найвищий ризик серцево-судинних захворювань, а з більш низькими

значеннями – менші ризики. Зокрема в осіб, які мають значення HS-CRP відповідні верхній межі нормального діапазону, ризик серцевого нападу в 1,5 – 4 рази вище, ніж в осіб зі значеннями HS-CRP на нижній межі норми. Американська асоціація серця і Центру США з контролю і профілактики захворювань визначили групи ризику по HS-CRP таким чином:

- низький ризик: менше 1,0 мг / л,
- середній ризик: від 1,0 до 3,0 мг / л,
- високий ризик: вище 3,0 мг / л.

Важливо, щоб при постановці тесту людина була в здоровому стані, тоді результат є цінним у прогнозуванні ризику розвитку ішемічної хвороби або серцевого нападу. Недавня хвороба, ушкодження тканин, інфекції або інші загальні запалення підвищують кількість СРБ і можуть дати завищену оцінку ризиків. Жінки на замісній гормональній терапії мають підвищений рівень СРБ. Оскільки HS-CRP і СРБ тести вимірюють один і той же білок, пацієнтам з хронічним запаленням, таким як артрит, не доцільно визначати HS-CRP. Рівень СРБ у них буде дуже високим через артрит, тому результати HS-CRP тесту не мають сенсу.

5.2 Ферменти сироватки крові

Ферменти сироватки поділяють на 3 групи.

1. *Клітинні ферменти або індикаторні ферменти* надходять у кров з органів і тканин. Рівень їх сироваткової активності залежить від вмісту ензимів у тканинах, молекулярної маси, внутрішньоклітинної локалізації, міцності зв'язку ферменту зі своєю органелою, а також від швидкості його кліренсу. Велика частина індикаторних ферментів у сироватці крові визначається в нормі лише у слідових кількостях. При ураженні тих або інших тканин ферменти з клітин «вимиваються» в кров; їх активність у сироватці різко зростає, будучи індикатором ступеня і глибини ушкодження цих тканин.

Клітинні ферменти прийнято поділяти на неспецифічні і органоспецифічні. Активність перших виявляється у всіх органах і тканинах, тому за збільшенням їхньої сироваткової активності важко судити про локалізацію первинних патологічних змін, інші знаходяться в одному-двох органах – це найбільш інформативні ензими, тому збільшення їх активності свідчить про ураження того чи іншого органу.

2. *Секреторні ферменти* синтезуються головним чином гепатоцитами, надходять в кров і виконують специфічні функції в кров'яному руслі, тому їх називають функціональними ферментами крові. Це ферменти системи згортання крові та фібринолізу, калікреїн-кінінової системи, холінестераза та інші.

3. *Екскреторні ферменти* синтезуються головним чином у печінці (лейцинамінопептидаза, лужна фосфатаза та ін.) У фізіологічних умовах ці ферменти в основному виділяються з жовчю. Ще не повністю з'ясовані механізми, регулюючі надходження даних ферментів в жовчні капіляри. При багатьох патологічних процесах екскреторні ферменти надходять в кров.

Процеси синтезу і розпаду ферментів йдуть безперервно і одночасно, що забезпечує певний рівень їх активності в тканинах. Більшість ферментів сироватки крові первинно синтезуються в клітинах, де їх концентрація на три – чотири порядків вище, ніж у сироватці. У кровотік ферменти потрапляють у результаті ушкоджень клітин або їх мембран, природної загибелі клітин, частина ферментів активно секретується в систему циркуляції. При підвищеній загибелі клітин збільшується вміст і відповідно активність ферментів у системі циркуляції. Крім посиленої загибелі клітин підвищення активності ферментів у сироватці крові може бути обумовлено:

- підвищеною проліферацією клітин з прискоренням клітинного циклу (пухлинний ріст);
- підвищеним синтезом ферментів;
- обструкцією шляхів секреції ферментів у порожнині;
- зниженням кліренсу.

Оскільки ферменти локалізуються в різних клітинних компартментах, таких як цитозоль, лізосоми, клітинна мембрана або мітохондрії, то поява певної групи ферментів може відображувати ступінь і тяжкості ушкодження клітин.

Наприклад, такі ферменти, як кисла фосфатаза, 5'-нуклеотидаза, гамма-глутамілтрансфераза (ГГТ) локалізовані в клітинній мембрані. Аланінамінотрансфераза (АЛТ), аспартатамінотрансфераза (АСТ), лактатдегідрогеназа (ЛДГ), креатинкінази (КК) знаходяться в цитоплазмі. АСТ і КК виявлені також і в мітохондріях. Тут же знаходиться глутаматдегідрогеназа (ГДГ). Лужна фосфатаза (ЛФ) локалізована в лізосомах.

Зниження активності ферментів у порівнянні з нормальними значеннями може бути при зниженому синтезі, вродженому дефіциті, в присутності інгібіторів, при агрегації молекул ферментів.

Про механізми видалення ферментів з системи циркуляції відомо мало. Більшість ферментів, мабуть, катаболізує плазмовими протеазами і віддаляється ретикулоендотеліальною системою. Частина ферментів виділяється зі слиною, жовчю та іншими секреторними рідинами. Через нирковий фільтр проходять невеликі молекули з молекулярною масою не більше 60-70 кДа, тому в нормі кількість екскреторних ферментів невелика. До них відноситься амілаза, яка фільтрується в клубочках нирок. Активність амілази в сироватці підвищується при гострій нирковій недостатності, для інших ферментів практично невідомі ситуації, при яких змінювався б їх кліренс, тобто швидкість видалення з крові.

5.2.1 Клініко-діагностичне значення визначення окремих ферментів

Алкогольдегідрогеназа (АДГ; КФ 1.1.1.1). Печінковий цитоплазматичний фермент. АДГ здатна нейтралізувати невеликі дози алкоголю. Міститься в організмі південних народів, але майже відсутня у північних, у тому числі в українців та росіян. Фермент каталізує в присутності НАД окислення спиртів та ацеталів до альдегідів і кетонів. Ідентифіковано ізоферменти АДГ, специфічні для печінки, слизової шлунка і нирок. У великих

кількостях фермент знаходиться лише в печінці, але невеликі його кількості містять нирки. У сироватці крові здорової людини відсутній. Активність АДГ відповідальна за метаболічне перетворення метанолу і етиленгліколю в токсичні сполуки. Цей ефект гальмується введенням етанолу. Ізоферментний спектр АДГ печінки відображає патологічні зміни в організмі, що використовується для діагностичних цілей. Різке підвищення вмісту ферменту в сироватці спостерігається при гострих гепатитах (при цьому його показники приходять до норми раніше, ніж показники трансаміназ). При обтураційній жовтяниці, цирозах печінки, інфаркті міокарда звичайно не спостерігається підвищення активності ферменту в крові. Поява його в сироватці крові свідчить про ушкодження клітин печінки. Служить критерієм вираженості гепатоцелюлярного некрозу і внутрішньопечінкового холестазу. АДГ розглядається як високочутливий маркер аноксії печінки з ураженням центрів часточок. Ізоформи алкогольдегідрогенази мають велике значення в диференціальній діагностиці захворювань печінки. Так, АДГ1 підвищується при вірусних гепатитах, АДГ2 – при алкогольних гепатитах, активності АДГ3 так само, як і АДГ2, частіше підвищується при цирозі печінки. Референтні межі: < 2,8 МО/л.

Альдолаза (КФ 4.1.2.13). Цей фермент каталізує утворення з фруктозо-1,6-діфосфату дігідроксіацетонфосфата і гліцеральдегід-3-фосфату в гліколізі. Альдолаза присутній у всіх тканинах організму. Генетично обумовлена неповноцінність альдолази є причиною спадкової непереносимості фруктози. У нормі в сироватці крові активність альдолази становить від 0,0038 до 0,02 МО/л. Активність альдолази в крові служе додатковою діагностичною ознакою низки захворювань. У тканині злоякісних пухлин фермент у кілька разів активніше, ніж у незмінених тканинах, в еритроцитах активність ферменту в 100 разів вище, ніж у сироватці крові, тому гемоліз істотно спотворює результати аналізу. При низці захворювань (прогресуюча м'язова дистрофія, інфаркт міокарда, активний ревматизм, рак, ураження печінки та ін.) активність альдолази в крові підвищується, причому тим значніше, чим важче протікає хвороба.

Альфа-амілаза (КФ 3.2.1.1). Відноситься до групи гідролаз, які каталізують гідроліз полісахаридів, що містять глюкозу, до простих моно-і дисахаридів (мальтоза, глюкоза). Висока активність ферменту виявляється в печінці, скелетних м'язах, в мікроворсинках ентероцитів, слізній рідині, секреті молочних залоз. Активність амілази знайдена також у різних пухлинах. Найбагатші амілазою підшлункова і слинні залози. Амілаза секретується в кров головним чином із цих органів. Плазма крові людини містить альфа-амілазу двох ізозимних типів: панкреатичну (Р-тип), вироблювану підшлунковою залозою, і слинну (S-тип), продуковану слинними залозами. У фізіологічних умовах амілаза сироватки крові складається на 40% з панкреатичної амілази та на 60% з слинної амілази. Ізоферменти слинних залоз при електрофорезі мігрують швидше. Визначення вмісту кожного ізоферменту амілази можливо здійснити за допомогою імунологічних методів. При цьому використовують моноклональні антитіла до ізоферментів слинних залоз, які вибірково інгібують

активність цієї амілази. Залишкова активність відповідає активності панкреатичного ізоферменту. Віднімаючи з загальної активності амілази активність панкреатичної амілази, отримують значення активності ізоферменту слини.

Обидва ізоферменту амілази мають молекулярну масу близько 45 кДа, тому фільтруються у нирках та екскретуються із сечею. Тим не менш, у складі сечі більший питома вага припадає на панкреатичний ізофермент. Рівень активності альфа-амілази в нормі: в сироватці 25-220 МО/л; в сечі – 10-490 МО/л.

Визначення активності альфа-амілази має велике значення в діагностиці захворювань підшлункової залози. Підвищення активності альфа-амілази в сироватці крові в 2 і більше разів повинно розцінюватися як симптом ураження підшлункової залози.

Із сечею виділяється в основному Р-амілаза, що є однією з причин більшої інформативності про функціональний стан підшлункової залози уроамілази, ніж амілази сироватки крові. Вважають, що 65% амілазної активності сечі зумовлене панкреатичною амілазою. Цим пояснюється та обставина, що при гострому панкреатиті саме її Вміст збільшується в сироватці (до 89%) і особливо в сечі (до 92%) без зміни показників амілази слинних залоз. При гострому панкреатиті активність амілази крові та сечі збільшується в 10-30 разів. Гіперамілаземія настає на початку захворювання (вже через 4 – 6 год), досягає максимуму через 12-24 годин, потім швидко знижується і приходиться до норми на 2-6-й день. Діагностична чутливість визначення амілази в сироватці крові для гострого панкреатиту складає 95%, специфічність – 88%.

У деяких пацієнтів може бути висока амілазна активність сироватки крові через низьку екскрецію ферменту з сечею. Характерно, що при цьому ниркова фільтрація в нормі. Цей симптомокомплекс пояснюється зв'язуванням амілази з сироватковими білками або із агрегацією ферменту. Макромолекулярні комплекси, що мають амілазою активністю, позначаються макроамілазою. Найчастіше макроамілаземія – результат утворення комплексів α -амілази з імуноглобулінами (амілаза-IgA). У зв'язку з присутністю у крові пацієнта макроамілази можуть виникати проблеми при інтерпретації результатів. Справа в тому, що ця форма може існувати в крові багато років і виявлятися як у пацієнтів з нормальною, так і підвищеною активністю амілази. У випадках гіперамілаземії цей комплекс визначається в 3-10%. Молекулярна маса макроамілази 210 кДа виключає її потрапляння в сечу, вона акумулюється в крові незалежно від клінічного стану хворого.

Амінотрансферази. Аспартатамінотрансфераза (КФ 2.6.1.1., АСТ) та аланінамінотрансфераза (КФ 2.6.1.2., АЛТ). Нормальні величини активності ферментів у сироватці/плазмі – АСТ: 10-30 МО/л і АЛТ: 7-40 МО/л. Амінотрансферази каталізують реакції трансамінування, вони розподілені по всіх органах і тканинах. АСТ має ізоферменти, локалізовані як у цитозолі, так і в мітохондріях, АЛТ – цитоплазматичний ензим. Роль коферменту в трансаміназних реакціях відіграє піридоксальфосфат (вітамін В6). АСТ у високих концентраціях присутній у клітинах серцевого і скелетних м'язів,

печінки, нирках, підшлунковій залозі та еритроцитах. Ураження будь-якого з цих органів і тканин може призвести до суттєвого підвищенню АСТ в сироватці крові. Найбільш різкі зміни АСТ спостерігаються при ураженні серцевого м'яза. Так, при інфаркті міокарда активність АСТ в сироватці крові може підвищуватися в 4-5 разів. При гострому інфаркті міокарда її активність підвищується у 93-98% хворих і має таку ж динаміку, як і МВ ізофермент креатинкінази, але ступінь збільшення активності АСТ дещо менша. Вважається, що між розмірами вогнища інфаркту та активністю АСТ в сироватці є тісна кореляція. Якщо протягом декількох днів не відбувається нормалізація активності ферменту, це свідчить про розширення зони інфаркту. У осіб молодше 60 років активність АСТ, як правило, вище, ніж в осіб більш похилого віку, тому висока активність АСТ у літніх людей може бути розцінена як прояв обширного інфаркту міокарда та є поганою прогностичною ознакою. Підвищення активності АСТ характерно також для захворювань печінки. Так, значне підвищення активності ферменту має місце при гострому вірусному й токсичних гепатитах. Помірне підвищення можна спостерігати при цирозі печінки (у 2-3 рази), механічній жовтяниці, метастазах пухлини в печінку. Варто мати на увазі, що в новонароджених активність приблизно в 1,5 рази вище, ніж у дорослих.

Зниження активності АСТ може бути при недостатності піридоксину (вітаміну В6), при нирковій недостатності, вагітності.

