

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОХІМІЇ ТА ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ**

ОСНОВИ КЛІНІЧНОЇ БІОХІМІЇ

(Навчально-методичний посібник для студентів медичного факультету зі спеціальності «Лабораторна діагностика»)

Запоріжжя 2011

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОХІМІЇ ТА ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ**

ОСНОВИ КЛІНІЧНОЇ БІОХІМІЇ

(Навчально-методичний посібник для студентів медичного факультету зі спеціальності «Лабораторна діагностика»)

Запоріжжя 2011

Затверджено на засіданні Центральної методичної Ради ЗДМУ
(протокол №__ від «__» _____ р.) і рекомендовано для використання в
навчальному процесі.

Навчально-методичний посібник склали:

- | | |
|---------------------|--|
| - Александрова К.В. | Завідуючий кафедри біохімії та лабораторної
діагностики, д.х.м., професор |
| - Біленький С.А. | к.мед.н., доцент |
| - Білоконь Л.Є. | к.біол.н., ст. викладач |
| - Горбачова С.В. | к.біол.н., асистент |
| - Іванченко Д.Г. | к.фарм.н., асистент |
| - Крісанова Н.В. | к.біол.н., доцент |
| - Куріпка В.І. | к.біол.н., доцент |
| - Макоїд О.Б. | к.біол.н., доцент |
| - Мишко О.Л. | асистент |
| - Однокоз О.В. | асистент |
| - Романенко М.І. | д.фарм.н., професор |
| - Рудько Н.П. | к.біол.н., ст. викладач |
| - Швець В.М. | д.біол.н., доцент |

Рецензенти

Зміст

1. Клінічна біохімія <i>К.В. Александрова, С.В. Горбачова</i>	6
2. Основи клінічної ензимодіагностики <i>Н.П. Рудько, В.М. Швець</i>	41
3. Клініко-біохімічні критерії обміну білків в нормі та при патології. Амінокислотний пул крові. Порухення обміну амінокислот <i>В.І. Куріпка, О.В. Однокоз</i>	69
4. Клініко-біохімічні критерії обміну вуглеводів в нормі та при патології <i>С.В. Горбачова, О.Б. Макоїд</i>	102
5. Клініко-біохімічні критерії обміну ліпідів в нормі та при патології <i>Н.В. Крісанова, К.В. Александрова</i>	120
6. Клініко-біохімічні критерії при захворюваннях нирок і сечовивідних шляхів <i>К.В. Александрова, О.Л. Мишко</i>	144
7. Порухення ендокринних функцій та клініко-біохімічна оцінка стану ендокринної системи <i>М.І. Романенко, Д.Г. Іванченко</i>	168
8. Клініко-біохімічні критерії при патології сполучної тканини <i>С.А. Біленький</i>	197
9. Водно-електролітний обмін в нормі та при патології <i>К.В. Александрова, О.Б. Макоїд</i>	226
10. Методи лабораторної діагностики <i>Л.Є. Білоконь</i>	249
11. Відповіді до тестових завдань	281
12. Література	282

КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ

Клінічна біохімія – наука, яка вивчає біохімічні процеси в організмі в нормі і при патології для вирішення наступних проблем:

1. постановка діагнозу захворювання;
2. рання діагностика порушень метаболізму;
3. встановлення ступеню важкості патологічного процесу;
4. контроль ефективності лікувальних та профілактичних заходів;
5. вивчення молекулярних механізмів розвитку хвороби;

Біохімічні основи патологічних станів

Клінічна біохімія виходить з положення, що всі захворювання мають біохімічну основу і є проявом порушень в структурі молекул, які виникають в ході хімічних реакцій і процесів.

Необхідно враховувати, що не кожні зміни в первинній структурі молекул і не всі часткові зміни в механізмі перетворення тих або інших речовин обов'язково викличуть порушення процесів життєдіяльності. В той же час будь-які порушення нормальних функцій організму обов'язково в своїй основі мають порушення процесів обміну на молекулярному рівні. Немає хвороб молекул, а є патологічні стани організму, що виражаються в порушенні функцій окремих органів або цілого організму.

До основних положень, які дозволяють розглядати захворювання з біохімічних позицій, відносяться наступні:

1. Багато хвороб детерміновано генетично.
2. Всі класи біомолекул, що знаходяться в клітині, можуть змінювати свою структуру, функцію або кількість при тому або іншому захворюванні;
3. Захворювання можуть викликатися дефіцитом або надлишком певних молекул (вітамінів, гормонів).
4. Різні біохімічні механізми можуть приводити до схожих патологічних, клінічних і лабораторних проявів. Кожен з цих чинників викликає розвиток однієї або декількох «критичних» хімічних реакцій, утворення «критичних» молекул в організмі.

Клінічні біохімічні тести складають більш як одну третину всіх лабораторних клінічних досліджень.

Найчастіше біохімічні лабораторії виконують «базові», або «основні», дослідження — дослідження, які найчастіше призначаються лікарями та є діагностично більш значущими для пацієнтів. Поширеними є певні комбінації біохімічних досліджень (сечовина і електроліти, тести функції печінки, гази крові). Не кожна лабораторія обладнана для виконання всіх можливих біохімічних тестів. Ряд спеціальних досліджень для діагностики рідкісних захворювань може виконуватися тільки в централізованих лабораторіях або діагностичних центрах.

Ще одна група біохімічних досліджень пов'язана з необхідністю термінового ухвалення рішення клініцистами в екстрених ситуаціях — це так звані ургентні тести, або тести при невідкладних станах. В даний час в біохімічних лабораторіях виконується близько 400 різних тестів: від дуже простих (визначення вмісту глюкози) до дуже складних (ДНК-аналіз, скринінг лікарських рецепторів, розділення ліпопротеїнових фракцій).

Порядок проведення біохімічних досліджень

Біохімічне дослідження проводиться з метою відповіді на клінічне питання, що виникає у лікаря відносно пацієнта.

Проведення лабораторного обстеження можна розділити на наступні етапи:

- призначення дослідження;
- підготовка обстежуваної особи;
- узяття матеріалу;
- зберігання і доставка його для дослідження;
- реєстрація аналізу;
- вибір методу, підготовка, виконання і оформлення аналізу;
- трактування отриманих результатів.

При захворюванні спостерігаються зміни, викликані як самим патологічним процесом, так і виникаючими метаболічними перебудовами організму. При цьому може відбуватися збільшення або зменшення вмісту речовин, підвищення або зниження активності ферментів, поява метаболітів або аномальних форм, що не зустрічаються у здорової людини, неадекватна реакція на навантаження певними речовинами і ін.

Для різних патологічних станів (окрім генетично обумовлених) біохімічні зрушення не є строго специфічними, і тому враховуються головним чином такі критерії, як «більше – менше», «швидше – повільніше», «наявність – відсутність» органоспецифічних показників, ізоферментів і тому подібне. Показники оцінюються у порівнянні з показниками у здорових людей, відзначається ступінь вираженості і час виникнення в організмі зміни того або іншого показника, тривалість розвинутих порушень. Тому діагностична чутливість того або іншого тесту тим більша, чим адекватніший його вибір, ніж більші відмінності між показниками у здорових і хворих людей, чим триваліший період змін, що відображають динаміку хвороби. Виявлення відповідних змін і є завданням біохімічних досліджень.

Правильно вибрати біохімічний тест — значить врахувати сукупність анамнестичних і клінічних даних, які могли б орієнтувати на передбачуваний діагноз, а в ході подальших спостережень дозволили б враховувати особливості динаміки того або іншого вибраного показника, пов'язаного як з самим патологічним процесом, так і з особливостями хворого, можливим впливом чинників, зокрема лікарських препаратів.

Інформація, що вказується у направленні на дослідження, може бути різною, залежно від мети дослідження. Обов'язково вказується прізвище пацієнта. Направлення повинне містити певні відомості про передбачувану патологію. Необхідні для виконання аналізу мають бути чітко визначені.

Узяття, зберігання і доставка біологічного матеріалу в лабораторію

Найбільш поширеним матеріалом для клініко-біохімічних досліджень є сироватка і плазма крові, сеча, спинномозкова і інші біологічні рідини.

Кров для дослідження рекомендується брати вранці, між 8 і 10 годинами, до фізичного навантаження і проведення діагностичних процедур. За добу до взяття крові їжа може бути звичайною, обов'язково необхідно виключити вживання алкоголю. Здоровим особам і амбулаторним хворим вранці, після пробудження, забороняється куріння, вживання їжі і рідини (за винятком води). Для проведення більшості тестів узяття крові проводять після 8 – 10 годинного голодування, а для визначення показників ліпідограми, особливо тригліцеридів, потрібно витримати 12-годинний голод. Безпосередньо перед узяттям крові пацієнтові необхідно відпочити в положенні сидячи протягом не менше 15 – 30 хвилин. В процесі узяття крові рука пацієнта розташовується під кутом 45° .

У хворих, яким призначений постільний режим, узяття крові здійснюється між 7 і 9 годинами; при цьому рука пацієнта, лежачого в ліжку, повинна знаходитися в горизонтальному положенні.

При дослідженні системи гемостазу до процесу узяття крові пред'являють ряд додаткових вимог: рекомендується використовувати голку з широким просвітом, перенесення крові в пробірку з антикоагулянтом проводити повільно для запобігання спінювання крові. Дуже важливою умовою правильного проведення коагулометричних досліджень є чітке співвідношення крові - антикоагулянт, яке має дорівнювати 9 : 1. Кров з антикоагулянтом обережно перемішують, без струшування і залишають в штативі на 20 – 25 хвилин. Інтенсивне перемішування і струшування викликає гемоліз еритроцитів, що значно змінює багато параметрів коагулограми.

При вивченні системи гемостазу кров зазвичай стабілізується розчином лимоннокислого натрію (3,8%), оскільки в цитратній крові найкраще зберігаються фактори згортання і тромбоцити у незмінному стані.

Основні відомості про найчастіше вживані антикоагулянти приведені в таблиці 1.

Таблиця 1. Антикоагулянти, використовувані в лабораторній практиці

[В.С. Камишніков, 2009]

Антикоагулянт	Приготування розчинів і їх використання	Лабораторні тести, визначенню яких заважає антикоагулянт
Натрію оксалат $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$	300 мг щавлевокислого натрію розчиняють в 20 мл бідистильованної води. Використовують 0,1 мл розчину на 2 мл крові	Електроліти (натрій, калій, кальцій), лужна фосфатаза α -амілаза, рН крові
Амонія оксалат $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Розчин (10 г/л) готують на дистильованій воді, кип'ятять, зберігають при 4 ⁰ С	Аміак, лужна фосфатаза α -амілаза, рН крові
Етилендіамін-тетраоцетова кислота або її динатрієва сіль (ЕДТА-натрій, Трилон Б, хелатон)	300 мг натрію етилендіамінтетраацетату розчиняють в 20 мл бідистильованої води. Якщо ЕДТА розчиняється поволі, можна додати луг (до рН 8,4 – 8,6), а потім шляхом внесення кислоти відновити колишню нейтральну реакцію розчину. На 2 мл крові беруть 0,1 мл розчину, що містить 1,5 мг антикоагулянта. Допускається використання сухого ЕДТА з розрахунку 1 мг порошку на 1 мл крові. ЕДТА-натрій на відміну від інших антикоагулянтів не порушує морфологічну структуру еритроцитів (не «зморщує» їх). Зв'язуючи разом з іонами кальцію і магнію іони металів змінної валентності, ЕДТА запобігає процесам перекисного	Електроліти (натрій, калій, кальцій), залишковий азот

	окислення ліпідів	
Гепарин (з активністю 1000 ЕД в 1 мл)	0,01 мл гепарину на 5 мл крові або 1 краплю – на весь об'єм пробірки	
Натрію гепаринат або калія гепаринат	60 мг гепарината розчиняють в 20 мл бідистильованої води. Використовують 0,1 мл розчину на 2 мл крові	Електроліти (натрій, калій)
Літію гепаринат		Лужна фосфатаза
Амонію гепаринат		Аміак
Цитратно-глюкозна суміш (застосовується для дослідження метаболічних, ферментативних процесів в еритроцитах, а також для визначення активності кислої фосфатази)	4,7г лимонної кислоти, 16г тризаміщеного натрію цитрату, 25г глюкози розчиняють в 1000 мл бідистильованої води. Беруть 1 частину розчину на 4 частини крові.	Електроліти, глюкоза

При проведенні досліджень системи гемостазу використовують пластиковий або силіконований скляний посуд. Для силіконування застосовують силікон (дихлорметилсилан), бажано марки ПМС-500. Його розводять ефіром, розчиняючи 1 частину силікону в 19 частинах діетилового ефіру. Після обробки пробірок, піпеток, голочок і шприців розчином силікону лабораторний посуд 5 – 10

разів обполіскують ефірно-силіконовою сумішшю і сушать 2 – 3 години при температурі 100 – 150⁰С.

При лізисі зосереджених в згустку еритроцитів, ферменти, що знаходяться в них, переходять в сироватку крові. Цим пояснюється, зокрема, вища активність ферментів (лактатдегідрогенази, аланін-, аспартатамінотрансферази, кислої фосфатази, аргінази) в сироватці, ніж у плазмі. Тому для оцінки активності цих ензимів рекомендується використовувати плазму. У всіх інших випадках в біохімічних дослідженнях використовується сироватка крові. Для отримання сироватки антикоагулянт не додають. Доставлені в лабораторію пробірки закривають ватною пробкою і поміщають в термостат для прогрівання при температурі 37⁰С на 10 – 15 хвилин. Потім обережно проводять скляною паличкою по внутрішній стінці пробірки, щоб прискорити отримання сироватки. Кров центрифугують 15 хвилин при 1500 об/хв. на клінічній центрифугі типу ОПН-3. Отриману сироватку переносять в декілька пробірок для виконання окремих досліджень.

Вміст електролітів правильніше визначати в плазмі крові при правильному підборі антикоагулянта. Оскільки концентрація іонів калія в еритроцитах набагато перевищує рівень цього катіона в плазмі крові, вони здатні виходити з еритроцитів навіть через непошкоджену оболонку. Виходячи з цього, визначати рівень калія слід не пізніше чим через 45 хвилин – 1 годину після узяття крові.

Вакуумні системи для забору крові.

Пробірки для забору крові на теперішній час представлені в декількох різновидах, в залежності від призначення. Пробірки вакуумні для забору крові виробляються з особливого пластика, призначеного для медичного обладнання. Закупорюючі кришки також мають свої певні функції – вони підтримують герметичність в пробірках. Окрім цього, вони не допускають безпосереднього контакту з кров'ю, а різнокольорові кришки призначені для полегшення розпізнавання різних видів аналізів.

Вибираючи пробірки (вакуумні) для забору крові, необхідно орієнтуватися на потрібну для аналізу кількість досліджуваної рідини.

Пробірки з активатором згортання

Пробірки з активатором згортання призначені для дослідження сироватки крові. Їх легко відрізнити по забарвленню – зазвичай у них яскраво-червона закупорююча кришка. Активатор згортання забезпечує швидку згортваність крові, після чого можливо виділити сироватку. Пробірки з активатором згортання можуть містити також спеціальний гель (олефіновий) – для чіткого відокремлення сироватки від клітин крові.

Пробірки з ЕДТА

Пробірки з ЕДТА призначені для дослідження плазми або цільної крові. Вони відрізняються забарвленням кришки в бузковий колір. У середині вони покриті

ЕДТА, що не дозволяє крові згортатися. Використовуючи пробірки з ЕДТА, можна достатньо швидко виділити чисту плазму і продовжити її дослідження. Пробірки з ЕДТА можуть, аналогічно попередньому типу містити гель, що відособляє сироватку від інших складових крові.

Пробірки з цитратом натрію

Пробірки з цитратом натрію відрізняються блакитним забарвленням кришки, і використовуються з метою вивчення системи гемостазу. Цитрат натрію дозволяє уповільнити процес згортання крові і провести всі необхідні дослідження. Пробірки з цитратом натрію, для забезпечення підвищеної стабільності факторів згортання, мають подвійні стінки, виготовлені з різного роду пластика. Використовуючи такі пробірки, важливо пам'ятати, що відношення крові до цитрату повинне складати 9:1.

Пробірки з тромбіном

Пробірки з тромбіном використовуються у разі, коли потрібно терміново отримати дані про склад крові, наприклад, в реанімаційній палаті. Пробірки з тромбіном, як і інші пробірки з наповнювачем, містять тромбін, що забезпечує миттєве згортання крові. Це дозволяє вже через декілька хвилин проводити подальші дослідження, що забезпечує максимальну швидкість отримання результату.

Пробірки з інгібіторами гліколізу для діабетології

Пробірки містять антикоагулянт та стабілізатор глюкози. В якості антикоагулянтів використовуються калієва сіль ЕДТА, оксалат калію, гепаринат літію. Внесення інгібіторів гліколізу у вигляді натрію флюориду або моноіодацетату запезбечують стабільний рівень глюкози та лактату до 24 годин.

Вакуумні системи є сучасним методом для забору крові, який використовується в лікувальних установах, і має наступні переваги:

- забір крові відбувається при мінімальних неприємних відчуттях;
- вакуумні системи для забору крові дають можливість зменшити час всього процесу до декількох секунд;
- якщо кров потрібна для декількох аналізів, один раз введена голка при заміні пробірок повністю справляється з процедурою;
- вакуумні системи для забору крові ідеально підходять для обстежуваних з тонкими або глибокими венами;
- вони забезпечують максимальну безпеку як для медичного персоналу, так і для обстежуваних.

- у крові, яка взята з використанням вакуумних систем, значно довше зберігаються стабільними речовини і активність ферментів (див. додаток I).

Способи вираження біохімічних результатів

Більшість біохімічних аналізів є кількісними, хоча якісний і напівкількісний аналізи також мають місце при біохімічних дослідженнях. Багато тестів вимірюють кількість аналізованої речовини в невеликому об'ємі зразків, таких, як кров, плазма, сироватка, сеча або інші рідини і тканини. Результати тестів виражаються найчастіше в молярних одиницях. Молярне вираження концентрації характеризує скільки молекул аналізованої речовини знаходиться в зразку. Молярні одиниці можуть бути переведені в масові одиниці: один моль — це молекулярна маса речовини в грамах.

Результати біохімічних досліджень зазвичай представляються як концентрації речовин — число моль в одному літрі досліджуваної рідини (моль/л). Результати ферментативних досліджень виражаються не в молях, а в одиницях ферментативної активності.

Великі молекули (білки) вимірюються в грамах або міліграмах на одиницю об'єму. Газу крові (P_{CO_2} або PO_2) виражаються в кілопаскалях (кПа)

Трактування результатів

Правильна інтерпретація результатів дослідження можлива тільки при достатньому знанні особливостей біохімічних зрушень при різних станах організму і механізмів виникаючих порушень.

При трактуванні отриманих результатів необхідно враховувати ряд методологічних моментів:

1. Хімічний склад крові і сечі відображають стан обміну речовин організму людини. Переважна більшість захворювань супроводжуються змінами вмісту окремих речовин і іонів в крові і сечі, інших біологічних рідинах. Багатовіковий досвід медицини дозволяє розглядати кров як дзеркало обміну речовин.
2. Вміст кожного окремого біохімічного компонента в крові і сечі відображає діяльність багатьох органів і систем, а також власну функцію даної рідини.
3. Вміст речовин в крові і сечі схильний до ритмічних змін, що відображають періодичні дії зовнішніх і внутрішніх чинників (зміна пори року, місяцю, часу доби і так далі). Це потрібно враховувати при інтерпретації даних.
4. Біохімічний склад крові, сечі, інших біорідин, його зміни під впливом стандартних навантажень можуть мати індивідуальні коливання у окремих людей, що відображають вплив біологічних чинників (гено-і фенотип, вік, стать, добові, місячні, сезонні ритми окремих показників), чинників соціальних (особливості способу життя, харчування, трудової діяльності;

шкідливі звички — куріння, прийом алкоголю) і природних (кліматичні особливості географічних зон — сонячна радіація, коливання температури, вологість навколишнього середовища, вода).

Етапи лабораторного аналізу

Основні поняття і терміни:

Зразок – це біологічний матеріал, узятий у пацієнта з метою лабораторного аналізу. Зразком може бути і цілісна кров, і сироватка, і ліквор, випітна рідина і ін. Матеріал буде зразком до того моменту, поки не почався аналіз.

Проба – частина зразка, яка використовується при вимірюванні.

Етапи лабораторного аналізу

1. Доаналітичний період починається з призначення лікарем лабораторного аналізу, включає узяття матеріалу і закінчується, коли проба надходить до лабораторії. У доаналітичній фазі можна виділити: позалабораторний і внутрішньолабораторний етапи.
2. Лабораторний (аналітичний) період – включає: доприладний, інструментальний і період пов'язаний з видачею результатів. Доприладний період включає: транспортування, розділення, переливання.
3. Післялабораторний період – включає аналітичну фазу, пов'язану з інтерпретацією отриманих результатів (таблиця 2).

Таблиця 2. Характеристика етапів лабораторного діагностичного процесу

[Камишніков В.С., 2009]

Етап	Назва етапу	Перелік основних лабораторних процедур
I	Долабораторний	<ol style="list-style-type: none"> 1. Правильність визначення характеру та об'єму дослідження лікарем-клініцистом 2. Правильність підготовки пацієнта 3. Дотримання умов та технологій забору біоматеріалу 4. Правильний вибір антикоагулянту 5. Правильність маркування біоматеріалу та супровідних документів 6. Своєчасна доставка матеріалу у лабораторію
II	Лабораторний Доаналітичний	<ol style="list-style-type: none"> 1. Дотримання умов зберігання та транспортування

		<p>матеріалу</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. Своєчасне отримання зразків і проб 3. Оцінка якості доставленого зразка 4. Відповідність матеріалу супровідній документації 5. Дотримання умов та технологій отримання проби 6. Чистота та відповідність лабораторного посуду 7. Правильність зберігання проби 8. Відповідність обладнання технічним вимогам
	Аналітичний	<ol style="list-style-type: none"> 1. Контроль правильності калібровочного графіку 2. Контроль результатів вимірювання калібраторів 3. Оцінка вимірювань контрольних матеріалів 4. Оцінка критеріїв Вестгарда 5. Робота в інтервалі $\pm 2S$
	Постаналітичний	<ol style="list-style-type: none"> 1. Правильна інтерпретація отриманих результатів 2. Правильність реєстрації результатів 3. Своєчасність передання результатів лікарю-клініцисту 4. Статистична обробка за методом контрольних карт 5. Аналіз типу помилок
III	Післялабораторний	<ol style="list-style-type: none"> 1. Правильність реєстрації отриманих з лабораторії результатів 2. Робота клініцистів з результатами 3. Адекватність методів використання лабораторної інформації

Фактори варіації доаналітичного етапу лабораторних досліджень

За нормальні величини вважають такі, які характеризують 95% популяцій здорових людей. Існує безліч чинників, що впливають на результати аналізів,

серед них вік, раса, навколишнє середовище, положення тіла, добові і інші циклічні зміни, час узяття проби для аналізу (натщесерце або після їжі), характер їжі, прийом ліків, ступінь фізичної активності і ін.

Нормальні величини можуть варіювати залежно від методу визначення, умов забору і зберігання проб. У кожній лабораторії всі етапи аналізу мають бути суворо регламентовані і стандартизовані для того, щоб результати можна було правильно інтерпретувати та порівнювати дані, отримані у різних біохімічних лабораторіях.

При інтерпретації лабораторних даних слід враховувати стан пацієнта. Низька концентрація речовини, наприклад натрію в сироватці, може бути результатом як його недостатності, так і «розведення». Відхилення від норми можуть бути пов'язані не тільки із специфікою захворювання, але і з прийомом якихось ліків. Так, підвищення сечової кислоти в сироватці може бути обумовлене подагрою, а може бути наслідком прийому хлоротіазиду або протипухлинних препаратів. При оцінці отриманого результату абсолютно необхідно мати перед очима список лікарських препаратів, що впливають на результати даного тесту.

Істотне значення має спосіб отримання матеріалу для дослідження. Неправильно зібрана добова сеча, гемоліз крові, використання неадекватного антикоагулянта, недостатньо чистий посуд, несправний прилад — всі ці чинники можуть служити джерелом помилки при аналізі.

Все вищевикладене дозволяє затверджувати наявність численних факторів, що визначають достовірність лабораторних результатів. Серед них необхідно враховувати як аналітичні, так і до- і післяаналітичні фактори.

Вплив фізіологічних факторів і навколишнього середовища на концентрацію речовин в крові (біологічна варіація)

Дієта. Зазвичай забір крові для аналізу роблять натщесерце після 8—12 годинного голоду, дозволяється пити воду. Якщо забір крові проводиться через 3—4 години після сніданку, отримані результати стандартних тестів відрізняються від величин «натщесерце». Якщо ж кров беруть через 3—4 години після обіду, показники відхиляються в ще більшій мірі.

Дієта і споживання рідини служать основними чинниками, що впливають на більшість показників у клінічній хімії. Ступінь викликаних їжею змін вмісту аналітів залежить від складу їжі і часу, що минув від моменту вживання до взяття проби. Так, на концентрацію холестерину і тригліцеридів в сироватці крові впливають такі чинники, як склад їжі, фізична активність, куріння, вживання алкоголю і кави. Навпаки, при дієті багатій білками і нуклеотидами, спостерігається підвищення рівнів аміаку, сечовини і сечової кислоти. Зміни, що спостерігаються після прийому стандартної кількості вуглеводів (75 г), використовуються в діагностиці при визначенні толерантності до глюкози. З іншого боку, недостатнє харчування і голодування можуть змінювати

концентрації аналітів клінічно значущим чином. Ранніми індикаторами бідної білками дієти є зниження концентрації преальбуміну і ретинол-зв'язуючого білка. Метаболічний ацидоз із зниженням рН і бікарбонату є результатом підвищення органічних кислот, в основному кетонів тіл (ацетооцтової кислоти, β -гідроксималярної кислоти).

Положення тіла. Положення тіла впливає на концентрацію загального білка, альбуміну, креатину, холестерину, тригліцеридів, активність лужної фосфатази, аспартатамінотрансферази і інших компонентів плазми. Вміст цих речовин і активність ферментів значно підвищуються під час переходу хворого у вертикальне положення і, навпаки, зменшуються – в горизонтальному. Максимальна зміна характерна для рівня загального білка, активність ферментів (11%) і вміст кальцію (3 – 4%).

Накладення джгута. Мета накладання джгута полягає в полегшенні пошуку відповідної вени для її пункції. Тривалість застосування джгута не має бути більшою за одну хвилину. Накладення джгута на 3 хвилини замість 1-ої приводить до наступних змін результатів: загальний білок — +5%, залізо — + 6 – 7%, холестерол — +5%; АСТ — +9,3%, білірубін — +8,4%, зниження було відмічене в рівні калія — 6%. Звуження просвіту вени протягом 1 хвилини, з подальшим зняттям джгута не впливає на концентрацію аналітів і на фактори згортання крові.

Циркадні ритми. Деякі аналіти виявляють тенденцію до коливань їх концентрації протягом доби (таблиця 3).

Таблиця 3. *Добові коливання деяких аналітів крові*

[Wisser H., Knoll E., 1982]

Аналіти	Максимум (час доби в годинах)	Мінімум (час доби в годинах)	Амплітуда (у %% від середньої за добу)
Адреналін	9–12	2–5	30–50
Альдостерон	2–4	12–14	60–80
Залізо	14–18	2–4	50–70
Калій	14–16	23–1	5–10
Кортизол	5–8	21–3	180–200
Норадреналін	9–12	2–5	50–120
Пролактин	5–7	10–12	80–100

Ренін	0–6	10–12	120–140
Соматотропін	21–23	1–21	300–400
Тестостерон	2–4	20–24	30–50

Раса. Значні відмінності в активності креатинкінази спостерігаються в обох статевих групах між європейцями і неграми. Ці відмінності не залежать від віку і маси тіла. Істотні відмінності в активності амілази виявлені між корінними жителями Західної Індії і британцями. Значні расові відмінності відмічені відносно концентрації в сироватці крові вітаміну В₁₂ і ліпопротеїнів. У негрів концентрація В₁₂ вище в 1,35 рази, а зміст ліпопротеїнів перевищує в 2 рази в порівнянні з європейцями. Важливо, що при цьому у негроїдної раси не відмічається збільшення частоти розвитку атеросклерозу і смертності.

Вагітність. При неускладненій вагітності в організмі жінки відбувається цілий ряд адаптаційно-приспосувальних процесів, направлених на забезпечення адекватного перебігу гестаційного періоду, зростання і розвиток плоду. Значна перебудова життєдіяльності організму вагітної зв'язана із змінами в системах крові, гемостаза, ендокринною, імунною, біохімічного стану організму. Отже, лабораторні показники вагітних і невагітних жінок різні (див. додаток 2).

Вплив куріння. Куріння викликає безліч гострих і хронічних змін концентрацій аналітів, причому хронічні ефекти більш помірні. Куріння підвищує концентрації в плазмі або сироватці жирних кислот, адреналіну, вільного гліцерину, альдостерону і кортизолу. Ці зміни спостерігаються в межах 1 години при курінні від 1 до 5 сигарет. Зміни, викликані хронічним курінням, стосуються числових значень, таких показників як ліпопротеїни, активність деяких ферментів, гормонів, вітамінів, пухлинних маркерів, важких металів. Механізм, що лежить в основі цих змін, повністю не з'ясований. У тютюновому димі виявлена велика кількість сполук піридину, ціаністий водень і тіоціанати. Їх прямий і непрямий вплив може враховуватися стосовно виникаючих змін концентрації аналітів. Ступінь змін також залежить від кількості, вигляду (сигарети, сигари, трубки) і техніки куріння (з вдиханням диму або без вдихання). Крім того, викликані курінням зміни окремих лабораторних показників визначаються індивідуальними особливостями метаболізму людини.

Алкоголь. Вживання алкоголю залежно від його тривалості і ступеня може впливати на багато показників. Ці зміни частково використовуються для діагностики і терапевтичного моніторингу алкогольного токсикозу. Серед обумовлених алкоголем порушень слід виділяти гостро і хронічно виникаючі зміни. Гостро виникаючі зміни (протягом 2-4 годин) при вживанні етилового спирту виявляються в зниженні вмісту глюкози в сироватці і підвищенні лактату в плазмі в результаті гальмування глюконеогенезу в печінці. Етанол перетворюється на ацетальдегід і потім в ацетат, що посилює утворення в печінці сечової кислоти. Знижується вміст бікарбонатів в сироватці, викликаючи тим самим метаболічний ацидоз. Підвищений рівень лактату знижує екскрецію з

сечею сечової кислоти. Як наслідок, після гострого вживання алкоголю концентрація сечової кислоти в сироватці зростає. Хронічні зміни, що виникають при вживанні етилового спирту виявляються підвищенням в сироватці активності печінкових ферментів. Збільшення активності глутаматдегідрогенази, як і амінотрансфераз (АСТ, АЛТ), є наслідок прямого токсичного впливу на печінку.

Зміна результатів клініко-біохімічних досліджень під впливом діагностичних і лікувальних заходів (ятрогенна варіація)

Певні зміни клініко-біохімічних показників можуть бути пов'язані з фізичним і психологічним впливом при здійсненні різних діагностичних процедур. Так, у осіб з лабільною психікою або з підвищеною чутливістю до болю процедура взяття крові з пальця і особливо з вени може стати достатньо сильним подразником, який веде до істотного підвищення функції симпатoadреналової системи і внаслідок цього – до зростання вмісту в крові адреналіну і глюкози. Тому при вищому, ніж в нормі, вмісті глюкози в крові натщесерце з метою виявлення патології вуглеводного обміну необхідно виключити вплив "процедурного стресу".

У людей з підвищеною чутливістю до зміни звичного середовища на результати лабораторного аналізу можуть впливати та інші діагностичні заходи (рентгенологічні, радіоізотопні, електрокардіографічні дослідження і ін.). Тому до узяття біоматеріалу для лабораторних аналізів інші дослідження, якщо немає термінових показань, не рекомендовано проводити. Істотна і тривала дія на деякі лабораторні показники відмічається в результаті потрапляння в організм рентгеноконтрастних речовин, особливо таких, що містять йод. Після їх введення неможливо встановити дійсні результати йодного обміну (функції щитовидної залози). Рентгеноконтрастні речовини, що видаляються через жовчні шляхи, у зв'язку із здатністю викликати гіпербілірубінемію, спотворюють результати дослідження пігментного обміну.

Певним чином на ряд лабораторних показників впливають і діагностичні процедури, пов'язані з введенням зондів, катетерів і ін. Після процедури дуоденального зондування можуть змінюватися результати визначення панкреатичних ферментів (амілази, ліпази в зв'язку з можливим спазмом сфінктера Одді). Введення сечового катетера часто сприяє підвищенню активності кислої фосфатази в крові і, отже, помилковій діагностиці пухлини передміхурової залози.