АЛТ у високих концентраціях присутній у клітинах печінки та меншою мірою в скелетних м'язах, нирках і серці. Підвищення активності АЛТ найчастіше відзначається при гострих захворюваннях печінки та жовчних шляхів. Активність АЛТ різко підвищується у хворих на гострі вірусні гепатити в ранні терміни хвороби: приблизно у 50% хворих вона збільшується за 5 днів до появи жовтяниці та гепатомегалії, у 90% хворих – за 2 дні до появи цих симптомів. Пік ферментативної активності випереджає максимальний рівень білірубіну в крові на 7-10 днів і збігається з появою жовтяниці, тобто періодом максимальної тяжкості хвороби (перевищення норми в 20 – 50 разів). У неускладнених випадках рівень активності як АЛТ, так і АСТ знижується до нормальних значень до 8 тижня хвороби приблизно у 75-80% хворих. У невеликої частини хворих після нормалізації спостерігається другий пік підвищення активності амінотрансфераз, це супроводжується клінічним рецидивом хвороби. Тривале підвищення активності амінотрансфераз або збільшення її в пізні терміни хвороби може означати розвиток печінкового некрозу. Тривале незначне збільшення ферментативної активності в частині випадків свідчить про хронізацію процесу (хронічний гепатит, цироз).

Співвідношення АСТ/АЛТ називається коефіцієнтом де Рітіс. У нормі воно становить $1,3 \pm 0,4$, при захворюваннях печінки – нижче цієї величини, а при захворюваннях серця – вище. Так, при вірусних гепатитах його значення зменшується і становить 0,55-0,65. У розпал хвороби, при високих значеннях активності тієї чи іншої трансамінази, коефіцієнт де Рітіс складає в середньому 0,83, що відображає більш глибокі ураження гепатоцитів і вихід мітохондріальної АСТ в кров'яне русло. У диференційно-діагностичному

відношенні має деяке значення те, що при алкогольних ураження печінки в протилежність вірусним характерно переважне підвищення активності АСТ і коефіцієнта де Рітіс більше 2. Значення даного коефіцієнта вище норми часто спостерігається при обтураційній жовтяниці, холециститах, цирозах, коли абсолютні значення АЛТ і АСТ невеликі. Підвищення активності трансаміназ можливо при запальних захворюваннях різних органів і тканин (наприклад, підшлункової залози, при м'язових дистрофіях і т.д.). Подібні гіперферментемії не мають самостійного діагностичного значення, але повинні враховуватися при трактуванні трансаміназного тесту.

Зниження активності АЛТ може спостерігатись при тих же умовах, що і зменшення активності АСТ.

Гамма-глутамілтрансфераза (ГГТ; КФ 2.3.2.2). Фермент каталізує перенос гамма-глутамілового залишку з гамма-глутамілового пептиду на амінокислоту, інший пептид або інший субстрат. В організмі людини фермент бере участь у метаболізмі глутатіону. Тест із визначення активності ГГТ останнім часом набуває все більшого значення в діагностиці захворювань печінки та гепатобіліарного тракту, оскільки відрізняється більшою чутливістю, ніж застосовувані з цією метою тести на АЛТ, АСТ та ЛФ. Найбільш висока активність ГГТ виявлена в нирках – в 7000 разів вище, ніж у сироватці крові. Вміст ГГТ у сироватці крові здорової людини зазвичай незначний, пов'язане з її екскрецією з клітин печінки, де активність ферменту в 200-500 разів вище. Крім того, ГГТ міститься в клітинах підшлункової залози. У клітині ГГТ локалізована в мембрані, лізосомах і цитоплазмі, причому мембранна локалізація ферменту характерна для клітин з високою секреторною, екскреторною або реабсорбційною здатністю. Референтні значення активності ферменту в сироватці крові у дорослих < 50 МО/л.

Суттєве збільшення активності ГГТ спостерігається при холестазі, та лише незначне при ушкодженні паренхіми печінки (некрозі гепатоцитів). Оскільки в останньому випадку різко зростає активність АЛТ, то визначення індексу АЛТ/ГГТ дозволяє з високою достовірністю диференціювати гострий вірусний та обструктивний гепатити.

У хворих на хронічний гепатит активність ГГТ збільшена в 75% випадків, у той час як показники АЛТ можуть знаходитися на рівні нормальних значень. Тому тест на ГГТ з більшою достовірністю підтверджує діагноз захворювання. ГГТ – більш інформативний маркер ураження гепатобіліарної системи, ніж лужна фосфатаза (ЛФ). Активність ГГТ зростає в більш ранні терміни захворювань та утримується на підвищених рівнях більш тривалий час, причому відносно збільшення активності ГГТ вище, ніж ЛФ. Крім того, ГГТ – високоспецифічний індикатор ураження печінки, оскільки на відміну від ЛФ, її активність у здорових дітей, вагітних жінок і пацієнтів із захворюваннями кісткової системи знаходиться на рівні нормальних значень. Визначення активності ГГТ має велике значення для диференціювання жовтяниць. При паренхіматозній жовтяниці активність ГГТ підвищується зазвичай лише незначною мірою (в 2-3 рази). У всіх хворих з обтураційною (механічною) жовтяницею, викликаною порушеннями відтоку жовчі по жовчовивідних

шляхах, такими як закупорка жовчних протоків каменем, здавлювання їх пухлинами, збільшеними лімфовузлами активність ГГТ у сироватці крові перевищує верхню межу норми в 15 -140 разів.

Вельми важливо застосування тесту для визначення ГГТ в онкології. Показано, що у 100% хворих злюкисними пухлинами з метастазами в печінку (з наявністю жовтяниці і без неї) активність ГГТ у сироватці крові значно (в 12 і більше разів) вище за норму. У той же час у хворих без метастазів у печінку активність даного ферменту перевищує норму, в основному, лише за наявності захворювань гепатобіліарної системи непухлинного походження. Визначення активності ГГТ використовується для діагностики алкогольного ураження печінки, а також для контролю лікування алкоголізму. Алкоголь посилює продукцію ГГТ в печінці, сприяє її виходу з клітинних мембран, що призводить до підвищення активності ферменту в сироватці крові навіть при відсутності патології печінки. При зловживанні алкоголем рівень активності ГГТ знижується (через 10 днів на 50%) і потім приходить в норму. Тому тест на ГГТ дозволяє проконтролювати сумлінність лікування від алкоголізму. Якщо прийом алкоголю однозначно припинений, а активність ГГТ у колишнього алкоголіка не знижується, то висока імовірність наявності у нього алкогольного гепатиту або цирозу печінки. Ряд наркотиків і лікарських препаратів (нестероїдні протизапальні препарати, диклофенак, парацетамол, барбітурати та ін.) також індукують активність ГГТ у печінці. Тому моніторинг ГГТ у сироватці крові хворих використовується для виявлення гепатотоксичної дії препаратів і своєчасної зміни лікувального курсу. Крім основного використання як «печінкової» проби тест із визначення активності ГГТ застосовується для діагностики захворювань підшлункової залози. Це пов'язано з тим, що у 100% хворих, які страждають гострим панкреатитом, активність ГГТ у сироватці крові, як правило, в 10-20 разів перевищує нормальні значення.

Новою областю застосування даного тесту є лабораторна діагностика захворювань нирок. Показано, що при пієлонефриті, гломерулонефриті, нирковокам'яній хворобі активність ГГТ в сечі хворих істотно зростає. Визначення активності ферменту в сечі дозволяє діагностувати початкові стадії патології нирок, що супроводжуються ураженням проксимальних відділів каналців.

Креатинкіназа або креатинфосфокінази (КК; КФ 2.7.3.2.). Каталізує оборотну реакцію фосфорилювання креатину за участю АТФ в результаті чого утворюються креатинфосфат і АДФ. КК є димер, що складається з двох субодиниць, кожна з молекулярною масою близько 40 кДа. Субодиниці В (від brain – мозкова) і М (від muscle – м'язова) закодовані в різних генах. Фермент існує у вигляді трьох ізоферментів: КК-ВВ (КК-1) – мозковий, КК-МВ (КК-2) – серцевий і КК-ММ (КК-3) – м'язовий. КК-ВВ присутня в значних кількостях у мозку, КК-МВ в основному знаходиться в серцевому м'язі (25-46% від загальної активності КК кардіоміоциту) і в невеликій кількості в скелетних м'язах (менше 5% загальної активності). КК-ММ присутня в основному в клітинах скелетних і серцевого м'язів. Активність КК-ММ в сироватці становить 94-96% від загальної активності КК, КК-МВ – 4-6%, КК-ВВ – сліди або активність не

визначається. Виявлена і четверта мітохондріальна форма креатинкінази (КК-Mt), яка відрізняється від інших форм імунологічно, а також за електрофоретичною рухливістю. Вона локалізована між внутрішньою та зовнішньою мітохондріальними мембранами; в серці становить до 15% загальної КК активності.

Активна КК може бути присутня в сироватці у вигляді двох макромолекулярних комплексів: макро КК тип 1 і тип 2. Тип 1 – це КК-BB, пов'язана з IgG, або КК-MM, пов'язана з IgA; тип 2 – це олігомери КК-Mt. Нормальна активність КК (загальна) може варіювати залежно від методу: 10-195 МО/л. Норма для ізоферментів сироватки крові: КК-BB – 0%; КК-MB – 0-3%; КК-MM – 97-100%. Загальна КК підвищується при багатьох захворюваннях: травми, операції, інфаркт міокарда, зменшення кровопостачання м'язів, міопатії, дерматоміозит, м'язові дистрофії, міокардити, отруєння, що супроводжуються комою, гіпотиреоз, інфекційні хвороби (наприклад, черевний тиф). Іноді невелике збільшення відзначається при артритах, тахікардії, емболії легеневої артерії. Активність КК у сироватці, як правило, має зворотну залежність від функції щитовидної залози. Близько 60% хворих гіпотиреозом мають рівень КК вище норми з перевищенням верхньої межі в середньому в 5 разів. Основний ізофермент при цьому КК-MM, хоча в 13% хворих підвищена і КК-MB, що свідчить про втягнення в патологічний процес не тільки скелетних, але і серцевого м'яза. У той же час у хворих з гіпертиреозом є тенденція до низьких значень активності КК у сироватці. При інфаркті міокарда реєстроване підвищення активності КК спостерігається вже протягом 3-6 годин після ангінозного нападу. Однак визначення активності раніше 8 годин дає позитивні результати в 30% випадків. Активність КК є достовірним тестом інфаркту міокарда, починаючи з 8-10 годин після початку больового нападу. Максимальний рівень її досягається протягом 24 годин, і навіть при обширному інфаркті активність КК може повернутися до норми протягом наступних 48 годин. Відносно підвищення активності КФК при інфаркті міокарда вище, ніж інших ферментів. Найбільш інформативне дослідження активності КФК в динаміці – кожні 4-6 годин протягом доби. Різке підвищення активності КФК (більш ніж у 10 разів) виникає в 1-2-й день порушення мозкового кровообігу, досягаючи максимуму на 3-й день. КК-MM збільшується в сироватці при тих же станах, як і загальна КК. КК-MB значно збільшується при інфаркті міокарда, визначення ізоферменту має діагностичне значення, якщо загальна активність ферменту в сироватці крові підвищується більш ніж в 1,5 рази в порівнянні з верхньою межею норми. При пологах КК-BB може збільшуватися в сироватці до 6 разів (джерелом є матка і плацента). У новонароджених при пологовій травмі мозку активність КК-BB у сироватці підвищена.

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ; КФ 1.1.1.27). Каталізує оборотне відновлення пірувату до лактату, як кофермент використовує НАДН. ЛДГ має молекулярну масу близько 134 кДа, це тетрамер, що складається з двох субодиниць – М (muscle – м'язова) і Н (heart – серцева). У сироватці присутні 5 ізоферментів, що розрізняються складом субодиниць. У порядку зниження їх

електрофоретичної рухливості (рух у напрямку до анода) їх позначають як ЛДГ-1 (H4), ЛДГ – 2 (H3M), ЛДГ -3 (H2M2), ЛДГ-4 (H1M3), ЛДГ-5 (M4). Ізоферменти органоспецифічні. Нормальний відносний вміст ізоферментів ЛДГ у сироватці складає: ЛДГ1 14-26%, ЛДГ 2 29-39%, ЛДГ 3 20-26%, ЛДГ 4 8-16%, ЛДГ 5 6-16%

Збільшення загального рівня ЛДГ спостерігається при гемолітичній анемії, гепатоцелюлярному ушкодженні, м'язовій дистрофії, карциномі, лейкозах. Норма (варіює в різних методах): 100-200 МО/л.

ЛДГ1 найбільш швидко просувається до анода при електрофорезі, термостабільний, інгібується високими концентраціями пірувату і в меншій мірі сечовиною й оксалоацетатом. ЛДГ1 присутній у високих концентраціях у серці, нирках, мозку, багато ЛДГ1 в еритроцитах. Тому неприпустимий гемоліз при визначенні активності ЛДГ1. Оскільки ЛДГ може окислювати також альфа-гідроксибутірат до альфа-оксибутірату (у цьому випадку прийнято говорити про альфа-гідроксибутірат-дегідрогеназну активність (альфа-ГБДГ)), то як аналог ЛДГ1 часто рекомендується визначення альфа-ГБДГ. ГБДГ при інфаркті міокарда підвищується в ті ж тимчасові інтервали, як ЛДГ1. Підвищення ЛДГ1 відзначається також при пухлинах репродуктивних органів: тератома, семінома яєчка.

Ізоферменти ЛДГ2, ЛДГ3 і ЛДГ4 мають проміжні властивості. Їхня активність підвищується при масивному руйнуванні тромбоцитів (емболія легеневої артерії, масивні гемотрансфузії) і залучені в патологічний процес лімфатичної системи. При нелімфоцитарних лейкозах збільшується активність ЛДГ3 і ЛДГ4, причому ступінь збільшення залежить від кількості незрілих клітин. Збільшення ЛДГ3 іноді спостерігається при гострих панкреатитах. Активність ЛДГ4 зростає при ураженні печінки вірусного, токсичного або травматичного характеру та загостренні хронічних гепатитів, в активну фазу ревматизму, при кардіосклерозі з порушенням гемодинаміки, гострому нефриті, при ураженнях нирок, пухлинах печінки, передміхурової залози, шийки матки, молочної залози, кишечника, при важких формах діабету.

Ізофермент ЛДГ5 при електрофорезі переміщується до анода повільніше інших ізоферментів, термолабільний, більш чутливий до інгібуючого впливу сечовини й оксалоацетату, володіє найменшою спорідненістю до альфа-гідроксибутірату (в порівнянні з іншими ізоферментами ЛДГ). Найбільший вміст цього ізоферменту характерний для скелетних м'язів, печінки, шкіри, слизових оболонок, а також клітин деяких злоякісних пухлин. Значне збільшення вмісту ЛДГ5 відзначається при травмах, запальних і дегенеративних захворюваннях м'язів і багатьох хворобах печінки (гепатити, цирози та ін.). Онкологічні захворювання (наприклад лімфолейкози) можуть також супроводжуватися збільшенням ЛДГ5. Активність ЛДГ5 підвищується в активну фазу при ревматизмі, глибоких ураженнях нирок, що супроводжуються їхньою гіпоксією, пухлинах нирок і відторгнення пересаженої нирки, а також при важких формах діабету.

Лейцинамінопептидаза (ЛАП, КФ 3.4.11.1). ЛАП – лише одна з кількох внутрішньоклітинних амінопептидаз, якою особливо багата жовчовивідна

система, підшлункова залоза і слизова тонкої кишки. Тепер вона називається амінопептидаза цитозольна, де присутня у високій концентрації. ЛАП специфічна для захворювань гепатобіліарної системи і зазвичай не підвищується при ураженні кісток. ЛАП – більш чутливий показник холедохолітазу та метастазів у печінку в хворих без жовтяниці, ніж ЛФ. Активність у сироватці може підвищуватися під дією ліків. *Високий рівень у сечі ЛАП свідчить про нежиттєздатність донорської нирки.* Референтні межі: 15-40 МО/л.

Ліпаза (КФ 3.1.1.3). Ліпаза каталізує розщеплення гліцеридів на гліцерин і вищі жирні кислоти. Рівень активності ліпази в нормі 0-190 МО/л. Цей ензим в організмі людини виробляється рядом органів і тканин, що дозволяє розрізняти ліпазу шлункового походження, підшлункової залози, ліпазу легенів, кишкового соку, лейкоцитів та ін. Найбільш важливою з клінічної точки зору є ліпаза підшлункової залози. Панкреатична ліпаза відіграє головну роль у перетравленні жирів. При захворюваннях підшлункової залози відбувається значний викид ферменту в кров, що циркулює. Визначення активності ліпази в крові є найбільш інформативним критерієм діагностики гострого панкреатиту. Вміст ліпази збільшується і знижується паралельно підвищенню і зниженню активності амілази, але нормалізація її рівня відбувається пізніше нормалізації амілази. Іноді рівень ліпази в крові підвищується раніше, ніж збільшується активність амілази, і залишається підвищеним тривалий час. При гострому панкреатиті активність ліпази в крові збільшується протягом декількох годин після гострого нападу, досягаючи максимуму через 12-24 годин. (збільшується до 200 разів), і залишається підвищеною протягом 10-12 днів. Діагностична чутливість ліпази в сироватці крові для гострого панкреатиту складає 86%, специфічність – 99%. *Одночасне визначення рівня альфа-амілази (кров і сеча) і ліпази – основа діагностики гострого панкреатиту.* Підвищення обох або одного з ферментів виявляється у 98% хворих з гострим панкреатитом. На відміну від амілази активність ліпази не підвищується при паротиті, позаматкової вагітності та раку легенів. Набрякла форма гострого панкреатиту, як правило, не супроводжується підвищенням активності ліпази; жировий панкреонекроз характеризується вираженим підвищенням активності ліпази, який зберігається до 2 тижнів; геморагічний панкреонекроз супроводжується лише короткочасним підвищенням активності ліпази в 3,5 рази в порівнянні з нормальним рівнем на 3-ю – 5-ту добу захворювання. При гнійному панкреатиті підвищення активності ліпази в крові звичайно не виявляється. Іноді підвищення активності ліпази відзначається у хворих на рак підшлункової залози, хронічним панкреатитом, при наявності кісти в підшлунковій залозі. Активність ліпази в крові підвищується при інфаркті кишки, перитоніті, жовчній коліці, при руйнуванні жирової тканини, кісткових переломах, пораненні м'яких тканин, після операцій, при раку молочної залози. Гіперліпаземія при уремії та гострій нирковій недостатності є наслідком застою в підшлунковій залозі.

Фосфатази. Лужна фосфатаза та її ізоферменти (ЛФ, КФ 3.1.3.1)
Фосфатази – ферменти, що каталізують розрив складнофірного зв'язку в

моноєфірах фосфорної кислоти з утворенням вільного ортофосфату (аніон ортофосфорної кислоти); відносяться до класу гідролаз.

Лужна фосфатаза (фосфогідролаза моноєфірів ортофосфорної кислоти, широко поширена в тканинах людини особливо в слизовій оболонці кишечника, остеобластах, стінках жовчних протоків печінки, плаценті та ін. Вона каталізує відщеплення фосфорної кислоти від її органічних сполук; назву отримала у зв'язку з тим, що оптимум рН лужної фосфатази лежить у лужному середовищі (рН 8,6-10,1). Фермент розташований на клітинній мембрані, бере участь у транспорті фосфору. Двовалентні іони, такі як Mg^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} є активаторами ферменту, Zn^{2+} , входять в структуру активного центра. Фосфати, борати, оксалати пригнічують активність усіх форм ферменту. У сироватці кілька ізоферментів ЛФ, сім з яких мають найбільше клініко-діагностичне значення. Для діагностичних цілей найчастіше проводять визначення активності кісткової і печінкової форм фосфатази.

1). *Кісткова ЛФ.* У кістках ЛФ секретується остеобластами, її роль у формуванні кістки до кінця не встановлена. Припускають, що вона бере участь у дозріванні матриксу та його мінералізації. Специфічність кісткової ЛФ, час напівжиття в крові, що становить 1-2 дні, відсутність процесів з її участю в печінці, виділення з крові за допомогою нирок наближають кісткову ЛФ до ідеальних маркерів активності остеобластів. Кісткова ЛФ найбільш термолабільна, інактивується при $55^{\circ}C$. Синтез кісткової лужної фосфатази зростає в процесі диференціювання остеобластів при прискореному формуванні кістки. Значне збільшення її активності в сироватці крові спостерігається при підвищеній діяльності остеобластів: ріст кісток (у дітей активність вище, ніж у дорослих; збільшується вона в останній триместр вагітності), відновлення рухів після тривалого постільного режиму, переломах, деформуючому оститі, рахіті. Це характерно й для процесів остеомаліції (злоякісні пухлини кісток, міелома), а також кісткового туберкульозу і лейкозу. Підвищення активності кісткової ЛФ при рахіті відзначається частіше, ніж збільшення вмісту неорганічного фосфору; при одужанні активність ферменту нормалізується пізніше, ніж рівень кальцію і фосфору, приблизно в ті ж терміни, що і рентгенологічні показники. Первинний і вторинний гіперпаратиреоз може супроводжуватися підвищенням активності лужної фосфатази.

2). *Печінкова ЩФ.* Представлена двома ізоферментами. Перший підвищується в сироватці крові при застої в печінці і зниженій елімінації ферменту з жовчю, його підвищення відбувається також у другій половині вагітності. Це основний фермент при патології гепато-біліарного тракту. Другий ізофермент підвищується при гепатоцелюлярній патології – вірусні гепатити, жовта дистрофія печінки, цирози. Це збільшення, однак, значно поступається підвищенню активності амінотрансфераз. У 1/3 жовтяничних хворих з цирозом печінки виявлено збільшення активності лужної фосфатази. Підвищення активності лужної фосфатази спостерігається у 20% хворих первинним раком печінки і при метастазах у печінку. Різко зростає її активність при отруєннях алкоголем на тлі хронічного алкоголізму. Вона може підвищуватися при лікарських призначеннях, які проявляють гепатотоксичний

ефект (тетрациклін, парацетамол, фенацетин, 6-меркаптопурин, саліцилати та ін.)

3). *ЛФ жовчі* – фермент холестази. Недостатність виділення жовчі, обумовлена порушенням її вироблення печінковими клітинами (внутрішньопечінковий холестази) або припиненням струму жовчі по жовчних протоках (позапечінковий холестази). Фермент вивільняється з ушкоджених жовчних проток. Найвищі цифри сироваткової активності відзначаються при обтураційній жовтяниці, коли затримка екскреції ферменту з жовчю призводить до того, що він знову надходить у кров. Важливий й індукований синтез ізоферменту в жовчних каналцях. У жінок, що приймають протизаплідні препарати, які містять естроген і прогестерон, може розвинути жовтяниця та підвищитися активність ЛФ. За клінічною чутливістю та специфічністю відносно обтурації тест поступається таким маркерами холестази, як ГГТ і 5'-нуклеотидаза.

4). *Кишкова ЛФ*. Синтезується ентероцитами, надходить у просвіт тонкого кишечника і частково всмоктується в кров. Внесок її в загальну активність ЛФ невеликий. Її активність може бути збільшена в осіб з I або III групою крові, особливо після прийому їжі, при захворюваннях кишечника, що супроводжуються діареєю.

5). *Ниркова ЛФ*. Частково всмоктується в кров, але в основному, екскретується з сечею. Тест використовується в діагностиці захворювань нирок (гломерулонефрит, пієлонефрит, нефропатії).

6). *Плацентарна ЛФ*. З'являється у сироватці крові при вагітності. Найбільше її вміст спостерігається в третьому триместрі. Це найбільш термостабільний ізофермент лужної фосфатази. Дуже високі цифри активності цього ізоферменту ЛФ спостерігаються у жінок з прееклампсією що є наслідком ушкодження плаценти. Низька активність ЛФ у вагітних є відображенням недостатності розвитку плаценти.

7). *Неідентифіковані ізоферменти ЛФ* (так звані ізоферменти Regan або Nagao) пухлинного походження (найбільш часто визначаються при раку легенів). Термостабільність, електрофоретична рухливість та імунологічна характеристика близькі до таких для плацентарного ізоферменту.

Наявність великої кількості ізоферментів лужної фосфатази робить малоінформативним визначення її загальної активності. Варто розділяти ізоферменти і потім оцінювати внесок кожного в загальну активність.

Кисла фосфатаза (КФ, КФ 3.1.3.2) – фермент з широкою субстратною специфічністю, що каталізує розщеплення складнофірних зв'язок з утворенням вільного ортофосфату, за спектром активності близький до ЛФ, від якої відрізняється іншою дією на сірковмісні ефіри, оптимумом рН (4, 7-6,0).

Під найменуванням «кисла фосфатаза» мають на увазі всі фосфатази, що проявляють оптимальну активність при рН <7,0. Це ферменти, які знаходяться в клітинах різних тканин в лізосомах і поза ними. Найвища концентрація кислій фосфатази відмічається в передміхуровій залозі (простатичний ізофермент). Фермент присутній у клітинах печінки, селезінки, еритроцитах, тромбоцитах, кістковому мозку. Висока активність КФ відмічається також в макрофагах і

остеокластах. Активність кислої фосфатази сироватки крові низька в нормальних умовах. У чоловіків приблизно наполовину складається з активності простатичної фосфатази, інша активність пов'язана з ферментом, що походить з печінки і зруйнованих тромбоцитів і еритроцитів. У жінок кисла фосфатаза сироватки відбувається переважно з печінки, еритроцитів і тромбоцитів.

Визначення кислої фосфатази в сироватці зазвичай використовують для виявлення або моніторингу карциноми простати у чоловіків. Активність цього ферменту в сироватці збільшена у 60% пацієнтів з локалізацією карциноми в простаті, особливо при наявності кісткових метастазів – фермент продукується непластичними клітинами. Рівень активності КФ в останньому випадку може зростати до 40 – 50 разів від верхньої межі референтних значень. Якщо карцинома залишається локалізованою в передміхуровій залозі, активність КФ може бути лише слабо збільшеною або знаходитися в межах референтних значень, таким чином, нормальний рівень сироваткової активності КФ не виключає раку простати. Тимчасове збільшення активності КФ в сироватці крові можуть викликати діагностичні або лікувальні маніпуляції на передміхуровій залозі (пальпація, біопсія і т. п.). Доброякісна гіпертрофія простати не супроводжується зростанням активності ферменту в сироватці.

5.2.2 Ферментні профілі в діагностиці захворювань окремих органів

Діагностика та диференційна діагностика захворювань окремих органів значно покращується при визначенні активності не окремих ферментів плазми, а комплексів, які найбільш інформативно відображують сутність тих чи інших патобіохімічних порушень. Комплекси таких ферментів називають ферментними профілями. Ферментні профілі ефективні при діагностиці та моніторингу гострого інфаркту міокарда, захворювань печінки, м'язів та кісток, злоякісних новоутворень, шлунково-інтестинальних захворювань.

Сироваткові ферменти при гострому інфаркті міокарда:

- 1) КК-МВ,
- 2) Тропонін Т (або І)
- 3) КК,
- 4) ЛДГ,
- 5) АСТ.

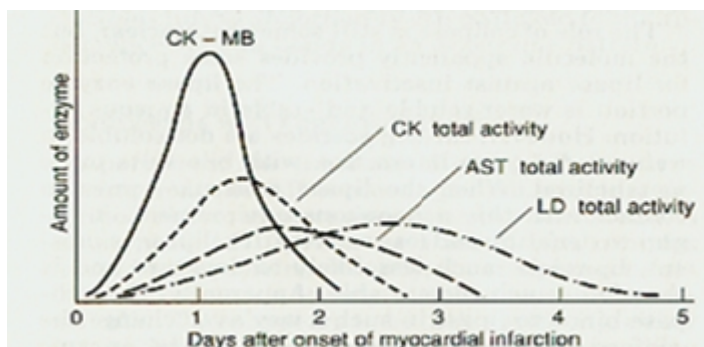


Рис. 4 – Стан активності «серцевих» ферментів при гострому інфаркті міокарда

На ординаті – активність ферментів, на абсцисі – дні хвороби.