Лікарські препарати також можуть істотно впливати на результати клініко-біохімічних тестів, що необхідно враховувати лікареві – клініцистові при направленні хворих на обстеження. Лікарські речовини впливають на лабораторні показники в основному шляхом аналітичної і (або) біологічної інтерференції (див. додаток 3).

Аналітична інтерференція обумовлена фізико-хімічною дією ліків і їх метаболітів на зміну оптичної густини реакційної суміші в процесі проведення аналізу. Наприклад, такі ліки, як хінідин, тетрациклін, допегит, володіють властивістю флюоресценції і тому спотворюють результати флюориметрії катехоламінів в сечі. Рибофлавін і каротин підвищують оптичну щільність розчину при визначенні концентрації білірубіну.

Позитивна динаміка патологічного процесу, що спричинена лікарськими засобами, зазвичай супроводжується змінами відповідних лабораторних показників. Так, ефективне застосування при подагрі етаміду або інших урикозуричних препаратів збільшує виділення сечової кислоти з сечею. Антидіабетичні препарати (манніл і ін.) знижують концентрацію глюкози в крові.

Побічна дія лікарських засобів позначається на лабораторних показниках, побічно пов'язаних з очікуваним ефектом ліків. Сульфаніламід, метилдофа підвищують концентрацію в крові білірубіну. Антибіотики групи цефалоспоринів можуть викликати псевдопозитивну реакцію на глюкозу в сечі, а також прояви дефіциту вітамінів групи В і Д, підвищення протромбінового часу, активності в крові лужної фосфатази і вміст креатиніну.

Історичні аспекти створення правової основи контролю якості лабораторних досліджень

З найпершої появи лабораторного дослідження, результат піддавався ретельному контролю з боку клініцистів, оскільки аналіз зіставлявся з суб'єктивними і об'єктивними даними. Тим самим результат лабораторного дослідження або підтверджував або заперечував передбачуваний діагноз.

Контроль якості лабораторних досліджень був введений у СРСР в 1958 р. інструкцією №1 "Про порядок контролю за якістю серологічних досліджень" (по серології сифілісу). Усесвітня організація охорони здоров'я (ВОЗ) в 1970р. вводить розроблені міжнародні критерії контролю якості лабораторних досліджень (Наказ №960 від 15.10.1974 р. «Про уніфікацію клінічних лабораторних методів»):

- для клініко-біохімічних досліджень;
- для діагностичних матеріалів;
- для лабораторного обладнання;

16.04.1975 р. наказом №380 МОЗ СРСР у всіх лабораторіях запроваджується внутрішній контроль якості біохімічних видів дослідження: «Про стан і перспективи розвитку лабораторної клініко-діагностичної служби в країні» – наказ №545 від 23.04.1985 р. (Проведення внутрішнього контролю якості на всі види лабораторних досліджень (загальна клініка, гематологія, біохімія, імунологія)).

Теоретичні основи контролю якості лабораторних досліджень

Точність вимірювань – якість вимірювань, що відображає близькість їх результатів до дійсного значення вимірюваної величини. Висока точність

вимірювань відповідає малим погрішностям всіх видів, як систематичним, так і випадковим.

Погрішність вимірювання – відхилення результату вимірювання від дійсного значення вимірюваної величини.

Систематична погрішність вимірювання - складова погрішності вимірювання, що залишається постійною або що закономірно змінюється при повторних вимірюваннях однієї і тієї ж величини.

Правильність вимірювань – якість вимірювань, що відображає близькість до нуля систематичних погрішностей в їх результатах.

Випадкова погрішність вимірювання – складова погрішності вимірювання, що змінюється випадковим чином при повторних вимірюваннях однієї і тієї ж величини.

Відтворюваність вимірювань – якість вимірювань, що відображає близькість один до одного результатів вимірювань, які виконуються в однакових умовах.

Міжсерійна відтворюваність – якість вимірювань, що відображає близькість один до одного результатів вимірювань, що виконуються в різних аналітичних серіях.

Загальна відтворюваність – якість вимірювань, що відображає близькість один до одного результатів всіх вимірювань (визначається внутрішньосерійною і міжсерійною відтворюваністю).

Специфічність (селективність) – це здатність методу виявляти лише той компонент, для визначення якого даний метод дослідження призначений. На специфічності аналізу позначається перш за все інтерференція речовин, тобто вплив сторонніх продуктів на хід реакції.

Чутливість – здатність методу визначати найменшу кількість аналіту, яку можна визначити (відрізнити від нуля).

Види контрольних матеріалів.

При внутрішньолабораторному контролі якості використовуються контрольні матеріали промислового виготовлення, допущені в установленому порядку до застосування на території України. Разом з тим, при неможливості придбати контрольні матеріали промислового виготовлення, в лабораторії можуть використовуватися контрольні матеріали, які готуються з невикористаних залишків зразків пацієнтів – сироватки, плазми, сечі.

Контрольні матеріали промислового виробництва випускаються як з дослідженими (встановленими, атестованими), так і недослідженими значеннями контрольованих параметрів. У інструкції (паспорті) до атестованих контрольних матеріалів указуються встановлені значення і, як правило, допустимі діапазони результатів вимірювання, визначені виробником. Контрольні матеріали з

дослідженим змістом використовуються для контролю правильності і відтворюваності результатів лабораторного аналізу, з недослідженим - для контролю відтворюваності.

Для біохімічних, імунохімічних і гормональних досліджень випускаються контрольні матеріали (контрольні сироватки) промислового виробництва, які розділяються на універсальних і спеціальних. Універсальні містять велику кількість компонентів, концентрація або активність яких досліджена в широкому спектрі методів.

Спеціальні контрольні сироватки призначені для контролю якості визначення окремих показників, досліджуваних з певною діагностичною метою, наприклад для діагностики анемії, пошкодження серцевого м'яза.

Сучасні технології автоматизованих клініко-біохімічних досліджень

В більшості ординарних клініко-діагностичних лабораторіях практикується ручний метод аналізу, який базується на безпосередній участі лаборанта в здійсненні всіх основних етапів клініко-лабораторного дослідження: узятті біологічного матеріалу, реагентів, їх змішуванні, інкубації, реєстрації показників приладу, розрахунку концентрації визначуваного показника. При цьому навіть незначні відхилення в умовах проведення аналізу здатні істотно вплинути на кінцевий результат лабораторного дослідження. Останнім часом все частіше вдаються до автоматизації технологічних процедур аналізу при проведенні біохімічних і інших видів досліджень. Стандартизація режимів визначення, що досягається автоматизацією всієї процедури аналізу, підвищує надійність його виконання, причому за короткий період часу і з використанням значно меншого об'єму реагентів і біологічного матеріалу.

Автоматизація біохімічних досліджень в світовій лабораторній практиці розпочалася приблизно з 50-х років минулого століття. Першим поштовхом до її проведення послужило створення фотометрів і спектрофотометрів з контрольованою температурою кювети, оскільки це дозволило реалізувати принцип кінетичного дослідження субстратів, ферментів і інших речовин. Відомі в світі біохімічні аналізатори можуть бути розділені на 3 основних типи:

1. Одноцільові біохімічні аналізатори, за допомогою яких в аналізованій пробі визначається лише один компонент біологічної рідини. До таких можуть бути віднесені, наприклад, аналізатори глюкози «Гексан» і «Глюкоза-2», автоматичний титратор для визначення вмісту кальцію і ін.
2. Аналізатори для визначення споріднених компонентів. Це, наприклад, автоаналізатор амінокислот, принцип дії якого заснований на їх хроматографічному розділенні, автоматичний полум'яний спектрофотометр атомної абсорбції електролітів.
3. Багатоцільові біохімічні автоматичні пристрої, призначені для встановлення вмісту в біологічних рідинах великої кількості різних за хімічною природою компонентів, які в лікувально-профілактичних установах найширше застосовуються для виконання досліджень.

Всім біохімічним аналізаторам властиве програмне забезпечення з використанням сучасної комп'ютерної техніки, здійснення контролю за роботою окремих блоків приладу і контроль якості лабораторних досліджень, а також автоматичні пробопідготовка і дозування.

Основні переваги повністю автоматизованих пристроїв слідуєчі.

1. Економічність (економне витрачання реактивів). Якщо при роботі на звичайних фотометрах (типу ФЕК) потрібно 3 – 4 мл реактиву, то при виконанні досліджень на аналізаторі всього лише 350 – 500 мкл (і менше). Звідси можливість 10-кратної економії реагентів.
2. Використання незначного об'єму аналізованої біологічної рідини (3 – 10 мкл).
3. Висока продуктивність (100 – 800 аналізів в годину).
4. Досить велика завантаженість. Аналізатор повинен експлуатуватися не менше 5 – 6 годин на добу.
5. Гнучкість в роботі. Вона забезпечується можливістю виконання різних режимів визначення: по кінцевій точці, двох- і багатоточковій кінетиці, із застосуванням технології турбідиметрії (імунонефелометрії), іонометрії, поляризаційної флюориметрії і ін.
6. Можливість програмування автоаналізатора під реактиви різних фірм-виробників, так звана «відкрита» система, яка передбачає введення в комп'ютер всіх необхідних параметрів біохімічної реакції і здійснення самостійного програмування. «Відкриті» системи мають велике значення, оскільки вартість одного біохімічного дослідження на 50% визначається використаними реагентами, на 30% - вартістю аналізатора і на 20% - іншими витратами.
7. Застосування невеликих вимірювальних кювет.
8. Системний підхід, який розцінюється як можливість спостерігати сам хід реакції, що дозволяє, зокрема, виявити фазу вичерпання субстрата, кофакторів.
9. Програмне збереження бази даних.
10. Зв'язок з комп'ютерами: багато автоаналізаторів мають вихід на центральний комп'ютер.
11. Можливість виконання екстрених досліджень (постановки так званих цитових проб).
12. Широкі можливості вимірювального модуля. На відміну від звичайних фотоелектроколориметрів, що дозволяють заміряти оптичну щільність розчинів в межах 0,2 – 0,7 Од, сучасні біохімічні аналізатори здатні реєструвати абсорбцію (за умови дотримання закону Бугерта-Ламберта-Бера) в діапазоні до 2,5 Од. Це досягається використанням могутнього джерела опромінення і чутливіших приймачів світла.
Деякі з сучасних аналізаторів оснащені іонселективним блоком, що дозволяє, зокрема, проводити додаткове визначення іонів.
13. Використання неагресивних рідин. Ферментні набори реагентів не містять агресивних рідин та практично не токсичні.

14. Надійність приладу, пов'язана із застосуванням новітніх технологій.

До найбільш поширених сучасних біохімічних автоматичних аналізаторів відносяться: OLYMPUS, Konelab 30, Prestige 24i, DIALAB Autolyser, Vitalit 1000, Hitachi-912 і ін.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Яке значення мають біохімічні методи дослідження?
 - A. Діагностичне
 - B. Критерію ефективності проведеного лікування
 - C. Критерію видужання та реабілітації
 - D. Немає правильної відповіді
 - E. Всі відповіді правильні

2. На яких критеріях повинен ґрунтуватися вибір методу дослідження?
 - A. Аналітичних
 - B. Медичних
 - C. Всі відповіді правильні
 - D. Техніко-економічних
 - E. Немає правильної відповіді

3. Які з перелічених критеріїв відносяться до аналітичних?
 - A. Специфічність
 - B. Відтворюваність
 - C. Чутливість
 - D. Всі відповіді правильні
 - E. Немає правильної відповіді

4. Які фактори впливають на результати лабораторних досліджень?
 - A. Фізіологічні (стать, вік і т.д.)
 - B. Всі відповіді правильні
 - C. Немає правильної відповіді
 - D. Зовнішнє середовище
 - E. Токсичні, терапевтичні

5. Які з перелічених призначень сприяють поліпшенню діагностики та виявленню прихованих форм патологій?
 - A. Призначення обстеження за окремими програмами, в залежності від етапу обстеження та характеру хвороби (диференційно-діагностичні програми) у динаміці
 - B. Призначення одного або двох досліджень
 - C. Призначення ряду досліджень
 - D. Багаторазове призначення одного дослідження
 - E. Всі відповіді правильні

6. Які похибки відмічаються в роботі лабораторії?
- A. Випадкові
 - B. Систематичні
 - C. Грубі
 - D. Всі відповіді правильні
 - E. Немає правильної відповіді
7. Сучасні уявлення про клінічну біохімію:
- A. Наука про значення лабораторних показників у діагностиці захворювань
 - B. Медична наукова дисципліна, що вивчає закономірність взаємозв'язків між фізіологічним і патологічними станами, клітинним і хімічним складом біологічних рідин для виявлення відхилень від норми, встановлення діагнозу і контролю за лікуванням
 - C. Всі відповіді правильні
 - D. Наука про значення лабораторних показників у нормі та при патологічних процесах, діагностиці, лікуванні і прогнозуванні захворювань
 - E. Немає правильної відповіді
8. Що лежить в основі змін лабораторних показників?
- A. Стан органів і систем організму людини, глибина ураження органів і клітин на момент дослідження
 - B. Зміни в органах при захворюванні
 - C. Зміни в біологічних рідинах, що досліджуються
 - D. Немає правильної відповіді
 - E. Всі відповіді правильні
9. Що таке контроль якості лабораторних досліджень?
- A. Перевірка роботи співробітників лабораторії
 - B. Система заходів кількісної оцінки точності, відтворюваності, правильності досліджень, систематичне виявлення та усунення причин виявлених похибок
 - C. Порівняння результатів досліджень
 - D. Кількісна оцінка точності
 - E. Немає правильної відповіді
10. Які методи дослідження повинні використовуватися в КДЛ?
- A. Стандартизовані
 - B. Уніфіковані
 - C. Рутинні
 - D. Всі відповіді правильні
 - E. Немає правильної відповіді

11. Які задачі клінічної біохімії?
- A. Розробка специфічних методів дослідження хімічного складу біологічних рідин
 - B. Вивчення закономірностей міжіндивідуальних коливань хімічного складу біологічних рідин організму
 - C. Встановлення діагностичної цінності лабораторних тестів та їхніх комбінацій
 - D. Розробка наборів біохімічних тестів для диференційної діагностики і контролю за лікуванням
 - E. Всі перелічені
12. Якими параметрами визначається якість виконання біохімічних аналізів?
- A. Особливостями застосовуваного методу і технічної досконалості апаратури
 - B. Кваліфікацією лаборантів
 - C. Чистотою реактивів і точністю мірного посуду
 - D. Всі перелічен
 - E. Немає правильної відповіді
13. Які з перелічених факторів впливають на результати біохімічних досліджень?
- A. Час забору біологічного матеріалу для дослідження
 - B. Всі відповіді правильні
 - C. Вплив діагностичних процедур і лікарських засобів
 - D. Консервація, збереження і доставка біоматеріалу в лабораторію
 - E. Немає правильної відповіді
14. Які зміни біохімічних показників крові викликає тривале стиснення судин джгутом при взятті крові з вен?
- A. Зниження PCO_2 , рН, концентрації глюкози
 - B. Підвищення PCO_2 , концентрації молочної, піровиноградної кислот, аміаку, кальцію
 - C. Всі відповіді правильні
 - D. Активація системи згортання крові і фібринолізу
 - E. Немає правильної відповіді
15. Які чинники сприяють виникненню гемолізу при заборі крові для біохімічного дослідження?
- A. Погано висушений посуд, вологі шприци
 - B. Видалення крові зі шприца через голку з малим діаметром з великою швидкістю і під тиском
 - C. Центрифугування крові на великих швидкостях і з різким переключенням кількості обертів
 - D. Всі відповіді правильні
 - E. Немає правильної відповіді

16. Які причини внутрішньо-лабораторних помилок?
- A. Неправильний вибір методу , недотримання правил лабораторної техніки
 - B. Низька кваліфікація персоналу, недбалість у роботі
 - C. Недотримання правил побудови калібрувального графіка
 - D. Низька якість мірного посуду, реактивів
 - E. Все перелічене
17. Чи змінюється рівень біохімічних показників у крові залежно від положення тіла до і під час забору крові?
- A. У лежачому положенні концентрація речовин нижча, ніж у стоячому
 - B. Не змінюється
 - C. Концентрація речовин у лежачому положенні підвищується
 - D. Всі відповіді правильні
 - E. Немає правильної відповіді
18. У які години доби найбільш стабільні та достовірні біохімічні показники в крові?
- A. У нічний час
 - B. 8-9 годин ранку
 - C. У вечірній час
 - D. Опівдні
 - E. Немає правильної відповіді
19. Що включає контроль якості лабораторних досліджень?
- A. Збіжність вимірів
 - B. Відтворюваність вимірів
 - C. Правильність вимірів
 - D. Точність вимірів
 - E. Все перелічене
20. Назвіть контрольні матеріали для проведення контролю якості лабораторних досліджень
- A. Ліофілізована сироватка людини чи коней з дослідженим і недослідженим вмістом компонентів
 - B. Злита сироватка людини
 - C. Водні розчини стандартів
 - D. Всі відповіді правильні
 - E. Немає правильної відповіді

Стабільність основних лабораторних показників за умови зберігання у вакуумних пробірках

Аналіт	Стабільність у крові при 20 – 25 ⁰ С	Стабільність в сироватці/плазмі			Стабілізатор	Коментарі
		– 20 ⁰ С	+ 4 – 20 +8 ⁰ С	– 25 ⁰ С		
Альбумін	6 днів	3міс	3міс	3 тиж		
α-амілаза загальна панкреатична	4 дні	1рік	7 днів	7 днів		
	4 дні	1рік	7 днів	7 днів		
Білок загальний	1 день	більше року	4 дні	6 днів		Плазма > сироватка (фібриноген)
Білкові фракції (електрофорез)	1 день	3 тижні	3 дні	1 день		
Білірубін загальний прямий	7 днів в темному місці	6 міс 6 міс	7 днів 7 днів	2 дні 2 дні	Темнота потрібна при зберіганні більше 8 годин	
Гаптоглобін	Нестабільний	3 міс	3 дні	4 дні		
HbA1c (глікозований гемоглобін)	3 дні (ЕДТА-кров)	6 міс	7 днів	3 дні		
Глюкоза крові	10 хв	1 день	7 днів	1 день	Фторид, моноіодацетат, манноза	Втрачається через неферментативний гліколіз
	7 днів з інгібітором	Стабільна	Стабільна	Стабільна		

	гліколізу					
γ-глутаміл-трансфераза (ГГТ)	1 день	Декілька років	7 днів	7 днів		
Вітамін В ₆ (піридоксаль-фосфат)	Нестабільний, використовувати ЕДТА-плазму	3 дні	3 год	30 хв	ЕДТА-плазма темнота	Світло
Вітамін В ₁₂	Нестабільний використовувати ЕДТА-плазму	8 тиж	4 год	15 хв	ЕДТА-плазма темнота	світло
Вітамін С	3 години (+4 ⁰ С)	3 тиж	3 год	-	Метафосфат 63 мг/мл	
Вітамін Е (Токоферол)	8 годин	1 рік	4 тиж	-		
Залізо	2 годин	2 роки	3 тиж	7 днів		Впливають цитрат оксалат, ЕДТА
Імуноглобулін						
IgA	-	6 міс	3 міс	3 міс		
IgD	-	6 міс	7 днів	7 днів		
IgE	-	6 міс	7 днів	7 днів		
IgG	-	6 міс	3 міс	3 міс		
IgM	-	6 міс	3 міс	7 днів		
Інсулін	1 годин	6 міс	1 день	4 год		
Калій	1 годин	1 рік	1 тиж	1 тиж		Сироватка > плазма

Кальцій: Загальний Іонізований	2 дні 15 хв	8 міс	3 тиж 2 год	7 днів	Використовуйте відтитрований по Са-гепарин. Щільно закрити	Са іонізовані рН-залежний, рекомендується використовувати тільки цільну кров
Кисла фосфатаза, простатична	1 година нестабільна	1 день без стабілізатора 4 міс зі стабілізатором	8 год із стабілізатором	2 год без стабілізатора 8 днів рН 4-5	5 мг NaHSO ₄ /мл сиров. або 20 мкл 10% оцетової к-ти/мл сироватки	Сироватка > плазма Стабілізатор додавати після відділення сироватки
С3 компонент комплементу	1 година	8 днів	8 днів	4 дні		
С4 компонент комплементу	1 година	-	2 дні	2 дні		
Кортизол	7 днів	3 міс	7 днів	7 днів		
Креатинкіназа КК-МВ	7 днів 7 днів	4 тиж 4 тиж	7 днів 7 днів	2 дні 2 дні	Темрява SH-реагент	КК-ВВ нестабільна
Креатинін	3 дні	3 міс	7 днів	7 днів		
Молочна кислота (лактат)	< 5 хв, нестабільна, рекомендується депротейнізація, інгібітори гліколізу	-	3 дні	3 дні	Маннозафторид, оксалат, йодоацетат	
Лактатдегідрогеназа (ЛДГ)	1 година	4 тиж	4 дні			Для всіх ізоферментів; сироватка

						ватка плазма	>
Магній	1 день	1 рік	7 днів	7 днів			
Міоглобін	1 година	3 міс	1 день	2 год.			
Сечовина	1 день	1 день	7 днів	7 днів			
Сечова кислота	7 днів	6 міс	7 днів	3 дні			
Натрій	4 дні	1 рік	2 тиж.	2 тиж.			
Нейрон-специфічна енолаза (НСЕ)	2 години (гепарин)	3 міс	3 дні	-	Гепарин	Сироватка > плазма	
Осмолярність	-	3 міс	1 день	3 год			
Прогестерон	7 днів	1 рік	3 дні	1 день			
Пролактин	2 дні	1 рік	3 дні	1 день		Без ЕДТА, цитрату	
Простатичний специфічний антиген (ПСА)	1 день	3 міс	2 дні	1 день			
С-реактивний білок	-	3 роки	8 днів	3 дні			
СА 125	-	3 міс	5 днів	3 дні			
СА 15-3	-	3 міс	5 днів	-			
СА 19-9	-	3 міс	5 днів	-			
СА 72-4	-	3 міс	7 днів	-			
Соматотропін (СТГ)	1 день	3 міс	8 днів	1 день		Відокремлювати сироватку - негайно	
Тестотестерон	7 днів у жінок - 1	1 рік	3 дні	1 день			

	день					
Тиреоглобулін	7 днів	4 тиж	5 днів	5 днів		
Тиреотропний гормон (ТТГ)	7 днів	3 міс	3 дні	1 день		
Тироксин (Т4)	7 днів	4 тиж	7 днів	2 дні		
Тироксин вільний (fT4)	-	3 міс	8 днів	2 дні		
Трансамінази	4 дні	2 тиж	7 днів	3 дні		
Трансферин	-	6 міс	8 днів	8 днів		
Трийодтиронін (Т3)	-	3 міс	8 днів	2 дні		
Трийодтиронін вільний (fT3)	-	3 міс	2 тиж	3 дні		
Тропонін Т	-	3 міс	1 день	-		
Ферритин	-	1 рік	7 днів	7 днів		
α-Фетопротеин	-	3 міс	3 дні	3 дні		
Фосфат неорг.	1 година	1 рік	4 дні	1 день		
Фруктозамін	12 годин	2 міс	2 тиж	3 дні		
Хлориди	1 день	1 рік	7 днів	7 днів		
Холестерин						
ЛПНЩ	1 день		7 днів	1 день		
ЛПВЩ	2 дні	3 міс	7 днів	2 дні		
Загальний	7 днів		7 днів	7 днів		
Холінестераза	7 днів	3 міс	7 днів	7 днів		
Церулоплазмін	-	3 міс	2 тиж	2 тиж		
Лужна фосфатаза загальна						
кісткова	4 дні	2 міс	7 днів	7 днів		
	4 дні	2 міс	7 днів	7 днів		

Естрадіол	1 день	1 рік	3 дні	1 день		
Етанол	2 тижні	-	6 міс	2 нед	ЕДТА /гепарин	Закривати пробірку

Додаток №2

Біохімічні показники крові під час вагітності

Показники	Жінки (невагітні)	Вагітні жінки, 2-3 триместр
<i>Білки плазми крові</i>		
Загальний білок, г/л	60-85	N або понижений
Альбумін, г/л	35-50	28-40
С-реактивний білок, мг/л	до 6	до 6
Тимолова проба, Од.	0 – 4	0 – 4
<i>Вуглеводи</i>		
Глюкоза, ммоль/л:		
сироватка венозної крові	4,1 – 6,1	3,8 – 5,7
капілярна кров	3,5 – 5,2	3,3 – 5,0
<i>Азотисті компоненти</i>		
Сечовина, ммоль/л	3,3 – 8,3	2,8 – 7,1
Креатинін, мкмоль/л	53 – 97	39,8 – 72,8
Сечова кислота, ммоль/л	0,16 – 0,4	0,12 – 0,28
<i>Електроліти</i>		
Натрій, ммоль/л	136 – 145	підвищується
Калій, ммоль/л	3,5 – 5,1	4,55 – 6,63
Хлориди, ммоль/л	97 – 108	97 – 108
Кальцій, ммоль/л	2,2 – 2,6	2,0 – 2,4

Магній, ммоль/л	0,66 – 0,99	знижується
Залізо, мкмоль/л	10,22 – 22,0	4,61 – 20,24
Залізовв'язуюча здатність, мкмоль/л	44,8 – 76,1	підвищується
Сироватковий ферритин, нг/мл	28,3 – 97,7	7 – 36,8
<i>Ферменти</i>		
Аланінамінотрансфераза (АЛТ), Од/л (мкмоль/с•л)	7 – 35 (0,12 – 0,6)	
Аспартатамінотрансфераза (АСТ), Ед/л (мкмоль/с•л)	10 – 20 (0,17 – 0,34)	
Амілаза, мг/ с. л сироватка	3,3-8,9 (до 19 тиж.) до 44 (після 19 тиж.)	
Лужна фосфатаза (ЛФ), Од/л (нмоль/с•л)	70 – 260 (278-830)	підвищується не більше ніж в 2 рази
<i>Ліпіди</i>		
Холестерин, ммоль/л		
15-19 років	3,08-5,18	підвищується
20-24 років	3,16-5,59	не більш
25-29 років	3,32-5,75	ніж в 2 рази
30-34 років	3,37-5,96	
35-39 років	3,63-6,27	
40-44 років	3,91-6,94	
Тригліцеріди (ТГ), ммоль/л		
15 – 24 років	0,41 – 1,48	
25 – 29 років	0,42 – 1,63	поступово підвищується

30 – 34 років	0,44 – 1,70	
35 – 39 років	0,45 – 1,99	
40 – 44 років	0,51 – 2,16	
<i>Система гемостазу</i>		
Тромбоцити, 10^9 /л	140–400	140–400
Фібриноген, г/л	2 – 4	2,6 – 5,6
Протромбіновий індекс % (МНО – міжнародне нормалізоване відношення)	80–110 (0,8 – 1,2)	85–115 (0,8 – 1,2)
АЧТВ, сек.	28 – 38	28 – 38
Розчинні фібрин- мономерні комплекси мг/100 мл.	3,38 – 4,0	до 5,1

Додаток 3

Вплив лікарських препаратів на лабораторні показники

Лабораторні показники	Підвищують результати досліджень	Знижують результати досліджень
Аланін-амінотрансфераза (АЛТ)	Бромокриптин. Каптоприл. Цефалоспорини. Кларитроміцин. Кліндаміцин. Клофібрат. Клотримазол. Циклоспорін. Цитарабін. Дакарбазін. Діданозін. Дизопірамід. Энфлюран. Етамбутол. Фенофібрат. Фторхінолони. Фоскарнет. Ганцикловір. Гепарин. Інтерферон. Інтерлейкін-2. Лабеталол. Левамизол. Леводопа. Лінкоміцин. Мебендазол. Мефлокін. Метопролол. Ніфедипін. Омепразол. Онданстерон. Пеніцилліни. Пентаміндін. Піндолол. Піроксикам. Пропоксифен. Протріптілін. Хінін. Ранітідін. Ретинол. Ритодрин.	Саліцилати.

	Сарграмостім. Стрептозоцин. Сульфонілсечовина. Тіотіксен. Тіогуанін. Триметоприм. Верапаміл. Зальцитабін. Зімелідін. Агенти анаболізму. Андрогени. Гентаміцина сульфат. Допегит. Альдомет. Метилдофа. Тубазид. Індометацин. Інфекундин. Ліпамід. Місклерон. Клофібрейт. Лінкоміцин. Тріацетілолеандоміцин. Феназину похідні. Циклосерин. Еритроміцин. Алкоголь. Тетрациклін. Фенацитін. Парацетамол. Сульфат заліза, 6-меркаптопурин. Сульфаніламід. Гепатотоксичні препарати. Препарати, що викликають холестаза. Ацебуталол. Аміноглікозиди. Азітроміцин	
α -амілаза	Бетанехол. Діфеноксилат. Секретин. Кортизон. АКТГ. Наркотичні анальгетики (морфін, пантопон, опій)	Цитрат. Оксалат. Стероїди анаболізму
Аспартатаміно- трансфераза (АСТ)	Ацебуталол. Аміноглютемід. Аміноглікозиди. Азітроміцин. Бромокриптин. Каптопріл. Карбоплатін. Кармустин. Цефалоспорини. Циклоспорін. Кліндаміцин. Клофібрат. Клотримазол. Цитарабін. Дакарбазін. Дапсон. Діданозін. Дизопірамід. Енфлюран. Етакрінова кислота. Етамбутол. Етопозид. Фенофібрат. Фторхинолони. Ганцикловір. Гепарин. Ловастатін. Симвастатін. Ідарубіцин. Інтерферон. Ізотретіноїн. Лабеталол. Левамизол. Леводопа. Лінкоміцин. Мебендазол. Мефлокин. Метопролол. Мексилетін. Ніфедипін. Омепразол. Пеніцилліни. Пентамідін. Піроксикам. Пропоксифен. Протріптілін. Піридоксин. Ранітідін. Ритодрин. Сарграмостін. Стрептозоцин. Сульфонілсечовина. Тіотіксен. Тіабендазол. Тіогуанін. Тіклопідін. Тобраміцин. Третіноїн. Верапаміл. Зальцитабін. Агенти анаболізму. Андрогени. Гентаміцина сульфат. Допегит. Тубазид. Ізоніазид. Індометацин. Метиндол. Клофібрейт. Місклерон. Лінкодин. Невіграмон оксациліну натрієвая сіль. Октадин. Изобарин. Санотензин. Фенотіазіна похідні. Еритроміцин. Колхамін. Лінкоміцин. Алкоголь. Тетрациклін. Фенацитін.	Саліцилати \pm Аскорбінова кислота. Ціанід. Формальдегід. Глютарат. Ізоніазид. Лейцин. Меркурохром. Метронідазол. Пеніциламін.

	Парацетамол. Сульфат заліза. Сульфаніламід. Морфін. Пантопон. Опій.	
Альбумін	Прогестерон.	Алопуринол. Аспарагіназа Азатиоприн. Хлорпропа- міддисплатін. Дапсон. Декстран. Естроген. Іпуброфен. Ізоніазид. Пероральні контрацепти ви. Фенітоїн. Преднізолон. Сарграмостім. Вальпроевая кислота
Білірубін	Анаболічні агенти. Андрогени. Вітамін К. Допегіт. Альдомет. Метилдофа. Індометацин. Індоцит. Метиндол. Каротин, Меркаптопурин. Лепурін. Меркалейкин, Новобіоцин. Оксацилін. Піразинамід. Сульфаніламід. Тетрациклін. Олеандоміцин. Трифлуперидол. Фенатіазіна похідні. Еритроміцин. Фурадонін. Алкоголь.	Білок. Кофеїн. Сечовина
Глюкоза	АКТГ. Адреналін. Діфенін. Дифедан. Індометацин. Метіндол. Тубазид. Ізоніазид. Інфекундин. Кортикостероїди. Триоксазин. Фуросемід. Допамін. Естроген. Фруктоза. Глюкагон. Карбонат літію. Морфін. Нікотинова кислота. Октреотід. Пероральні контрацептиви. Теофілін.	Ацетамінофен β-блокатори. Стероїди анаболізму. Антигістамін- ні препарати. Безафібрат. Каптопріл. Ципротерон. Дизопірамід. Інсуліну препарати. Калія хлорид. Паргилін. Саліцилати.