Захворювання печінки. Сироваткові ферменти при гострих гепатитах

- 1) АЛТ
- 2) АСТ
- 3) ЛФ
- 4) ГГТ
- 5) ЛАП

Функціональні тести. Білірубін є головним пігментом жовчі у людей, підвищений вміст якого у кровообігу викликає пожовтіння шкіри – жовтяницю. Білірубін утворюється в першу чергу від розпаду гемі, що міститься в червоних кров'яних клітинах. У здорових осіб у нормі його рівень складає <17 мкмоль/л). Умови, які викликають підвищення утворення білірубину, такі як руйнування еритроцитів, або зменшення його видалення з крові, як і порушення функції печінки, можуть призвести до підвищення рівня білірубину в крові. Рівні вище 50 мкмоль/л, зазвичай помітно, як жовтяниця. Оскільки білірубін може бути підвищений при багатьох формах захворювань печінки або жовчного міхура, то це відносно неспецифічний тест. Однак він корисний як істинний "функціональний тест" печінки, оскільки відображує процеси здатності печінки захоплювати, метаболізувати та виділяти білірубін у жовч.

Альбумін. Альбумін є основним білком, який утворюється в печінці. Хоча існує безліч факторів, які можуть впливати на рівень альбуміну, що циркулює у крові, хронічні захворювання печінки призводять до зменшення кількості виробництва альбуміну, і, отже, рівень його в крові знижується (звичайний > 35 г/л).

Протромбіновий час і МНВ. Протромбіновий час (ПЧ) і МНВ – є тести, що використовуються для оцінки згортання крові. Фактори згортання крові – білки, які виробляються в печінці. Коли печінка значно постраждала, ці білки не виробляються в звичайному режимі. ПЧ і МНВ також корисні тести оцінки функції печінки, оскільки є висока кореляція між порушеннями в коагуляції і ступенем порушення функцій печінки.

Високо спеціалізовані тести можуть бути використані для діагностики певних захворювань печінки. Наприклад: специфічні антитіла, білки і нуклеїнові кислоти можуть бути використані на наявність вірусного гепатиту В (HBsAg, ДНК HBV) або С (наприклад, анти-HCV антитіла, РНК ВГС).

Підвищення в сироватці крові заліза, насичення трансферину та феритину можуть вказувати на наявність гемохроматозу.

Дефіцит церулоплазміну, як правило, спостерігається в пацієнтів з порушенням метаболізму міді – хвороба Коновалова-Вільсона.

Низький рівень α 1-антитрипсину може вказувати на наявність захворювань легенів і/або печінки в дітей та дорослих у зв'язку з дефіцитом цього інгібітору.

Імунологічні тести, такі як антимитохондріальні антитіла, можуть свідчити про наявність первинного біліарного цирозу печінки. Антинуклеарні антитіла можуть свідчити про наявність автоімунного гепатиту.

Сироваткові ензими при малігнізації

1) Кисла фосфатаза: збільшення

- рак передміхурової залози,
- хвороба Гоше,
- тромбоцитоз,
- гранулоцитарний лейкоз,
- мієлопроліферативні захворювання.

Не підвищується при лімфолейкозі або лімфомі.

2) β глюкуронідаза, збільшення:

- карцинома сечового міхура,
- карцинома головки підшлункової залози (дуже висока),
- карцинома шийки матки з метастазами в печінку (дуже висока),
- останній триместр вагітності, падає до нормального приблизно на

5-й день після пологів.

Сироваткові ферменти при захворюваннях м'язів:

1) АСТ/АЛТ, зростає,

2) альдолаза, збільшення,

3) креатинфосфокіназа (ізофермент КФК-ММ), збільшення.

Сироваткові ферменти при захворюваннях кісток

Сироваткова лужна фосфатаза, підвищується:

- рахіт,
- остеомалія,
- гіперпаратиреоз,
- злоякісні новоутворення.

Сироваткова лужна фосфатаза знижується при гіпофосфатазії.

Сироваткові ферменти при шлунково-інтестинальних захворюваннях

1) Амілаза, збільшення

- при перфорованих виразках;
- кишкова непрохідність;
- гострий панкреатит (> 1000 одиниць), протягом перших 24 годин і

повернення до норми протягом 3 днів

- свинка та інші форми паротиту, камені протоки слинних залоз,
- макроамілаземія.

2) Ліпаза сироватки крові: збільшення

- виразка 12 палої кишки з перфорацією;
- кишкова непрохідність;
- панкреатит – на момент появи симптомів підвищений рівень

зберігається протягом 10 – 14 днів, а потім поступове падіння.

6 Пігментний обмін

6.1 Структура та синтез гемму

Пігментний обмін включає реакції синтезу та катаболізму гемму гемвмісних сполук. Гем є простетичною групою багатьох білків: гемоглобіну, міоглобіну, цитохромів мітохондріального ланцюга перенесення електронів, цитохрому P450, який бере участь у мікросомальному окисненні. Ферменти каталаза, пероксидаза, цитохромоксидази містять гем як кофермент. Усі клітини організму мають білки, що містять гем, тому синтез гемму йде у всіх клітинах, за винятком еритроцитів, які не мають, як відомо, білоксинтезуючої системи.

При розпаді гемму в клітинах ретикулоендотеліальної системи (РЕС) утворюється жовчний пігмент – білірубін. Подальший катаболізм білірубину в печінці, кишечнику і нирках призводить до утворення кінцевих продуктів розпаду гемму – стеркобіліну і уробіліну, що містяться, відповідно, в калі і сечі. Залізо, що звільняється при розпаді гемму, знову використовується для синтезу залізовмісних білків.

Будова гемму. Гем складається з іона двовалентного заліза і порфірину. В основі структури порфіринів знаходиться порфін. Порфін являє собою чотири пірольних кільця, зв'язаних між собою метильними мітками. Залежно від структури замісників у кільцях піролів розрізняють кілька типів порфіринів: протопорфірини, етіопорфірини, мезопорфірини і копропорфірини. Протопорфірини – попередники всіх інших типів порфіринів.

Геми різних білків можуть містити різні типи порфіринів. У гемі гемоглобіну знаходиться протопорфірин IX, який має 4 метильних, 2 вінільних радикала і 2 залишку пропіонової кислоти. Залізо в гемі знаходиться у відновленому стані (Fe^{2+}) і пов'язане двома ковалентними і двома координаційними зв'язками з атомами азоту пірольних кілець. При окисненні заліза гем перетворюється в гематин (Fe^{3+}). Найбільшу кількість гемму містять еритроцити, заповнені гемоглобіном, м'язові клітини, що мають міоглобін, і клітини печінки через високий вміст у них цитохрому P450.

Синтез гемму. Гем синтезується у всіх тканинах, але з найбільшою швидкістю в кістковому мозку і печінці. У кістковому мозку гем необхідний для синтезу гемоглобіну в ретикулоцитах, в гепатоцитах – для утворення цитохрому P450.

Перша реакція синтезу гемму – утворення 5-амінолевулінової кислоти з гліцину і сукциніл-КоА йде в матриксі мітохондрій, де в ЦТК утворюється один із субстратів цієї реакції – сукциніл-КоА. Цю реакцію каталізує піридоксальзалежний фермент амінолевулінатсинтаза. З мітохондрій 5-амінолевулінова кислота надходить у цитоплазму. У цитоплазмі проходять проміжні етапи синтезу гемму: з'єднання 2 молекул 5-амінолевулінової кислоти з утворенням молекули порфобіліногену (рис. 13-4), дезамінування порфобіліногену з утворенням гідроксиметилбілану, ферментативне перетворення гідроксиметилбілану в молекулу уропорфобіліногену III, декарбоксілювання останнього з утворенням копропорфіриногену III. З цитоплазми копропорфіриноген III знову надходить в мітохондрії, де проходять

завершальні реакції синтезу гему. У результаті двох послідовних окислювальних реакцій копропорфіриноген III перетворюється в протопорфіриноген IX, а протопорфіриноген IX – в протопорфірин IX. Фермент ферохелатаза приєднує до протопорфірину IX двовалентне залізо, перетворює його в гем. Джерелом заліза для синтезу гему служить білок, що депонує залізо, феритин. Синтезований гем, з'єднуючись з α і β -поліпептидними ланцюгами глобіну, утворює гемоглобін. Гем регулює синтез глобіну: при зниженні швидкості синтезу гему синтез глобіну в ретикулоцитах гальмується.

6.2 Клінічні прояви порушення біосинтезу гему

Спадкові і набуті порушення синтезу гему, що супроводжуються підвищенням вмісту порфіриногенів, а також продуктів їх окислення в тканинах і крові і появою їх у сечі, називають Порфірія ("порфірин" в перекладі з грецької означає пурпурний). Спадкові порфірії обумовлені генетичними дефектами ферментів, що беруть участь в синтезі гему, за винятком амінолевулінатсинтази. При цих захворюваннях відзначають зниження утворення гему. Оскільки гем – алостеричний інгібітор амінолевулінатсинтази, то активність цього ферменту підвищується, і це призводить до накопичення проміжних продуктів синтезу гему – амінолевулінової кислоти і порфіриногенів.

Залежно від основної локалізації патологічного процесу розрізняють печінкові та еритропоетичні спадкові порфірії. Еритропоетичні порфірії супроводжуються накопиченням порфіринів в нормобластах та еритроцитах, а печінкові – в гепатоцитах. При важких формах порфірії спостерігають нейропсихічні розлади, порушення функцій РЕС, ушкодження шкіри. Порфіриногени не пофарбовані і не флуоресціюють, але на світлі вони легко перетворюються в порфірини. Останні виявляють інтенсивну червону флуоресценцію в ультрафіолетових променях. У шкірі на сонці в результаті взаємодії з порфіринами кисень переходить у синглетний стан. Синглетний кисень викликає прискорення ПОЛ клітинних мембран і руйнування клітин, тому порфірії часто супроводжуються фотосенсибілізацією і виразками відкритих ділянок шкіри. Нейропсихічні розлади при порфіріях пов'язані з тим, що амінолевулінат і порфіриногени є нейротоксинами. Іноді при легких формах спадкових порфірій захворювання може протікати безсимптомно, але прийом ліків, які є індукторами синтезу амінолевулінатсинтази, може викликати загострення хвороби. Індукторами синтезу амінолевулінатсинтази є такі відомі ліки, як сульфаніламід, барбітурати, стероїди, гестагени. У деяких випадках симптоми хвороби не проявляються до періоду статевого дозрівання, коли підвищення синтезу β -стероїдів викликає індукцію утворення амінолевулінатсинтази. Порфірії спостерігають і при отруєннях солями свинцю, оскільки свинець інгібує амінолевулінатдегідратазу і ферохелатазу. Деякі гербіциди та інсектициди, що містять галогени, є індукторами синтезу амінолевулінатсинтази, тому їх потрапляння в організм супроводжується симптомами порфірії.

6.3 Катаболізм гему, утворення білірубіну

Еритроцити мають короткий час життя (приблизно 120 днів). При фізіологічних умовах в організмі дорослої людини руйнується близько $1 - 2 \times 10^{11}$ еритроцитів на добу. Їх катаболізм відбувається, головним чином, у РЕС селезінки, лімфатичних вузлів, кісткового мозку та печінки. При старінні еритроцитів знижується вміст сіалових кислот у складі глікопротеїнів плазматичної мембрани. Змінені вуглеводні компоненти глікопротеїнів мембран еритроцитів зв'язуються рецепторами клітин РЕС, і еритроцити "занурюються" в них ендцитозом. Розпад еритроцитів у цих клітинах починається з розпаду гемоглобіну на гем і глобін і подальшого гідролізу ферментами лізосом білкової частини гемоглобіну.

Перша реакція катаболізму гему відбувається за участю NADPH-залежного ферментативного комплексу гемоксигенази. Ферментна система локалізована в мембрані ER, в області електронтранспортних ланцюгів мікросомального окислення. Фермент каталізує розщеплення зв'язку між двома пірольними кільцями, що містять вінільні залишки, таким чином, розкривається структура кільця. У ході реакції утворюються лінійний тетрапірол – білівердін (пігмент жовтого кольору) і монооксид вуглецю (CO), який виходить з вуглецю метенілової групи. Гем індукує транскрипцію гена гемоксигенази, абсолютно специфічної по відношенню до гему. Іони заліза, що звільнилися при розпаді гему, можуть бути використані для синтезу нових молекул гемоглобіну або для синтезу інших залізовмісних білків. Білівердін відновлюється до білірубіну NADPH-залежним ферментом білівердинредуктазою. Білірубін утворюється не тільки при розпаді гемоглобіну, але також при катаболізмі інших гемвмісних білків, таких як цитохроми і міоглобін. При розпаді 1 г гемоглобіну утворюється 35 мг білірубіну, а в добу в дорослої людини – приблизно 250-350 мг білірубіну. Подальший метаболізм білірубіну відбувається в печінці.

Метаболізм білірубіну. Білірубін, утворений в клітинах РЕС (селезінки і кісткового мозку), погано розчинний у воді, по крові транспортується в комплексі з білком плазми крові альбуміном. Цю форму білірубіну називають некон'югованим білірубіном. Кожна молекула альбуміну пов'язує 3 молекули білірубіну, одна з яких пов'язана з білком більш міцно (більш висока спорідненість), ніж інші. При зсуві рН крові в кислий бік (підвищення концентрації кетонових тіл, лактату) змінюються заряд і конформація альбуміну, знижується спорідненість до білірубіну. Тому білірубін, зв'язаний з альбуміном неміцно, може витіснятися з центрів зв'язування та утворювати комплекси з колагеном міжклітинного матриксу і ліпідами мембран.

Поглинання білірубіну паренхіматозними клітинами печінки. Комплекс "альбумін-білірубін", що доставляється з током крові в печінку, на поверхні плазматичної мембрани гепатоциту дисоціює. Вивільнений білірубін утворює тимчасовий комплекс з ліпідами плазматичної мембрани. Полегшена дифузія білірубіну в гепатоцити здійснюється двома типами білків-переносників: лігандіну (він транспортує основну кількість білірубіну) та протеїну Z. Активність поглинання білірубіну гепатоцитами залежить від швидкості його метаболізму в клітині. Лігандін і протеїн Z виявлені також у клітинах нирок і

кишечника, тому при недостатності функції печінки вони здатні компенсувати ослаблення процесів детоксикації в цьому органі.

Кон'югація білірубіну в гладкому ЕПР. У гладкому ЕПР гепатоцитів до білірубіну приєднуються (реакція кон'югації) полярні групи, головним чином від глюкуронової кислоти. Білірубін має 2 карбоксильні групи, тому може з'єднуватися з 2 молекулами глюкуронової кислоти, утворюючи добре розчинний у воді кон'югат – диглюкуронід білірубіну (кон'югований, або прямий, білірубін). Донором глюкуронової кислоти служить УДФ-глюкуронати. Специфічні ферменти, УДФ-глюкуронілтрансферази (урідиндіфосфоглюкуронілтрансферази) каталізують утворення моно-і диглюкуронід білірубіну.