		Фосфору препарати. Хлорпропамід Уретит. Етанол. Гуанетидін. Інгібітори МАО. Спіронолак- тон. Тромета- мін.
Залізо	Декстран заліза. Метициліну натрієва сіль. Левоміцетин. Естроген. Хлорамфенікол. Етанол. Пероральні контрацептиви. Метотрексат.	Алопуринол. Стероїди анаболізму. Адреналін. Кортизон, Кортикотро- пін. Кислота ацетилсаліцил ова. Метфо- рмін.
Жовчні кислоти	Циклоспорін. Ізоніазид. Метотрексат. Ріфампін.	Холестірамін.
Калій	Білок. Заліза препарати. Тубазид. Кальцій. Мідь. Метициліну натрієва сіль. Сечовина ±. Спіронолактон. Тріамтерен. Дігосин. Гепарин. Амінокапронова кислота. Інгібітори АПФ. Циклоспорін.	Адреналін Амонія хлорид. Амфотерицин Глюкоза. Фонурит. Діуретики. Лазикс. Фуросемід. Урегид Кортикосте- роїди. Саліцилати. Послаблюючі. Сульфати. Тетацин- кальцію. Фосфати. АКТГ
Кальцій	Гормони анаболізму. Андрогени. Вітамін Д. Калій. Кальцію сіль. Мідь. Натрій.	Гепарин. Заліза

	Прогестерон. Паратиреоїдин. Тіазіда похідні. Естроген.	препарати ±. Інсулін. Магній. Метицилліна натрієва сіль. Мідь. Послаблюючі. Сульфати. Тетрациклін кальцію. Фториди. ЕДТА
Креатинін	Амфотерицин В. Аскорбінова кислота. Білок. Глюкоза. Допегіт. Метилдофа. Бромсульфалеїн. Клофібрейт. Канаміцин. Левулеза. Манітол. Метициліну натрієва сіль.	Флоріміцина сульфат.
Лактатдегідроген аза (ЛДГ)	Ацебутолол. Анестетики. Азоцилін. Цефалоспоріни. Дикумарол. Етанол. Філгастрім. Флюорурацил. Гепарин. Іміпрамін. Інтерферон. Ізотретіноїн. Кетоконазол. Лабеталол. Метотрексат. Метопролол. Нітрофурантоїн. НПЗП. Пеніциламін. Піперацілін. Плікаміцин. Пропоксифен. Хінідин. Сулфонаміди. Тікарцилін. Третінат. Вальпроєва кислота. Тріамтерен (при флуорометрії). Кодеїн. Клофібрейт. Отромидин. Ліпамід.	Оксалати. Амікан. Метронідазол. Кетопрофен. Клофібрат.
Сечова кислота	Вінкристин. Фонурит. Діакарб. Допегіт. Меркаптопурин. Леупурин. Метициліну натрієва сіль. Мієлосан. Новембіхен.	Алопуринол. Антуран. Піперазину сполуки. Саліцилати. Тіазиду похідні. Урегіт
Натрій	Агенти анаболізму. Білок. Бутадіон. Допегіт. Заліза препарати. Кальцій. Кортикостероїди. Мідь. Раувольфія. Алколоїди. Сульфати. АКТГ.	Гепарин. Глюкоза. Манітол, Сечовина. Ртутні діуретики. Послаблюючі. Тіазіда

		похідні. Урегіт.
Загальний білок	Стероїди анаболізму. Андрогени. Клофібрат. Кортикостероїди. Кортикотропін. Адреналін. Інсулін. Прогестерон. Препарати щитовидної залози.	Амінофеназон Алопуринол. Естроген.
Фосфор неорганічний	Гепарин. Метициліну натрієва сіль. Пітуїтрин. Тетрациклін.	Адреналін. Алюмінію гідроокис. Вітамін Д. Інсулін. Манітол. Паратиреоїдин
Хлориди	Амонія хлорид. Білок. Борна кислота. Бутадіон. Діакарб. Стероїди.	АКТГ. Броміди. Фенілбутазол. Ртутні діуретики. Тіазіда похідні. Тріамтерен Урегіт.
Холестерин	Агенти анаболізму. Андрогени. Білок. Броміди. Вітамін А.	АКТГ. Гепарин. Галофен. Кортизону ацетат. Нікотинова кислота. Тиреоїдин.
Лужна фосфатаза	Агенти анаболізму. Алопуринол. Андрогени. Індометацин. Колхамін. Лінкоміцин. Нікотинова кислота. Папаверин. Тетрациклін. Еритроміцин. Фенацитин. Парацетамол. Сульфат заліза. Сульфаніламід.	Індерал. Анапрілін

ОСНОВИ КЛІНІЧНОЇ ЕНЗИМОДІАГНОСТИКИ

Досягнення ензимології знаходять усе більше застосування в медицині, зокрема в профілактиці, діагностиці й лікуванні хвороб. Успішно розвивається новий напрямок ензимології - медична ензимологія, яка має свої цілі та завдання, специфічні методологічні підходи й методи дослідження. Одним з найбільш важливих досягнень сучасної медицини є широке використання ферментів у клінічних лабораторіях усього світу.

Виділяють три головні напрямки розвитку медичної ензимології: ензимопатологія, ензимодіагностика та ензимотерапія.

I. Ензимопатологія

Область досліджень ензимопатології є теоретичною, фундаментальною частиною патології. Вона вивчає молекулярні основи розвитку патологічних процесів, причиною яких є порушення механізмів регуляції активності або синтезу індивідуального ферменту або групи ферментів. Завдяки досягненням біохімічної генетики встановлено, що молекулярною основою вроджених порушень метаболізму можуть бути дефекти ферментів, обумовлені мутаціями генів, відповідальних за синтез певних ферментних білків. Для ряду захворювань встановлено, що розвиток хвороби може бути спричинений спадковою недостатністю або повною відсутністю синтезу одного єдиного ферменту в організмі хворого. Такі хвороби називають ензимопатіями.

Ензимопатії поділяються на:

- **уроджені порушення метаболізму простих і складних вуглеводів:** глікогенози: хвороба Гірке (глюкоза-6-фосфатаза), хвороба Помпе (кисла мальтаза), хвороба Корі й Форбса (1-6-глюкозидаза), мукополісахаридози (лізосомальна гідролаза глікозаміногліканів), есенціальна фруктозурія (фруктокіназа), непереносимість лактози (лактаза), галактоземія;

Так, галактоземія - спадкове захворювання, при якому спостерігається ненормально висока концентрація галактози в крові. Хвороба розвивається в результаті спадкового дефекту синтезу ферменту гексозо-1-фосфат-уридилтрансферази, що каталізує перетворення галактози в глюкозу, яка легко метаболізується.

- **уроджені порушення метаболізму сфінголіпідів** - сфінголіпідози: хвороба Німана-Піка (сфінгомієліназа); хвороба Фабрі (α -галактозидаза);

- уроджені порушення метаболізму амінокислот: фенілкетонурія (фенілаланінгідроксилаза), алкаптонурия (оксидаза гомогентизинової кислоти), тирозинемія, гомоцистинурія;

Причиною спадкового захворювання - фенілкетонурії, що супроводжується розладом психічної діяльності, є втрата клітками печінки здатності синтезувати фермент, що каталізує перетворення фенілаланіну на тирозин. У результаті виникає недостатність тирозину і цілого ряду специфічних продуктів, що є похідними тирозину, а також

накопичуються в організмі хворих фенілпіруват та фенілацетат. Концентрація фенілаланіну в крові хворих також зростає суттєво (в десятки разів).

- *уроджені порушення метаболізму порфіринів*: порфірії (уропорфіриногенсинтетаза, ферохелатаза та інш.);

- *уроджені порушення метаболізму пуринів та піримідинів*: синдром Леша-Ніхана (гіпоксантингуанінфосфорибозилтрансфераза); оротацидурія (біфункціональний фермент з оротатфосфорибозилтрансферазою та оротидин-5'-монофосфат декарбоксилазою активностями).

У теперішній час відомо близько 150 спадкових ензимопатій. У вигляді спадкової патології ензимопатії іноді проявляють себе лише в певних фізіологічних умовах. Наслідки дефекту на рівні організму залежать від ролі заблокованого шляху в обміні речовин, наявності альтернативних шляхів, рівня залишкової активності ферменту, токсичності метаболіту, що накопичується внаслідок блокади метаболічного процесу. В окремих випадках ензимодефект призводить лише до зниження адаптивних можливостей організму й служить причиною схильності до захворювання.

Ензимопатологія успішно вирішує також проблеми патогенезу соматичних хвороб. Ведуться роботи зі з'ясування молекулярних основ атеросклерозу, злоякісного росту, ревматоїдних артритів тощо. Існування даного напрямку обумовлене усвідомленням величезної ролі ферментних систем або навіть окремих ферментів, порушення регуляції активності й синтезу яких може привести до формування або розвитку патологічного процесу.

Зміна активності ферментів при патологічних станах зумовлена механізмами, специфічно зв'язаними з самим процесом та з загальними реакціями, які виникають при різних патологіях, тому активність одних і тих же ферментів може змінюватись при різних захворюваннях і ні один з досліджуваних на сьогоднішній день ферментів не є абсолютно специфічним для якої-небудь з них. При дослідженні ферментів для діагностики орієнтуються не тільки на зміну активності того чи іншого фермента, а також на ступінь, тривалість зміни, співвідношення з іншими ферментами та біохімічними показниками в сукупності з клінічною картиною хвороби в цілому.

II. Ензимодіагностика

Другий напрямок медичної ензимології - ензимодіагностика. Діагностична ензимологія може бути основою не тільки для постановки правильного й своєчасного діагнозу хвороби, але й для перевірки ефективності застосовуваного методу лікування.

Розвиток діагностичної ензимології переважно йде за двома перспективними напрямками медичної ензимології:

- 1) використання ферментів у клініко-діагностичних лабораторіях у якості реагентів для визначення концентрації речовин у біологічних рідинах;
- 2) аналіз кінетики появи й зникнення ферментів у крові і т.п.

Ензимодіагностика встановлює закономірності зміни активності ферментів при різних патологічних процесах (неспадкового характеру):

1) вивчені до цього часу ферменти можуть бути використані для діагностики без виявлення їх специфічності для якої-небудь певної хвороби на основі сукупності показників активності ферментів в зв'язаних порівняних умовах;

2) зміна активності ферментів пов'язана з фазністю хвороби (гострота ураження, репараційні процеси), тому важливим є паралельне виявлення активності ферментів, що відображають ланки патологічного процесу;

3) при патологічних процесах з переважним ураженням певних органів та систем спостерігається зміна активності ферментів, специфічних для відповідних органів. Надійну інформацію дає дослідження органоспецифічних ферментів та ізоферментів, а для судження про залучення до процесу різних субклітинних структур – органелоспецифічних;

4) ступінь зміни активності ферментів у біосубстратах при патологічному процесі, окрім основної патології, обумовлюється супутніми захворюваннями, тяжкістю, тривалістю основної та супутньої хвороби на момент огляду хворого, віком, характером харчування, терапії;

5) виявлена у біосубстратах активність ферментів залежить від точності використаної методики та методичних прийомів визначення активності, власне, для ряду ферментів показано розведення сироватки з метою виявлення максимальної активності.

Тобто, основним принципом ферментної діагностики є визначення активності деяких ферментів в поєднанні з іншими біохімічними показниками. Раціональна ферментодіагностика базується на знаннях механізмів зміни активності ферментів при різних патологічних процесах, властивостей і структурної організації ферментів, у зв'язку з чим вивчення їх є найважливішою задачею ферментології.

2.1. Використання ферментів у клініко-діагностичних лабораторіях у якості реагентів

Отже, перший напрямок - використання ферментів як селективних реагентів для відкриття й кількісного визначення нормальних або аномальних хімічних речовин у сироватці крові, сечі, шлунковому соку тощо (наприклад, визначення концентрації глюкози, білка за допомогою ферментів).

Переваги ферментативних методів дослідження:

- висока точність;
- специфічність;
- чутливість;
- простота проведення аналізу;
- значне скорочення часу дослідження;
- часто, відсутність необхідності побудови калібрувальних графіків

Перспектива розвитку даного напрямку - спрощення й раціональна модифікація методів, які вже випробувані та застосовуються, уніфікація аналітичних методів виявлення компонентів.

За останні роки точність, відтворення та чутливість методів дослідження ферментів значно підвищились, завдяки їх оптимізації, тобто проведення досліджень в оптимальних умовах, згідно з вимогами Номенклатурної комісії Міжнародного товариства біохіміків:

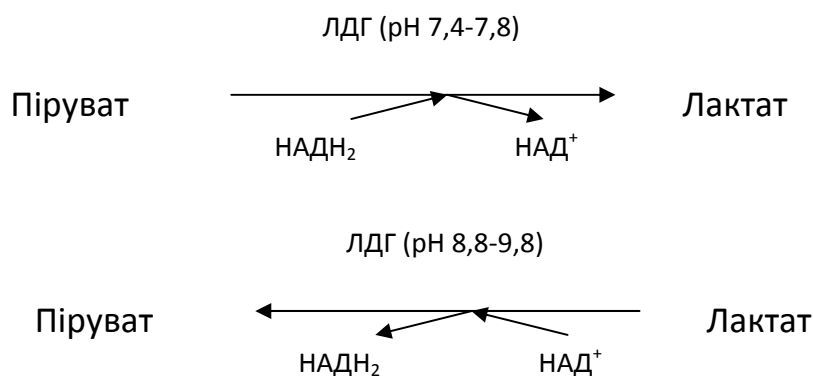
- 1) концентрація субстрату повинна бути в 10 разів більша за величину K_m ;
- 2) про активність ферментів судять на підставі початкових швидкостей реакцій, які каталізуються цими ферментами;
- 3) вживання активаторів. Останні особливо корисні при дослідженні малоактивних та лабільних ферментів, таких як креатинкіназа. В присутності сульфгідридних сполук (цистеїн, дитіотрейтол) активність креатинкінази збільшується в кілька десятків разів;
- 4) дослідження ферментів при оптимальному рН, що підтримується буферами високої потужності і автоматами (рН – стататами);
- 5) дослідження ферментів при оптимальній температурі (частіше $25^{\circ}C$), яка підтримується термостатами високої точності (при відхиленні на 1 градус від вказаної температури помилка визначення - 10%);

У якості прикладу розв'язання завдання раціональної модифікації та уніфікації аналітичних методів виявлення компонентів. можна привести широке використання наступних методів:

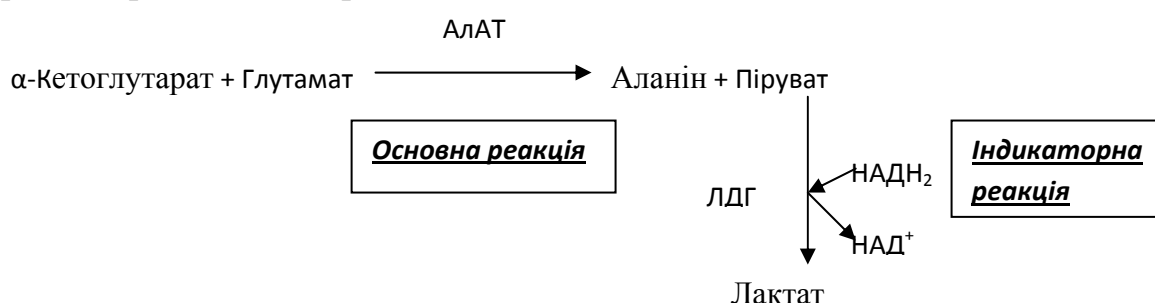
2.1.1. Оптичний тест Варбурга й спряжених ферментативних реакцій.

Сам оптичний тест був розроблений О. Варбургом наприкінці 30-х років ХХ століття для визначення активності НАД (нікотинамідаденіндинуклеотид) та НАДФ (нікотинамідаденін-динуклеотидфосфат) -залежних дегідрогеназ. У його основу були покладені відмінності спектрів поглинання світла відновленою й окисненою формами коферменту НАД. При довжині хвилі 340 нм НАДН₂ та НАДФН₂ мають здатність до поглинання світла, тоді як НАД і НАДФ - практично його не поглинають.

Розрізняють прямий та непрямий оптичний тест Варбурга. У прямому оптичному тесті в інкубаційне середовище додають кофермент НАД⁺ або НАДН, буферний розчин, джерелом ферменту служить досліджуваний матеріал - найчастіше сироватка або плазма крові. Залежно від обраних умов (у цьому випадку - значення рН) реакція, що каталізується ферментом (наприклад, лактатдегідрогеназа - ЛДГ), може проходити в обох напрямках:

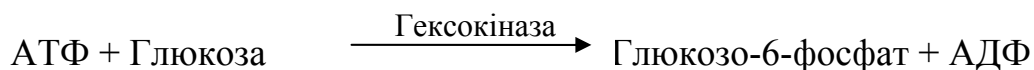
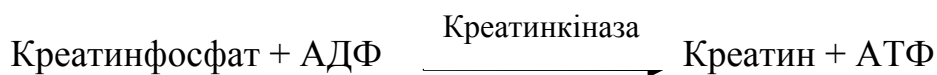


Непрямий оптичний тест Варбурга містить у собі, крім основної реакції, індикаторну й допоміжні реакції. Прикладом такого типу реакції може служити використовуваний для визначення активності аланінамінотрансферази (АлАТ) варіант спряження цих реакцій:

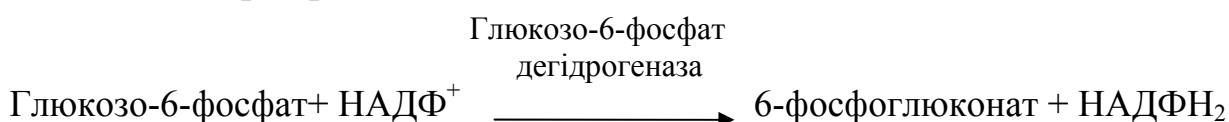


Визначення активності інших ферментів, наприклад креатинкінази:

Основні реакції:



Індикаторна реакція:



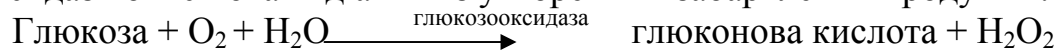
У зв'язку з тим, що випуск високоочищених препаратів НАД і НАДН₂ успішно здійснюється більшістю компаній-виробників реактивів, оптичний тест Варбурга широко використовується для визначення як активності багатьох ферментів так і вмісту низькомолекулярних компонентів.

Методи, розроблені й запропоновані різними науковими товариствами та асоціаціями, різняться по ряду параметрів: концентрації субстрату, типу буферного розчину та температурі реакції. При виборі умов реакції підбирають оптимальне співвідношення між компонентами інкубаційного середовища, що визначають швидкість реакції. Наприклад, у так званих "оптимізованих" методах визначення амінотрансферазної активності досліджуваного зразка визначення проводять у присутності коферменту амінотрансфераз піридоксаль-

5'-фосфату. Концентрація субстрату, що використовується, забезпечує швидкість реакції в межах 96% від теоретичних значень V_{max} .

2.1.2. Реакція Триндера. Другим прикладом уніфікації методів хімічного аналізу сполук є використання реакції Триндера. Протягом тривалого часу для визначення вмісту глюкози, холестерину, креатинину, білірубину та інших сполук використовували хімічні реакції, відкриті наприкінці XIX і початку XX століття (зокрема, реакцію Яффе, Лібермана). Більшість цих реакцій не є високо чутливими, або вони є мало специфічними. Використання ферментів у якості реактивів для кількісного визначення різних сполук кардинально змінило аналітичний процес у клініко-діагностичних лабораторіях. Це стало можливим завдяки роботам Р. Trinder, який вперше використав реакцію окисного азосполучення для визначення глюкози. У її основі лежить утворення забарвленої сполуки в реакції між фенолом та 4-аміноантипірином за участі перекису водню.

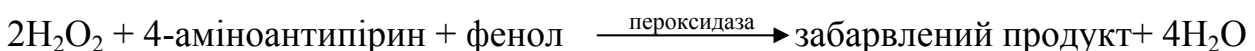
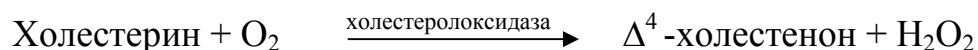
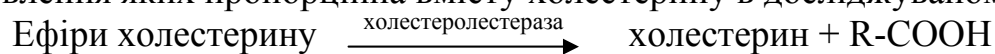
Перевагою даної реакції є те, що продукт, що утворюється, поглинає світло у видимій області спектра, і тому фотометричний вимір можна проводити без використання дорогого фотометра. Дану реакцію широко використовують для визначення концентрації багатьох низькомолекулярних сполук та активності ряду ферментів. Обов'язковою умовою для її протікання є використання у якості основних ферментів високоочищених препаратів оксидаз, при дії яких в інкубаційному середовищі утворюється еквімолярна окисненому субстрату кількість перекису водню. Наприклад: при участі глюкозооксидази глюкоза окислюється киснем повітря з утворенням перекису водню, кількість якого визначається за його здатністю в присутності пероксидази окиснювати діаміни з утворенням забарвлених продуктів:



У якості барвників (індикаторів) для пероксидазної реакції можуть бути використані фенол + аміноантипірин (реакція Триндера), а також ціла група інших речовин: о-толидин, о-діанізидін тощо.

Ця ж пероксидазна реакція за участю аміноантипірину може бути використана для кількісного визначення холестерину й тригліцеридів.

При визначенні холестерину його ефіри гідролізуються холестеролестеразою до вільних жирних кислот і холестерину, який під впливом холестеролоксидази окислюється киснем повітря до 4-холестерола. Перекис водню, що утворюється при цьому, в присутності пероксидази окиснить речовини-індикатори з утворенням забарвлених сполук, інтенсивність забарвлення яких пропорційна вмісту холестерину в досліджуваному зразку:



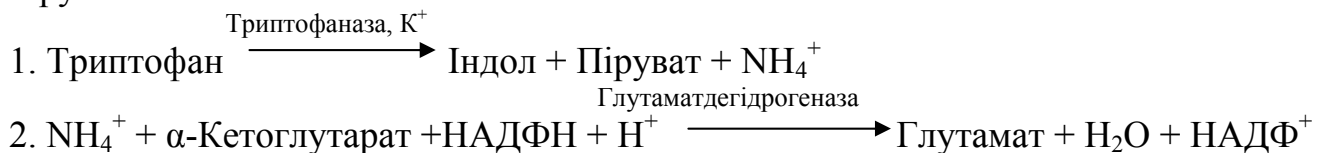
Описаний метод визначення холестерину є найточнішим з нині існуючих. У реакції Лібермана-Бурхарда (рутинному методі визначення холестерину) беруть участь й інші стерени, що приводить до завищених результатів. До інших переваг ферментативного методу слід віднести відсутність впливу домішок білірубину й гемоглобіну, необхідності проводити тривалий гідроліз ефірів і екстракцію холестерину, відсутність агресивних реагентів.

У теперішній час розроблена ціла група ферментативних методів визначення сечової кислоти. Першим етапом цих методів є розщеплення сечової кислоти уриказою до аллантаїну, вуглекислоти й перекису водню. Перекис водню, що утворився, може бути визначений різними способами:

- 1) по реакції з 4-аміноантипірином або іншим аналогічним барвником;
- 2) окисненням перекисом водню етанолу в ацетатальдегід, який потім відновлюється НАДН (оптичний тест Варбурга).

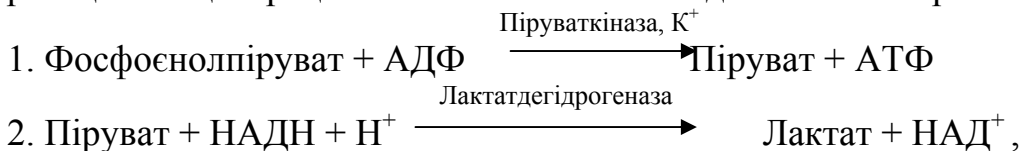
Слід зазначити високу специфічність усіх ферментативних методів визначення сечової кислоти в порівнянні з рутинними фосфорновольфрамовими методами тому, що крім сечової кислоти фосфорновольфрамову кислоту відновлює аскорбінова кислота, тирозин, триптофан, цистин, цистеїн та інш.

2.1.3. Дублювання методологій. Новим напрямком у використанні ферментів є ферментативні методи визначення електролітів: K^+ , Na^+ , Cl^- . Визначення калію й натрію в крові звичайно проводили за допомогою полуменевої фотометрії або іон-селективних електродів. Обидва методи вимагають складного устаткування, тому є рентабельними при суттєвих потоках досліджень. Розробка фотометричних методів певною мірою вирішує проблему кількісного визначення калію й натрію в невеликих лабораторіях, оскільки воно може бути проведене з використанням звичайних фотометрів. Ферментативні методи визначення електролітів засновані на їх здатності впливати на активність деяких ферментів. Для цих цілей використовують ферменти для яких речовини, що визначаються, виступають у ролі кофакторів або активаторів. Про вміст, наприклад, калію або натрію судять по зміні активності ферментів після додавання в інкубаційне середовище зразків, що містять досліджуваній катіон. Прикладом можуть служити наступні методи, основані на використанні К-активованих ферментів - триптофанази та піруваткінази.



В основній реакції 1, що каталізується К-залежною триптофаназою, утворюються іони NH_4^+ . Їх поява в середовищі інкубації запускає індикаторну реакцію 2, що каталізується ферментом глутаматдегідрогеназою, що приводить до зменшення поглинання при 340 нм внаслідок перетворення НАДФН у НАДФ^+ . Величина зміни поглинання визначається концентрацією калію в досліджуваному зразку рідини.

Визначення калію за участі К-залежної піруваткінази є більш складною аналітичною процедурою. Піруваткіназа здатна активуватися іонами амонію, що містяться в досліджуваному матеріалі. У зв'язку із цим на попередньому етапі його виводять із інкубаційного середовища з використанням реакції, що каталізується ферментом глутаматдегідрогеназою (реакція 2). Через те, що концентрація натрію в плазмі крові в багато разів перевищує концентрацію калію, коректне визначення кількості калію можливе за умови зв'язування більшої частини іонів натрію. Їхнє зв'язування здійснюють за допомогою криптана з патентованою назвою "Kriptofix". Тільки після проведення цих реакцій концентрацію калію визначають за допомогою спряжених реакцій:



де реакція 1 виступає в ролі основної, а реакція 2 - індикаторної. Величина зміни поглинання визначається концентрацією калію в досліджуваному зразку рідини.

Фотометричний метод визначення натрію засновано на його здатності активувати фермент β -галактозидазу, яка гідролізує субстрат – о-нітрофеніл- β -D-галактопіранозид до галактози й о-нітрофенолу. Швидкість утворення о-нітрофенолу в середовищі інкубації залежить від вмісту натрію в досліджуваному зразку.

Результати, отримані з використанням вищевказаних ферментних методів за точністю не поступаються таким, що отримані з використанням полуменевої фотометрії.

2.1.4. Використання технології "сухої хімії" (dry chemistry). За останній час в структурі лабораторних методів відбулися суттєві зміни за рахунок впровадження нових технологій. Застосуванням тест-смужок є одним з напрямків клінічної біохімії, що динамічно розвиваються. Дослідження хімічного складу біологічних рідин за допомогою діагностичних смужок являє собою аналітичну процедуру, засновану на технологічних способах так званої "сухої хімії". При даному способі аналізу всі необхідні для конкретної реакції компоненти - буферний розчин, субстрат та інші компоненти, необхідні для реакції, наносяться на паперову або плівкову основу у фабричних умовах. Розчинення реактивів і запуск хімічних реакцій відбувається при контакті смужки з рідиною.

Перші спроби створення діагностичних смужок були здійснені наприкінці XIX сторіччя в Англії. До середини 40-х років XX століття були розроблені форми для визначення методами "сухої хімії" багатьох параметрів сечі. Поява приладів, що працюють на принципі відбивної фотометрії, дозволило використовувати діагностичні смужки не тільки для якісної, але й напівкількісної оцінки результатів дослідження компонентів біологічних рідин. Крім того, створені портативні прилади як цільового призначення - глюкометри

для визначення рівня глюкози в крові, так і мультианалізатори для експрес-аналізу не менш ніж 20 різних показників.

Подальший розвиток відбивної фотометрії й хімії сухих реагентів на діагностичних смужках привело до створення високопродуктивних автоаналізаторов, здатних визначати велику кількість параметрів цільної крові без попередньої підготовки зразків. Сучасні діагностичні смужки являють собою складну багат шарову систему, що дозволяє, по-перше, відокремлювати плазму від формених елементів шляхом дифузії рідкої частини крові в шари, що містять реагенти, а, по-друге, забезпечує перебіг складних спряжених реакцій у невеликому обсязі рідини.

Перевагами відбивної фотометрії із застосуванням діагностичних смужок є:

- малий обсяг рідини;
- можливість використання цільної крові;
- відносна простота й швидкість проведення аналізу;
- тривалий строк зберігання смужок.

2.2. Дослідження ферментів у біологічних рідинах

Другий напрямок діагностичної ензимології - відкриття й кількісне визначення самих ферментів у біологічних рідинах при патології.

2.2.1. Принципи ферментодіагностики. В основі ензимодіагностики лежать наступні особливості складу й розподілу ферментів в організмі людини:

1) склад ферментів і їх тканинний розподіл у дорослої людини в основному постійні й можуть змінюватися при захворюваннях;

2) для кожної тканини чи органа характерний свій якісний і кількісний склад білків, у тому числі і ферментів, що визначається функціональними особливостями кожної тканини;

3) метаболічні шляхи в різних тканинах можуть бути дуже схожими, проте існує невелика кількість тканинспецифічних ферментів (наприклад, кисла фосфатаза передміхурової залози та гістідаза печінки);

4) більш специфічним для тканин є співвідношення різних ферментів і ізоферментів;

5) майже всі ферменти організму функціонують внутрішньоклітинно (виключення становлять, наприклад, ферменти шлунково-кишкового тракту, ферменти згортальної системи крові та ферменти міжклітинного матриксу);

6) при ушкодженні тканин внутрішньоклітинні білки з'являються в сироватці крові;

Виявлення тканинспецифічних ферментів, характерного кількісного збільшення активності неспецифічних ферментів у сироватці крові може допомогти поставити й уточнити діагноз. Крім підтвердження діагнозу, можна спостерігати за перебігом хвороби й ефективністю лікування.

7) існує зв'язок між ступенем ушкодження клітин і послідовністю виходу в кров ферментів з різних відділів клітини.

Для діагностики органічних і функціональних уражень органів і тканин широко застосовуються окремі ферментні тести, що вигідно відрізняються від інших хімічних діагностичних тестів, вживаних у клініці, високою чутливістю й специфічністю. Відомо близько 20 тестів, заснованих на кількісному визначенні активності ферментів та ізоферментів, головним чином у крові (рідше в сечі, а також у біоптатах). Слід зазначити, що з величезного числа ферментів (більш ніж 3500), відкритих у природі (частково і в організмі людини), у діагностичній ензимології використовується лише обмежений набір ферментів і для досить невеликого числа хвороб (гепатити, інфаркт міокарда, ураження нирок, підшлункової залози, печінки тощо).

Визначення активності ферментів відіграє важливу роль у діагностиці й лікуванні цілого ряду захворювань. Генетично детерміновані аномалії ферментів є причиною багатьох спадкових метаболічних хвороб, але використання ферментного аналізу можливо також і при станах, коли зміна концентрації (активності) ферменту є скоріше наслідком, ніж причиною патологічного процесу. Такі визначення звичайно проводять у плазмі. Більшість ферментів, що визначаються у плазмі крові, є внутрішньоклітинними й вивільняються у кров при ушкодженні клітинних мембран.

Невеликі кількості внутрішньоклітинних ферментів присутні в крові постійно як результат нормального клітинного відновлення, тому підвищення їх концентрації не завжди відображає ушкодження тканини. Можливі й інші причини:

- посилене відновлення клітин;
- клітинна проліферація (наприклад, неоплазія);
- посилений синтез ферментів (індукція ферментів);
- обструкція при секреції;
- знижений кліренс.

Про механізми видалення ферментів із кровообігу відомо небагато. Дрібні молекули, такі як амілаза, фільтруються в нирках, але більшість ферментів, імовірно, видаляються клітинами ретикулоендотеліальної системи. Активність амілази плазми зростає при гострій нирковій недостатності, але в цілому зміни швидкості кліренсу не розглядаються як важлива причина зміни концентрації ферментів у плазмі.

Визначення кількісного вмісту ферментів у біологічних зразках представляє певні труднощі, так як ферменти в тканинах як правило присутні в мізерно малих концентраціях. Тому ферментний аналіз найчастіше заснований на вимірі каталітичної активності ферменту, а не концентрації самого ферментного білка. Оскільки кожна молекула ферменту може каталізувати реакцію багатьох молекул субстрату, швидкість ферментативної реакції визначається або за швидкістю зменшення кількості субстрату, або за швидкістю утворення продукту реакції. Вимір активності має дуже високу чутливість.

Важливе значення для відтворюваності й точності результатів мають стандартизація й оптимізація умов тестування. При оптимальних умовах

температури (25°C), рН середовища й повному насиченні ферменту субстратом швидкість реакції, що каталізується, пропорційна концентрації ферменту.

2.2.2. Одиниці ферментативної активності

1. Для вираження концентрації ферменту й кількісної оцінки його активності в умовних одиницях Комісія з ферментів Міжнародного біохімічного союзу рекомендувала використання стандартної міжнародної одиниці (позначається Е або U). За одиницю активності будь-якого ферменту приймається та кількість його, яка в оптимальних умовах каталізує перетворення 1 мікромоля субстрату або утворення 1 мікромоля продукту за хвилину.

$$1\text{E} = 1\text{ мкмоль/хв.}$$

2. У відповідності до вимог Міжнародної системи одиниць запропоновано вираження активності ферменту в каталах (кат, kat): 1 кат є каталітична активність, здатна здійснювати реакцію зі швидкістю, рівною 1 молю за 1 секунду.

$$1\text{ кат} = 1\text{ моль/с}$$

Для вираження активності в практичній роботі з ферментами часто користуються довільними поняттями питомої й молярної активності.