Секреція кон'югованого білірубіну в жовч йде по механізму активного транспорту, тобто проти градієнта концентрації. Активний транспорт є, ймовірно, швидкість лімітуючою стадією всього процесу метаболізму білірубіну в печінці. У нормі диглюкуронід білірубіну – головна форма екскреції білірубіну в жовч, проте не виключається присутність невеликої кількості моноглюкуроніда. Швидкість кон'югації білірубіну й активний транспорт білірубінглюкуроніду гепатоцитів у жовч суворо взаємопов'язані.

Катаболізм білірубін-диглюкуроніду. Білірубінглюкуроніди, що надійшли в кишечник, гідролізуються специфічними бактеріальними ферментами β -глюкуронідазами, які гідролізують зв'язок між білірубіном і залишком глюкуронової кислоти. Білірубін, що звільнився в ході цієї реакції, під дією кишкової мікрофлори відновлюється з утворенням групи безбарвних тетрапірольних сполук – уробіліногенів. У клубовій та товстій кишках невелика частина уробіліногенів знову всмоктується, потрапляє з кров'ю ворітної вени в печінку. Основна частина уробіліногену з печінки в складі жовчі виводиться в кишечник і виділяється з фекаліями з організму, частина уробіліногену з печінки надходить у кров і видаляється з сечею у формі уробіліну. У нормі велика частина безбарвних уробіліногенів, що утворюються в товстій кишці, під дією кишкової мікрофлори окислюється в прямій кишці до пігменту коричневого кольору стеркобіліну і віддаляється з фекаліями. Колір фекалій обумовлений присутністю стеркобіліну.

6.3.1 Жовтяниці

Жовтяниця – симптомокомплекс, що являє собою фарбування в жовтий колір шкіри, склер, слизових оболонок. Інтенсивність фарбування може бути абсолютно різною – від блідо-жовтого кольору до шафраново-оранжевого. Жовтяниці обумовлені гіпербілірубінеміями. За сучасною класифікацією виділяють печінкову, надпечінкову та підпечінкову жовтяниці.

6.4.1 Печінкова жовтяниця

Печінкова жовтяниця пов'язана з розладом функції печінки, що виявляється порушенням захоплення, зв'язування або виділення білірубіну, а також його регургітацією з печінкових клітин у синусоїди. Залежно від механізму патологічного процесу в печінкових клітинах розрізняють три види печінкової жовтяниці: ензимопатичну, печінково-клітинну і холестатичну.

Ензимопатичні (функціональні) печінкові жовтяниці – хронічні або переміжні жовтяниці без вираженої первинної зміни структури і функції печінки і без явних ознак гемолізу. До функціональних гіпербілірубінемій відносять

- синдром Криглера Найяра 1 і 2 типів;
- синдром Жільбера;
- синдром Мейленграхта;
- синдром Дабіна Джонсона;
- синдром Ротора;
- синдром Люсі-Дрісколла;
- синдром Аагенеса;
- синдром Байлера;
- первинну гіпербілірубінемію.

Синдром Криглера Найяра. Тип спадкування – автосомно-рецесивний. На молекулярному рівні дефект локалізується в одному з 5 екзонів (1А-5) гена урідиндіфосфатглюкуронілтрансферази (УДФГТ). З рівною частотою зустрічається у хлопчиків і дівчаток. Патогенез – відсутність (1-й тип) або зниження (2-й тип) активності УДФГТ. При синдромі Криглера Найяра 1 типу некон'югований білірубін у крові вище 200 мкмоль/л. Відбувається накопичення білірубіну в ядрах сірої речовини головного мозку, в результаті чого розвиваються судоми, опістотонус, ністагм, атетоз та ін. Маніфестація настає в перші години життя, причому хворі частіше гинуть протягом першого року життя від ядерної жовтяниці. Змін печінки (біохімічних, гістологічних) не виявляють. Проба з фенобарбіталом не дає результату (фенобарбітал індукує активність УДФГТ, але у зв'язку з відсутністю цього ферменту при даному синдромі препарат не має точки докладання). При синдромі Криглера Найяра 2 типу маніфестація настає дещо пізніше – в перші місяці життя. Прояви подібні з синдромом 1 типу, але менш важкі, тому УДФГТ присутня в гепатоцитах, хоча активність її значно знижена. Рівень некон'югованого білірубіну в крові не досягає 200 мкмоль / л. Досить ефективні фенобарбітал і УФ-фототерапія.

Синдром Дабіна-Джонсона. Тип спадкування – аутосомно-домінантний. Частота – 0,2-1,0%. Клінічні прояви зазвичай розвиваються у чоловіків 20-30 років. Патогенез полягає в неспроможності АТФ-залежної транспортної системи гепатоцитів (каналців), в результаті чого погіршується транспорт білірубіну в жовч і навіть розвивається його рефлюкс з гепатоцитів у кров. Клініка синдрому Дабіна-Джонсона представлена постійною жовтяницею без свербіжжю або (рідко) з невеликими сверблячкою, болями в правому підребер'ї з періодичним посиленням за типом жовчних кольок, вираженими диспептичними явищами, стомлюваністю, поганим апетитом, субфібрилітетом,

гепатомегалією. Можлива також спленомегалія. Діагностика синдрому Дабіна - Джонсона заснована на виявленні в крові кон'югованої і некон'югованої (за рахунок декон'югації і рефлюксу білірубіну в кров) гіпербілірубінемії до 100 мкмоль/л, в сечі – білірубінурія. Прогноз сприятливий.

Синдром Ротора. Тип успадкування аутосомно-домінантний. Патогенез пов'язаний не тільки з порушенням екскреції білірубіну (як при синдромі Дабіна-Джонсона), але і з порушенням його захоплення синусоїдальним полюсом гепатоцитів. Частіше розвивається у хлопчиків у пубертатному періоді. Клініка подібна з синдромом Дабіна-Джонсона. У крові визначається гіпербілірубінемія до 100 мкмоль/л (в рівній мірі підвищені показники прямого і непрямого білірубіну). Мають місце білірубінурія. Прогноз сприятливий. *Синдром Люсі Дрісколл* – рідкісний варіант спадкової гіпербілірубінемії. Захворювання маніфестує у дітей в перші дні життя, але лише у тих, які знаходяться на грудному вигодовуванні. Розвивається виражена гіпербілірубінемія, можлива білірубінова енцефалопатія. Порушення кон'югації білірубіну обумовлено наявністю в молоці матері інгібітору УДФГТ, тому припинення грудного вигодовування призводить до одужання.

Синдром Аагенеса (норвезький холестаза) виявляється порушенням функцій печінки внаслідок гіпоплазії її лімфатичних судин з розвитком холестазу. Маніфестація зазвичай настає в неонатальному періоді з можливими рецидивами у дорослих. Можливо інтермітуючі жовтяниці, що супроводжується дефіцитом вітаміну Е, внаслідок якого виникають дегенеративні зміни ЦНС.

Синдром Байлера (злюкисний сімейний холестаза) – вкрай рідкісний варіант генетично обумовленої гіпербілірубінемії. Розвивається на першому тижні життя дитини. У патогенезі мають значення формування перипортального фіброзу і проліферація жовчних проток, через які розвивається холестаза. Захворювання протікає з важкою жовтяницею (білірубін у крові сягає 300 мкмоль/л за рахунок прямого), гепато- і спленомегалією. Прогноз несприятливий.

Первинна гіпербілірубінемія – дуже рідкісне захворювання, пов'язане з надмірним утворенням білірубіну в кістковому мозку. Причиною вважають передчасне руйнування в кістковому мозку незрілих попередників еритроцитів, тобто неефективний еритропоез. У периферичній крові руйнування еритроцитів відбувається зі звичайною швидкістю. Клінічно захворювання проявляється компенсованим гемолізом.

Синдром Жільбера – порушення захоплення, транспорту і кон'югації білірубіну, обумовлені:

- недостатністю білітранслокази, відповідальної за захоплення білірубіну з крові і його транспорт у гепатоцит;
- дефіцитом Y-і Z-протеїнів-лігандів, ферменту глутатіон-S-трансферази, що відповідають за перенесення білірубіну до мікросом;
- дефіцитом УДФГТ, що забезпечує перенос глюкуронової кислоти на білірубін.

Тип спадкування – аутосомно-домінантний.

Розрізняють «вроджений» варіант синдрому Жільбера, коли клінічні прояви розвиваються у віці 12-30 років без попереднього гострого вірусного гепатиту, і синдром Жільбера, клінічні прояви якого маніфестують після перенесеного гострого вірусного гепатиту. У цьому випадку має місце так звана постгепатитна гіпербілірубінемія. Причому, вона може бути пов'язана не тільки з ініціацією клінічних проявів генетичного дефекту (з істинним синдромом Жільбера), але і з розвитком хронічного вірусного гепатиту, тобто хворі з постгепатитною гіпербілірубінемією вимагають ретельного спостереження та проведення диференціальної діагностики між синдромом Жільбера і хронічним вірусним гепатитом. Гіпербілірубінемія не перевищує 80-100 мкмоль/л зі значним переважанням непрямої фракції.

Синдром Мейленграхта – ізольоване зниження активності УДФГТ.

Печінково-клітинна жовтяниця є одним із найчастіших ознак гострої та хронічної патології печінки. Вона може спостерігатися при вірусному гепатиті, інфекційному мононуклеозі, лептоспірозі, токсичних, в т.ч. лікарських та алкогольних ураженнях печінки, хронічному активному гепатиті, цирозі печінки, гепатоцелюлярному раку. Провідне значення в патогенезі має порушення проникності та цілості мембран гепатоцитів з виходом прямого білірубину в синусоїди, а потім у кров'яне русло. Характерні помірно або різке підвищення загального білірубину в сироватці крові з переважанням прямої фракції, білірубінурія та підвищення кількості уробілінових тіл у сечі при нормальному або злегка підвищеному виділенні стеркобіліну з калом. Клінічна картина характеризується яскравим жовтяничним забарвленням шкіри. При біохімічному дослідженні крові виявляють ознаки цитолізу гепатоцитів (підвищення активності внутрішньоклітинних ферментів – АЛТ та АСТ, глутаматдегідрогенази, ЛДГ), збільшення вмісту заліза, гіпергаммаглобулінемії, підвищення показників тимолової та зниження показників сулемової проби, а також порушення синтетичної функції печінки, яке проявляється гіпоальбумінемією, гіпохолестеринемією, зниженням вмісту протромбіну та інших ферментів системи згортання крові, активності холінестерази сироватки крові.

Холестатична жовтяниця (внутрішньопечінковий холестаза) найбільш часто спостерігається при гострих лікарських гепатитах, особливо при вживанні аміназину, анаболічних стероїдів, андрогенів, холестатичній формі вірусного гепатиту, токсичних ушкодженнях і первинному біліарному цирозі печінки. Рідко її причиною є первинний склерозуючий холангіт, ідіопатичний доброякісний рецидивуючий холестаза, вроджене розширення внутрішньопечінкових жовчних проток (хвороба Каролі), холестаза вагітних. Крім того, холестатична жовтяниця може виникати при тяжкому перебігу гострих бактеріальних інфекцій і сепсисі, амілоїдозі печінки, саркоїдозі, муковісцидозі. В її основі лежать порушення формування жовчної міцели і екскреції жовчі безпосередньо з гепатоциту або внутрішньопечінкових жовчних ходів. Холестатична жовтяниця супроводжується підвищенням у сироватці крові як прямого, так і непрямого білірубину. Виділення уробілінових тіл з калом і сечею знижено або відсутнє. Виявляється характерний клініко-

біохімічний симптомокомплекс: свербіж шкіри, підвищення активності ферментів холестазу (лужної фосфатази, γ -глутамілтранспептидази, лейцінамінопептидази і 5'-нуклеотидази), жовчних кислот, холестерину.

6.4.2 Надпечінкова жовтяниця

Зумовлена надмірним утворенням білірубину, вміст якого перевищує здатність печінки забезпечити його виведення, і практично завжди пов'язана з підвищеним розпадом (внутрішньосудинним або внутрішньоклітинним) еритроцитів або їх попередників. Найчастіше часто надпечінкова жовтяниця спостерігається при спадкових і набутих гемолітичних анеміях. Крім того, вона може розвиватися при хворобах, пов'язаних з неефективним еритроцитопоезом – так званих шунтових гіпербілірубінемії (B12-дефіцитної анемії, еритропоетичної уропорфрії, первинної шунтової гіпербілірубінемії та ін.) Рідко причиною збільшеного утворення білірубину та жовтяниці можуть бути інфаркти різних органів (частіше легенів), обширні гематоми (наприклад, при розшаровуючій аневризмі аорти), травматизація еритроцитів у порожнинах серця протезами клапанів серця. При надпечінковій жовтяниці в крові збільшений вміст в основному непрямого (не пов'язаного з глюкуроною кислотою) білірубину (в періоди гемолітичних кризів вміст загального білірубину сироватки різко зростає). У сечі білірубін не виявляється. Уробіліноген в сечі відсутній або його кількість незначна. Вміст уробілінових тіл у сечі і калі різко підвищено за рахунок стеркобіліногену.

При гемолітичній жовтяниці різного генезу спостерігається низька характерних симптомів, що дозволяють легко відрізнити її від інших видів жовтяниці. До них відносяться помірна жовтушність склер і шкіри на тлі більш-менш вираженої блідості, збільшення селезінки, звичайне або посилене забарвлення калу, збільшення числа ретикулоцитів в крові у внаслідок підвищеного кістково-мозкового еритроцитопоезу. Найбільш вірогідною ознакою гемолізу є скорочення тривалості життя еритроцитів, що визначається за допомогою ^{51}Cr ; при внутрішньосудинному гемолізі відмітними ознаками є підвищення вільного гемоглобіну плазми, гемоглобінурія і гемосидеронурія.