3. Питому активність ферменту прийнято виражати числом одиниць ферментативної активності на 1 мг білка (або числом каталів на 1 кг активного білка). Питома ферментативна активність є мірою чистоти ферменту.

4. Кількість молекул субстрату, що перетворюються у процесі реакції однієї молекулою ферменту в продукт за одиницю часу при повному насиченні ферменту субстратом, називають числом оборотів ферменту, або молярною активністю. Одна молекула каталази еритроцитів наприклад, здатна розщепити 44000 молекул перекису водню за 1 с.

Відносний діапазон нормальних значень активності ферментів плазми залежить від умов аналізу, тому для оцінки результатів важливо знати як відносний діапазон значень, прийнятий у даній лабораторії, так і фізіологічні умови, за яких вони були отримані.

Органи і тканини людини відрізняються один від іншого не лише за морфологічними ознаками, хімічним складом, але й за характером метаболічних процесів, який визначається "набором" ферментів та їх активністю. Існує суттєвий градієнт концентрації між ферментами, які містяться внутрішньоклітинно та позаклітинно. Підвищення рівня внутрішньоклітинних ферментів у плазмі крові прямо залежить від природи впливу, що ушкоджує певний орган (тканину), часу дії й ступеня ушкодження біомембран клітин та клітинних органел цих органів.

При проведенні аналізу результатів ферментних тестів для діагностичних цілей особливе значення має знання:

- особливостей розподілу ферментів у індивідуальних органах і тканинах;
- внутрішньоклітинна локалізація ферментів;
- період напіврозпаду у плазмі крові кожного з діагностичних ферментів (що робить важливим вибір точного часу для ферментного аналізу крові).

2.2.3. Локалізація ферментів у клітинах, органах і тканинах.

У середині клітини індивідуальні ферменти, як правило, містяться у певних її компартментах. Внутрішньоклітинна локалізація ферментів пов'язана з тією функцією, яку виконує дана ділянка клітини. Чітка просторова локалізація ферментів у клітині забезпечує також їхню узгоджену діяльність.

На теперішній час встановлено, що ферменти розподілені у еукаріотичних клітинах наступним чином:

- плазматична мембрана – Na^+ , K^+ -АТФаза, аденілатциклаза, лужна фосфатаза;
- цитозоль - ферменти гліколізу, пентозофосфатного циклу, глікогенсинтаза, глікогенфосфорилаза, фосфоенолпіруваткарбоккіназа (глюконеогенез), пальмітатсинтаза, малатдегідрогеназа, НАДФ-залежна ізоцитратдегідрогеназа, аспартатамінотрансфераза, аланінамінотрансфераза, більшість ферментів орнітинового циклу, аміноацил-тРНК синтетази (синтез білка), креатинкіназа;
- ядро – ферменти реплікації, транскрипції, НАД-синтетаза;
- мітохондрії – піруватдегідрогеназний комплекс, ферменти циклу Кребса, дихального ланцюга, β -окиснення жирних кислот, АТФ-синтаза, глутаматдегідрогеназа, аспартатамінотрансфераза, перші два ферменти орнітинового циклу, креатинкіназа;
- мікросомальна фракція – глюкозо-6-фосфатаза, ферменти білкового синтезу, гідроксилази (цитохром Р450), ферменти синтезу фосфоліпідів, триацилгліцеролів, холестеролу (більшість);
- лізосоми – α - та β -глікозидази, β -глюкуронідаза, α -галактозидаза, кисла фосфатаза, гіалуронідаза, лізоцим, кисла рибонуклеаза, кисла дезоксирибонуклеаза, катепсини, колагеназа, арилсульфатаза;
- пероксисоми – ферменти утилізації перекису водню, метаболізму гліколевої кислоти, оксидази амінокислот.

Багато біологічних каталізаторів використовуються як маркери тих або інших внутрішньоклітинних структур: кисла фосфатаза є маркером лізосом; каталаза, оксидаза D-амінокислот - пероксисом, аденілатциклаза - плазматичної мембрани, глюкозо-6-фосфатаза, НАДФН-цитохром с редуктаза – ендоплазматичного ретикулуму, лактатдегідрогеназа - цитоплазми, галактозилтрансфераза - апарата Гольджі.

Визначення в сироватці крові активності ферментів з різною внутрішньоклітинною та органною локалізацією дозволяє встановити ступінь ушкодження певного органа. При запальних процесах підвищується проникність клітинних мембран і в сироватку крові можуть попадати цитоплазматичні ферменти. Некроз тканини супроводжується руйнуванням усіх клітинних структур, і в сироватці можуть бути виявлені як цитоплазматичні, так і мітохондріальні, ядерні та інші ферменти.

Основним недоліком використання ферментів у діагностиці ушкодження тканин є відсутність специфічності стосовно конкретної тканини або типу клітин. Багато ферментів містяться в різних тканинах, і підвищення ферментної

активності в плазмі може бути наслідком ушкодження кожної із цих тканин. Цю проблему можна частково вирішити декількома шляхами:

- Окремі тканини й органи людини відрізняються не тільки за набором ферментів, але й за їх активністю. Найбільша активність ферментів наприклад, гліколізу та креатинкінази характерна для скелетних м'язів; ферментів орнітинового циклу - для печінки; РНКаз - для підшлункової залози; глутамінази - для мозку; β -глюкуронідази - для селезінки. Таку особливість тканин використовують у клініці для діагностики деяких захворювань.
- Різні тканини можуть містити і тому звільняти при ушкодженні два або більше ферментів у різних співвідношеннях. Наприклад, аланін- та аспартаттрансамінази містяться в кардіоміоцитах і гепатоцитах, але відносний вміст аланінтрансамінази значно вищий у печінці.
- Деякі ферменти існують у різних формах, що називаються ізоферментами, і часто є характеристикою певної тканини. Хоча вони можуть мати подібну каталітичну активність, проте часто відрізняються за іншими властивостями, які можна визначити, наприклад, за спорідненістю до субстрату (K_m), максимальною швидкістю реакції, що каталізується (V_{max}), електрофоретичною рухливістю, чутливістю до інгібіторів тощо.

2.2.4. Ізоферменти та їх роль у лабораторній діагностиці.

Ізоферменти - це ізоформи або ізотипи одного і того ж ферменту, які каталізують одну і ту ж реакцію, але відрізняються за первинною структурою. Вони містяться в одному організмі, але, як правило, в різних його клітинах, тканинах або органах.

Склад і співвідношення форм ізоферментів (спектр ізоферментів) змінюється в залежності від їх локалізації в органах і тканинах організмів одного виду і навіть у різних субклітинних органелах однієї і тієї ж клітини. На спектр ізоферментів також можуть впливати фізіологічний стан організму та патологічні процеси, що відбуваються в ньому. Оскільки ізоферменти розрізняються за своїми властивостями, то характер їх розподілу відображає регуляторні механізми, що контролюють метаболізм.

Прикладом ферменту, що має ізоферменти, є гексокіназа, яка має чотири ізотипи, що позначаються римськими цифрами від I до IV. При цьому один з ізотипів гексокінази, а саме гексокіназа IV, експресується майже виключно в печінці і має особливі властивостями, зокрема її активність не пригнічується продуктами її реакції глюкозо-6-фосфатом. Ще одним прикладом ферменту, що має ізоферменти, є амілаза. Панкреатична амілаза відрізняється за первинною структурою та фізико-хімічними властивостями від амілази слинних залоз, кишківника та інших органів. Ця особливість була використана для розробки та застосування більш надійного методу діагностики гострого панкреатиту шляхом визначення не загальної амілази плазми крові, а саме панкреатичної ізоамілази.

Для дослідження спектру ізоферментів використовують звичайно наступні методи: іонообмінну хроматографію, гель-фільтрацію, електрофорез та ізоелектрофокусування, а також імунохімічні методи з використанням

антитіл. Найчастіше використовується дискелектрофорез в поліакриламідному гелі.

Аналіз спектру ізоферментів в кількісному та якісному відношеннях в різноманітних органах та тканинах людини має велике значення для діагностики деяких захворювань.

2.2.5. Походження ферментів сироватки крові. Як відзначалося раніше, ферментний аналіз найчастіше проводять у плазмі крові. Ферменти, які виявляються в нормі в плазмі або сироватці крові, умовно можна розділити на 3 групи: секреторні, екскреторні та індикаторні.

Секреторні ферменти синтезуються певними органами, здебільшого печінкою, потім виділяються в плазму крові, де виконують певну фізіологічну функцію. Прикладом таких ферментів є сироваткова холінестераза, більшість факторів системи згортання крові.

2. Екскреторні ферменти синтезуються також, головним чином, у печінці. Прикладом таких ферментів є: лейцинамінопептидаза, лужна фосфатаза та інш. У фізіологічних умовах ці ферменти, в основному, виділяються з жовчю. При багатьох патологічних процесах виділення екскреторних ферментів з жовчю порушується, а активність у плазмі крові підвищується.

3. Індикаторні ферменти попадають у кров із тканин, де вони виконують певні внутрішньоклітинні функції. Більша частина індикаторних ферментів у сироватці крові визначається в нормі в слідових кількостях. При ураженні тих або інших тканин ферменти із клітин "вимиваються" у кров; їхня активність у сироватці різко зростає, і служить індикатором ступеня й глибини ушкодження цих тканин.

2.2.6. Клінічне значення дослідження деяких індикаторних ферментів сироватки крові

Особливий інтерес для клініки представляє дослідження активності індикаторних ферментів у сироватці крові. Зростання активності ферментів сироватки крові при багатьох патологічних процесах пояснюється, насамперед, двома причинами:

- 1) виходом у кров'яне русло ферментів з ушкоджених ділянок органів або тканин;
- 2) підвищенням каталітичної активності ферментів, що переходять у кров.

У сучасних клінічних лабораторіях проводять дослідження в крові таких індикаторних ферментів як: лактатдегідрогенази, креатинкінази, аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, α -амілази, γ -глутамілтрансферази, холінестерази, кислій та лужної фосфатази, глутаматдегідрогенази, альдолази, ліпази, аланінамінопептидази, глюкозо-6-фосфатази, аргінази, сорбітолдегідрогенази, алкогольдегідрогенази та інш.

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ)

Лише в деяких лабораторіях зараз визначають загальну активність ЛДГ через відсутність її тканинспецифічності. Підвищення її активності спостерігається при широкому спектрі патологічних станів, таких як гостре

ураження печінки, скелетних м'язів, нирок, а також при мегалобластних та гемолітичних анеміях. Проте, у пацієнтів з лімфомою, наприклад, висока активність ЛДГ у плазмі є вказівкою на поганий прогноз. Послідовні виміри активності ЛДГ можуть бути інформативними для контролю ефективності лікування, так як існує кореляція між активністю ферменту й обсягом пухлини.

Визначення активності ізоферментів ЛДГ може бути результативним при підозрі на інфаркт міокарда й у діагностиці гемолітичного кризу при серповидно-клітинній анемії. Як у серцевому м'язі, так і в еритроцитах ЛДГ представлена головним чином ізоферментом ЛДГ₁ (H4). Останній проявляє набагато більш високу каталітичну активність у відношенні α -гідроксибутирату (ніж лактату) у порівнянні з іншими ізоферментами. Даний ізофермент ЛДГ має другу назву - α -гідроксибутиратдегідрогеназа і для визначення його активності звичайно використовують саме цей субстрат. ЛДГ₁ має тривалий час напівжиття в плазмі. Після інфаркту міокарда її активність повільно підвищується, досягає піка через 2-3 дня, а потім знижується протягом тижня або довше. Оскільки даний ізофермент присутній в еритроцитах, його активність підвищується після легеневої емболії, яка може нагадувати за клінічними ознаками інфаркт міокарда. Слід приймати до уваги, що наявність гемолізу зводить нанівець діагностичну цінність виміру активності α -гідроксибутиратдегідрогенази у разі діагностики інфаркту міокарду.

У тканині печінки найбільшу активність мають ізоферменти ЛДГ₄ та ЛДГ₅. При паренхиматозному гепатиті у сироватці крові суттєво зростає активність ізоферментів ЛДГ₄ і ЛДГ₅ та зменшується активність ЛДГ₁ і ЛДГ₂.

Креатинкіназа (КК)

Активна молекула КК являє собою димер: два мономери, М та В, утворюють три ізоферменти - ВВ, ММ та МВ. Ізофермент ВВ локалізований переважно в головному мозку (від англ. brain – мозок). У нормі його активність у плазмі дуже низка, і навіть при серйозному ушкодженні мозку, наприклад інсульті, вона майже не підвищується.

Більша частина активності креатинкінази плазми представлена ізоферментом скелетних м'язів ММ (від англ. muscle – м'яз). Підвищення його концентрації в плазмі крові можливе при ушкодженні скелетних м'язів або при важкому та тривалому фізичному навантаженні.

Креатинкіназа серцевого м'яза містить значно більше ізоферменту МВ (приблизно 30%), ніж скелетні м'язи (менш 1%). Підвищена концентрація КК у плазмі крові характерна для інфаркту міокарда, і за відсутності ушкоджень скелетних м'язів, немає необхідності в окремому визначенні ізоферменту МВ. Однак, якщо у хворих з підозрою на інфаркт міокарда, який трапився за фізичним навантаженням, травмою або внутрішньом'язовою ін'єкцією (усі впливи можуть підвищувати активність КК), слід визначати активність ізоферменту МВ. Якщо активність ізоферменту МВ перевищує 5 % від загальної активності КК, ураження міокарду можна вважати підтвердженим.

Лужна фосфатаза (ЛФ)

Лужна фосфатаза міститься у великій кількості у печінці, кістках (зокрема в остеобластах), плаценті й кишковому епітелії. Кожна із цих тканин має специфічні ізоферменти ЛФ. Вона каталізує відщеплення фосфорної кислоти від її органічних сполук. Оптимум рН лужної фосфатази лежить в лужному середовищі (рН 8,6-10,1). Фермент локалізований у клітинній мембрані.

Фізіологічне збільшення активності ЛФ спостерігається:

- при вагітності за рахунок плацентарної ізоформи ферменту;
- у дитячому віці, коли відбувається ріст кісток - за рахунок кісткового ізоферменту. Концентрація ферменту в плазмі крові висока при народженні, але потім швидко знижується, проте вона залишається підвищеною в 2-3 рази у порівнянні з нормальним рівнем у дорослих. Концентрація підіймається знову під час підліткового прискорення росту кісток. По мірі припинення росту кісток вона знижується до нормального рівня дорослих людей. Активність ЛФ плазми крові практично здорових людей похилого віку трохи вища норми. Це може пояснюватися високою частотою розвитку легкої форми хвороби Педжета у літніх людей.

Підвищення активності ЛФ спостерігається найчастіше при холестатичній хворобі печінки та при деяких захворюваннях кісток. При холестазі складові жовчі індукують ЛФ, результатом цього є підвищений вміст ферменту. Кісткова лужна фосфатаза продукується остеобластами – крупними одноядерними клітинами, що знаходяться на поверхні кісткового матриксу в місцях інтенсивного формування кісток. Завдяки позаклітинному розташуванню ферменту в процесі кальцифікації можна прослідити прямий зв'язок між захворюванням кісток і підвищенням активності ферменту в сироватці крові.

Збільшенням активності лужної фосфатази супроводжується хвороба Педжета, рахіт будь-якої етіології, кісткові зміни, пов'язані з гіперпаратиреозом. Активність ЛФ не зростає при неускладненому остеопорозі, якщо тільки цей стан не ускладнюється колапсом або переломом кістки. Концентрація ЛФ у плазмі звичайно підвищується при злоякісних пухлинах, які мають кісткове або печінкове походження. Описані також пухлинспецифічні форми ЛФ, які секретуються пухлинними клітинами. Найбільш відомим з них є ізофермент Регана, який подібний за термостабільністю до плацентарної ЛФ і може виявлятися при бронхіальній карциномі.

Активність ЛФ часто вимірюють як елемент "біохімічного профілю", при цьому нерідко виявляється її підвищення за відсутності клінічних проявів захворювання кісток або печінки. Для встановлення причини такого підвищення слід спробувати виявити тканину, ушкодження якої привело до виділення в кров ферменту. Це можна зробити двома способами:

- визначити тканинспецифічні ізоферменти ЛФ (наприклад, за допомогою електрофореза або диференційної теплової інактивації);
- визначити активність γ -глутамілтрансферази в плазмі крові (фермент, що міститься в печінці, але відсутній в кістках). Його підвищена активність у

плазмі часто (але не завжди) супроводжується підвищеною активністю печінкової ЛФ.

Кисла фосфатаза (КФ)

Кисла фосфатаза - це фермент, який каталізує гідроліз ортофосфорних моноєфірів з відщепленням фосфатної групи. Він проявляє оптимальну активність в кислому середовищі. Під найменуванням "кисла фосфатаза" мають на увазі всі фосфатази, що проявляють найвищу активність при $\text{pH} < 7,0$. Ці ферменти знаходяться у клітинах різних тканин, здебільшого у лізосомах, але можуть бути і поза ними.

Високі концентрації КФ визначаються у передміхуровій залозі, і тому підвищена концентрація цього ферменту в плазмі крові спостерігається у деяких пацієнтів з раком передміхурової залози. Його значення в діагностиці даного захворювання невелике, тому що активність ферменту в плазмі зростає тільки приблизно у 20 % хворих, у яких пухлина обмежується залозою. Однак при наявності метастазів активність ферменту збільшується у 80 % хворих. Активність КФ підвищена також у деяких випадках простатиту та при доброякісній гіпертрофії передміхурової залози. Фермент нестабільний, тому зразки крові для аналізу слід передавати в лабораторію швидко, а сироватку піддавати глибокому заморожуванню до виконання аналізу. Оскільки фермент міститься у еритроцитах, гемоліз зводить нанівець значимість визначення активності КФ. Ізофермент передміхурової залози специфічно інгібується тартратом, але не чутливий до дії формальдегіду. У більшості лабораторій кисла фосфатаза вимірюється як простатспецифічний "тартратлабільний" або "формолстабільний" ізофермент.

Фермент міститься також у клітинах печінки, селезінки, еритроцитах, тромбоцитах та кістковому мозку. Активність КФ сироватки крові в нормальних умовах у чоловіків приблизно наполовину складається з активності простатичної фосфатази, решта - пов'язана з ферментом, що надходить з печінки та зруйнованих тромбоцитів і еритроцитів. У жінок КФ сироватки надходить переважно з печінки, еритроцитів і тромбоцитів. Високі концентрації непростатичної кислої фосфатази можуть спостерігатися при хворобах кісток (хвороба Педжета), тромбоцитемії (хвороба Гоше - спадкове порушення депонування ліпідів).

γ -Глутамілтрансфераза (ГГТ)

γ -Глутамілтрансфераза – це мікросомальний фермент, що бере участь в обміні амінокислот. Каталізує перенесення γ -глутамільного залишку з пептиду, що містить кінцевий глутаматний залишок (глутатіон), на амінокислоту, інший пептид, або іншу субстратну молекулу. Найбільша активність ферменту виявляється у нирках (у 7000 разів вище, ніж в сироватці крові), печінці (в 200-500 разів вище, ніж в сироватці крові) і підшлунковій залозі. Значно нижча активність ГГТ визначається в кишечнику, мозку, серці, селезінці, простаті. У клітині фермент міститься в плазматичній мембрані, лізосомах та цитоплазмі.

Мембранна локалізація ГГТ характерна для клітин з високою секреторною, екскреторною або реабсорбційною активністю.

Незважаючи на те, що активність ферменту найбільш висока в нирках, джерелом сироваткової активності ГГТ є переважно гепатобіліарна система. Відвищення рівня ГГТ в сироватці - найбільш чутливий лабораторний показник при захворюваннях гепатобіліарної системи, тому використовується у якості маркера холестазу.

Активність ГГТ сироватки зростає при всіх формах захворювань печінки. Вона найбільш висока у випадках обструктивних уражень печінки (підвищення в 5-30 разів від нормальних значень). Цей показник патології печінки є більш чутливим, ніж аланінамінотрансфераза та аспартатамінотрансфераза при діагностиці механічної жовтяниці, холангітів та холециститів. Підвищення ГГТ в цих випадках спостерігається раніше і зберігається довше, ніж інших печінкових ферментів.

При гострому та хронічному панкреатиті, а також у випадках злоякісних захворювань підшлункової залози, активність ферменту може перевищувати норму в 5-15 разів. Збільшені рівні ГГТ спостерігаються у сироватці пацієнтів з алкогольним цирозом і у більшості людей, що зловживають алкоголем. Тому ГГТ використовують як індикатор захворювань печінки, викликаних алкоголем. Активність ГГТ може залишатися підвищеною в плазмі крові протягом 3-4 тижнів утримання від алкоголю, навіть за відсутності ураження печінки.

Холінестераза (ХЕ)

У тканинах людини виявлено два різні ферменти цього типа: ацетилхолінестераза («дійсна» холінестераза), яка переважно знаходиться в нервовій тканині, скелетних м'язах і в низькій концентрації в еритроцитах; і сироваткова, або псевдохолінестераза, яка міститься в печінці, підшлунковій залозі, секретується печінкою в кров. Сироваткова ХЕ є ферментом, що каталізує реакцію гідролізу ацетилхоліну.

Визначення ХЕ в клінічних дослідженнях використовується, насамперед, для діагностики можливого отруєння фосфорорганічними отруйними речовинами, інсектицидами, а також як показник стану білково-синтезуючої функції печінки. Крім того біохімічний аналіз крові на ХЕ використовується для оцінки ризику ускладнень при хірургічних втручаннях.

Вміст ферменту ХЕ в крові людини починає різко знижуватися при важких хронічних захворюваннях печінки, особливо при цирозі. Низький рівень активності ХЕ в крові — ознака таких захворювань, як: цироз, гепатит, гостре отруєння інсектицидами, інфаркт міокарду, метастатичний рак печінки та інші онкологічні захворювання. Слід приймати до уваги те, що зниження рівня ХЕ відбувається також на пізньому терміні вагітності, після хірургічного втручання і при вживанні деяких медичних препаратів: оральних контрацептивів, глюкокортикоїдів.

Підвищений рівень активності ХЕ крові може бути симптомом наступних захворювань: артеріальна гіпертонія, нефроз, рак молочної залози,

ожиріння, алкоголізм, цукровий діабет тощо. Підвищення рівня ХЕ відбувається на початковому етапі вагітності.

Аспаргатамінотрансфераза (АсАТ)

АсАТ - внутрішньоклітинний фермент каталізує зворотнє перенесення аміногрупи з аспарагінової кислоти на α -кетоглутарову кислоту з утворенням оксалоацетату та глутамату. Переамінування відбувається за участю кофермента піридоксальфосфата (похідного вітаміну В₆). АсАТ в клітинах представлена двома ізоферментами - мітохондріальним і цитоплазматичним (близько 1/3 загальної внутрішньоклітинної активності АсАТ локалізується в цитоплазмі клітини, 2/3 - в мітохондріях). Найбільша концентрація цього ферменту визначається в міокарді, печінці, скелетній мускулатурі, нирках, в менших концентраціях АсАТ міститься в підшлунковій залозі, селезінці, легенях та еритроцитах. У міокарді активність АсАТ в 10000 разів вища, а в еритроцитах - в 10 разів більше ніж в сироватці крові.

Активність АсАТ в сироватці крові підвищується при ураженні (але не при порушенні функції) органів і тканин з високим вмістом цього ферменту. Найбільш різкі зміни в активності АсАТ спостерігаються при ураженні серцевого м'яза. При інфаркті міокарду активність АсАТ в сироватці крові може підвищуватися в 2-20 разів, причому підвищена активність виявляється ще до появи типових ознак інфаркту на ЕКГ. Встановлено кореляцію між розмірами некрозу в серцевому м'язі та рівнем АсАТ в сироватці крові. Важлива також є прогностична цінність визначення активності АсАТ: якщо на 3-4 день захворювання активність цього ферменту не знижується, то прогноз поганий. Наростання активності може свідчити як про розширення осередка інфаркту, так і про залучення до процесу інших органів і тканин - наприклад, печінки. При стенокардії активність АсАТ, як правило, залишається в межах норми, лише при важкій формі коронарної недостатності в перші 24 години активність АсАТ підвищується і нормалізується на 2-3 день після нападу.

АсАТ підвищується при гострому гепатиті та інших гострих ураженнях печінки. Одночасне визначення активності двох амінотрансфераз (АлАТ та АсАТ) є цінним діагностичним тестом. У нормі співвідношення активностей АсАТ/АлАТ (коефіцієнт де Рітіса) дорівнює $1,33 \pm 0,42$. При захворюваннях печінки це співвідношення знижується до 0,6-0,8, а при захворюваннях серця - різко підвищується.

Аланінамінотрансфераза (АлАТ)

АлАТ каталізує зворотню реакцію перенесення аміногрупи аланіна на α -кетоглутарову кислоту з утворенням пірувату та глутамату. Переамінування відбувається у присутності кофермента піридоксальфосфата. Найбільш висока активність АлАТ виявляється в печінці і нирках, менша - в серці, скелетній мускулатурі, підшлунковій залозі, селезінці, легенях, еритроцитах. При пошкодженні та руйнуванні клітин цих органів АлАТ вимивається у кров'яне русло, що приводить до підвищення її активності в крові.

При вірусних гепатитах міра збільшення активності АлАТ корелює зі ступенем захворювання. У гострих випадках активність ферменту в сироватці крові може перевищувати нормальні значення в 50-100 разів і більше. При вірусному гепатиті підвищення активності ферменту відбувається ще до появи жовтяниці (у 50% пацієнтів - за 5 днів, у 90% - за 2 дні до клінічної маніфестації захворювання). Активність ферменту підвищена і у хворих з безжовтяничною формою захворювання.

При інфаркті міокарду АлАТ в сироватці крові збільшується в значно меншій мірі, ніж АсАТ, оскільки активність АлАТ в кардіоміоцитах значно менша у порівнянні з АсАТ. При інфаркті міокарду рівень АлАТ може бути лише дещо збільшеним або в межах норми. Збільшення вмісту АлАТ в сироватці при інфаркті міокарду може вказувати на розвиток застійних явищ у печінці.

α -Амілаза

α -Амілаза каталізує гідроліз крохмалю, глікогену та деяких інших полісахаридів до мальтози, декстрину і олігосахаридів. Часткове переварювання цих полісахаридів починається в порожнині рота під дією амілази слинних залоз (S-тип ферменту) і завершується в тонкому кишечнику під впливом амілази підшлункової залози (P-тип). Значно нижчу амілазну активність мають яєчники, фаллопієві труби, тонкий і товстий кишечник, печінка, молочні залози в період лактації. За каталітичними властивостями активності ферментів із різних органів суттєво відрізняються один від іншого. α -Амілаза сироватки крові складається, головним чином, з двох ізоферментів: панкреатичного і слинного. Іони Ca^{2+} та Cl^- активують її. Активність α -амілази оптимальна при нейтральних рН 6,8-7,0.

Визначення активності амілази в сироватці і сечі використовується переважно в діагностиці захворювань підшлункової залози. При гострому панкреатиті через 2-12 годин від початку нападу спостерігається скороминуще збільшення активності амілази сироватки; рівень амілази сироватки повертається до норми на 3-й або 4-й день. Зазвичай відбувається 4-6-кратне збільшення рівня з максимумом в період 12-72 години від початку нападу. Проте до 20% випадків гострого панкреатиту можуть протікати при нормальному рівні амілази сироватки, паралельне визначення ліпази збільшує вірогідність його виявлення.

Сироваткова амілаза екскретується з сечею, тому збільшення значень амілази сироватки супроводжується збільшенням кількості амілази в сечі. Активність амілази в сечі при гострому панкреатиті збільшується частіше і більше, ніж активність амілази в сироватці. Зростання значень тримається триваліший період після нападу. Проте, діагностична цінність визначення активності амілази в сироватці вища.

При деяких патологічних станах амілаза (зазвичай S-типу) може утворювати комплекси з імуноглобулінами А і G та іншими високомолекулярними білками плазми (макроамілаземія). Ці комплекси не проходять через мембрану ниркових клубочків. У цьому випадку, хоча вміст

амілази в сироватці крові зростає, в сечі визначається нормальна активність ферменту. Невідповідність рівнів сироваткової і сечової активності амілази спостерігається також при нирковій недостатності.

При хронічному панкреатиті поза загостренням активність амілази сироватки і сечі знаходиться на субнормальному рівні. Загострення хронічного панкреатиту супроводжується невеликим збільшенням рівня сироваткової амілази. Гіперамілаемією можуть також супроводитися деякі непанкреатичні захворювання: - хронічна ниркова недостатність (зниження кліренсу сироваткової амілази), будь-якого роду пошкодження слинних залоз, захворювання жовчного тракту - як результат первинного або вторинного залучення підшлункової залози. Рівень амілази може бути підвищеним при алкоголізмі, а також при опіковому та травматичному шоці.

Зниження значень активності амілази крові можливе у випадках: недостатність підшлункової залози, виражений муковісцидоз, панкреатектомія, важке ураження печінки.

2.3. Ферментодіагностика при захворюваннях серцево-судинної системи. Біохімічні констеляції та диференційна діагностика захворювань серцевого м'язу

При дослідженні кардіальних маркерів інфаркту міокарда приймають до уваги ряд положень, так звані принципи діагностики інфаркту міокарда. До них відносять:

- 1) часові інтервали;
- 2) дослідження маркерів ураження міокарду в динаміці;
- 3) органоспецифічність лабораторної діагностики інфаркту міокарда;
- 4) комплексний характер діагностики;

Практично значимими маркерами загибелі міоцитів є: каталітична концентрація в крові КК, ЛДГ, АсАТ, глікогенфосфорилази (ГФ), підвищення в крові вмісту міоглобіну, ланцюгів міозину, тропонінів Т та І. Специфічним маркером ураження тільки кардіоміоцитів (але не міоцитів скелетних м'язів) є визначення в крові концентрації ізоферментів КК-МВ і ЛДГ₁, імунохімічне визначення КК-МВ і ГФ-ВВ, а також співвідношення ізоформ ізоферменту КК-МВ та тропонінів.

Інтенсивний обмін речовин, необхідний для скорочення серцевого м'язу, потребує підвищеної кількості вільної енергії та постійної динамічної рівноваги (синтезу та розпаду) внутрішньоклітинних білків в тканині серця.

У серцевому м'язі 90% багатих на енергію сполук представлено у вигляді АТФ-креатинфосфату. Одним з ключових ферментів в процесах транспорту енергії креатинфосфату в міофібрили є креатинкіназа (КК). Утворення багатих на енергію фосфорних сполук в серцевому м'язі здійснюється двома шляхами: окисне фосфорилування, яке дає до 90% енергії, і анаеробний гліколіз з утворенням молочної кислоти. В умовах гіпоксії різко зростає анаеробний гліколіз з утворенням молочної кислоти, що призводить до розвитку внутрішньоклітинного ацидозу. Зсув рН в кислу сторону створює оптимальні умови для прояву активності протеолітичних ферментів, що може призвести до

аутолізу білків клітини та руйнування їх структури. Чутливою до зміни рН є креатинкіназа, активність якої при ацидозі пригнічується, порушується перенос енергії та її використання. Змінюється іонна рівновага натрію, калію, хлору, що сприяє розвитку екстрасистоли та фібриляції шлуночків. Дефіцит O_2 призводить до зміни ультраструктури клітин: ураження мембран, розриву та набухання мітохондрій, роз'єднання процесів окиснення та фосфорилування, дефіцит макроергів АТФ та креатинфосфату, порушення ядер клітин і, як наслідок, некроз тканин. Це призводить до певного комплексу біохімічних зсувів, що відображають глибинні розлади метаболічних процесів в організмі. Ішемічні некрози серцевого м'яза супроводжуються зміною рівня ферментів, глюкози та її метаболітів, білкових фракцій, небілкових азотистих компонентів крові, зсувами ліпідного складу.

При підозрі на наявність інфаркту міокарда традиційно проводиться визначення активності ферментів плазми. Хоча зазвичай біохімічного підтвердження діагнозу потребують тільки 15-30% пацієнтів. Багато пацієнтів з інфарктом міокарда мають класичний анамнез із сильним, що здавлює, за грудинним болем, що іноді віддає в руку або щелепу, і типові зміни ЕКГ. У хворих з типовою історією хвороби й характерними для інфаркту міокарда змінами ЕКГ вимір активності ферментів не привносить нічого нового в первинний діагноз. Проте інфаркт міокарда може протікати й атипично, або навіть без клінічних проявів, особливо у людей похилого віку. Зміни ЕКГ також не завжди типові, особливо при інфаркті, що вражає міокард на неповну глибину, або у випадку повторного інфаркту. Вимір активності ферментів може виявитися корисним у пацієнтів із за грудинним болем при відсутності типових змін ЕКГ, так як інфаркт міокарда завжди супроводжують достовірні зміни активності в плазмі КК, АсАТ та ЛДГ₁ (α -гідроксибутиратдегідрогенази).

Для коректної інтерпретації даних щодо активності ферментів плазми крові важливо знати й урахувати час забору зразків крові для аналізу відносно часу нападу інфаркта міокарду. Ізофермент креатинкінази МВ з'являється в плазмі крові першим після інфаркту міокарда й потім швидко видаляється із кровотока. "Часове вікно" результативного тесту на креатинкіназу, наприклад, становить від 12 до 36 год, однак у ці строки можна чекати лише невеликих змін у концентрації ЛДГ₁.

Високі концентрації загальної КК (за умови, що відсутні ушкодження скелетних м'язів) або КК-МВ підтверджують діагноз інфаркту міокарда. Додатковим підтвердженням служить підвищення більш ніж на 15 % КК-МВ або загальної КК протягом 4 год, навіть якщо обидві концентрації перебувають у межах відносної норми. Якщо в пацієнта із за грудинним болем не виявляється підвищення активності КК, діагноз інфаркту міокарда мало ймовірний. Відсутність зниження КК свідчить про поширення інфаркту або про повторний інфаркт. Вміст КК корелює з розмірами інфаркту й, отже, із прогнозом захворювання, хоча така інформація рідко має практичне значення. Якщо тромболітична терапія є успішною в досягненні реперфузії, спостерігається швидкий ріст у плазмі концентрації маркерів ушкодження серцевого м'яза (феномен відмивання). Більш повільний ріст спостерігається при збереженні

неповної реперфузії. Послідовні проби на КК-МВ або міоглобін дають ранній біохімічний доказ реперфузії.

2.4. Ферментодіагностика онкологічних захворювань

Пухлинний маркер - це речовина, яка може свідчити про наявність або прогресування пухлини. На практиці клінічні біохімічні лабораторії визначають маркери, що знаходяться у крові, хоча термін "пухлинні маркери" також застосовується і для речовин, що перебувають на поверхні або усередині клітин.

До маркерів злякисного росту відносять речовини різної природи. У їх число входить більше 200 сполук: гормони, ферменти, глікопротеїни, ліпіди та інші метаболіти. Концентрація цих речовин корелює з масою пухлини, її проліферативною активністю, а в деяких випадках зі ступенем злякисності новоутворення. Аномальна експресія генома - один з основних механізмів продукції маркерів пухлинними клітками, який обумовлює синтез ембріональних, плацентарних і ектопічних білків, ферментів, антигенів і гормонів.

Злякисні новоутворення можуть супроводжуватися, як було зазначено вище, змінами активності ферментів плазми крові. Ці ферменти можуть мати або пухлинне походження, коли пухлина сама виділяє нормальні або змінені форми ферменту (наприклад кисла фосфатаза при карциномі передміхурової залози, ізофермент Регана ЛФ при карциномі легенів), або можуть бути пов'язані з пухлиною, тобто бути реакцією навколишніх тканин на присутність пухлини (наприклад ЛФ при пухлинах печінки та кісткової тканини). Підвищена активність ЛФ плазми може бути викликана метастазами у пацієнта з карциномою. При випадковому виявленні підвищеної концентрації ЛФ у плазмі слід розглянути можливість метастазування клінічно "мовчазної" пухлини

III. Ензимотерапія

Третій напрямок медичної ензимології – ензимотерапія, тобто використання ферментів і регуляторів дії ферментів в якості лікарських засобів. В клініці знайшли застосування пепсин, трипсин, хімотрипсин та їх суміші (абомін, хімопсін) для лікування захворювань ШКТ. Окрім протеїназ, ряд інших ферментів, власне РНК-аза, ДНК-аза, гіалуронідаза, колагенози, еластази, окремо чи в суміші з протеїназами, використовуються для обробки ран, запальних процесів, опіків, для усунення набряків, гематом, келоїдних рубців (туберкульоз легенів). Ферменти використовуються також для лікування серцево-судинних захворювань, для розчинення згустку крові. Так, калікреїни – ферменти кінінової системи – використовуються для зниження артеріального тиску. Важлива та багатообіцяюча галузь ензимотерапії - використання інгібіторів ферментів. Так, природні інгібітори протеїназ знайшли використання в терапії гострих панкреатитів, артритів, алергічних захворювань, при яких має місце активація протеолізу та фібринолізу, яка супроводжується

утворенням вазоактивних кінінів. Новою галуззю медичної ензимології є використання іммобілізованих ферментів, їх активаторів та інгібіторів. Такі форми ферментів, зберігаючи каталітичну активність, мають підвищену стабільність, меншу антигенність і подовжену дію в організмі. Розробляються нові методи введення іммобілізованих ферментів шляхом внесення їх у ліпідні оболонки – ліпосоми, які виявились гарними носіями для транспорту ліків в організмі; вони біосумісні, не викликають імунологічних реакцій та з їх допомогою можна вводити ферменти всередину клітини.

Робилися спроби використання ферментів для лікування злоякісних пухлин людини, наприклад, аспарагінази при лікуванні лімфогранулематоза. Цей фермент руйнує аспарагін, який є незамінним фактором для лейкозних клітин, оскільки вони виявились позбавленими здатності його синтезувати.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Які хвороби називають ензимопатіями:
 - A. Спричинені недостатністю коферментів
 - B. Спричинені спадковою недостатністю ферментів
 - C. Спричинені накопиченням ферментів
 - D. Спричинені інгібуванням ферментів ксенобіотиками
 - E. Спричинені вивільненням ферментів з уражених органів

2. Укажіть ензимопатію метаболізму вуглеводів:
 - A. Алкаптонурія
 - B. Порфірії
 - C. Синдром Леша-Ніхана
 - D. Хвороба Німана-Піка
 - E. Хвороба Гірке

3. Укажіть ензимопатію метаболізму амінокислот:
 - A. Тирозинемії
 - B. Хвороба Корі й Форбса
 - C. Мукополісахаридози
 - D. Сфінголіпідози
 - E. Інсулін-незалежний цукровий діабет

4. Укажіть ензимопатію метаболізму ліпідів:
 - A. Фенілкетонурія
 - B. Хвороба Фабрі
 - C. Хвороба Помпе
 - D. Фруктозурія
 - E. Галактоземія

5. Розвиток використання ферментів у якості реагентів реалізується за рахунок уніфікації аналітичних методів виявлення компонентів. Одним із таких методів є:
 - A. Оптичний тест Варбурга
 - B. Електрофоретичний метод Рейсса
 - C. Діаліз
 - D. Адсорбційна хроматографія
 - E. Висолювання

6. У основу оптичного теста Варбурга покладено відмінності спектрів поглинання світла відновленою й окисненою формами певної сполуки при довжині хвилі 340 нм. Укажіть цю сполуку:
 - A. Піруват/Лактат
 - B. Фумарат/Сукцинат
 - C. НАД⁺/НАДН та НАДФ⁺/НАДФН

- D. Дегідроаскорбат/Аскорбат
E. ФАД/ФАДН₂
7. Одним із прикладів уніфікації методів хімічного аналізу сполук є використання реакції Триндера. Яка реакція лежить у основі цього методу:
A. Реакція, що каталізується НАД-залежною дегідрогеназою
B. Реакція, що каталізується ФАД-залежною дегідрогеназою
C. Реакція, що каталізується ТПФ-залежною транскетолазою
D. Реакція між фенолом та 4-аміноантипірином за участі перекису водню
E. Реакція трансамінування між амінокислотою та α -кетокислотою
8. Який фермент із-за невеликого розміру його молекули фільтрується нирками і його активність визначається у сечі:
A. Ліпаза
B. АлАТ
C. АсАТ
D. Амілаза
E. ЛДГ
9. Чому ферментний аналіз найчастіше заснований на вимірі каталітичної активності ферменту, а не концентрації самого ферментного білка?
A. Концентрації ферментів у тканинах занадто високі
B. Концентрації ферментів у тканинах надзвичайно низькі
C. Не існує методів кількісного визначення білку у біологічному матеріалі
D. Ферменти руйнуються при їх виділенні з тканини
E. Не існує методів кількісного визначення ліпопротеїнів (більшість ферментів є ліпопротеїнами)
10. Важливе значення при визначенні активності ферментів мають стандартизація й оптимізація умов тестування Які умови є стандартними:
A. Температура 15°C; рН 3,0; концентрація субстрату, при якій швидкість реакції досягає половини максимальної
B. Температура 25°C, оптимальний рН середовища, насичення ферменту субстратом
C. Температура 40°C, рН 8,0, тиск 800 мм.рт.ст.
D. Температура 60°C, оптимальний рН середовища, насичення ферменту субстратом
E. Температура 5°C; рН 7,0; насичення ферменту субстратом
11. За одиницю активності будь-якого ферменту, виражену в стандартних міжнародних одиницях (позначається Е або U), приймається та кількість його, яка в оптимальних умовах каталізує:
A. Перетворення 1 мікромоля субстрату або утворення 1 мікромоля продукту за 1 хвилину

- В. Перетворення 1 моля субстрату або утворення 1 моля продукту за 1 секунду
 - С. Перетворення 1 мікромоля субстрату або утворення 1 мікромоля продукту за 1 хвилину
 - Д. Перетворення 1 моля субстрату або утворення 1 моля продукту за 1 годину
 - Е. Перетворення 1 мілімоля субстрату або утворення 1 мілімоля продукту за 1 секунду
12. Укажіть фермент-маркер плазматичної мембрани:
- А. Кисла фосфатаза
 - В. Каталаза
 - С. Оксидаза D-аміноксилот
 - Д. Аденілатциклаза
 - Е. Лактатдегідрогеназа
13. У серцевому м'язі та еритроцитах лактатдегідрогеназа (ЛДГ) представлена переважно одним із п'яти ізоферментів. Укажіть його:
- А. ЛДГ₁
 - В. ЛДГ₂
 - С. ЛДГ₃
 - Д. ЛДГ₄
 - Е. ЛДГ₅
14. Підвищена концентрація MB ізофермента креатинкінази у плазмі крові характерна для:
- А. Вірусного гепатиту
 - В. Гострого панкреатиту
 - С. Інфаркту міокарда
 - Д. Гемолітичної жовтяниці
 - Е. Атеросклерозу
15. Збільшенням активності лужної фосфатази супроводжується:
- А. Ниркова недостатність
 - В. Панкреатит
 - С. Фенілкетонурія
 - Д. Ураження мозку
 - Е. Хвороба Педжета
16. Яке захворювання може супроводжуватися підвищеною концентрацією кислої фосфатази в плазмі крові?
- А. Рак надниркових залоз
 - В. Серцева недостатність
 - С. Рак передміхурової залози

- D. Запалення легенів
- E. Інфаркт міокарда

17. У якому органі чи тканині виявляється найбільша активність γ -глутамілтрансферази:

- A. Скелетні м'язи
- B. Сполучна тканина
- C. Жирова тканина
- D. Нирки
- E. Мозок

18. Визначення холінестерази в клінічних дослідженнях використовується як показник стану:

- A. Антитоксичної функції печінки
- B. Білково-синтезуючої функції печінки
- C. Фільтруючої функції нирок
- D. Гормон-синтезуючої функції наднирників
- E. Фібринолітичної функції антизгортальної системи крові

19. Зміна активності яких ферментів у плазмі крові має місце при інфаркті міокарда?

- A. АлАТ, ЛДГ₄
- B. Амілази, холінестерази, ЛДГ₁
- C. АсАТ, КК, α -гідроксибутиратдегідрогенази
- D. Лужної та кислої фосфатази
- E. Глюкозо-6-фосфатази, гексокінази

20. Підвищена активність якого фермента плазми крові може бути наслідком утворення метастазів у пацієнта з карциномою?

- A. Лужної фосфатази
- B. АлАТ
- C. Амілази
- D. Холінестерази
- E. Глюкозо-6-фосфатази

КЛІНІКО-БІОХІМІЧНІ КРИТЕРІЇ ОБМІНУ БІЛКІВ В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ

Білки плазми крові

Із 9-10% сухого залишку плазми крові 6,5-8,5% є білками. Всі білки плазми крові діляться на 3 групи: альбуміни, глобуліни і фібриноген. Альбумінів при цьому – 40-50 г/л, глобулінів – 20-30 г/л, фібриногену – 2-4 г/л. Плазма крові, в якій відсутній фібриноген, називається сироваткою.

Різноманітною є фізіологічна роль білків плазми крові. Так, вони:

- 1) Підтримують онкотичний тиск і тим самим зберігають об'єм крові на постійному рівні
- 2) Приймають активну участь у згортанні крові (такі як фібриноген є основними в системі згортання крові)
- 3) В певній мірі обумовлюють в'язкість крові, яка в 4-5 разів вище в'язкості води і відіграє важливу роль в підтриманні гемодинамічних відносин у кровоносній системі
- 4) Є однією з буферних систем крові
- 5) Виконують також дуже важливу транспортну функцію: взаємодіючи з низкою речовин (холестерин, білірубін та ін.) та з лікарськими засобами (пеніцилін та ін.), вони переносять їх до тканин.
- 6) Відіграють важливу роль в процесах імунітету
- 7) І, нарешті, можуть слугувати резервом амінокислот

Сучасні фізико-хімічні методи дослідження дозволили відкрити і описати біля 100 різних білків плазми крові. В сироватці крові здорової людини при електрофорезі на папері знаходять 5 фракцій: альбуміни, α_1 -, α_2 -, β - та γ -глобуліни. Більш сучасними методами електрофорезу (в агаровім гелі, в крохмальному або поліакриламідному гелі) кількість фракцій білків досягає 30.

Характеристики основних фракцій білків

Альбуміни

Це 55-60% білків плазми крові. Відіграють важливу роль в підтриманні онкотичного тиску крові, що пояснюється їх високою гідрофільністю. Відомо, що концентрація альбумінів в сироватці нижче 30 г/л призводить до значної зміни онкотичного тиску крові, що призводить до виникнення набряків. Альбуміни виконують важливу функцію транспорту багатьох активних речовин (зокрема, гормонів). Вони можуть зв'язуватись з холестерином, жовчними пігментами. З альбумінами також зв'язана значна частина кальцію в сироватці.

У деяких людей фракція альбумінів при електрофорезі у крахмальному гелі розділяється на дві (альбумін А і альбумін В), тобто в таких людей є два незалежних генетичних локуса, які контролюють синтез альбумінів. Допоміжна фракція (альбумін В) відрізняється від звичайного альбуміну сироватки тим, що молекули цього білка містять два залишки дикарбонових амінокислот або більше, які заміщують в поліпептидному ланцюзі звичайного альбуміну залишки тирозину або цистеїну. Існують і інші рідкісні варіанти альбуміну (альбумін Рідінг, альбумін джент, альбумін Макі). Спадкування поліморфізму альбумінів проходить по аутосомному кодомінантному типу і спостерігається в декількох поколіннях.

Глобуліни

Електрофоретичними методами отримують фракції α_1 -, α_2 -, β - і γ -глобулінів. α - і β -глобулінові фракції містять ліпопротеїни, а також білки, зв'язані з металами. Більша частина антитіл, які містяться в сироватці, знаходяться у фракції γ -глобулінів. Зменшення вмісту білків цієї фракції значно знижує захисні сили організму. В клінічній практиці зустрічаються стани, які відзначаються зміною як загальної кількості білків плазми крові, так і відсоткового співвідношення окремих фракцій білка.

Гіперпротеїнемія – збільшення загальної кількості білків плазми. Діареза у дітей, рвота при непрохідності верхнього відрізка тонкої кишки, обширні опіки можуть обумовлювати підвищення концентрації білків в плазмі крові. Іншими словами, втрати води організмом, а отже і плазмою, призводить до підвищення концентрації білка в крові (відносна гіперпротеїнемія). Проте при низці патологічних станів може спостерігатись і абсолютна гіперпротеїнемія, зумовлена збільшенням рівня γ -глобулінів, наприклад, гіперпротеїнемія внаслідок інфекційного або токсичного подразнення системи макрофагів. Сюди ж можливо віднести гіперпротеїнемію при мієломній хворобі. В сироватці крові хворих мієломною хворобою з'являються специфічні “мієломні білки”. Поява в плазмі крові білків, які не існують в нормальних умовах, прийнято називати парапротеїнемією. Часто при цій хворобі концентрація білків в плазмі крові досягає 100-160 г/л.

Інколи при мієломній хворобі аномальні білки плазми перетинають нирковий бар'єр і з'являються у сечі. Ці білки в сечі, які уявляють собою легкі ланцюги імуноглобулінів, одержали назву “білок Бенс-Джонса”. Явища парапротеїнемії можна спостерігати і при макроглобулінемії Вальденстрема. Суть цього синдрому виявляється у тому, що у плазмі крові з'являється білок у досить великій концентрації, з великою молекулярною масою (100000 – 1600000 Да). При хворобі Вальденстрема вміст макроглобулінів в плазмі крові може досягати 80% від загальної кількості білка, яка складає в даному випадку 150-160 г/л.

Гіпопротеїнемія, або зменшення загальної кількості білка у плазмі, відбувається головним чином за рахунок зменшення кількості альбумінів. Виражена гіпопротеїнемія – постійний і патогенетично важливий симптом

нефротичного синдрому. Концентрація загального білка знижується до 30-40 г/л. Гіпопротеїнемія спостерігається також при враженні клітин печінки (гостра атрофія печінки, токсичний гепатит та ін.). Крім того, гіпопротеїнемія може виникнути при різкому збільшенні проникності стінок капілярів, при білковій недостатності (враження шлунково-кишкового тракту, карцинома та ін.). Таким чином, можна вважати, що гіперпротеїнемія, як правило, пов'язана з гіперглобулінемією, а гіпопротеїнемія – з гіпоальбумінемією.

При багатьох захворюваннях дуже часто змінюється відсоткове співвідношення окремих білкових фракцій, хоч загальний вміст білку в сироватці крові залишається в межах норми. Такий стан носить назву диспротеїнемії.

На рис.1 схематично показаний характер змін білкових фракцій сироватки крові при низці захворювань.



Рис.1 Зміни електрофореграми білків сироватки крові при деяких захворюваннях (по Емріху).

Для багатьох хвороб, пов'язаних з загальним запаленням (інфекційні хвороби, ревматизм та ін), відмічається декілька стадій, що, безумовно, відображається і на біковому спектрі крові.

Як відмічалось, α- і β-глобулінові фракції білків сироватки містять ліпопротеїни і глікопротеїни. До складу вуглеводної частини глікопротеїнів крові входять, в основному, наступні моносахариди і їх похідні: галактоза, маноза, рамноза, глюкозамін, галактозамін, нейрамінова кислота і їх похідні (сіалові кислоти). Співвідношення цих вуглеводних компонентів в окремих глікопротеїнах сироватки крові різне.

Найчастіше в здійсненні зв'язку між білковою і вуглеводною частинами молекули глікопротеїнів беруть участь аспарагінова кислота (її карбоксил) і

глікозамін. Дещо рідше зустрічається зв'язок між гідроксилем треоніну або серіну і гексозами або гексозами.

Нейрамінова кислота і її похідні (сіалові кислоти) – найбільш мінливі і активні компоненти глікопротеїнів. Вони займають кінцеве положення у вуглецевому ланцюзі глікопротеїнів і, в основному, визначають властивості даного глікопротеїну.

Глікопротеїни присутні майже у всіх білкових фракціях сироватки крові. При електрофорезі на папері глікопротеїни в великій кількості виявляються в α_1 - і α_2 - фракціях глобулінів. Глікопротеїни, зв'язані з α -глобуліновими фракціями, містять невелику кількість фруктози; в той же час глікопротеїни β - і γ -глобулінів містять фруктозу в значній кількості.

Підвищений вміст глікопротеїнів в крові спостерігається при туберкульозі, плевритах, пневмоніях, гострому ревматизмі, гломерулонефритах, діабеті, інфаркті міокарду, подагрі, а також при лейкозах, мієломі, лімфосаркомі та ін. У хворого ревматизмом збільшення концентрації ліпопротеїнів в крові відповідає тяжкості хвороби. Це пояснюють деполімеризацією основної речовини сполучної тканини, що супроводжується появою глікопротеїнів у крові.

Ліпопротеїни плазми – з характерною структурою складні комплексні сполуки: ліпопротеїдна частка всередині містить жирову краплю, в якій знаходяться неполярні ліпіди (тригліцериди, естерифікований холестерин). До складу оболонки жирової краплі входять фосфоліпіди, білок і вільний холестерин. Основною функцією ліпопротеїнів плазми є транспорт ліпідів в організмі. В плазмі крові людини знайдено декілька класів ліпопротеїнів (див. рис.2)

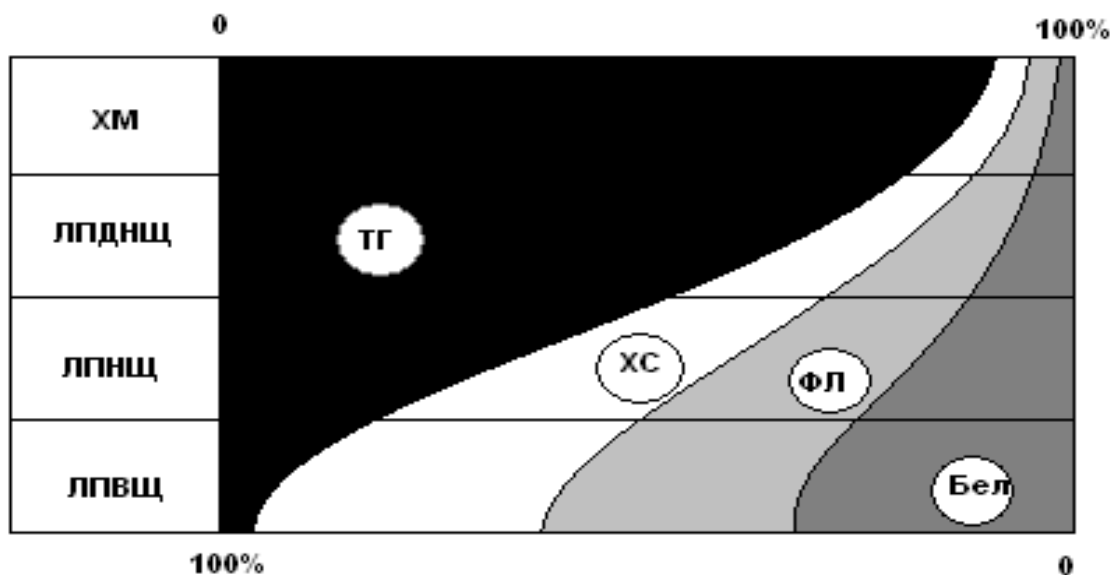


Рис.2. Хімічний склад різних класів ліпопротеїнів (по А.Н.Клімову). Тг – тригліцериди Фл – фосфоліпіди Бел - білки

α -Ліпопротеїни, або ЛПВЩ при електрофорезі на папері пересуваються разом із α -глобулінами. Містять багато білків і фосфоліпідів. Постійна

концентрація їх у плазмі крові здорових людей – 1,25-4,25 г/л у чоловіків і 2,5-6,6 г/л у жінок.

β -Ліпопротеїни, або ЛПНЩ, рухаються разом із β -глобулінами. Найбільш багатий холестерином клас ліпопротеїнів, нормальна концентрація в крові – 3,0-4,5 г/л.

Пре- β -ліпопротеїни, або ЛПДНЩ, знаходяться на ліпідогаммі між α - і β -ліпопротеїнами. Це головна транспортна форма ендогенних тригліцеридів.

Хіломікрони (ХМ). При електрофорезі на папері залишаються нерухомими на старті. Слугують головною формою транспорту екзогенних тригліцеридів.

Слід визначити ще окремі найбільш вивчені і цікаві в клінічному відношенні білки плазми крові.

Гаптоглобін входить до складу α_2 -глобулінової фракції. Відзначається здатністю сполучатись з гемоглобіном. Наслідком такого сполучення є гаптоглобін-гемоглобінний комплекс, який може поглинатися системою макрофагів і тим самим попереджується втрата заліза при його вивільненні з еритроцитів. Встановлено, що є зв'язок між наслідкуванням типів гаптоглобінів і резус-антитілами.

Інгібітори трипсину виявляються при електрофорезі білків в зоні α_1 - і α_2 -глобулінів. Вони здатні інгібувати трипсин і інші протеолітичні ферменти. В нормі їх 2,0-2,5 г/л, але при запальних процесах в організмі, при вагітності і ряді інших станів їх вміст збільшується.

Трансферин відноситься до β -глобулінів. Відзначається здатністю сполучатися з залізом. При цьому забарвлюється у помаранчевий колір, в комплексі залізо знаходиться в трьох-валентній формі. Концентрація в крові – 2,9 г/л. В нормі тільки 1/3 трансферину насичена залізом. Отже, існує певний резерв трансферину, здатного зв'язати залізо. У різних людей є різні типи трансферинів, яких виявлено 19. Вони відрізняються по величині білкової молекули, її амінокислотному складу і числу молекул сіалових кислот, зв'язаних з білком.

Церулоплазмін має голубуватий колір, обумовлений наявністю в його складі 0,32% міді. Володіє слабкою каталітичною активністю, окислюючи аскорбінову кислоту, адреналін, диоксіфенілаланін і деякі інші сполуки. Важливим діагностичним тестом концентрація церулоплазміну є при гепатоцеребральній дистрофії (хвороба Вільсона-Коновалова) – вона значно знижується (при нормі 0,15-0,5 г/л).

С-реактивний білок. Отримав свою назву за здатність вступати в реакцію преципітації з С-полісахаридом пневмококів. В крові здорової людини відсутній, але виявляється при багатьох станах, які супроводжуються запаленням і некрозом тканин. З'являється С-реактивний білок в гострий період захворювання, тому його іноді називають білком «гострої фази». З переходом у хронічну фазу хвороби С-реактивний білок зникає з крові і знову з'являється при загостренні процесу. При електрофорезі білок пересувається разом з α_2 -глобулінами.

Кріоглобулін в крові здорових людей також відсутній і з'являється в ній при патологічних станах. Особлива властивість цього білка – здатність випадати в осад або приймати стан желатину при температурі нижче 37°C. При електрофорезі найчастіше пересувається разом з γ -глобулінами. Виявляється в крові при мієломі, нефрозі, цирозі печінки, ревматизмі, лімфосаркомі, лейкозах і інших хворобах.

Інтерферон. Специфічний білок, який синтезується в клітинах організму внаслідок впливу вірусів. В свою чергу цей білок володіє здатністю пригнічувати розмноження вірусу в клітинах, але не порушує ті вірусні частки, які були раніше. Інтерферон, який утворився в клітинах легко виходить в русло крові, і звідти проникає в тканини і клітини. Інтерферон відзначається специфічністю, хоч і не абсолютною. Наприклад, інтерферон пригнічує розмноження вірусу в культурі клітин людини. Захисна дія інтерферону в значній мірі залежить від співвідношення між швидкостями розповсюдження вірусу і інтерферону в крові і тканинах.

Загальний білок крові, його фракційний склад. Протеїнурія

Визначенням загального білка в плазмі (сироватці) крові починається клініко-біохімічний аналіз хворого. Необхідність цього в основному обумовлена різноманітністю білків і важливою фізіологічною роллю, яку відіграють білки крові в організмі. Дякуючи їм підтримується в'язкість, текучість крові, формується її об'єм в руслі судин, а формені елементи утримуються у завислому стані. Білки крові виконують транспортну функцію – переносять багаточисельні екзо- та ендогенні сполуки. Вони приймають участь в зв'язуванні гормонів (кортизолу, тироксину та ін.), мінеральних складових (кальцію, заліза, міді та ін.), ліпідів (вільних жирних кислот), пігментів (білірубін) і інших біологічно важливих сполук. Білки плазми крові приймають участь в процесі згортання крові, є антитілами. В зв'язку з тим, що білки плазми крові є амфотерними поліелектролітами, вони відіграють значну роль в регуляції кислотно-основного стану організму, Тому зміна їх вмісту в крові веде до порушення гомеостазу і специфічної реактивності організму.

Дані про рівень загального білка в плазмі крові дозволяють зробити більш інформативним трактування протеїнограми – картини розподілу білків за фракціями: дякуючи вираженню розподілу α_1 -, α_2 -, β - та γ -глобулінів не в відносних, а в абсолютних величинах (г/л).

Вміст загального білка в сироватці (плазмі) крові виражається поняттями **«нормо»-**, **«гіпер»-** і **«гіпопротеїнемія»**, які відображають стани, які супроводжуються нормальною, підвищеною і зниженою його концентрацією в крові.

Зміни рівня загального білка можуть бути як абсолютними, так і відносними. Останні зазвичай спостерігаються при збільшенні (зменшенні) об'єму крові (плазми). Наприклад, **гідремія** (навантаження водою, «водне» отруєння) приводить до відносної гіпопротеїнемії, дегідратація (обезвоження) – до відносної гіперпротеїнемії. В зв'язку з цим, при трактуванні показників загального білка в сироватці крові слід обов'язково враховувати порушення

обміну води: дегідратація може приховати абсолютну гіпопротеїнемію, оскільки при даному співпаданні концентрація білка в плазмі крові не завжди відрізняється від норми. Звідси витікає, що причиною гіпо- і гіперпротеїнемії може бути не тільки порушення рівноваги між надходженням, біосинтезом білка, його катаболізмом і видаленням, але і зміною об'єму внутрішньосудинного простору за рахунок рідинної (водної) частини крові. Зрозуміло, що патогенез цих змін різний.

Для диференціації абсолютних і відносних змін вмісту білка в плазмі досить визначити показник гематокриту, або, ще краще, визначити об'єм крові. Уяву (орієнтовну) про зміни в балансі води можливо отримати і на основі підрахунку кількості еритроцитів і визначення рівня гемоглобіну.

Гіпопротеїнемія. В переважній більшості захворювань внутрішніх органів, які супроводжуються зрушенням в обміні білків, спостерігається гіпопротеїнемія, яка носить, звичайно, вторинний, придбаний характер.

Абсолютна гіпопротеїнемія виявляється при патологічних синдромах, які проявляються в зниженні біосинтезу, посиленні катаболізму, аномальних втратах, патологічному розподілі білка між окремими секторами організму. Абсолютну гіпопротеїнемію, яка виникає, як правило внаслідок зниження альбуміну, обумовлюють:

1. Недостатнє надходження білка з їжею внаслідок голодування, недоїдання, звуження стравоходу (опік, пухлина), порушення цілісності і функції шлунково-кишкового тракту, при тривалих запальних процесах в стінці кишечника і інших станах, які супроводжуються погіршенням перетравлення і всмоктування білків. У хворих ускладненою виразковою хворобою шлунку відмічається зниження концентрації загального білка в плазмі. Видалення 2/3 шлунку (за Більрот-1) погіршує гіпопротеїнемічний синдром, який обумовлений переважним зменшенням вмісту альбуміну. Білково-амінокислотний обмін залишається порушеним і на 17-20 добу після операції. Навіть після 4-7 місяців після резекції шлунку знижений рівень загального білку у більшості хворих не нормалізується.
 - a. Виражена гіпопротеїнемія виявлена у хворих гострим панкреатитом, не дивлячись на те, що в багатьох з них встановлено подвійне зменшення об'єму крові.
 - b. Співпадіння абсолютної гіпопротеїнемії з гіповолемією інколи приховує зменшення кількості білку в руслі судин під маскою значень його концентрації, які не відрізняються від нормальних. Для того, щоб зробити висновок про загальну концентрацію білка в руслі судин, слід показник концентрації загального білка (г/л) помножити на об'єм плазми у судинному руслі (л). Використання такого методичного підходу в дослідженні білкового обміну показує, що не дивлячись на виявлення в більшості випадків відсутності змін з боку показників концентрації загального білка в значної кількості хворих перитонітом, абсолютний вміст

циркулюючого в крові білка зменшується внаслідок характерної для цього захворювання гіповолемії, зменшення об'єму плазми.