6.4.3 Підпечінкова жовтяниця

Підпечінкова жовтяниця пов'язана зі зменшенням або припиненням виділення білірубину через позапечінкові жовчні протоки. Вона розвивається за наявності перешкоди току жовчі з жовчних ходів у дванадцятипалу кишку. Причиною її є обтурація печінкового або загального жовчного протоку, ампули великого сосочка дванадцятипалої кишки (фатерова соска) каменем, пухлиною, паразитами; здавлення жовчних проток зовні при раку підшлункової залози, печінки, жовчного міхура, дванадцятипалої кишки, кістах підшлункової залози і печінки, гострому або хронічному панкреатиті, лімфогранулематозі та ін.; рубцеве звуження загальної жовчної протоки після операцій; спайковий процес; атрезія (гіпоплазія) жовчних шляхів. Для підпечінкової жовтяниці характерне підвищення в сироватці крові переважно прямого і меншою мірою непрямого білірубину. Виділення уробілінових тіл з калом і сечею знижено або відсутнє,

виявляється білірубінурія. Диференціальна діагностика різних видів жовтяниць та виявлення її причини засновані на ретельному обстеженні хворого, що включає лабораторні та інструментальні методи. Велике значення мають передусім анамнестичні дані (переливання крові, контакт з хворим на вірусний гепатит, токсичними речовинами, прийом лікарських засобів, що передуює Ж., триваючий місяцями й роками свербіж шкіри, операції на органах черевної порожнини, напади болю в животі та ін.). Звертають увагу на блідість шкіри і слизових оболонок, наявність ксантелазм і ксантом, сліди розчухів, гіперпігментацію шкіри, позапечінкові знаки (судинні «зірочки», «печінкові» долоні, малиновий язик), збільшення печінки та її болючість при пальпації, властиву гострим запальним змінам, а також збільшення селезінки. При хронічних захворюваннях печінки консистенція печінки та селезінки зазвичай щільна. Збільшення селезінки при відсутності гепатомегалії майже завжди свідчить про жовтяницю, пов'язану з гемолізом.

Контрольні питання

- 1) Життєвий цикл еритроцитів у нормі
- 2) Органи, де здійснюється катаболізм гемоглобіну
- 3) Доля білка і простетичної групи гемоглобіну
- 4) Перелічіть етапи деградації гему
- 5) Система гемоксигенази при катаболізмі гему
- 6) Утворення кон'югованого білірубіну в печінці
- 7) Транспорт білірубіну кров'ю
- 8) Відносні рівні білірубіну і забарвлення тканин
- 9) Виділення жовчних пігментів в організмі
- 10) Типи гіпербілірубінемій (жовтяниць)

7 Теми індивідуальних завдань

1. Ферментні системи білків плазми крові та синдром системної запальної реакції. Біологічна роль і роль у розвитку невідкладних станів.
2. Система білків гострої фази. Позитивні та негативні білки гострої фази. Біологічна роль. Методи визначення. Клініко-діагностична оцінка стану показників білків гострої фази.
3. Система транспортних білків. Склад системи. Біологічна роль окремих білків. Методи визначення клінічно значущих білків. Клініко-діагностична оцінка лабораторних даних.
4. Ангіотензин-ренінова система. Складові, дія. Клінічні прояви порушення. Методи лабораторної діагностики стану системи.
5. Тромбоцитарно-судинний гемостаз. Артеріальні тромбози як прояв активації тромбоцитарно-судинного гемостазу. Лабораторна діагностика стану первинного гемостазу.
6. Коагуляційний гемостаз. Тріади каскадів (проферменти, коферменти, фосфоліпіди) зовнішнього, внутрішнього та загального шляху активації згортання крові як молекулярні машини.

7. Система фібринолізу: плазміноген, активатори та інгібітори. Первинний та вторинний фібриноліз. Продукти деградації фібриногену та фібрину плазміном. Лабораторна оцінка стану плазмінової системи.
8. Система фізіологічних антикоагулянтів: система протеїну С; антитромбін III. Методи Клінічні прояви дефіциту фізіологічних антикоагулянтів. Ферментодіагностика захворювань окремих органів. Поняття про ферментний профіль органу. Порушення синтезу гему. Порфірії та порфіринурії. Діагностика порфірій та порфіринурій
9. Класифікація ферментів плазми крові. Основи ферментодіагностики захворювань окремих органів.
10. Катаболізм гему та утворення білірубину. Метаболізм білірубину. Фракції білірубину.
11. Цитолітичний синдром ураження печінки, лабораторні показники
12. Жовтяниці, лабораторна диференціальна діагностика жовтяниць.
13. Мезенхімально-запальний синдром. ураження печінки. Лабораторна діагностика
14. Холестатичний синдром. Синдром портокавального шунтування печінки (синдром «виключення» печінки).
15. Клініко-біохімічна характеристика нирок. Ниркова недостатність. Ступені ниркової недостатності. Лабораторна діагностика функціонального стану нирок.
16. Контроль якості лабораторних досліджень. Контрольні карти.
17. Мукополісахаридози. Лабораторна діагностика
18. Метаболізм алкоголю у печінці, токсична дія метаболітів алкоголю. Лабораторна діагностика алкогольного ураження печінки.
19. Метаболічний синдром. Клінічні ознаки. Лабораторна діагностика.
20. Лабораторна діагностика и диференціальна діагностика захворювань окремих органів.
21. Лабораторна діагностика інфаркту міокарда.
22. Контрольні карти Принцип побудови контрольних карт. Критерії оцінювання результатів внутрішньолабораторного контролю якості.

8 ТЕСТОВІ ПИТАННЯ

Тестові питання за розділом «Білки плазми крові»

1. У плазмі крові методом електрофорезу на ацетат целюлозі можна виділити білкових фракцій:

- 1) .три
- 2) # п'ять
- 3) . десять
- 4) . тридцять вісім
- 5) . сто

2. До складу фракції бета-глобулінів не входять:

- 1) . фібриноген

- 2) . ліпопротеїди
- 3) # імуноглобулін G
- 4) . трансферин
- 5) . β 2-мікроглобулін

3. Диспротеїнемії це:

- 1) . збільшення загального білка
- 2) . зменшення загального білка
- 3) . зниження фібриногену
- 4) # порушення співвідношення фракцій білків плазми
- 5) . усе перераховане вірно

4. У складі γ -глобулінів більш за все представлено:

- 1) . Ig M
- 2) # Ig G
- 3) . Ig A
- 4) . Ig E
- 5) . Ig D

5. Білок Бенс-Джонса можна виявити:

- 1) . реакцією аглютинації
- 2) . діалізом сечі
- 3) # електрофорезом сечі
- 4) . концентруванням сечі
- 5) . реактивом Фоліна

6. Фібриноген збільшується при:

- 1) # гострих стафілококових інфекціях
- 2) . діабеті
- 3) . хронічному гепатиті
- 4) . панкреатиті
- 5) . ДВЗ – синдромі

7. Трансферин – це з'єднання глобуліну з:

- 1) . цинком
- 2) # залізом
- 3) . натрієм
- 4) . кобальтом
- 5) . калієм

8. До фракції залишкового азоту не відносяться:

- 1) . аміак
- 2) # аденіннуклеотиди
- 3) . сечова кислота, креатинін
- 4) . амінокислоти, індикан

5) . сечовина

9. Для виділення фракції залишкового азоту білки можна осадити:

- 1) # вольфрамисловою кислотою
- 2) . їдким натром
- 3) . ацетилсаліциловою кислотою
- 4) . важкими металами
- 5) . усіма перерахованими речовинами

10. Не бувають азотемії:

- 1) . ниркові ретенційні
- 2) . позаниркові ретенційні
- 3) . продукційні
- 4) # гормональні
- 5) . усі відповіді неправильні

11. Ретенційні азотемії не зустрічаються при:

- 1) . гострому нефриті
- 2) . хронічному нефриті
- 3) # пневмонії
- 4) . пілонефриті
- 5) . амілоїдозі нирок

12. Позаниркові ретенційні азотемії можуть спостерігатися при:

- 1) . гастриті
- 2) . холангіті
- 3) . отиті
- 4) # великих опіках
- 5) . пневмонії

13. При продукційній азотемії переважають:

- 1) . індикан
- 2) . креатин
- 3) . сечовина
- 4) . креатинін
- 5) # амінокислоти

14. Амїак у крові не підвищується при:

- 1) . захворюваннях печінки
- 2) # захворюваннях підшлункової залози
- 3) . шоківих станах
- 4) . отруєннях
- 5) . перегріванні організму

15. Причиною підвищення загального білка в сироватці не може бути:

- 1) . мієломна хвороба
- 2) . гіперальбумінемія
- 3) . дегідротація
- 4) # гіпергідротація
- 5) . парапротеїнемічний гемобластоз

16. Сечовина не підвищується при:

- 1) # виразковій хворобі
- 2) . великих опіках
- 3) . гострій нирковій недостатності
- 4) . хронічних нефритах
- 5) . пієлонефритах

17. Залишковий азот підвищується за рахунок азоту сечовини при:

- 1) . гострому гепатиті
- 2) . ішемічній хворобі серця
- 3) # нефриті, хронічній нирковій недостатності
- 4) . цирозі печінки
- 5) . гострій жовтій атрофії печінки

18. Креатинурія не спостерігається:

- 1) . після фізичних перевантажень
- 2) . при гострій променевої хворобі
- 3) # при концентрації креатину в плазмі на рівні норми
- 4) . при прогресивній м'язовій дистрофії
- 5) . при жодному з перерахованих станів

19. Креатинін є:

- 1) . осмотичним діуретиком
- 2) . регулятором діяльності центральної нервової системи
- 3) # ангідридом креатину
- 4) . каталізатором проміжних реакцій
- 5) . усе перераховане вірно

20. Креатинін у крові та сечі визначають для:

- 1) . контролю за добовим діурезом
- 2) . оцінки азотистого балансу
- 3) # характеристики ниркової фільтрації
- 4) . розрахунку осмотичної концентрації
- 5) . усього перерахованого

21. Вміст креатиніну в крові збільшується при:

- 1) # хронічній нирковій недостатності

- 2) . гепатиті
- 3) . гастриті
- 4) . виразковому коліті
- 5) . усіх перерахованих станах

22. На збільшення сечової кислоти в організмі не впливає:

- 1) . порушення виведення її з організму
- 2) # уведення глюкози
- 3) . підвищення її синтезу
- 4) . надлишкове споживання продуктів, багатих нуклеїновими кислотами
- 5) . підвищений розпад кліток і тканин, багатих ядрами

23. Сечова кислота підвищується в сироватці при:

- 1) . гастриті, виразковій хворобі
- 2) . гепатитах
- 3) # лікуванні цитостатиками
- 4) . епілепсії, шизофренії
- 5) . усіх перерахованих захворюваннях

24. Індикан може збільшуватися в крові при:

- 1) # непрохідності кишечника
- 2) . пневмонії
- 3) . панкреатиті
- 4) . серцево-судинній дистонії
- 5) . усіх перерахованих захворюваннях

25. До азотемії призводить:

- 1) # зниження гломерулярної фільтрації
- 2) . затримка натрію в організмі
- 3) . глюкозурія
- 4) . посилений синтез білка
- 5) . дефіцит калію

26. Сечовина не підвищується при:

- 1) . серцево-судинній декомпенсації III ступеня
- 2) . хронічній нирковій недостатності
- 3) . посиленні катаболізму
- 4) . білковій дієті
- 5) # гастродуоденіті

27. Компонентами залишкового азоту не є:

- 1) . аміак
- 2) . креатинін

- 3) . сечовина
- 4) . сечова кислота
- 5) # азот

28. Не супроводжуються азотемією:

- 1) . хронічна ниркова недостатність
- 2) . важка травма
- 3) . дегідратація
- 4) # риніт
- 5) . усі перераховані захворювання

29. Не супроводжуються гіперпротеїнемією:

- 1) . мієломна хвороба
- 2) . дегідратація
- 3) # паренхіматозний гепатит
- 4) . хвороба Вальденстрема
- 5) . усі перераховані захворювання

30. Не супроводжуються гіпопротеїнемією:

- 1) . захворювання печінки
- 2) # мієломна хвороба
- 3) . захворювання нирок
- 4) . гастроентеропатії
- 5) . усі перераховані захворювання

31. Клінічний синдром, що супроводжується ренальною протеїнурією:

- 1) . серцева недостатність
- 2) . цистит
- 3) # нефротичний
- 4) . пухлина сечового міхура
- 5) . камінь у нирковому міхурі

32. Фізіологічна протеїнурія має місце:

- 1) . при ліпоїдному нефрозі
- 2) . при пієлонефриті
- 3) . при діабетичній нефропатії
- 4) # після перегрівання чи переохолодження
- 5) . при парапротеїнемії

Тестові питання за розділом «Система гемостазу»

1. Система гемостазу не включає:

- 1) . фактори фібринолізу
- 2) . фактори згортання
- 3) . фізіологічні антикоагулянти

- 4) . тромбоцити/ ендотелій судин
- 5) # білки ангіотензин-ренінової системи

2. Ініціатором згортання крові по внутрішньому шляху є:

- 1) . фактори
- 2) . фактор X
- 3) # фактор XII
- 4) . прекалікреїн
- 5) . протромбін

3. У протромбіназоутворенні бере участь тромбоцитарний фактор :

- 1) # фактор 3
- 2) . фактор 4
- 3) . актоміозин
- 4) . тромбоксан
- 5) . усе перераховане вірно

4. Зовнішній механізм гемостазу включає активацію:

- 1) # фактора VII
- 2) . фактора VIII
- 3) . фактора IX
- 4) . фактора XII
- 5) . високомолекулярного кініногену

5 Утворення тромбіну відбувається шляхом обмеженого протеолізу II фактора:

- 1) . фактором I
- 2) . фактором VII
- 3) . фактором IXa
- 4) # фактором Xa
- 5) . фактором XIII

6. Антикоагулянтом прямої дії є:

- 1) . плазміноген
- 2) . фактор III
- 3) # антитромбін III
- 4) . стрептокіназа
- 5) . АДФ

7. Продукти деградації фібрину викликають:

- 1) . протеоліз
- 2) . синтез фактора III
- 3) # блокаду утворення та полімеризації фібрину
- 4) . активацію фактора XII
- 5) . активацію фібринолізу

8. Протромбіназоутворення по зовнішньому шляху варто контролювати:

- 1) . станом агрегації тромбоцитів
- 2) . рівнем фібриногену
- 3) . активованим частковим тромбoplastиновим часом
- 4) # протромбіновим часом
- 5) . часом кровотечі