- с. Зниження рівня загального білка в плазмі, або тенденція розвитку гіпопротеїнемії, спостерігається також при порушенні всмоктуванні білкової їжі і дисбалансу в її амінокислотному складі.
2. Пригнічення протеосинтетичної функції печінки, яке спостерігається при паренхіматозних гепатитах, цирозах печінки, а також інтоксикаціях, обумовлених тривалими нагнійними процесами, злоякісними новоутвореннями, тиреотоксикозом, дією деяких хімічних речовин. Внаслідок зміни процесу синтеза і ресинтеза протеїнів у хворих перитонітом відбувається прогресуюче зниження загального білка у судинному руслі, причому протягом дуже малого проміжку часу. Теж саме спостерігається у хворих по мірі розповсюдження пухлинного процесу.
3. Підвищений розпад білків в організмі, визваний потребою в заміщенні великих енергозатрат, пов'язаних з дефіцитом пластичних ресурсів. Відмічається при термічних опіках і опіковій хворобі, злоякісних новоутвореннях, гіпертермії, порушенні ендокринного балансу внаслідок гіперкортизолемії, гіпертиреозидизму та ін. Надмірний розпад білка разом з його підвищеними втратами постійно супроводжує розвиток кишкової непрохідності.
4. Втрата білка організмом: з кров'ю при гострих і хронічних кровотечах, з сечею при нефротичному синдромі (нефрозі, амілоїдозі нирок).
5. Переміщення альбумінів в інші тканини при різко збільшеній проникливості капілярної стінки: утворення обширних набряків, перехід в третій простір – при формуванні ексудатів, випотнів в серозній порожнині, в отвір кишечника (при завороті кишок, перитоніті), на опікову поверхню. Так, у кожного другого хворого з непрохідністю кишечника відмічається знижений вміст загального білка в крові. Найбільший відсоток випадків гіпопротеїнемії виявлений у страждаючих странгуаліційною непрохідністю. В особливо великій кількості – до 300 мг на добу, білок втрачається з організму при вузлоутворенні. Відзначене у хворих гострим панкреатитом зменшення кількості циркулюючого білка плазми також в більшості пов'язане з його переміщенням в забрюшинну клітковину, серозні і інші порожнини. Втрату білка розглядають як постіну ознаку метаболічних порушень при перитоніті. Гіпопротеїнемія супроводжує початок захворювання, періоди проведення операцій і післяопераційного стану. Вона поглиблюється при втраті білка з вмістом тонкої кишки, постіному його видаленні в процесі всмоктування: з шлунковим соком, гнійним ексудатом. Зниження концентрації в крові альбуміну, і, як наслідок, онкотичного тиску, приводить до виходу рідини в міжклітинний простір і розвитку набряків. При деяких патологічних ситуаціях вміст альбуміну в плазмі знижується до рівня 10 г/л.
6. Дефектопротеїнемії, тобто порівняно рідкісні, спадково обумовлені порушення в синтезі білків крові. До них відносяться: альбумінемія, гамаглобулінемія, спадкова відсутність або недостатність вмісту в плазмі

крові церулоплазміну і т.д. Пов'язана з спадковим порушенням біосинтезу білка первинна ідіопатична (есенціальна) гіпопротеїнемія супроводжується анемією, набряками, діареєю.

7. Особливості фізіологічного стану організму. Знижений рівень білка в крові відмічається і при деяких фізіологічних станах: наприклад, у жінок в останні місяці вагітності і в період лактації.

Відносна гіпопротеїнемія. Відомо, що інтенсивні перфузії розчину глюкози і інших фізіологічних рідин, а також анурія призводять до зниження концентрації білка внаслідок збільшення об'єму рідкої частини крові. Теж саме спостерігається у випадку водного отруєння, порушення нейрогуморальної регуляції обміну води, визваної гіперсекрецією антидіуретичного гормону і альдостерону, при зрушеннях в регуляції кислотно-лужного стану (метаболічний ацидоз).

Гіперпротеїнемія. Цей патологічний стан супроводжує різноманітні захворювання різних органів та тканин, які розглядаються нижче.

Абсолютна гіперпротеїнемія – зазвичай з'являється при посиленому біосинтезі глобулінів в клітинних елементах системи фагоцитуючих моноцитів (внаслідок їх інфекційного або токсичного подразнення) при хронічних загальних процесах, в тому числі і при хронічних поліартритах, які протікають тривалий час. При цьому спостерігається значне (до 120 г/л) збільшення концентрації загального білка у випадку появи вогнищ парапротеїнів, наприклад, при мієломній хворобі (плазмоцитомія), макроглобулінемії Вальденстрема.

Відносна гіперпротеїнемія. Нерідко відмічається у хірургічних хворих. Найчастіше розцінюється як ознаки обезводнення організму і тому має відносний характер. Втрати рідини при тяжких опіках, генералізованому перитоніті, блювоті, профузних поносах, холері, нецукровому діабеті, хронічному нефриті в стадії поліурії, посиленому потовиділенні і респіраторному ацидозі також призводить до відносної гіперпротеїнемії.

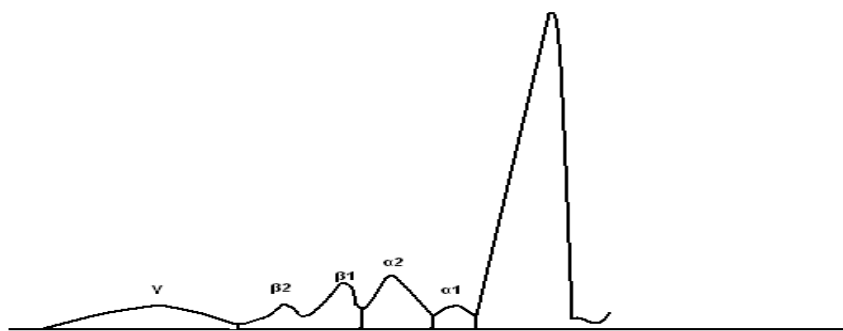
Підвищена концентрація загального білка, яка спостерігається при перитоніті завдяки вираженій гіповолемії дає невірну уяву про збільшення його вмісту в судинному руслі, приховуючи характерний для цієї патології стан.

Гіперпротеїнемія майже завжди пов'язана з гіпоальбумінемією, тоді як гіперпротеїнемія – з гіперглобулінемією, в цьому зв'язку велике значення часто має дослідження не тільки вмісту загального білка плазми крові, але і його білкового спектру.

Серед багатьох методів дослідження білкового спектру крові найбільш вживаним є електрофорез, насамперед електрофорез на пластинках агарози. Основні білкові фракції, які виявляються на носії – альбумін, альфа1-, альфа2-, бета- і гамма-глобуліни.

На рис. 3 показана типова денситограма білків сироватки крові практично здорової людини, розділених з використанням вищезгаданого методу.

Рис. 3. Типова денситограма крові практично здорової людини



Для діагностики хвороб внутрішніх органів велике значення має комплексна оцінка змін всіх виявлених білкових фракцій.

Прийнято виділяти декілька, нерідко різних по патофізіологічній природі типів змін вмісту основних ('класичних') білкових фракцій, які відображають як дис-, так і парапротеїнемії. Окремі типи електрофореграм характерні наступними зрушенням у білкових фракціях (табл.1)

№	Тип протеїнограми який відповідає	Альбуміни	Глобуліни			
			$\alpha 1$	$\alpha 2$	β	γ
1	Гострим загальним процесам	↓	↑	↑	→	→
2	Хронічному запаленню	↘	↗	↑	→	↑
3	Нефротичному симптомокомплексу	↓	→	↑	↑	↘
4	Злоякісним утворенням	↓	↑	↑	↑	↑
5	Гепатитам	↘	→	→	↗	↑
6	Цирозам печінки	↓	→	↓	↑	↑
7	Обтураційній жовтяниці	↘	→	↗	↗	↗
8	Бета-глобуліновим плазмоцитомам	↓	↓	↓	↑	↓
9	Гама-глобуліновим плазмамам	↓	↓	↓	↓	↑
10	Альфа-2-глобуліновим плазмоцитомам	↓	↓	↑	↓	↓

Табл. 1. Типи протеїнограм, які відповідають певним видам захворювань внутрішніх органів

Протеїнурія

Далі розглянемо фактори, які обумовлюють зміну екскреції білкових фракцій з сечею.

В сечі практично здорових людей міститься настільки незначні кількість білка ('сліди білка'), що він виявляється лише спеціальними якісними пробами. Тому практично можна вважати, що нормальна сеча білка не містить.

Поява білка в сечі відображає порушення балансу між процесами його фільтрації і реабсорбції.

Поява білка в сечі трапляється при низці захворювань нирок. Прийнято виділяти органи (які визвані враженням паренхіми нирок, захворюваннями запального характеру, нефротичним синдром, іноді спактовими дефектами нефрону) і функціональні ниркові протеїнурії, які пов'язані із збільшенням проникності ниркового фільтру, або уповільненням його току крові в клубочках (під впливом переохолодження, фізичної і психічної перенапруги).

Преренальна протеїнурія пов'язана з посиленням розпадом білків тканин, вираженим гемолізом.

Ренальна протеїнурія обумовлена патологією нирок.

Постренальна протеїнурія визвана патологією сечовивідних шляхів і найчастіше зональною ексудацією.

Постійна протеїнурія спостерігається на протязі декількох місяців, тоді як періодична спостерігається навіть при відсутності патології нирок (наприклад, при явній інтоксикації, лихорадці).

Прийнято диференціювати три ступеня вираженості протеїнурії: помірну - при добовій втраті білка до 1 г, середню – від 1 до 3 г і виражену – більше 3г.

Виявлення в сечі білка з відносно великою молекулярною масою свідчить про відсутність вибіркової ниркового фільтру і запальне його ураження (неселективна протеїнурія). Ідентифікація в сечі окремих білкових фракцій і індивідуальних білків дозволяє думати про селективну протеїнурію:

- підвищення проникності гломерулярного фільтру для білків плазми (**гломерулярна протеїнурія**)
- порушення каналцевої реабсорбції профільтрованих білків (тубулярна протеїнурія)
- парапротеїнемія і/або збільшення вмісту білків крові, які постійно виявляються.
- зміна ниркової гемодинаміки
- надходження у великій кількості в тубулярну рідину білків епітелію каналців і сечовивідних шляхів.

При гломерулярній протеїнурії загальна кількість білка в добовому об'ємі сечі може змінюватися в межах від 1 до 3-4г.

При переважній більшості хвороб в сечі переважають білки з середньою молекулярною масою (альбумін, трансферин, продукти деградації фібриногену та ін.). Особлива увага приділяється дослідженню альбуміну в сечі

80 Клініко-біохімічні критерії обміну білків в нормі і патології. Амінокислотний пул крові (мікроальбумінурії). Мікроальбумінурія (МА) найбільш часто виявляється у пацієнтів з гіпертонічною хворобою.

Альбумінурія є характерним клініко-біологічним симптомом цукрового діабету, хоча механізм виникнення її на різних стадіях розвитку хвороби може бути різним.

Отже, мікроальбумінурію можна розцінювати як об'єктивну клініко-лабораторну ознаку тяжкості протікання цукрового діабету, як передвісник можливого виникнення при цій хворобі ниркової недостатності діабетичної нефропатії і як сигнал приєднання до неї патології серцево-судинної системи.

Мікроальбумінурія слугує лабораторно-діагностичним шестом при еклампсії вагітних.

Особлива увага приділяється дослідженню білкового спектру сечі при нефротичному синдромі, який незалежно від причини завжди проявляється однотипно масивною протеїнурією, пато- та диспротеїнемією, гіперлідемією, зокрема гіперхолестеринемією і набряками. При цьому основною ознакою є протеїнурія, яка перевищує 3,0-3,5 г/добу і досягає 5,0 - 10,0-15 г/добу, а іноді і вище 100 грам на добу. Переважна частина при цьому (до 80-90%) білка сечі припадає на альбуміни.

Залишковий азот крові та його фракційний склад. Клініко-діагностичне значення в сироватці крові та в сечі вмісту сечовини, креатину креатиніну

Під залишковим азотом розуміють той небілковий азот, який знаходиться в надосадковій рідині, яка залишається після осідання білків сироватки крові, трихлороцтовою, фосфорномолібденовою або фосфорновольфрамисловою кислотами. До складу фракції залишкового азоту входять азот сечовини (40-60%), азот амінокислот (до 25%), креатиніну (2,5-7,5%), креатиніну (5%), сечової кислоти (4%) і інших продуктів обміну білків (за виключенням азоту гетероциклічних структур).

Різниця між усім залишковим азотом та азотом сечовини представляє собою так званий резидуальний азот. Основна фракція резидуального азоту – вільні амінокислоти.

Клініко-діагностичне значення дослідження вмісту азоту в сироватці крові

Підвищення концентрації залишкового азоту вище 28-35 ммоль/л (0,40-0,50 г/л) позначається терміном 'гіперазотемія' (обічно використовується термін азотемія без гіпер-, так як сам термін азотемія говорить об избытке азота). Гіперазотемія може бути абсолютною (пов'язаною з дійсним накопиченням в крові компонентів залишкового азоту) і відносною (обумовленою, наприклад, обезводненням, дегідратинією).

Абсолютна **гіперазотемія** спричинюється або посиленням утворенням (продукцією) компонентів залишкового азоту (внаслідок активації протеолізу,

катаболізму білка) або затримкою (ретенцією) азотистих шлаків, обумовленого як порушенням видільної функції нирок при їх патології (ниркова ретенційна гіперазотемія) так і зменшенням фільтрації в клубочках нирок внаслідок погіршення центральної гемодинаміки (у хворих з компенсацією серцево-судинної діяльності).

Ретенційна **гіперазотемія** спостерігається при порушенні видільної здатності нирок, тому визначення залишкового азоту має велике значення для клініко-лабораторної діагностики захворювань нирок (гострого і особливо хронічного нефриту).

В багатьох випадках слід визначити вміст залишкового азоту в динаміці розвитку хвороби. Так, визначення в крові залишкового азоту може мати значення для диференційної діагностики деяких форм гіпертензії: при нирковій рівень залишкового азоту підвищений, тоді як при есенціальній – в межах норми.

Продукційна **гіперазотемія**, як правило супроводжує процес посиленого розпаду білків. Вона супутня патологічним станам, які супроводжуються синдромом ендогенної інтоксикації пролонгованого стресу (часто в післяопераційному періоді). Відмічається при інфекційних хворобах (сипному тифі, дифтерії, скарлатині, крупозній пневмонії – які протікають з лихоманкою і прогресуючим розпадом тканин).

При продукційній **гіперазотемії** рівень залишкового азоту підвищений з перших днів хвороби і продовжує зростати до останньої доби прояву високої температури тіла. Теж саме відмічається при туберкульозі, цукровому діабеті, ракових хворобах, тяжких цирозах печінки.

Продукційна **гіперазотемія** виявляється при недостатній діяльності серцево-судинної системи, хірургічному шоці, опіках, шлунково-кишкових кровотечах, гострій кишковій непрохідності, перитоніті, гіпертрофії передстатевої залози, гіперфункції наднирників, гострому інфаркті міокарду, подагрі, отруєнні гепатотронними і іншими отрутами.

Відносна **гіперазотемія** спостерігається у хворих з явищами згущення крові при профузних поносах, посиленому потовиділенні і інших сигналах, які супроводжуються порушенням водного балансу.

Поєднанням абсолютної і відносної продукційної і ретенційної **гіперазотемії** супроводжується патологічний синдром, який протікає досить тяжко і часто виникає при одночасному враженні печінки і нирок (гепаторенальний синдром).

По мірі накопичення при протеолізі пептидів (багато з яких відіграють роль ендогенних токсинів) змінюється каналцева і судинна проникливість, посилюється агрегація формених елементів крові, погіршується мікроциркуляція. В умовах обезводнення тканин значно посилюються процеси розпаду білків. Поєднання згущення крові і накопичення в ній компонентів залишкового азоту підвищує її колоїдно-осмотичний тиск. Зменшення гідростатичного тиску, яке супроводжує цей процес, приводить в свою чергу, до зниження фільтрації в клубочках нирок і як наслідок, до зменшення їх видільної функції. В результаті при масивних травмах, септичних інфекціях виникає ниркова недостатність, яка відзначається дуже швидким темпом наростання **гіперазотемії**.

Гіперазотемія змішаного типу особливо часто виникає в хірургічній практиці, при цьому продукційна гіперазотемія призводить до розвитку ретенційної, а ретенційна обов'язково супутня продукційній. Встановлено, що порушення видільної функції нирок уможливорює активацію протеаз і розпаду білків.

Гіпоазотемія відмічається при недостатньому харчуванні і в деяких випадках вагітності.

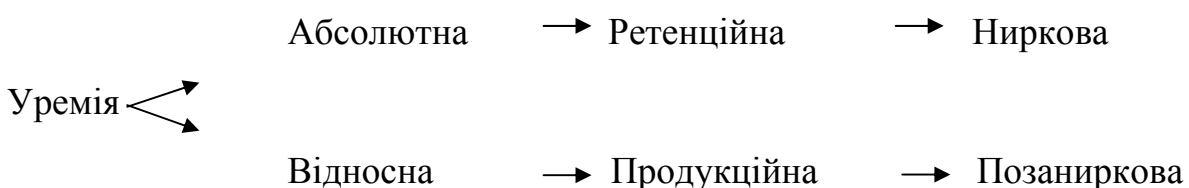
Визначення концентрації сечовини в сироватці крові і в сечі і його клініко-діагностичне значення

Норма вмісту сечовини: в сироватці крові 2,50-8,33 ммоль/л, в сечі 333,0-582,8 ммоль/добу. При трактуванні результатів аналізу слід виходити з того, що дієта з низьким вмістом білка здатна зменшити концентрацію сечовини в крові до 2,0 ммоль/л і навпаки при надмірному харчуванні білковими продуктами рівень сечовини звичайно підіймається до верхньої межі норми. Дієта, збіднена іонами хлору, також часто призводить до підвищення концентрації сечовини. Тому більшість авторів вважають коливання концентрації сечовини від 2,50 до 8,33 ммоль/л фізіологічно виправданим.

Однак існує думка, що підвищення рівня сечовини в крові вище 6,66 ммоль/л вже потрібно розглядати як ознаку патології.

Фізіологічний стан організму, пов'язаний з вагітністю, часто супроводжується зменшенням концентрації сечовини в крові до рівня нижче 3,33 ммоль/л. Сама сечовина мало токсична, але токсичні іони калію які накопичуються з нею, похідні гуанідину (гуанідиноцтова кислота, метилгуанідин), середньо молекулярні пептиди і деякі інші сполуки. Тому її розглядають в якості маркеру інтоксикації. Будучи здатною відносно легко проходити через мембрани клітин (в тому числі і еритроцитів), і являючись осмотично активною речовиною, вона разом з тим в багато чому обумовлює порушення водно-сольового обміну, сприяючи погіршенню функціонування життєво важливих органів і систем (перш за все серцево-судинної), викликаючи затримку води в тканинах.

Збільшення концентрації сечовини, яке супроводжується, як правило явним клінічним синдромом інтоксикації, зветься уремією. Подібно гіперазотемії, уремія буває абсолютною і відносною, продукційною і ретенційною (див.схему нижче).



В клініці внутрішніх хвороб визначення концентрації сечовини набуло найбільшого значення для діагностики хвороб нирок, які можуть обумовити, як видно із схем ретенційну (абсолютну) уремію.

Встановлено, що за кількістю сечовини, яка затримується в крові, можна скоріше розпізнати початкову стадію ниркової недостатності, ніж за величиною сумарного залишкового азоту, оскільки сечовина становить якраз ту її частину, яка в найбільшій мірі затримується в крові при погіршенні функції нирок.

До того ж визначити концентрацію сечовини технічно простіше, ніж залишкового азоту. При нирковій патології її вміст зростає значно скоріше, ніж всіх інших компонентів залишкового азоту. Якщо в нормі рівень азоту сечовини складає біля 50% залишкового азоту сироватки, то при нирковій недостатності він може збільшуватись до 90%. Тому для диференційної діагностики хвороб нирок і глибоких дистрофічних уражень печінки використовують коефіцієнт Urea ratio.

$Urea\ ratio = (\text{азот сечовини} / \text{залишковий азот}) * 100\%$. В нормі цей показник коливається від 46 до 60% і більше, а при тяжких формах гепатиту значно знижується внаслідок порушення сечовиноутворюючої функції печінки. У хворих гострим нефритом уремія настає скоріш як правило, буває наслідком анурії, затримки азотистих сполук в крові, спостерігається звичайно при гломерулонефритах і майже не виявляється при нефрозах. Визначення вмісту сечовини (або залишкового азоту) в сироватці крові дозволяє диференціювати уремічні і псевдоуремічні стани.

Так, якщо при клінічній картині уремічної лихоманки у хворого гіпертензією вміст залишкового азоту або сечовини в крові не виходить за межі норми, стає зрозумілим що це не уремія. У хворих з нирковою гіпертензією рівень сечовини в крові підвищений, при есенційній гіпертензії концентрація цієї фракції залишкового азоту крові не виходить за межі фізіологічних коливань. Знання динаміки змін вмісту сечовини в крові дозволяє скласти уяву про прогноз захворювання; він, як правило поганому при швидкому збільшенні рівня сечовини в організмі.

Позапечінкова ретенційна уремія спостерігається при нефролітазі, рефлкторній анурії, пухлинах передстатевої залози, пухлинах і камінцях в вивідних сечових шляхах, серцевій декомпенсації..

Продукційна уремія виявляється при патологічних станах, які супроводжуються посиленням розпадом білків: перетонії, закупорці кишок, опіках, гострій жовчній атрофії печінки, пухлинах передстатевої залози, гемолітичній жовтянці, злоякісній анемії, лейкемії, холері.

Уремія - Хворобливий стан людини, спричинюваний самоотруєнням організму нітрогеновими продуктами обміну речовин внаслідок порушення діяльності нирок

Дизентерія, яка супроводжується обезводженням, обумовлює відносну уремію. Оскільки сечовина утворюється головним чином в печінці при тяжких її ураженнях, рівень сечовини в крові звичайно зменшується, а концентрація залишкового азоту не змінюється або збільшується.

Підвищений вміст сечовини в сечі відмічається у хворих зі злоякісною анемією, лихоманкою; знижений – у хворих уремією, нефритом, ацидозом,

84 Клініко-біохімічні критерії обміну білків в нормі і патології. Амінокислотний пул крові
паренхіматозною жовтянцею, гострою дистрофією печінки, прогресуючим церозом.

Рівень сечовини в біологічних рідинах може змінюватися і під впливом прийому лікарських препаратів. До його збільшення в сироватці крові приводять анаболічні стероїди бутадіон, допегіт, альдомет.

Визначення вмісту креатиніну і креатину в крові і в сечі

Креатин і креатинін – важливі компоненти залишкового азоту, в синтезі яких приймають участь амінокислоти аргінін, гліцин, метионін.

Крім ендogenous креатиніну в організмі присутній і екзогенний креатинін, який надходить в організм з м'ясними харчами. Відомі тепер методи встановлення вмісту креатиніну і креатину в біологічних рідинах можна розподілити на дві основні групи: неферментативні (колориметричні і кінетичні, основані на реакції утворення забарвленого комплексу з пікриновою кислотою) і ферментативні. Найбільше розповсюдження одержав спосіб, оснований на реакції, суть якої зводиться до того, що при добавленні до креатиніну пікринової кислоти в лужному середовищі з'являється оранжево-червоне забарвлення, обумовлене утворенням таутомера пікрону креатиніну. Цю реакцію ввів в біохімічну практику Фомін в 1904 р. З тих пір вона широко застосовується дякуючи простоті виконання аналізу.

Клініко-діагностичне значення дослідження концентрації креатиніну і креатину в сироватці крові і в сечі

Креатинін. Концентрація креатиніну в плазмі крові практично здорових людей відносно постійна, її показники, які частково залежать від методу дослідження, зазвичай складають близько 88 мкмоль/л у чоловіків і 70,4 мкмоль/л у жінок. У дітей вона нижча, ніж у дорослих: у новонароджених - 27-28; у дітей 1 року - 16-35; підлітків - 44-88 мкмоль/л.

Збільшення рівня креатиніну в плазмі крові обумовлене як посиленням утворенням, так і уповільненням його метаболізму в організмі.

Продукційна гіперкреатинінемія трапляється при кишковій непрохідності, гострій жовчній атрофії печінки, декомпенсації діяльності серцево-судинної системи, пневмонії, лихоманці. Збільшення вмісту креатиніну в крові може бути обумовленим зміною ендокринного балансу: при тяжко протікаючому цукровому діабеті, акромегалії і гігантизмі, гіпертиреозі, гіперфункції наднирників, а також голодуванні, посиленій м'язовій роботі.

Ретенційна гіперкреатинінемія обумовлена порушенням функції нирок будь-якого походження і звичайно спостерігається при зниженні клубочкової фільтрації, ураженні запальними (і інш.) процесами паренхіми нирок, обтурації сечових шляхів нижче рівня нирок. Розглядається як рання ознака недостатності нирок. Постійне підвищення рівня креатиніну в крові, як і підвищення концентрації сечовини в ній вказує на порушення функції ниркового фільтру.

Зниження рівня креатиніну в плазмі крові корелює з зменшенням маси м'язів з віком, воно спостерігається при вагітності, досягаючи максимуму в першому і другому триместрі.

В сечі крім ендogenous міститься екзогенний креатинін, який надходить в організм разом з їжею.

Збільшення виділення креатиніну з сечею відбувається при великому фізичному навантаженні, лихоманці, гострих інфекційних захворюваннях, тяжкому запаленні легень, деструктивному враженні інших паренхіматозних органів.

Збільшення секреції з сечею цього компоненту спостерігається і при багатьох ендокринних хворобах (акромегалії, гігантизмі, цукровому діабеті).

Зменшення виведення креатиніну з сечею спостерігається при голодуванні, тривалій відсутності рухливості хворих, паралічах, анемії, лейкозах, гострому дерматоміозиті, гіпертиріозі, хронічних захворюваннях нирок дегенеративного характеру.

Креатин в сечі здорової людини, як правило відсутній, поява його в сечі називається креатинурією. Виникнення її не завжди пов'язане з якоюсь патологією. Так у маленьких дітей і підлітків сеча завжди містить креатин. В певних кількостях він виявляється в сечі при безвуглеводній дієті, вживанні в їжі великої кількості сирого м'яса, тяжкому білковому голодуванні, заживленні обширних переломів, значних оперативних втручань, вагітності, після пологів (при інволюції матки).

Відносно великий вміст креатину в сечі виявляється також при деяких захворюваннях, пов'язаних з порушенням обміну креатину (діабеті, гострій пароксизмальній міоглобулінемії). Креатинурія зазвичай спостерігається при посиленому розпаду тканин.

Гіперкреатинемія спостерігається при некрозі або атрофії скелетних м'язів, непрохідності кишечника, опіках, переломах, інфекціях, ендокринних порушеннях, декомпенсації функції серцево-судинної системи, нирок, ревматоїдному артриті, лейкозах.

Характерно, що враження периферичної нервової системи, яка інервує м'язову тканину не супроводжується збільшенням рівня креатину в крові (тест диференційної діагностики).

Паралельне визначення у одного і того ж пацієнта концентрації креатиніну (або сечовини) в крові і в сечі значно розширює можливості дослідження функціонального стану нирок.

Для діагностики враження нирок набагато більше значення має розрахунок кліренсу креатиніну (сечовини). Визначають його виходячи з показників концентрації цих компонентів залишкового азоту в крові і сечі (геморенальні проби).

АМІНОКИСЛОТНИЙ ПУЛ КРОВІ

В органах і тканинах знаходиться невелика кількість вільних амінокислот. Після всмоктування амінокислоти потрапляють через порталну систему в печінку, яка є головним органом обміну амінокислот в організмі. Периферичні тканини з різною ефективністю поглинають циркулюючі в крові амінокислоти. Крім амінокислот їжі, фонд вільних амінокислот в організмі поповнюється за рахунок розпаду тканинних білків і синтезу замінних амінокислот.

Частина вільних амінокислот включається в анаболічні процеси, тобто використовується різними тканинами для синтезу ферментів, структурних білків та фізіологічно активних сполук білкової і пептидної природи. Амінокислоти, які не включені в анаболічні процеси, приймають участь в катаболічних реакціях. Певна частина безазотистого вуглецевого скелету амінокислот включається в глюконеогенез (синтез глюкози з неуглеводних компонентів) та кетогенез (утворення кетонових тіл).

Таким чином, загальний пул амінокислот крові складається з потоків, які забезпечують надходження вільних амінокислот та їх використання в різноманітних анаболічних та катаболічних процесах (рис. 4).



Рис. 4 Джерела надходження вільних амінокислот та шляхи їх утилізації.

Генетичні порушення обміну амінокислот

У людини відомо багато різних спадкових порушень амінокислотного обміну (табл. 2). В основі всіх цих порушень (більшість з них зустрічається рідко) лежить мутація якого-небудь гена, який кодує певний фермент, що приймає участь у перетвореннях даної амінокислоти. Під контролем мутантного гена синтезується дефектний фермент, у якого в тій чи іншій ключовій ділянці поліпептидного ланцюга може стояти «неправильна» амінокислота; крім того, який-небудь амінокислотний залишок може бути втрачений або, навпаки, включений в поліпептидний ланцюг. В одних випадках такий спадково змінений фермент неактивний зовсім, а в інших проявляє лише частину характерної для нього активності, оскільки характерне для нього K_M (або V_{max}) не відповідає нормі. Більшість вроджених порушень амінокислотного обміну у людини пов'язане з накопиченням тих чи інших проміжних продуктів цього обміну.

Таблиця 2. Деякі спадкові порушення обміну амінокислот

Хвороба	Дефектний фермент
Фенілкетонурія	Фенілаланін-4-монооксигеназа (фенілаланінгідроксилаза) Дигідробіоптеринредуктаза Дигідробіоптеринсинтетаза
Алкаптонурія	Гомогентизат-діоксигеназа
Тирозинемія I і II	Фумарилацетатгідроксилази Тирозинамінотрансфераза
Альбінізм	Тирозиназа
Первинна гіпероксалурія	Гліоксилаттрансфераза
Гомоцистинурія	Цистатіонінсинтетаза
Цистатіонурія	Цистатіонінліаза
Хвороба «кленевого сиропу»	Дегідрогеназа α -кетокислот з розгалуженим вуглецевим ланцюгом
Гіпервалінемія	Валінамінотрансфераза
Ізовалеріанова ацидемія	Ізовалеріл-СоА-дегідрогеназа
Гістидинемія	Гістидаза
Гіперпролінемії	Ферменти розщеплення проліну

Спадкові порушення, пов'язані з метаболізмом фенілаланіну та тирозину

Фенілкетонурія

Фенілкетонурія (ФКУ) - дефект метаболізму амінокислоти фенілаланіну (ФА). У нормі в печінці незамінна амінокислота ФА розщеплюється по тирозиновому шляху ферментом фенілаланінгідроксилазою. Цей фермент в якості кофактора містить тетрагідробіоптерин і крім печінки також присутній в лейкоцитах.

Можна виділити три причини ФКУ:

- 1) Дефіцит або відсутність фенілаланінгідроксилази (фенілкетонурія тип I, класична фенілкетонурія);
- 2) Недостатність дигідробіоптеринредуктази, що супроводжується порушенням відновлення тетрагідробіоптерину (фенілкетонурія типів II та III);
- 3) Недостатність дигідробіоптеринсинтетази, що супроводжується порушенням синтезу дигідробіоптерину (фенілкетонурія типів IV та V).

В результаті цих причин блокується гідроксилування ФА до тирозину, що призводить до накопичення ФА в біологічних рідинах організму та до активації альтернативних метаболічних шляхів, в ході яких утворюються фенілпіруват, фенілліктат, фенілацетат та багато інших метаболітів, які в нормі виявляються в незначних кількостях (рис. 5).

Клінічні прояви ФКУ

Перші клінічні ознаки ФКУ з'являються на 2-6-му місяці життя. У пацієнтів із ФКУ розвиваються неврологічні порушення, ураження шлунково-кишкового тракту (блювота, зниження апетиту), шкіри (дерматити, екзема,

88 Клініко-біохімічні критерії обміну білків в нормі і патології. Амінокислотний пул крові
гіпопигментація шкіри), нирок (обумовлене виведенням патологічних продуктів метаболізму, що супроводжується специфічним запахом сечі), а також інші клінічні прояви.

При класичній ФКУ рівень ФА в крові досягає більше 0,90 ммоль/л. У сечі присутні продукти альтернативного шляху метаболізму ФА.

У хворих знижена концентрація катехоламінів, які відіграють важливу роль у функціонуванні ЦНС. Це пов'язано з тим, що великі концентрації ФА обмежують транспорт тирозину та триптофану через гематоенцефалічний бар'єр, а також ФА та продукти його побічних шляхів метаболізму впливають на декарбоксилазу 3,4-дигідроксифенілаланіну (ДОФА), яка необхідна для синтезу дофаміну, норадреналіну та адреналіну (рис. 3). Все це має велике значення в патогенезі ФКУ.

При ФКУ тирозин стає незамінною амінокислотою, оскільки він утворюється лише з ФА, а цей шлях заблокований. Дефіцит тирозину та підвищена концентрація ФА, який являється конкурентним інгібітором тирозинази (ключового ферменту синтезу меланіну), являються причинами гіпопигментації. Біляве волосся, світлі очі та бліда шкіра спостерігаються у багатьох хворих на ФКУ.

Специфічний запах сечі та поту (затхлий, мишачий, пліснявий), пов'язаний із високим рівнем фенілоцтової кислоти.

У разі недостатності дигідробіоптеринредуктази порушується відновлення тетрагідробіоптерину. Тетрагідробіоптерін необхідний для реакцій гідроксилування не тільки ФА, але також тирозину та триптофану, тому при недостатності цього кофермента порушується метаболізм усіх трьох амінокислот, в тому числі й синтез нейромедіаторів. Захворювання характеризується тяжкими неврологічними порушеннями і ранньою смертю.