9. Визначення тромбінового часу використовується для:

- 1) # контролю за гепаринотерапією
- 2) . спостереження за рівнем ПДФ
- 3) . оцінки антитромбінової активності
- 4) . діагностики дисфібриногенемії
- 5) . усього перерахованого

10. Фазою формування фібрину з фібриногену не є:

- 1) # утворення протромбінази
- 2) . відщеплення фібринопептидів "А" і "В"
- 3) . утворення фібрин-мономерів
- 4) . полімеризація фібрин-мономерів до фібрин-полімеру
- 5) . стабілізація розчинного фібрину фібриназою

11. Активація плазмових факторів відбувається на:

- 1) # факторі 3 тромбоцитів (фосфоліпіді)
- 2) . факторі V
- 3) . факторі VIII
- 4) . факторі IX
- 5) . факторі XI

12. Причиною ДВЗ-синдрому можуть бути всі перераховані ендогенні фактори, крім:

- 1) . тканинний тромбoplastин
- 2) # гіперглікемія
- 3) . ушкодження ендотелію
- 4) . лейкоцитарні протеази
- 5) . активовані моноцити

13. Для передтромботичного стану характерно:

- 1) . підвищення фібринолітичної активності
- 2) # підвищення агрегації й адгезії тромбоцитів
- 3) . гіпофібриногенемія
- 4) . гіпокоагуляція
- 5) . тромбоцитопатія

14. Причинами зниження антитромбіну III у плазмі можуть бути всі перераховані, крім:

- 1) . зменшення синтетичної активності печінки з віком і при цирозі печінки
- 2) . споживання при ДВЗ-синдромі
- 3) . надлишок уведення гепарину
- 4) . уроджена недостатність синтезу
- 5) # мегакаріоцитоз

15. Визначення продуктів деградації фібрину (ПДФ) у плазмі не показано для:

- 1) . контролю за лікуванням фібринолітиками
- 2) . моніторингу використання активаторів плазміногену при лікуванні тромбоемболією
- 3) . діагностики ДВЗ-синдрому
- 4) # контролю за лікуванням саліцилатами

16. Причиною зниження плазміногену в плазмі можуть бути наступні фактори, крім:

- 1) . спадкоємні дефекти синтезу
- 2) . цироз печінки
- 3) . первинний фібриноліз
- 4) . споживання при ДВЗ-синдромі
- 5) # зниження рівня антиплазміну

17. Рівень фібриногену варто контролювати:

- 1) # за Рутбергом або Клаусом
- 2) . протромбіновим часом
- 3) . активованим частковим тромбопластиновим часом
- 4) . антитромбіном III
- 5) . визначенням протеїну с

18. Активність фібринолітичної системи варто контролювати визначенням:

- 1) . антитромбіну III
- 2) . тромбінового часу
- 3) . протромбінового часу
- 4) # часом лізису еуглобулінового згустка
- 5) . агрегації тромбоцитів

19. Гепаринотерапію варто контролювати за тестом:

- 1) # активованого часткового тромбопластинового часу
- 2) . час лізису еуглобулінового згустка.
- 3) . час ретракції кров'яного згустка
- 4) . визначення концентрації фібриногену

5) . агрегації тромбоцитів

20. У першій фазі гострої форми ДВЗ-синдрому:

- 1) . фібриноген знижується
- 2) . АЧТЧ коротшає
- 3) . тромбіновий час коротшає
- 4) . продукти деградації фібрину не виявляються
- 5) # знижується кількість тромбоцитів

21. Для діагностики хронічної форми ДВЗ-синдрому найбільш інформативно визначення:

- 1) . фібриногену
- 2) . тромбінового часу
- 3) . протромбінового часу
- 4) # продуктів деградації фібрину
- 5) . часу лізису еуглобулінового згустка

22. Коагулопатія споживання розвивається при:

- 1) . гемофілії
- 2) # ДВЗ-синдромі
- 3) . хворобі Віллебранда
- 4) . тромбостенії Гланцмана
- 5) . хворобі Хагемана

23. Про активацію тромбоцитів свідчить поява в плазмі:

- 1) . фібриногену
- 2) . антитромбіну III
- 3) # β -тромбоглобуліну
- 4) . комплементу
- 5) . усе перераховане вірно

24. Міжнародним вимогам контролю антикоагулянтів непрямої дії є визначення:

- 1) . протромбінового відношення
- 2) . протромбінового часу
- 3) . протромбінового індексу
- 4) . протромбіну за Квіком
- 5) # міжнародного нормалізованого відношення

Тестові питання за розділом «Ліпіди плазми крові»

1. До ліпідів не відносяться:

- 1) . холестерин
- 2) . тригліцериди
- 3) . фосфоліпіди
- 4) . жирні кислоти
- 5) # ацетонові тіла

2. Основною транспортною формою ендogenous тригліцеридів є:

- 1) . хіломікрони
- 2) . ЛПНЩ
- 3) # ЛПДНЩ
- 4) . ЛПВЩ
- 5) . неетерифіковані жирні кислоти

3. Мутність сироватки обумовлена надлишком транспортних форм:

- 1) . холестерину
- 2) . фосфоліпідів
- 3) # тригліцеридів
- 4) . жирних кислот
- 5) . простагландинів

4. У гепатоцитах холестерин метаболізує у:

- 1) # жовчні кислоти
- 2) . білірубін
- 3) . глобін
- 4) . гіалуронову кислоту
- 5) . фібриноген

5. Для типування гіперліпопротеїдемії необхідно досліджувати в сироватці крові:

- 1) . альфа-холестерин
- 2) . загальний холестерин
- 3) # спектр ліпопротеїдів
- 4) . ліпопротеїди низької щільності
- 5) . тригліцериди

6. До кетонів тіл не відносяться:

- 1) . ацетон
- 2) . ацетооцтова кислота
- 3) . бета-оксимасляна кислота
- 4) # альфа-кетоглутарова кислота

7. За якою фізичною характеристикою ліпопротеїди поділяються на: ХМ, ЛПДНЩ, ЛПНЩ, ЛПВЩ?

- 1) . за здатністю до седиментації
- 2) . за величиною питомої щільності
- 3) . за здатністю до осадження в жирових клітинах
- 4) # за здатністю до флоатації при ультрацентрифугуванні

8. Ішемічна хвороба серця частіше зустрічається при гіперліпопротеїдемії типу:

- 1) . I
- 2) # II
- 3) . IV
- 4) . V
- 5) . не залежить від типу гіперліпідемії

9. Вільні жирні кислоти в крові збільшуються при:

- 1) . введенні інсуліну
- 2) # цукровому діабеті
- 3) . атеросклерозі
- 4) . ішемічній хворобі серця
- 5) . усіх перерахованих захворюваннях

10. Рівень тригліцеридів у сироватці крові може підвищуватися при:

- 1) . лейкозах
- 2) # цукровому діабеті
- 3) . гепатитах
- 4) . тиреотоксикозі
- 5) . голодуванні

11. Рівень холестерину в сироватці крові може бути підвищений при:

- 1) . цирозах печінки
- 2) # обтураційній жовтяниці
- 3) . підвищеній продукції естрогенів
- 4) . гіпертиреозі
- 5) . у всіх перерахованих випадках

Тестові питання за розділом «Обмін вуглеводів»

1. Головним органом, що бере участь у гомеостазі глюкози крові є:

- 1) . кишечник
- 2) . кістякові м'язи
- 3) [#] печінка
- 4) . легені
- 5) . нирки

2. Ключова сполука метаболізму глюкози в клітині:

- 1) . глікоген
- 2) . глюкоза
- 3) # глюкозо-6-фосфат
- 4) . глюкозо-1-фосфат
- 5) . фруктозо-1-6-діфосфат

3. Основна кількість глюкози утилізується в процесі:

- 1) . протеолізу
- 2) . ліполізу

- 3) # гліколізу
- 4) . фібринолізу
- 5) . дезамінування

4. Депонованою формою вуглеводів є:

- 1) . глюкозо-6-фосфат
- 2) # глікоген
- 3) . олігосахариди
- 4) . глюкозо-1-фосфат
- 5) . піруват

5. При гіперглікемії глюкоза виділяється переважно:

- 1) . шкірою
- 2) . зі слиною
- 3) # нирками
- 4) . з жовчю
- 5) . усі відповіді правильні

6. Виведення глюкози із сечею не залежить від:

- 1) . величини клубочкової фільтрації
- 2) . рівня гіперглікемії
- 3) . канальцевої реабсорбції
- 4) # швидкості гліколізу
- 5) . інтенсивності усмоктування глюкози в кишечнику

7. Гіпоглікемічний ефект здійснює:

- 1) . адреналін
- 2) . глюкокортикоїди
- 3) # інсулін
- 4) . соматотропний гормон
- 5) . усі перераховані гормони

8. Інсулін діє на утилізацію глюкози клітинами через:

- 1) # рецептори
- 2) . гормон-посередник
- 3) . центральну нервову систему
- 4) . симпатичну нервову систему
- 5) . парасимпатичну нервову систему

9. Гіперглікемічні властивості мають:

- 1) . інсулін
- 2) . паратиреоїдні гормони
- 3) . андрогени
- 4) # глюкокортикоїди
- 5) . естрогени

10. Гомеостаз глюкози при тривалому голодуванні досягається:

- 1) . посиленням глікогенолізу
- 2) # активацією глюконеогенезу
- 3) . підвищенням глікогеногенезу
- 4) . за рахунок гліколізу
- 5) . посиленням пентозо-фосфатного шляху

11. Глюкозурія може зустрічатися при:

- 1) . нормоглікемії
- 2) # значній гіперглікемії
- 3) . незначній гіперглікемії
- 4) . гіпоглікемії
- 5) . усіх перерахованих станах

12. Зниження глюкози в крові може спостерігатися при:

- 1) . гіперпаратиреозі
- 2) # інсуломі
- 3) . феохромоцитомі
- 4) . гіпертиреозі
- 5) . синдромі Іценко-Кушинга

13. При підозрі на цукровий діабет потрібно визначити:

- 1) # глюкозу в крові
- 2) . глюкозу в сечі
- 3) . глікований гемоглобін
- 4) . тригліцериди
- 5) . усе перераховане

14. Специфічним методом визначення глюкози в крові є:

- 1) # глюкозооксидазний
- 2) . ортотолуїдиновий
- 3) . електрохімічний
- 4) . гексокіназний
- 5) . усі перераховані методи

15. Глюкозу в сечі доцільно визначати:

- 1) . методом поляриметрії
- 2) . ортотолуїдиновим методом
- 3) # використовуючи діагностичні тест-смужки
- 4) . методом Альтгаузена
- 5) . усіма перерахованими методами

16. У хворого глюкоза в крові в межах вікової норми, але наявна глюкозурія. Необхідно виключити:

- 1) . маніфестний цукровий діабет
- 2) . порушення толерантності до глюкози
- 3) # нирковий діабет
- 4) . хвороба Іценко-Кушинга
- 5) . жодне з перерахованих захворювань виключити не можна

17. Для гіперглікемічної коми не характерні:

- 1) . гіперглікемія
- 2) . кетоз
- 3) . гіперосмолярність
- 4) . глюкозурія
- 5) # гіпоглікемія

18. Глікований гемоглобін підвищений при:

- 1) . інсулінонезалежному цукровому діабеті
- 2) # інсулінозалежному цукровому діабеті
- 3) . постійно є присутнім у крові
- 4) . усе перераховане вірно

7.5 Контроль знань з теми «Біомаркери і ферменти сироватки крові у діагностиці захворювань органів та систем»

1. З метою діагностики активність ферментів не визначають у:

- 1) [] сироватці крові
- 2) [] лейкоконцентрах
- 3) [] біоптатах
- 4) [] лікворі
- 5) [#] видихуваному повітрі

2. Підвищення сироваткової активності ферментів при патології не може бути наслідком:

- 1) [] збільшення його синтезу
- 2) [] підвищення проникності клітинних мембран і руйнування кліток, що синтезують ферментів
- 3) [] посилення органного кровообігу
- 4) [] клітинного набряку
- 5) [#] посиленого харчування

3. Найбільша активність АЛТ виявляється в клітинах:

- 1) [] міокарда
- 2) [#] печінки
- 3) [] кістякових м'язів
- 4) [] нирок
- 5) [] підшлункової залози

4 Найбільша питома активність креатинкінази характерна для:

- 1) [] міокарда

- 2) печінки
- 3) м'язів
- 4) нирок
- 5) підшлункової залози

5. Підвищена активність ГГТП у сироватці визначається при:

- 1) простатиті
- 2) енцефаліті
- 3) панкреатиті
- 4) холестази
- 5) пієлонефриті

6. Вимір концентрації ферменту імунохімічним методом у порівнянні з визначенням активності ферменту з використанням фотометрії:

- 1) більш специфічно
- 2) дешевше
- 3) швидше в потоці
- 4) піддано великим аналітичним варіаціям
- 5) усе перераховане вірно

7. У міжнародній системі одиниць СІ активність ферментів вимірюється:

- 1) ммоль/л
- 2) МО/л
- 3) одиницями оптичної щільності
- 4) каталами
- 5) справедливо все перераховане

8. Необоротне ушкодження кардіоміоцитів супроводжується підвищенням у сироватці:

- 1) лужної фосфатази
- 2) АЛТ
- 3) ГГТП
- 4) гістідази
- 5) МВ-КК

9. Підвищення сироваткової активності сорбітолдегідрогенази характерно для захворювань:

- 1) серця
- 2) печінки
- 3) кістякових м'язів
- 4) нирок
- 5) підшлункової залози

10. Підвищення сироваткової активності альдолази характерно для захворювань:

- 1) серця
- 2) печінки
- 3) кістякових м'язів
- 4) нирок
- 5) підшлункової залози

11. Ізоферменти – це ферменти, у яких відсутні такі властивості:

- 1) однакова маса, але відрізняються за первинною структурою
- 2) різні пропорції функціональних заряджених груп
- 3) різні величини константи спорідненості до субстрату (K_m)
- 4) різна субодинична структура
- 5) відсутність субодиничної структури

12. Молекула ЛДГ складається із субодиниць типу:

- 1) В і М
- 2) Н і М
- 3) У, М і Н
- 4) В і Н
- 5) тільки В

13. У кардіоміоцитах в найбільшій кількості міститься ізофермент:

- 1) ЛДГ-1
- 2) ЛДГ-2
- 3) ЛДГ-3
- 4) ЛДГ-4
- 5) ЛДГ-5

14. У гепатоцитах у переважній кількості міститься ізофермент:

- 1) ЛДГ-1
- 2) ЛДГ-2
- 3) ЛДГ-3
- 4) ЛДГ-4
- 5) ЛДГ-5

15. Гідроксибутиратдегідрогеназна активність сироватки крові найбільшою мірою відображає активність:

- 1) ЛДГ-1
- 2) ЛДГ-2
- 3) ЛДГ-3
- 4) ЛДГ-4
- 5) ЛДГ-5

16. Секретуємим у кров ферментом є:

- 1) ЛДГ
- 2) лужна фосфатаза
- 3) холінестераза
- 4) АСТ
- 5) АЛТ

17. «Катал» - це одиниця, яка відображує:

- 1) константу Міхаеліса-Ментен
- 2) концентрацію ферменту
- 3) концентрацію інгібітору
- 4) активність ферменту
- 5) коефіцієнт молярної екстинкції

18. Активність ферменту, виражена в міжнародних одиницях, має розмірність:

- 1) моль/година/л
- 2) моль/с/л
- 3) мкмоль/хв/мл
- 4) мкмоль/година/мл
- 5) мг/хв/л

19. Швидкість ферментативної реакції не залежить від:

- 1) температури
- 2) рН
- 3) концентрації субстрату
- 4) присутності кофакторів
- 5) газового складу середовища інкубації

20. Константа Міхаеліса-Ментен – це:

- 1) концентрація субстрату, при якій швидкість ферментативної реакції дорівнює половині максимальної
- 2) оптимальна концентрація субстрату для ферментативної реакції
- 3) коефіцієнт екстинкції
- 4) коефіцієнт, що відбиває залежність швидкості реакції від температури
- 5) усе перераховане

21. Величина константи Міхаеліса-Ментен відображує:

- 1) спорідненість ферменту до субстрату
- 2) залежність швидкості реакції від концентрації ферменту
- 3) залежність швидкості реакції від температури
- 4) ефекти коферментів і кофакторів ферментів
- 5) усе перераховане вірно

22. При взятті крові на активність ферментів не впливає:

- 1) тривалий венозний стаз
- 2) травматизація
- 3) мікрогемоліз
- 4) активації системи гемостазу
- 5) температура навколишнього середовища

23. При доставці крові на дослідження на активність ферментів не впливає:

- 1) активація протеолітичних систем плазми
- 2) руйнування четвертинної структури ферментів
- 3) зміни рН крові
- 4) частковий гемоліз еритроцитів
- 5) матеріал контейнера для її транспортування

24. При збереженні крові активність ферментів не може мінятися від:

- 1) закислення середовища
- 2) активації протеолітичних процесів
- 3) температури
- 4) тривалості збереження
- 5) типу холодильника, у якому вона зберігається

25. Для печінки не є органоспецифічним ферментом:

- 1) сорбітолдегідрогеназа
- 2) гістідаза
- 3) АСТ
- 4) 5'-нуклеотідаза
- 5) уроканіаза

26. Для визначення активності ферментів не обов'язково стандартизувати:

- 1) рН
- 2) температуру
- 3) концентрацію і природу буфера
- 4) концентрацію субстрату
- 5) пробірки, у яких готується інкубаційна суміш

27. Активність кислої фосфатази вище в сироватці, ніж у плазмі, тому що:

- 1) фермент вивільняється клітинами крові при утворенні згустка
- 2) у плазмі фермент сорбується на фібриногені
- 3) у плазмі відбувається полімеризація ферменту з утратою його активності
- 4) у сироватці крові фермент активується
- 5) у плазмі присутні інгібітори ферменту

28. Джерелом аналітичних помилок при визначенні активності ферментів не може бути:

- 1) концентрація субстрату, що не насичує фермент
- 2) зміна рН інкубаційної суміші
- 3) нестабільність температури в ході інкубації
- 4) використання реактивів із простроченим терміном придатності
- 5) порушення правил узяття крові у відділенні

29. У хворого з гострим приступом болю за грудиною чи в животі відносно підвищення сироваткової активності КК > АСТ > АЛТ >> ГГТП > амілази. Найбільш ймовірний діагноз:

- 1) гострий панкреатит
- 2) гострий вірусний гепатит
- 3) ниркова колька
- 4) інфаркт міокарда
- 5) гострий плеврит

30. У хворого з гострим приступом болю за грудиною чи в животі відносно підвищення активності ліпази > амілази >> АЛТ > АСТ >> КК. Найбільш ймовірний діагноз:

- 1) гострий панкреатит
- 2) гострий вірусний гепатит
- 3) ниркова колька
- 4) інфаркт міокарда
- 5) гострий плеврит

31. Для ниркової кольки характерно (сироватка крові):

- 1) підвищення активності КК
- 2) підвищення активності амілази
- 3) підвищення активності АЛТ
- 4) підвищення активності лужної фосфатази
- 5) стабільний рівень активності перерахованих ферментів
- 6) кісткової тканини

Тестові питання за розділом и «Пігментний обмін»

1. Порфірини не входять до складу:

- 1) міоглобіну
- 2) каталази
- 3) гемоглобіну
- 4) пероксидази
- 5) протеаз

2. Порфірини синтезуються переважно в:

- 1) селезінці, лімфовузлах
- 2) кишечнику
- 3) кістковому мозку і печінці
- 4) нирках
- 5) легенях

3. В організмі людини не містяться наступні порфірини:

- порфірин-ІХ
- 1) копропорфірин-ІІІ
 - 2) уропорфірин-ІІІ
 - 3) порфобіліноген
 - 4) порфірин VІІІ

4. Матеріалом для дослідження порфіринів є:

- 1) сеча
- 2) сироватка крові
- 3) лейкоцити
- 4) спинномозкова рідина
- 5) жовч

5. Розчинниками для порфіринів є:

- 1) органічні розчинники
- 2) кислоти
- 3) вода
- 4) луги
- 5) усі перераховані речовини

6. Порушення обміну порфіринів можуть бути при дефіциті:

- 1) ліпідів
- 2) заліза
- 3) вуглеводів
- 4) апо-білків
- 5) вітаміну D

7. Попередники порфіринів визначають у:

- 1) плазмі крові
- 2) сечі
- 3) лейкоцитах
- 4) жовчі
- 5) спинномозкової рідини

8. При еритропоетичних порфіриях порфірини визначаються в:

- 1) крові
- 2) сечі

- 3) жовчі
- 4) еритроцитах
- 5) лейкоцитах

9. Порушення обміну порфіринів можливе при:

- 1) отруєнні свинцем
- 2) гіпербілірубінемії
- 3) підвищеному внутрішньосудинному гемолізі
- 4) дефіциті вітамінів
- 5) нефритах

10. Основним попередником білірубіна є:

- 1) міоглобін
- 2) гемоглобін
- 3) порфірин
- 4) цитохроми
- 5) усе перераховане

11. Найбільший токсичний ефект білірубіну проявляється у відношенні:

- 1) гепатоцитів
- 2) нервових клітин
- 3) м'язових клітин
- 4) клітин сполученої тканини
- 5) усіх перерахованих клітини

12. Некон'югований білірубін у гепатоцитах піддається:

- 1) з'єднанню із сірчаною кислотою
- 2) декарбоксилюванню
- 3) з'єднанню з глюкуроновою кислотою
- 4) дезамінуванню
- 5) усім перерахованим перетворенням

13. Кон'югований білірубін в основній масі надходить у:

- 1) жовчовивідні капіляри
- 2) кров
- 3) лімфатичну систему
- 4) слину
- 5) усе перераховане вірно

14. Кон'югований білірубін у нормі в крові складає до:

- 1) 5%
- 2) 25%
- 3) 50%
- 4) 75%

5) 100%

15. У сечі здорової людини міститься:

- 1) білівердін
- 2) стеркобіліноген
- 3) мезобілірубін
- 4) білірубін
- 5) усе перераховане

16. Позитивна реакція сечі на жовчні пігменти виявляється при:

- 1) синдромі Жільбера
- 2) обтураційної жовтяниці
- 3) аутоімунної гемолітичної анемії
- 4) ядерній жовтяниці немовлят
- 5) усіх перерахованих станах

17. Активність лужної фосфатази важлива для діагностики:

- 1) вірусного гепатиту
- 2) обтураційної жовтяниці
- 3) токсичного гепатиту
- 4) рака печінки
- 5) усіх перерахованих захворюваннях

18. Фракція кон'югованого білірубіну в крові превалює при:

- 1) вірусному гепатиті
- 2) посттрансфузійному гемолізі
- 3) фізіологічної жовтяниці немовлят
- 4) синдромі Жільбера
- 5) усіх перерахованих станах

19. Для ранньої діагностики гострого вірусного гепатиту доцільно досліджувати:

- 1) фракції білірубіна
- 2) амінотрансферази
- 3) сироваткове залізо
- 4) лужну фосфатазу
- 5) усі перераховані з'єднання

20. На висоті хвороби не можна диференціювати гемолітичну жовтяницю від обтураційної за допомогою визначення:

- 1) фракції білірубіна
- 2) кількості ретикулоцитів
- 3) сироваткового заліза
- 4) лужної фосфатази
- 5) трансаміназ

21. У диференціальній діагностиці паренхіматозної і гемолітичної жовтяниці не інформативними є тести:

- 1) фракції білірубіна
- 2) ЛДГ-ізоферменти
- 3) амінотрансферази
- 4) ретикулоцити
- 5) АЛТ і АСТ

22. Обмін жовчних пігментів порушується при:

- 1) гемоглобінопатії
- 2) синдромі Жільбера
- 3) порфірії
- 4) міоглобінурії
- 5) усіх перерахованих захворюваннях

23. Порушення обміну жовчних пігментів не може бути в результаті:

- порушення кон'югованого білірубіна
- 1) порушення відтоку жовчі
 - 2) підвищеного руйнування еритроцитів
 - 3) порушення функції гепатоцитів
 - 4) виразкової хвороби 12-палої кишки

24. При жовтяничній формі гострого вірусного гепатиту не виявляються:

- 1) уробілінурия
- 2) білірубінурія
- 3) підвищення активності ЛДГ
- 4) підвищення активності АЛТ
- 5) підвищення рівня секреторних ферментів

25. Обмін жовчних пігментів не порушений при:

- 1) гострої дистрофії печінки
- 2) сироватковому гепатиті
- 3) токсично-алергійному гепатиті
- 4) холестатичному цирозі
- 5) гострому панкреатиті

26. Фракція некон'югованого білірубіну підвищується при:

- 1) біліарному цирозі печінки
- 2) синдромі Жільбера
- 3) паренхіматозному гепатиті
- 4) обтураційної жовтяниці
- 5) усіх перерахованих захворюваннях

27. При холестазі найбільшою діагностичною специфічністю володіє визначення:

- 1) [] холінестерази
- 2) [] аміотрансферази
- 3) [#] лужної фосфатази
- 4) [] ЛДГ
- 5) [] усього перерахованого

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна

1. Клінічна лабораторна діагностика/ [Б.Д. Луцик, Л.Є. Лаповець, Г.Б. Лебедь та інш.], за ред. Б.Д. Луцик. – К.: ВСВ Медицина, 2011. – 288 с.
2. Ткачук В.А. Клиническая биохимия / В.А.Ткачук. – М.:ГЭОТАР – Медиа, 2008. – 264 с.
3. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики / А.П. Момот. – СПб: ФормаТ, 2008. – 206 с.
4. Назаренко Г.И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун. – М.: Медицина, 2007. – 542 с.
5. Клінічна біохімія. Підручник / [Бойків Д.П., Бондарчук Т.І., Іванків О.Л. та ін.]; за ред. О.Я. Склярова. – К.: Медицина, 2006. – 432 с.
6. Клиническая биохимия. Учебное пособие / [А.Ф. Цыганенко, В.И. Жуков., В.В. Мясоедов, И.В.Завгородний]. – М.: Триада X, 2002. – 504 с.
7. Маршалл Дж. Клиническая биохимия / Джорж Маршалл; [Пер. с англ.] – М.: Медицина, 2002 – 373 с.

Додаткова

1. Шиффман Ф.Д. Патофизиология крови / Ф.Дж. Шиффман; [Пер. с англ.] – М СПб.: БИНОМ–Невский діалект, 2000. – 448 с.
2. Карпищенко А.И. Медицинская лабораторная диагностика / А.И. Карпищенко. – СПб, 1997. – 300 с.
3. Гейне В. Лабораторная диагностика в детском возрасте/ В. Гейне, В. Пленерт, И. Рихтер; [Пер с нем.]. – М.: Медицина, 1992. – 240 с.
4. Горячковский А.М. Клиническая биохимия / А.М. Горячковский. – Одесса: Астропринт, 1998. – 603 с.
5. Капитаненко А.М. Клинический анализ лабораторных исследований / А.М. Капитаненко, И.И Дочкин. – М.: Военное из-во. 1988. – 272 с
6. Клиническая оценка лабораторных тестов / Под ред. Н.У. Тица; [Пер. с англ.]. – М.: Медицина, 1986. – 480 с.

Інформаційні ресурси

1. Medical Biochemistry (University of Kansas Medical Center) – Multimedia Course (Text, Images, Interactive Molecular Modeling & Interactive Animations) // <http://www.kumc.edu/school-of-medicine/biochemistry-and-molecular-biology.html>

2. Medical Biochemistry (Indiana University) // http://www.varsitynotes.com/biochemistry/medical_biochemistry.html
3. Animations Biochemistry for Medics // <http://www.namrata.co/>
4. <http://ebooks.cambridge.org/chapter.jsf?bid=CBO9780511581304&cid=CBO9780511581304A058>

Навчальне видання
(українською мовою)

Колісник Надія Василівна,
Омельянчик Людмила Олександрівна

ОСНОВИ КЛІНІЧНОЇ БІОХІМІЇ

Навчальний посібник
для студентів освітньо-кваліфікаційних рівнів «спеціаліст» і «магістр»
напряму підготовки «Біологія»

Рецензент О.Ф. Рильський
Коректор Н.В. Колісник
Відповідальний за випуск Н.В. Колісник