Діагностика ФКУ

На першому етапі діагностики (первинна діагностика) ФКУ слід використовувати масовий скринінг новонароджених, який проводять на 4-5-й день у доношених і на 7-й день у недоношених немовлят. Для підтвердження діагнозу аналіз необхідно проводити кілька разів. Якщо в перші тижні після народження виявити ФКУ і перевести дитину на дієту з дуже низьким вмістом ФА, то можна уникнути порушення розумового розвитку. Дієта несмачна, і тому основною проблемою може бути її дотримання.

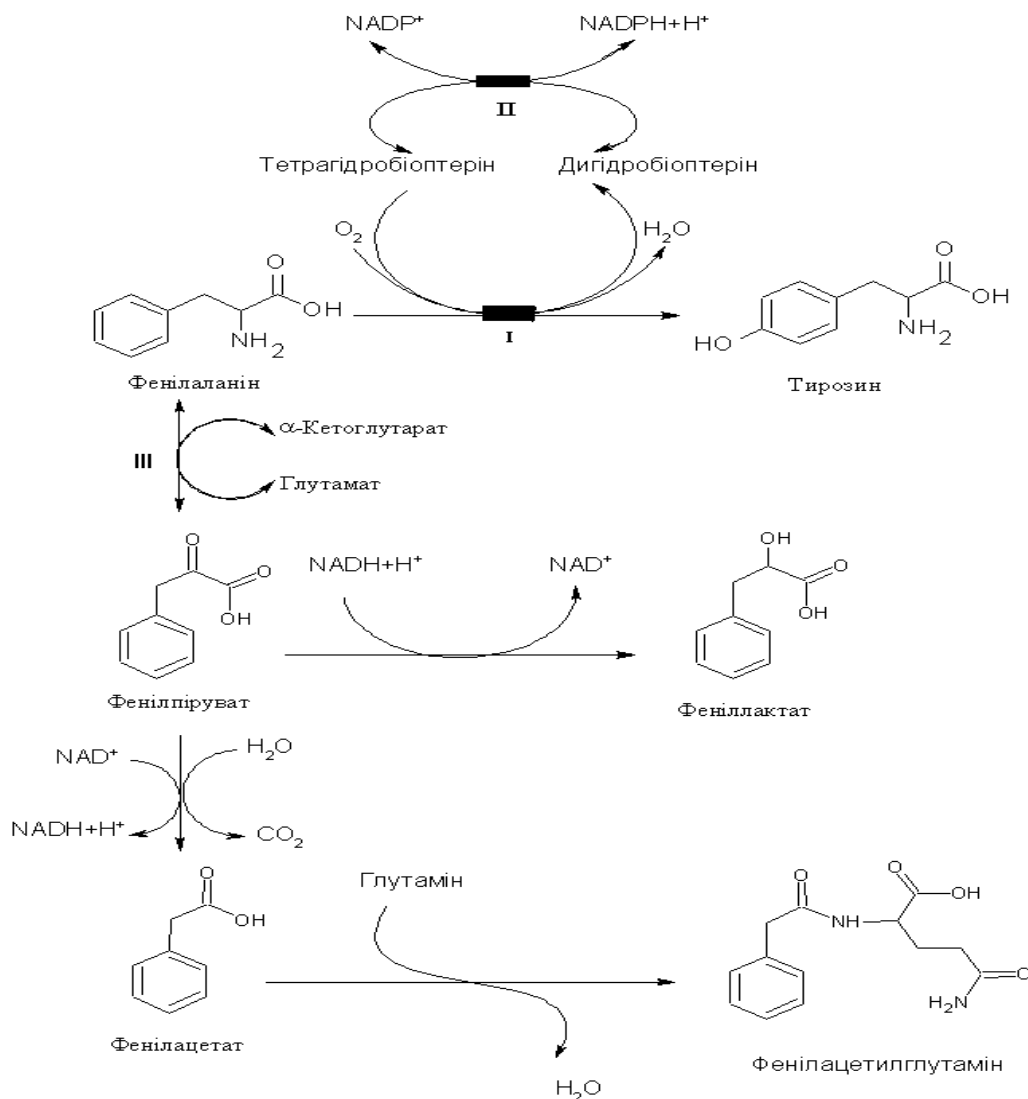


Рис. 5 Шляхи метаболізму фенілаланіну. I – Фенілаланінгідроксилаза, II – Дигідробіоптеринредуктаза, III – Трансаміназа.

Алкаптонурія

Спадкове порушення *алкаптонурія* розвивається внаслідок аутосомно-рецесивного дефекту гомогентизат-діоксигенази, третього ферменту шляху катаболізму тирозину (рис. 6). При цьому стані гомогентизинова кислота, метаболіт фенілаланіну та тирозину, не підлягає подальшим перетворенням, накопичується та виводиться з сечею. На повітрі така сеча темніє внаслідок окиснення гомогентизату киснем повітря з утворенням темного пігменту. При тривалій алкаптонурії може стати помітним забарвлення у синій колір хрящів та інших сполучнотканинних структур (охроноз). У літніх людей це явище супроводжується характерними ураженнями великих судин (артрити) і хребта.

Тирозинемії

Рідше трапляються такі спадкові порушення, як тирозинемії, причиною яких являється дефіцит, або відсутність ферментів катаболічних шляхів перетворення тирозину в фумарат та ацетоацетат.

Тирозинемія I типу (дефіцит фумарилацетатгідроксилази) призводить до накопичення токсичних метаболітів, які знижують активність ряду ферментів та транспортних систем. Розвивається печінкова недостатність і нефропатія.

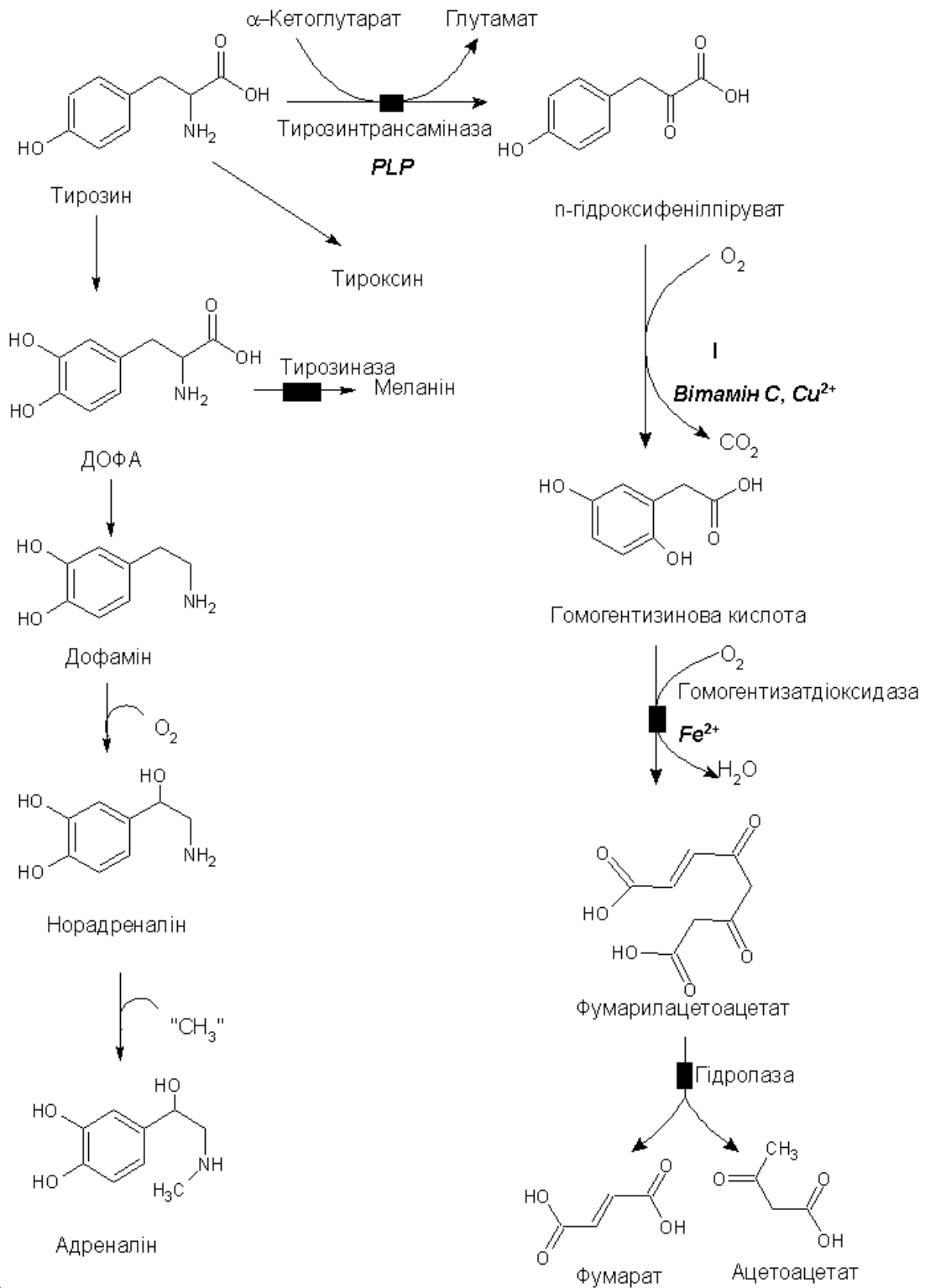
Тирозинемія II типу або синдром Ріхтера-Ханхарта (дефіцит тирозинамінотрансфераза) проявляється аномаліями рогівки ока та шкіри, затримкою розумового розвитку; клінічні симптоми визначаються накопиченням тирозину.

Дітям з таким дефектом необхідно обмежити надходження з їжею фенілаланіну й тирозину до мінімальних кількостей, достатніх для росту і розвитку.

Альбінізм

Тирозин служить попередником для синтезу гормонів щитоподібної залози тироксину і трийодтироніну, катехоламінів дофаміну, норадреналіну і адреналіну, пігменту меланіну. У пігментних клітинах (меланоцитах) тирозин окислюється під дією тирозинази (тирозинмонооксигенази) в діоксифенілаланін (ДОФА) і ДОФА-хінон, із якого за добре не вивченою послідовністю реакцій утворюється меланінові пігменти темного (коричневого або чорного) кольору. Спадкова відсутність тирозинази призводить до *альбінізму*. У таких випадках волосся, шкіра й очі не мають пігменту, також спостерігається підвищена чутливість до

сонячних променів, знижена гострота



зору.

Рис. 6. Шляхи метаболізму тирозину.
І – p-Гідроксифенілпіруватгідроксилаза

Спадкові порушення метаболізму гліцину Гіпероксалурія

Один з шляхів катаболізму гліцину – окиснення його під дією гліцинооксидази з утворення гліоксилової кислоти (рис. 7).

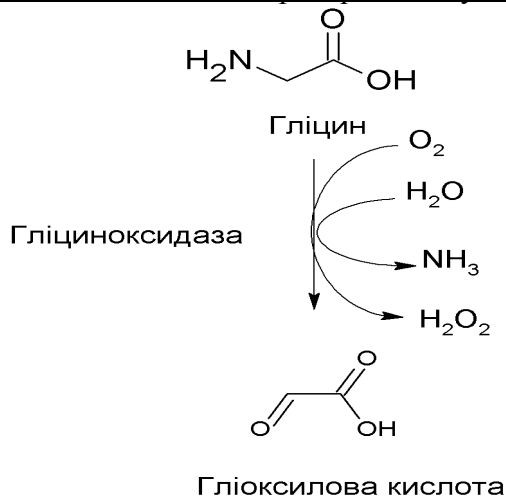


Рис. 7 Окиснення гліцину

Гліоксилова кислота утилізується у тканинах декількома шляхами. Один із шляхів – окиснення гліоксилової кислоти до оксалату. При спадковому захворюванні *первинній гіпероксалурії* порушується інші шляхи утилізації гліоксилової кислоти (через недостатність гліоксилаттрансамінази), а збільшується утворення оксалату. Відкладання кристалів оксалату кальцію в нирках призводить до ниркової недостатності і смерті в ранньому віці.

Спадкові порушення метаболізму метіоніну

Метіонін – незамінна глікогенна амінокислота. Крім використання для синтезу білків, метіонін служить донором метильної групи в реакціях метилювання при біосинтезі різноманітних сполук. У реакціях метилювання бере участь активна форма метіоніну – S-аденозилметіонін, який утворюється із метіоніну і АТФ під дією метіонінаденозилтрансферази.

Із S-аденозилметіоніну після переносу метильної групи утворюється S-аденозилгомоцистеїн, який гідролізується на гомоцистеїн і аденозин.

Гомоцистеїн може знову перетворюватися у метіонін в реакції метилювання з іншим донором метильної групи – N⁵-метилтетрагідрофолатом. Цим забезпечується можливість повторного використання метіоніну в реакціях метилювання (рис. 8).

Основний шлях катаболізму гомоцистеїну призводить до утворення цистеїну. На цьому шляху гомоцистеїн конденсується із серином у цистатіонін, який далі розщеплюється на цистеїн і α-кетомасляну кислоту.

Відомі спадкові порушення катаболізму метіоніну: *гомоцистинурія* і *цистатіонінурія*.

Гомоцистинурія

Причини:

- 1) Недостатність цистатіонінсинтетази;
- 2) Дефект метаболізму вітаміну B₁₂;
- 3) Недостатність N (5,10)-метилентетрагідрополатредуктази.

Недостатність цистатіонінсинтетази

Клінічні прояви: ектопія кришталика (вивих, зсув), високий ризик розвитку інфаркту міокарда, розумова відсталість, психічна патологія, остеопороз, можливий панкреатит.

Лабораторно: гомоцистинурія, метіонінурія.

Недостатність метилентетрагідрофолатредуктази

Клінічні прояви: помірна розумова відсталість, психічна патологія, високий ризик розвитку ішемічної хвороби серця та іншої серечно-судинної патології, м'язова слабкість, а також ризик розвитку дефектів нервової трубки у потомства.

Лабораторно: гомоцистинурія, нормальний вміст метіоніну в крові.

Недостатність метилкобаламіну

Розвивається залежна від вітаміну В₁₂ гомоцистинурія з мегалобластичною анемією і тяжкою розумовою відсталістю.

Лабораторно: гомоцистинурія, гіпометіонінемія, вміст в крові фолієвої кислоти та вітаміну В₁₂ нормальний.

Цистатіонурія

В цьому випадку із сечею виводиться цистатіонін внаслідок зменшення його розпаду (дефект цистатіонін-γ-ліази) або підвищеного синтезу цистатіоніну із гомоцистеїну.

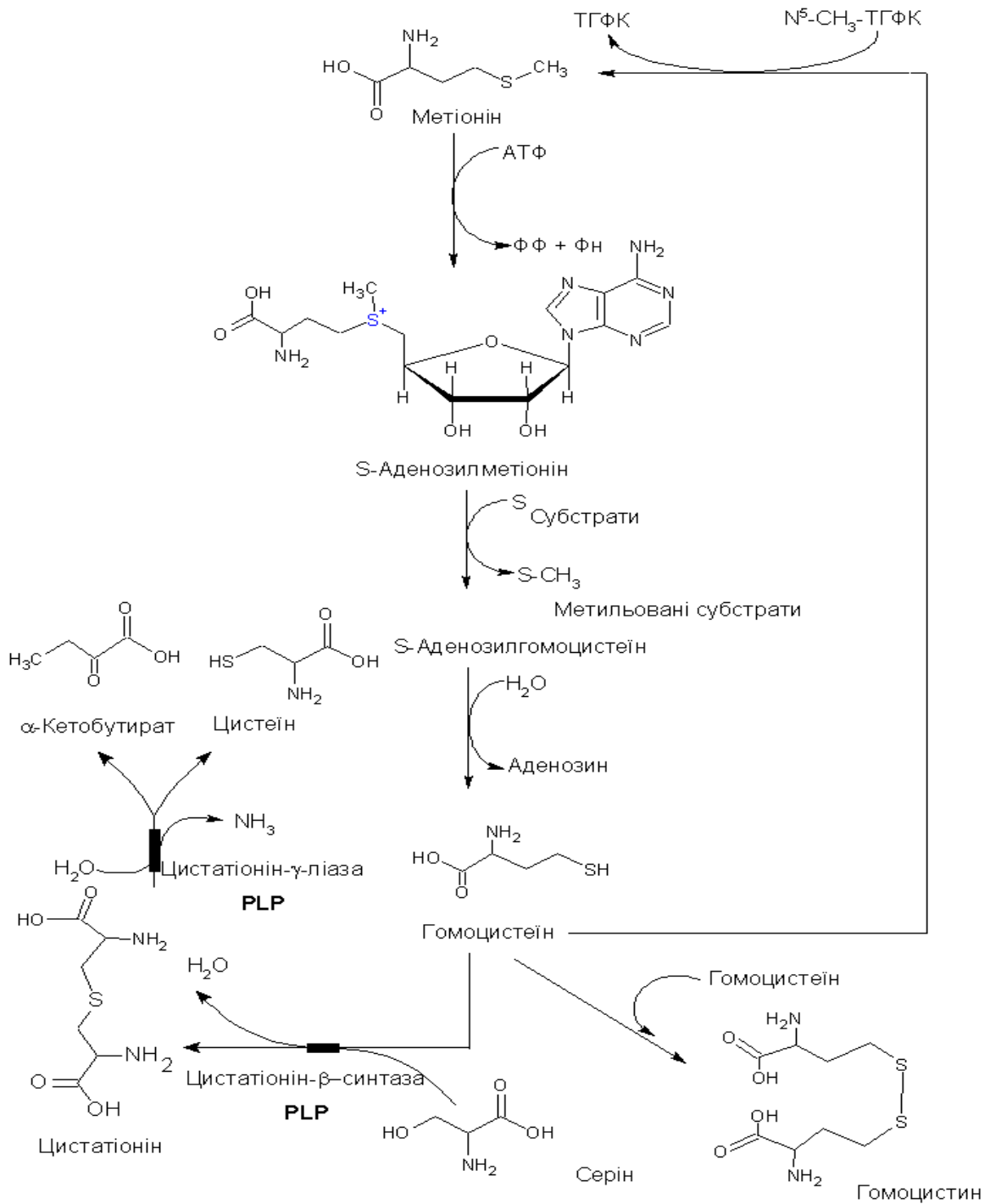


Рис. 8 Схема метаболізму метіоніну

Спадкові порушення метаболізму цистеїну

Цистеїн – замінна глікогенна амінокислота.

Тіолові групи 2-х залишків цистеїну окислюються (шляхом відщеплення атомів водню) і з'єднуються дисульфідним містком з утворенням цистину (рис. 9).

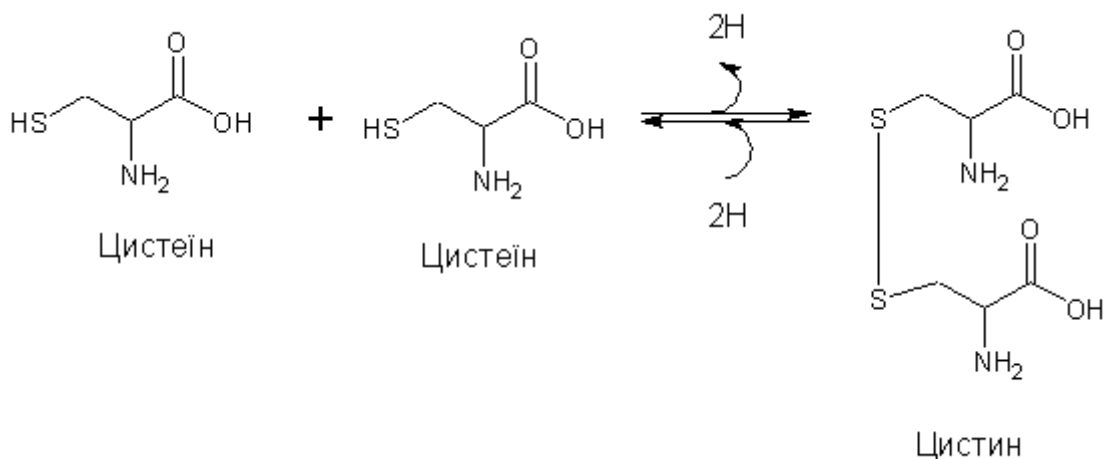


Рис. 9. Утворення цистину

При спадковому захворюванні *цистинурії* має місце висока екскреція з сечею цистину, а також лізину, аргініну і орнітину, що зумовлюється порушенням реабсорбції цих амінокислот у канальцях нирок. Утворюються цистинові камені в сечовивідних шляхах.

При *цистинозі*, який також являється спадковим захворюванням, відбувається формування кристалів цистину в багатьох тканинах та органах. Зазвичай при цьому захворюванні спостерігається загальна аміноацидурія, тобто збільшений вміст в сечі усіх амінокислот. Серйозно порушується і ряд інших функцій нирок; смерть зазвичай настає в ранньому віці через появу гострої ниркової недостатності.

Спадкові порушення метаболізму триптофану

Триптофан - незамінна амінокислота. Розпад триптофану здійснюється в основному двома шляхами. Основний шлях – від триптофану до ацетил-КоА. Із проміжного продукту цього шляху в організмі людини синтезується моноклеотид ніотинової кислоти (вітамін РР) і далі НАД⁺. Завдяки цьому надходження триптофану з їжею в достатній кількості забезпечує половину потреби організму у вітаміні РР.

При спадковій хворобі Хартнупа порушуються всмоктування у кишечнику і реабсорбція у нирках триптофану, а також групи інших нейтральних амінокислот. Через великі втрати триптофану з сечею виникає нестача ніотинової кислоти (пелагроподібні ураження), порушення розумового розвитку.

Порушення метаболізму валіну, лейцину та ізолейцину

Це незамінні амінокислоти. У процесі катаболізму ці 3 амінокислоти з розгалуженим боковим ланцюгом зазнають трансамінування з наступним окислювальним декарбоксілюванням відповідних α -кетокислот під дією одного і того ж ферментного комплексу – дегідрогенази α -кетокислот з розгалуженим ланцюгом. При генетичному дефекті цього ферменту в крові накопичується всі три амінокислоти, а з сечею виводяться відповідні їм α -кетокислоти. Через специфічний запах сечі це спадкове порушення називають «хворобою кленового

сиропу». Спостерігається виражена затримка розумового розвитку. При відсутності лікування хворий не доживає до першого року життя. Хворим назначають дієту з заміною білків на суміш очищених амінокислот, яка не містить лейцину, ізолейцину та валіну. Якщо лікування було розпочато в перший тиждень життя дитини, то це дозволяє значно пом'якшити тяжкі прояви хвороби.

Відомі й інші спадкові порушення обміну валіну (гіпервалінемія) і лейцину (ізовалератацидемія).

Причиною *гіпервалінемії* являється дефіцит валінамінотрансферази. Збільшення вмісту валіну в крові супроводжується різким зростанням концентрації валіну в сечі. Це спадкове порушення характеризується порушенням фізичного та розумового розвитку.

Ізовалеріанова ацидемія. Симптомами захворювання являються «сирний» запах у рідин організму, ацидоз і навіть кома, яка може виникнути при надмірному вживанні білка або як наслідок інфекційного захворювання. Причиною захворювання являється недостатність ізовалеріл-СоА-дегідрогенази. В результаті ізовалеріл-СоА гідролізується та утворюється ізовалеріат, який виділяється з сечею та потом.

Порушення метаболізму гістидину

Гістидин - незамінна і глікогенна амінокислота. У процесі катаболізму гістидин зазнає дезамінування під дією гістидази, утворюється уроканінова кислота, яка через ряд реакцій перетворюється у глутамат. Крім того, утворюється одновуглецевий фрагмент, з'єднаний з тетрагідрофолієвою кислотою, який використовується у реакціях синтезу.

Відоме спадкове захворювання – *гістидинемія* внаслідок відсутності гістидази. Для нього характерні підвищений вміст гістидину в крові і сечі, порушення розуму.

Порушення метаболізму проліну

Всі п'ять атомів вуглецю L-проліну переходять в α -кетоглутарат. Пролін окислюється в дегідропролін, який після приєднання молекули води перетворюється в глутамат- γ -полуальдегід. Далі останній окислюється в глутамат, з якого в реакції транс амінування утворюється α -кетоглутарат.

Метаболічні порушення в катаболізмі проліну представлені гіперпролінеміями.

Гіперпролінемія тип I. Причиною цього порушення є недостатність проліндегідрогенази.

Гіперпролінемія тип II. Причиною цього порушення є недостатність глутамат- γ -полуальдегід дегідрогенази. При цьому захворюванні порушується не тільки катаболізм проліну, але й гідроксипроліну, на відміну від гіперпролінемії I типу.

Хоча в половині випадків спостерігається розумова відсталість, гіперпролінемії не вважаються небезпечними для здоров'я.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Залишковий азот крові це:
 - A. Азот білків в крові
 - B. Азот амінокислот
 - C. Азот усіх сполук плазми крові, крім азоту білків
 - D. Азот сечовини
 - E. Азот сечової кислоти

2. Ретенційна **гіпер**азотемія спостерігається при:
 - A. Посиленому утворенні азотовмісних речовин внаслідок активації протеолізу
 - B. Порушенні видільної функції нирок і зменшенні фільтрації в клубочках
 - C. Підвищеному вмісті білків в їжі
 - D. Білковому голодуванні
 - E. Зниженні протеолізу

3. Основною причиною гломерулярної протеїнемії є:
 - A. Порушення канальцевої реабсорбції профільтрованих білків
 - B. Підвищення проникливості гломерулярного фільтру для білків плазми
 - C. Парапротеїнемія і/або збільшення вмісту постійно присутніх білків в крові
 - D. Зміна ниркової гемодинаміки
 - E. Надходження у великій кількості в тубулярну рідину білків епітелію канальців і сечовивідних шляхів

4. Гіперазотемією вважається стан, коли концентрація залишкового азоту крові перевищує:
 - A. 10 – 15 ммоль/л
 - B. 5 – 10 ммоль/л
 - C. 1 – 5 ммоль/л
 - D. 28 -35 ммоль/л
 - E. 15 – 20 ммоль/л

5. Резидуальний азот це:
 - A. Азот амінокислот
 - B. Азот сечовини
 - C. Азот гетероциклічних сполук
 - D. Різниця між усім залишковим азотом та азатом сечовини
 - E. Азот сечової кислоти

6. Нормальна концентрація білка в сечі:
 - A. 6,5 – 8,5 м²%
 - B. Сеча здорової людини білок не містить
 - C. 10 – 15 м²%
 - D. 25 – 30 м²%

7. Основною складовою частиною залишкового азоту є:
- А. Азот креатину
 - В. Азот сечовини
 - С. Азот креатиніну
 - Д. Азот амінокислот
 - Е. Азот сечової кислоти
8. Головним механізмом обеззараження аміаку в організмі є:
- А. Утворення солей амонію
 - В. Його участь в утворенні сечової кислоти
 - С. Утворення сечовини
 - Д. Його участь в утворенні деяких амінів
 - Е. Його участь в трансамінуванні
9. Основною складовою резидуального азоту є:
- А. Азот сечовини
 - В. Азот сечової кислоти
 - С. Азот амінокислот
 - Д. Азот гетероциклічних сполук
 - Е. Азот креатиніну
10. До лікаря звернувся пацієнт зі скаргами на неможливість перебування під сонячними проміннями. Мають місце опіки шкіри, порушення зору. Був встановлений діагноз альбінізм. Дефіцит якого ферменту має місце?
- А. ДОФА-оксидази
 - В. Фенілаланінгідроксилази
 - С. Тирозинази
 - Д. Орнітинкарбамоїлтрансферази
 - Е. Аргінази
11. При обстеженні хворого був встановлений діагноз алкаптонурії. Дефіцитом якого ферменту зумовлена ця патологія:
- А. Оксидази гомогентизинової кислоти
 - В. Фенілгідроксилази
 - С. Тирозинази
 - Д. Тироксингідроксилази
 - Е. Моноамінооксидази
12. У дитини 6 місяців встановлено підвищену чутливість до сонячного світла, просвітлення шкірних покривів, волосся, райдужної оболонки очей. Яке спадкове захворювання виявлено в дитини?
- А. Фенілкетонурія
 - В. Альбінізм
 - С. Хвороба Хартнупа

- D. Алкаптонурія
- E. Цистинурія

13. У дитини спостерігається розумова відсталість, ектопія кришталика ока, остеопороз, у крові зростає рівень метіоніну і гомоцистеїну. Для якої спадкової патології характерні названі ознаки?

- A. Фенілкетонурії
- B. Алкаптонурії
- C. Гістидинемії
- D. Цистинурії
- E. Гомоцистенурії

14. Спадкове захворювання гомоцистинурія характеризується екскрецією надмірної кількості гомоцистину з сечею, затримкою розвитку, неврологічними та гематологічними розладами. Захворювання є наслідком ензимопатії метаболізму амінокислоти:

- A. Цистеїну
- B. Аргініну
- C. Лізину
- D. Метіоніну
- E. Гліцину

15. Спадковій цистатіонурії притаманний надлишок цистатіоніну в сечі й тканинах, але без клінічних проявів. Захворювання є наслідком ензимопатії метаболізму амінокислоти:

- A. Цистеїну
- B. Аргініну
- C. Лізину
- D. Метіоніну
- E. Гліцину

16. У лікарню поступив 9-річний хлопчик, розумово й фізично відсталий. При біохімічному аналізі крові виявлено підвищену кількість фенілаланіну. Вкажіть, блокування якого ферменту є причиною цієї уродженої ензимопатії:

- A. Глутаматдекарбоксилази
- B. Оксидази гомогентизинової кислоти
- C. Глутамінтрансамінази
- D. Аспартатамінотрансферази
- E. Фенілаланінгідроксилази

17. У немовляти на 6-й день життя у сечі виявлено надлишок фенілпірувату та фенілацетату. Позначте, катаболізм якої амінокислоти порушено в організмі дитини?

- A. Метіоніну
- B. Триптофану
- C. Фенілаланіну

D. Гістидину

E. Аргініну

18. У дитини, хворої на алкаптонурию, в сечі виявлено велику кількість гомогентизинової кислоти. Виберіть фермент, спадковий дефект якого є причиною цієї ензимопатії.

A. Тирозинази

B. Аланінаміотрансферази

C. Оксидази гомогентизинової кислоти

D. Фенілаланінгідроксилази

E. Тирозин аміотрансферази

19. Вкажіть, порушення метаболізму якої амінокислоти є біохімічною основою альбінізму:

A. Глутаміну

B. Метіоніну

C. Триптофану

D. Фенілаланіну

E. Гістидину

20. Немовля збуджене, дихання неритмічне, його сеча має специфічний запах пивної закваски або кленового сиропу. Вкажіть, генетичний дефект якого ферменту спричинив цю патологію:

A. Аспартатаміотрансфераза

B. Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа

C. Гліцеролкіназа

D. Дегідрогеназа розгалужених α -кетокислот

E. УДФ-глюкуронілтрансфераза

КЛІНІКО-БІОХІМІЧНІ КРИТЕРІЇ ОБМІНУ ВУГЛЕВОДІВ В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ

Вуглеводи - це альдегідо- та кетопохідні поліатомних спиртів. Знання про структуру і властивості фізіологічно важливих вуглеводів необхідні для розуміння їх фундаментальної ролі в енергетичному обміні організму. Найбільш важливою у цьому відношенні є глюкоза, яка складає 90% всіх низькомолекулярних вуглеводів. Крім неї, в невеликих кількостях можуть бути присутніми фруктоза, галактоза, пентози. Глюкоза розподілена між плазмою та еритроцитами майже рівномірно, тому вона може визначатися в цільній крові, в плазмі і в сироватці. Широко поширений термін «цукор крові» має на увазі саме рівень глюкози, а також незначну кількість фосфорних ефірів цукрів, вміст яких зростає після прийому їжі.

Рівень глюкози крові - постійна величина, яка у здорових людей становить 3,3 – 5,5 ммоль / л. Її вміст визначається наступними чинниками:

- 1). надходженням з кишечника в процесі всмоктування;
- 2). надходженням в кров з депо;
- 3). асиміляцією тканинами;
- 4). виведенням з організму нирками.

Рівень глюкози в крові практично здорових людей підтримується у відносно постійних межах завдяки дії складних фізіологічних механізмів нейрогуморальної регуляції, опосередковуючи свій вплив через ряд органів і тканин, перш за все печінку.

Для здійснення повноцінного перетравлення та абсорбції вуглеводів слизовою оболонкою стінки кишечника необхідна наявність в його просвіті ряду ферментів - альфа-амілази, мальтази, сахарази, лактази та ін., а також відповідного рівню рН і моторики шлунково-кишкового тракту. Порушення всмоктування вуглеводів через кишкову стінку, яке частіше за все відбувається через дефіцит ферментів, може викликати зниження вмісту глюкози в крові. Потрапляючи в клітини, глюкоза може переходити в глікоген, розщеплюватися з виділенням енергії, йти на синтез жирів і білків, а також використовуватися для синтезу інших вуглеводів - рибози, дезоксирибози, глюкозаміну та ін. Розпад глюкози в клітинах забезпечує до 50 - 52% енергії організму .

Тканини різних органів споживають з крові різну кількість глюкози. На першому місці знаходиться ЦНС, кишечник і м'язи. Близько 36% глюкози затримується в печінці, з цієї кількості 3 - 5% переходить в глікоген, а близько 30% - в жир.

Глікоген розглядається як депонована форма вуглеводів. Рівень глюкози підтримується в межах нормальних величин в основному за рахунок розпаду глікогену печінки і виходу глюкози в кров.

Метаболізм глюкози на рівні клітин багато в чому залежить від особливостей гормонального статусу організму. З факторів ендокринної регуляції у підтримці постійної концентрації глюкози в крові основна роль відводиться інсуліну - гормону, що синтезується в β -клітинах острівців Лангерганса підшлункової залози. Інсулін сприяє проникненню глюкози в тканини. Це єдиний гормон, що призводить до зниження рівня глюкози.

Глюкагон - гормон, який виробляється α -клітинами острівців Лангерганса. Він активує фосфорилазу печінки що прискорює розщеплення глікогену в ній. У результаті рівень глюкози підвищується. До такого ж ефекту призводять і такі гормони:

1. глюкокортикоїди - гормони кори надниркових залоз - кортизол, кортизон, кортикостерон (сприяють утворенню глюкози шляхом глюконеогенезу і пригнічують її окислення);
2. тиреоїдні гормони - тироксин, трийодтиронін, які посилюють всмоктування глюкози і активують глікогеноліз;
3. гормони передньої долі гіпофіза - соматотропний, тиреотропний, адренкортикотропний.

У здорових людей зниження рівня глюкози в крові викликає рефлекторно обумовлену інтенсифікацію розпаду глікогену в печінці, а підвищення - підсилює глікогеногенез.

Дослідження вуглеводного обміну в клініці починається з аналізу сечі на присутність в ній глюкози та кетонів, а також з визначення вмісту глюкози в крові. Збільшення рівня глюкози вище норми називається гіперглікемія, поява її в сечі - глюкозурія.

Гіперглікемія.

Розрізняють 2 основні групи гіперглікемії:

1. Інсулярна - пов'язана з недостатнім вмістом інсуліну або обумовлена неефективністю його дії;

2. Екстраінсулярна (позаінсулярна) - незалежить від впливу інсуліну.

Найбільш істотне значення у формуванні гіперглікемії мають:

- Гальмування синтезу глікогену;
- Посилений розпад глікогену;
- Підвищений глюконеогенез (утворення глюкози з неуглеводних джерел);
- Зниження утилізації глюкози тканинами під впливом гормональних антагоністів інсуліну - соматотропіну, глюкагону, адреналіну, глюкокортикоїдів, тироксину та ін.

Гальмування синтезу глікогену або його посилений розпад найчастіше пов'язаний з дифузними ураженнями печінки.

Стійка і виражена гіперглікемія найчастіше супроводжує цукровий діабет.

Гіперглікемія, обумовлена гіперфункцією ендокринних залоз, які продукують антагоністи інсуліну, спостерігається при синдромі Іценко-Кушинга

(пухлина кори надниркових залоз), акромегалії (соматотропний гормон), тиреотоксикозі, феохромоцитомі (гіперфункція мозкового шару надниркових залоз), глюкагономах.

Виділяють також гіперглікемії центрального походження - внаслідок механічного, токсичного, гіпоксичного збудження нейронів «цукрового центру», який розташований на дні 4-го шлуночка довгастого мозку. Неврогенні гіперглікемії спостерігаються при травмах головного мозку, тромбозі мозкових судин, внутрішньочерепному крововиливі, а також при тяжкій інтоксикації, лихоманці, енцефалопатіях та інших станах. У цих випадках рівень глюкози незначно підвищується - максимум до 10 ммоль / л. Різновидом неврогенних гіперглікемії є емоційна.

Гіпоглікемія.

Зниження вмісту глюкози може бути обумовлено відносним і абсолютним підвищенням рівня інсуліну в крові.

Гіперінсулінемія інгібує глікогеноліз і гальмує процеси глюконеогенезу. Зниження продукції глюкози в умовах тривалої утилізації її мозком і іншими тканинами призводить до гіпоглікемії.

Первинна гіперінсулінемія спостерігається при захворюваннях підшлункової залози (ПЗ), що супроводжуються гіперсекрецією інсуліну. Це гіперплазія β -клітин і (або) дегенерація α -клітин острівців Лангерганса. Найчастіше виявляється при інсулінпродукуючих пухлинах острівців ПЗ (інсуліномах) і синдромі Золінгера-Елісона (пухлина острівкового апарату підшлункової залози, що розташовується у хвості або голівці ПЗ).

Непанкреатична гіпоглікемія спостерігається в результаті порушення балансу між вираженістю процесів утворення та розпаду глікогену в печінці при гострих і хронічних гепатитах, цирозах, гострій і підгострій дистрофії печінки, алкогольній інтоксикації, отруєнні миш'яком, тривалій механічній жовтяниці, первинному або метастатичному раку печінки.

Гіпоглікемія супроводжує багато ендокринних захворювань, в тому числі гіпофізарну і наднирковозалозну недостатність, гіпофункцію щитовидної залози. Вона зустрічається також і при цукровому діабеті внаслідок різкого зниження рівня глюкози при неправильно підібраній терапії.

Гіпоглікемія може бути і центрального походження внаслідок перенесених психологічних травм, енцефаліту, субарахноїдального крововиливу, пухлини мозку.

Зустрічається і спонтанна гіпоглікемія, що виникає після короточасної аліментарної гіперглікемії, викликаній частим вживанням багатою вуглеводами їжі. Найчастіше вона відзначається у астеників, емоційно нестійких осіб, для яких характерна підвищена чутливість до інсуліну.

Гіпоглікемія, яка супроводжується кетозом (наявністю в сечі кетонових тіл), виявляється у новонароджених дітей внаслідок дефіциту аланіну або при непереносимості лейцину, який індукує секрецію інсуліну. Також гіпоглікемічні стани спостерігаються у дітей, народжених від жінок хворих на цукровий діабет. Причиною цього є те, що підвищений вміст глюкози в крові матері передається

плоду і викликає у нього гіперплазію β -клітин острівців Лангерганса, що зберігається після народження і викликає посилену продукцію інсуліну.

Глюкозурія.

У сечі здорової людини глюкоза не виявляється. Профільтрувавшись через мембрани клубочків, глюкоза реабсорбується в проксимальних канальцях нефронів. Нирковий поріг для глюкози - 7,8 - 9,0 ммоль / л. При гіперглікемії вище цих значень глюкоза виявляється в сечі. Однак, поява глюкози в сечі залежить не тільки від концентрації її у крові. Це визначається також співвідношенням між кількістю глюкози що профільтрувалась і що реабсорбувалась в канальцях клубочків за 1 хвилину.

Розрізняють 2 групи глюкозурій: гіперглікемічна і нормоглікемічна. Гіперглікемічна спостерігається при вираженій гіперглікемії.

Нормоглікемічна глюкозурія пов'язана з порушенням реабсорбції глюкози в ниркових канальцях. Основними причинами її є інтоксикація ртуттю, окисом вуглецю, стрихніном, снодійними препаратами, хлороформом, морфіном та іншими сполуками. Також вона зустрічається при гломерулонефриті, хронічному пієлонефриті, нефросклерозі, нефротичному склерозі, вагітності.

Розрізняють також аліментарну глюкозурію, яка спостерігається після прийому великої кількості вуглеводів і зникає через 2 - 3 години.

Методи визначення глюкози крові. Всі лабораторні методи можна розділити на 3 основні групи:

1. Редуктометричні - засновані на властивості глюкози відновлювати в лужної середовищі солі важких металів. До них відносять:

- титрометричним метод Хагедорна-Йенсена, в якому використовується властивість цукрів відновлювати при кип'ятінні в лужному середовищі червону кров'яну сіль до жовтої кров'яної солі. За ступенем цього відновлення титрометрично визначають концентрацію глюкози в крові. Недоліком цього методу є наявність в крові інших сполук, які мають відновні властивості і можуть підвищувати показники самої глюкози (це сечова кислота, креатинін, глютатіон)

2. Колориметричні - засновані на визначенні ступеня забарвлення сполук, що утворюються у результаті кольорової реакції.

- Метод Сомоджі - заснований на здатності глюкози відновлювати гідрат окису міді на закис міді. Метод неспецифічний і рідко використовується.
- Метод Фоліна-Ву, що складається у визначенні забарвлення молібдену синього, який утворюється в результаті відновлення тартрату міді в окис міді. Недоліком методу є відсутність суворої пропорційності між вмістом глюкози і забарвленням розчину.

- Орто-толуїдиновий метод - полягає у визначенні інтенсивності забарвлення розчину, що виникає при взаємодії орто-толуїдина з глюкозою. Цей метод специфічний і точний, дає можливість визначати тільки глюкозу крові. Довгий час використовувався у якості уніфікованого методу.

3. Ензиматичний (глюкозооксидазний) метод Нельсона - заснований на каталітичній дії ферменту глюкозооксидази. Нині саме цей метод використовується як уніфікований практично в усіх лабораторіях. Його перевагами є висока специфічність, чутливість і швидкість проведення. Він підходить для визначення глюкози в усіх біологічних рідинах - цільній крові, сироватці, плазмі, сечі, спинномозковій рідині.

Патології обміну вуглеводів.

I. Цукровий діабет

Цукровий діабет - гетерогенна група порушень, які характеризуються гіперглікемією, глюкозурією і супроводжуються порушеннями ліпідного і білкового обміну. При діабеті порушуються регуляторні ефекти інсуліну, що пов'язано зі зниженням його секреції чи розвитком зниженої чутливості до нього тканин.

Розрізняють 2 основних типи ЦД : тип I (інсулінозалежний, ІЗЦД) і тип II (інсулінонезалежний, ІНЗЦД) (табл.1). Симптомокомплекси ЦД у вигляді поліурії, полідиспепсії і втрати маси тіла спостерігаються при обох типах.

Виділяють також порушення толерантності до глюкози - асимптоматичний стан, який є проміжним станом між метаболічним станом здорових людей і хворих на ЦД. Цей стан діагностується на підставі підвищеної концентрації глюкози в крові після попереднього вживання вуглеводів. Порушення толерантності до глюкози не вважають захворюванням, проте близько 30% пацієнтів з таким діагнозом у майбутньому хворіють на ЦД.

Табл.1 Патогенез та основні клінічні ознаки ЦД I-го і II-го типів

Патогенез	Тип I	Тип II
	Аутоімунне знищення β -клітин; повна відсутність інсуліну	Комбінований дефект секреції інсуліну та інсулінорезистентності.
Епідеміологія (по Європі))	0,02 – 0,4 %	1 – 3 %
Етіологія	аутоімунна деструкція панкреатичних	невідомо, недостатня інсулінова секреція або

	острівцевих клітин	інсулінорезистентність
Генетична залежність	Полігенна	Сильна
Фактори ризику	Віруси і токсини	Ожиріння
Вік	Дитячий вік	Більше 30 років
Вага тіла	Низька	Нормальна, частіше надлишкова
Початок захворювання	Швидкий	Повільний
Схильність до кетоацидозу	Висока	Низька
Ожиріння	Рідко	Часто
Ендогенний інсулін	Низький або відсутній	У нормі або підвищений
Антитіла до клітин острівців Лангерганса	Присутні	Відсутні
Лікування	Екзогенний інсулін, дієта	Дієта, пероральні гіпоглікемічні ліки
Лабораторна діагностика	Гіперглікемія, глюкозурія, кетонурія, кетоацидоз. При додаткових дослідженнях - низький рівень інсуліну і с-пептиду	Гіперглікемія, глюкозурія. Рівень інсуліну на початку захворювання - високий або нормальний, пізніше - знижується. Кетоацидоз - рідко

Метаболічні ускладнення при цукровому діабеті

Постійний дефіцит інсуліну викликає метаболічні зміни (рис.1), які схожі з симптомами тривалого голодування - посилене утворення глюкози в гепатоцитах при одночасному порушенні транспорту глюкози в жирову тканину і м'язи.

Гіперглікемія при ЦД виникає внаслідок підвищеного надходження глюкози з печінки і порушення засвоєння її тканинами. Перевищення ниркового порогу для глюкози – 9-10 ммоль / л, викликає появу глюкози в сечі.

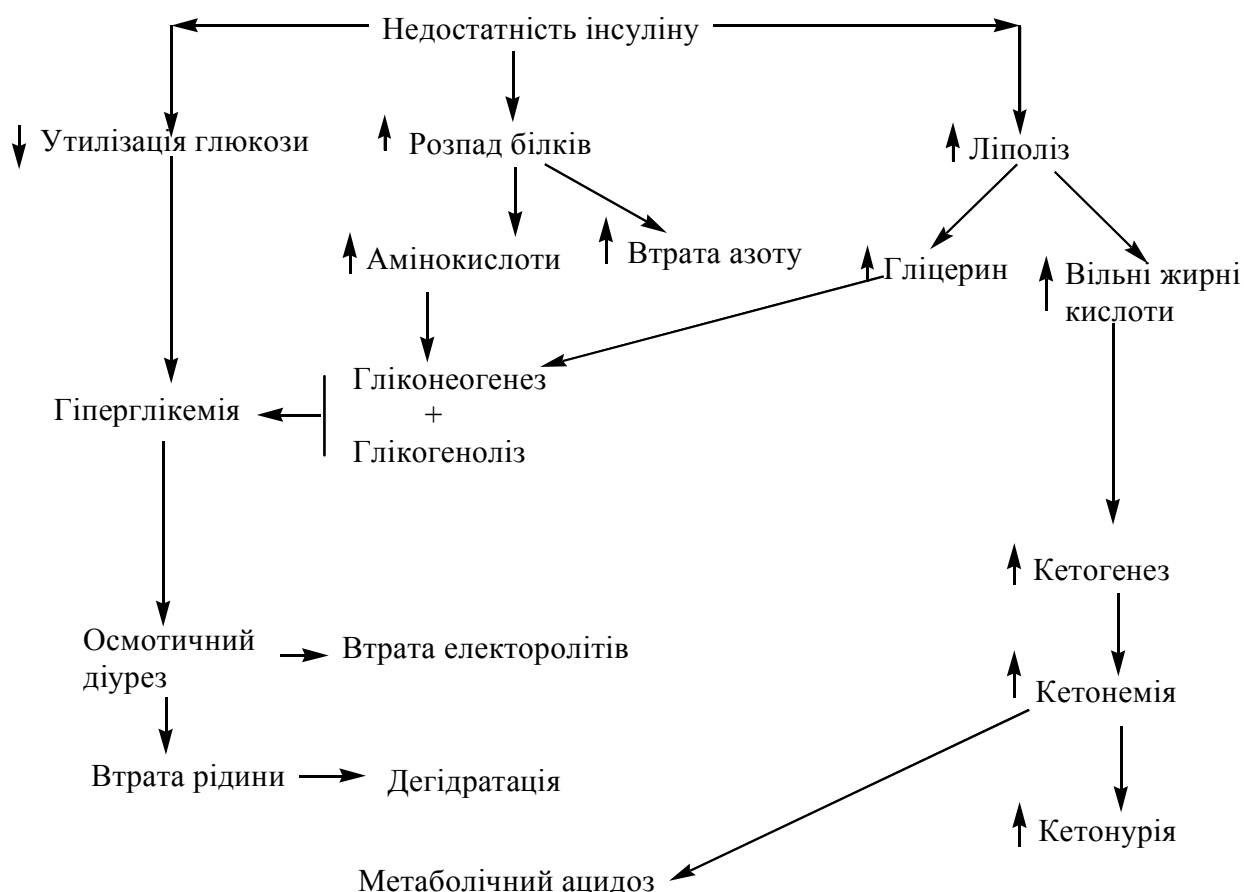


Рис.1 Метаболічні зміни при недостатності інсуліну.

Діабетичний кетоацидоз. Є причиною 70% смертельних випадків у хворих на ЦД. Цей стан в основному зустрічається при ЦД I типу, але іноді розвивається і при II типі.

Некетонова гіперосмолярна кома. Зазвичай розвивається у хворих на ЦД II типу. Характерним проявом цього ускладнення є значна гіперглікемія (50 - 100 ммоль / л) і значна втрата води без супутньої кетонемії. Рівень інсуліну при цьому стані недостатній для гальмування ендогенного синтезу глюкози, але його досить для запобігання кетогенезу. Некетонова гіперосмолярна кома є станом, який безпосередньо загрожує життю.

Лактацидоз. Стан, який є важким ускладненням кетоацидозу і часто призводить до смерті (табл.2).

Табл.2 Основні відмінності 3 форм метаболічної декомпенсації при ЦД. (О.Я. Скляр, 2006).

Відмінності	Діабетичний кетоацидоз	Некетонова гіперосмолярна кома	Лактацидоз
Глюкоза крові	Висока	Дуже висока	Варіабельна
Кетонові тіла	Присутні	Відсутній	Варіабельна

Ацидоз	Помірний або важкий	Відсутній	Важкий
Дегідратація	Істотна	Істотна	Варіабельна
Гіпервентиляція	Є	Немає	Є

Гіпоглікемія (натще у венозній крові рівень глюкози становить менш як 2,2 ммоль/л). Це гостре ускладнення ЦД, яке розвивається найчастіше. Зазвичай проявляється коротким, незначним зниженням рівня глюкози крові, який відновлюють вживанням цукру. Дефіцит глюкози небезпечний тим, що призводить до порушень роботи мозку. Важка і тривала гіпоглікемія може призвести до летального результату.

Віддалені ускладнення ЦД

Хронічні ускладнення ЦД можна розділити на мікроангіопатії (хвороби дрібних судин) і макроангіопатії (захворювання великих судин).

Найбільш часто розвиваються наступні ускладнення ЦД:

- ретинопатія, яка може закінчиться сліпотою;
- нефропатія, першою ознакою якої є протеїнурія;
- мікроальбумінурія - виділення з сечею альбуміну;
- гіпертонія та ішемічна хвороба серця;
- захворювання периферійних судин - сенсорна і автономна нейропатія, які є основними причинами ампутації кінцівок.

Лабораторна діагностика ЦД

А. Глюкоза

1. Рівень глюкози в плазмі зазвичай вище ніж 11,1-12,2 ммоль / л, але може коливатися від майже нормального до дуже високого. Дуже високий рівень глюкози характерний для гіперосмолярної коми.

2. Ступінь гіперглікемії залежить від ступеня зменшення обсягу позаклітинної рідини. Швидке падіння обсягу позаклітинної рідини призводить до зниження ниркового кровотоку і зменшення екскреції глюкози.

3. Осмотичний діурез, обумовлений гіперглікемією, супроводжується великими втратами рідини та електролітів, дегідратацією і гіперосмоляльністю плазми. При нормальному рівні глюкози її внесок у осмоляльність плазми невеликий. Однак при тому ступені гіперглікемії, який зазвичай спостерігається при діабетичному кетоацидозі, глюкоза в значній мірі визначає підвищення осмоляльності плазми (як правило, до 340

мосмоль / кг). При гіперосмолярній комі осмоляльність плазми набагато вище (до 450 мосмоль / кг).

Б. Тести толерантності до глюкози (ГТТ)

1. Спрощений варіант. Для підтвердження діагнозу ЦД допускається використання проби, яка полягає у визначенні глюкози в крові через 2 години після прийому їжі, еквівалентної приблизно 70 - 100 г вуглеводів. Рівень глюкози при цьому не повинен перевищувати 6,7 ммоль / л. В іншому випадку є підстава припускати наявність у пацієнта цукрового діабету.

2. Проба з одноразовим навантаженням глюкозою. Протягом 3 днів до проведення навантаження обстежуваний повинен дотримуватися дієти з достатнім вмістом вуглеводів, але низьким рівнем білків. Одноразове навантаження глюкозою полягає в пероральному прийомі розчину, який містить 75 г глюкози (цю кількість розчиняють в 200 мл теплої води або чаю і випивають протягом 5 хвилин). Кров на дослідження беруть до навантаження, через 1 і 2 години після прийому навантаження.

Патофізіологічні механізми зміни рівня глюкози при проведенні ГТТ. Перший підйом рівня глюкози на 30 хвилині - гіперглікемічна фаза, що відображає силу рефлекторного подразнення закінчень симпатичних нервів коли глюкоза потрапляє в шлунково-кишковий тракт. Подальше підвищення концентрації глюкози до 1 години пов'язане з особливостями всмоктування вуглеводів. Наступає потім зниження вмісту глюкози (на початку 2-ої години) - гіпоглікемічна фаза, відображає продукцію інсуліну, а також функціональну активність парасимпатичної нервової системи.

Для інтегральної оцінки глікемічних кривих обчислюють різні коефіцієнти:

- Гіперглікемічний коефіцієнт (к. Бодуена) - отримують відношенням показників найбільшої концентрації глюкози в крові до вихідного рівня. У нормі становить 1,3 - 1,5.

- Постглікемічний коефіцієнт (к. Рафальського) - являє собою частку від ділення концентрації глюкози через 2 години після навантаження на показник вихідного рівня глюкози. У здорових людей становить 0,9 - 1,04.

3. Проба з подвійним навантаженням (по Штаубу-Трауготту). Принцип дослідження полягає в тому, що якщо практично здоровій людині в період зниження рівня глюкози, тобто в момент найбільш високого вмісту в крові інсуліну ввести додаткову кількість глюкози, то нове підвищення її концентрації виявиться значно менше першого підйому або його не буде взагалі. Це явище називається позитивним ефектом Штаубу-Трауготта. Відсутність підвищення вмісту глюкози в крові відображає велику інтенсивність продукції інсуліну підшлунковою залозою. У хворих на ЦД I типу, у яких острівці Лангерганса виділяють лише незначну кількість інсуліну, після другого введення глюкози спостерігається виражене

зростання рівня глюкози, часто більш виражене ніж перше підвищення. Це так званий негативний ефект Штаубу-Трауготта.

Розрізняють 3 основних види глікемічної кривої:

- 1). діабетоїдна - крива з високим підйомом, яка через 3 години після навантаження не повертається до вихідних значень. Спостерігається при ЦД, феохромоцитомі, акромегалії, хворобі Іценка-Кушінга та ін.;
- 2). іритативна - крива з високим підйомом та швидким падінням. Такі криві спостерігаються при гіпертиреозі, глікогенозах, сильних емоційних або токсикоінфекційних станах;
- 3). торпідна - крива з низьким підйомом і швидким або повільним зниженням. Спостерігається при інсуліномах, патології печінки, мікседемі, та ін.

При отриманні сумнівних результатів повторний глюкозотолерантний тест можна проводити лише через 6 тижнів.

В. Кетонові тіла.

При ЦД загальна концентрація ацетону, β -оксималяної кислоти і ацетооцтової кислоти в сироватці перевищує 3 ммоль / л, а іноді досягає 30 ммоль / л (норма - до 0,15 ммоль / л).

1. Рівень ацетону (утворюється шляхом неферментативного декарбокسيلювання ацетооцтової кислоти) в сироватці підвищений і зазвичай в 3-4 рази перевищує рівень ацетооцтової кислоти. На відміну від інших кетонових тіл, ацетон не грає ролі у розвитку ацидозу.

2. Співвідношення β -оксималяної кислоти і ацетооцтової кислоти при легкому діабетичному кетоацидозі становить 3:1, а при важкому діабетичному кетоацидозі досягає 15:1.

3. При вимірі рівня кетонових тіл в сироватці і сечі за допомогою тест-смужок треба пам'ятати, що нітропрурид натрію реагує з ацетооцтовою кислотою, не реагує з β -оксималяною кислотою і слабо реагує з ацетоном. Тому невисокі значення концентрації кетонових тіл, які отримані за допомогою цих тест-смужок, не означають відсутності діабетичного кетоацидозу.

4. У міру усунення діабетичного кетоацидозу β -оксималяна кислота перетворюється в ацетооцтову кислоту. Тому концентрація кетонових тіл, виміряна за допомогою тест-смужок, збільшується. Однак це не означає, що діабетичний кетоацидоз посилюється.

Г. Ацидоз

1. Метаболічний ацидоз характеризується концентрацією бікарбонату в сироватці <15 мекв / л і рН артеріальної крові $<7,35$. При важкому діабетичному кетоацидозі рН $<7,0$.

2. Ацидоз обумовлений головним чином накопиченням у плазмі β -оксималяної і ацетооцтової кислот.
3. Недостатнє кровопостачання тканин викликає лактацидоз.
4. Гіперхлоремічний ацидоз може розвинути на фоні інфузійної терапії і якийсь час зберігатися після усунення діабетичного кетоацидозу через введення надлишку хлориду.

Д. Електроліти

1. Концентрація натрію в сироватці може бути зниженою, нормальною або підвищеною. Гіперглікемія обов'язково супроводжується переходом води з внутрішньоклітинного простору в позаклітинний. Такий перерозподіл води, незважаючи на гіперосмоляльність плазми і дегідратацію, може бути причиною гіпонатріємії. Гіпертригліцеридемія також вносить вклад у зниження концентрації натрію.
2. Рівень калію в сироватці теж може бути низьким, нормальним або високим. Рівень калію залежить як від виходу цього катіона з клітин внаслідок ацидозу, так і від ступеню зменшення обсягу позаклітинної рідини. Тому нормальний або високий рівень калію в сироватці не відображає існуючого дефіциту калію (цей дефіцит обумовлений осмотичним діурезом). Початково низька концентрація калію свідчить про значну його втрату та вимагає швидкого поповнення.
3. Рівень фосфату в сироватці може бути нормальним, але, як і у випадку з калієм, це не відображає реального дефіциту фосфору. Цей дефіцит завжди має місце на тлі посилення катаболізму, оскільки фосфат переходить з внутрішньоклітинного простору в позаклітинний і втрачається з сечею при осмотичному діурезі.

Е. Інші лабораторні показники

1. Глікозильований гемоглобін відображає рівень глікемії впродовж 2 місяців перед визначенням і є інформативним тестом контролю за ЦД.
2. Лейкоцитоз при діабетичному кетоацидозі (15 000-20 000 мкл-1) не обов'язково викликаний інфекцією або запаленням.
3. Рівень амілази в сироватці іноді підвищений. Причина невідома. Амілаза може потрапляти в кров з підшлункової залози (але це не свідчить про панкреатит) або з слинних залоз.
4. Іноді зростає рівень АЛАТ і АсАТ, але діагностична значимість цього показника не встановлена.
5. При діабетичному кетоацидозі спостерігається псевдодисфункція щитовидної залози.

6. Визначення С-пептиду дозволяє відрізнити гіпоглікемію, зумовлену інсуліном (високий рівень С-пептиду) від введення екзогенного інсуліну (низький рівень С-пептиду).

Таким чином, основним тестом у діагностиці ЦД є визначення рівня глюкози в крові, а додатковими лабораторними тестами - визначення глікозильованого гемоглобіну, фруктозаміну, мікроальбуміну і кетонових тіл в крові та сечі.

II. Спадкові порушення обміну вуглеводів

Глікогенози

Серед менш поширених хвороб, пов'язаних з порушенням вуглеводного обміну, є спадкові (вроджені) ензимні хвороби, які носять назву глікогенозів.

Основною характерною особливістю глікогенозів є порушення якої-небудь ензимної ланки у складному ланцюзі процесів, які пов'язані з синтезом та розпадом глікогену. Результатом цього порушення стає накопичення великої кількості нормального й аномального за структурою глікогену в різних органах і, в першу чергу, – в печінці, нирках, м'язах.

Клінічно одна з цих форм вперше була описана французьким педіатром Lereboullet (1910) але більш повні патолого-анатомічні дані надав Cierke (1929). Останній підкреслив головну патоморфологічну особливість – надмірне накопичення в печінці глікогену. Далі стало відомо, що при окремих формах глікогенозу існують різні вроджені дефекти ензимів. На основі цього глікогенози, відомі на той час, було поділено на 6 груп (форм). Пізніше було виявлено ще 3 інші форми. Клінічно деякі форми глікогенозів відрізняти важко.

Добре відомі форми глікогенозів і причини, що їх спричиняють, наведено в таблиці 3.

Табл. 3. Різні форми глікогенозів (по Cori та Recant).

Тип глікогенозу	Вражені органи й тканини	Гіпо-, гіперглікемія, кетоз	Адреналін ова, відповідно глюкагоно ва гіпергліке мія	Структура глікогену	Відсутній ензим
I гепаторенальний (Cierke)	Печінка, нирки	Виражені	Відсутня, або слабо виражена	Нормальна	Глюкозо-6- фосфатаза
II генералізований	Усі органи: серце,	Відсутні	Нормальна	Нормальна	α -1,4- глікозидаза (лізосомна)

(Pompe)	язик, мозок та ін.				мальтаза)
III печінково- м'язовий доброякісний (лімітдекстриноз Cori)	Печінка, серце, м'язи, лейкоцити	Помірні	Слабо виражена	Ненормальна (ліміт- декстринова)	Аміло-1,6- глюкозидаза
IV печінково- цирротичний ендотеліальний (амілопектиноз Andersen)	Печінка, РЕС, селезінка, лімфатичн і вузли, очеревина	Відсутні	Слабо виражена	Ненормальна (подібна амілопектину)	Аміло-(1,4- 1,6)-транс- глюкозидаза
V м'язовий (Mac Ardle)	М'язи	Відсутні	Нормальна	Нормальна	М'язова фосфорилаза
VI печінковий (Hers)	Печінка	Помірні (кетоз відсутній)	Нормальна	Нормальна	Печінкова фосфорилаза

Аглікогеноз

Це захворювання вперше описане у 1963 році Lewis і представляє собою ензимопатію, при якій спостерігається спадковий дефіцит глікогенсинтетази. Це призводить до недостатнього синтезу глікогену і він не відкладається у тканинах організму. Хвороба сумісна з життям, однак потребує частого годування дитини.

Порушення обміну деяких моносахаридів

Виявлені спадкові порушення обміну ряду моносахаридів. Причинами таких порушень є ензимопатії, які пов'язані з генетичними дефектами синтезу ферментів, що беруть участь у метаболізмі моносахаридів. Серед таких порушень зустрічаються:

а) **непереносність фруктози**. При цьому захворюванні молекулярною основою є природжена недостатність в печінці, нирках і слизовій кишечника ферменту *фруктозо-1-фосфатальдолази*. Це спричиняє накопичення у тканинах фруктозо-1-фосфату, який є інгібітором фосфорилази глікогену. Ця патологія

проявляється фруктоземією, фруктозурією та важкою гіпоглікемією. Особливо яскраво такі стани спостерігаються при споживанні продуктів, що містять фруктозу. Спадкова непереносність фруктози - досить часте і важке захворювання, яке виявляється при переведенні дітей на змішане або штучне годування і проявляється судомою, блювотою, втратою свідомості, тяжкими ураженнями печінки і нирок, гіперурикемією, великим відсотком летальних випадків;

б) **есенціальна фруктоземія** – доброякісна вроджена аномалія обміну фруктози. Причина – недостатність в печінці, нирках та ентероцитах ферменту *фруктокінази*. При цьому спостерігається порушення утилізації фруктози на клітинному рівні, але без суттєвих клінічних проявів;

в) **галактоземія** – це наслідок спадкового дефекту одного з ферментів: 1) *галактозо-1-фосфат-уридилтрансферази*; 2) *галактокінази*; 3) *УДФ-галактоепімерази*. Проявляється неспроможністю біохімічних систем організму перетворювати галактозу в глюкозу. Патологія виявляється в ранньому дитячому віці. В крові та внутрішніх органах дитини з таким дефектом накопичується галактоза та її ефір – галактозо-1-фосфат. Надлишок галактози перетворюється на спирт дульцитол, що токсично впливає на кришталик та спричинює катаракту, а надлишок галактозо-1-фосфату токсично впливає на нейрони (у дітей настає затримка розумового розвитку) та гепатоцити (розвивається цироз печінки). Крім того, у хворих лабораторно виявляють гіпоглікемію, білірубінемію, галактоземію (до 1 г/л) та галактозурію, протеїнурію, підвищення вмісту глікозильованого гемоглобіну. Чим раніше діагностується порушення обміну галактози (в перші 2 місяці життя) та вилучається з раціону молоко, тим менші наслідки хвороби спостерігатимуться надалі.

Патології обміну складних вуглеводів (глікозидози) - проявляються глибокими порушеннями метаболізму сполучної тканини, патологією кісток та суглобів, скороченням тривалості життя. Діагностичне значення має визначення різних глікозаміногліканів сечі(дерматансульфатів, гепарансульфатів, кератансульфатів).

Крім того, серед хвороб, пов'язаних з порушенням обміну вуглеводів, слід відзначити такі, що супроводжуються відставанням аеробного окислення пірувату від анаеробного гліколізу. Наприклад, відомо, що при пухлинних захворюваннях швидкість гліколізу в клітинах перевищує можливості циклу трикарбонових кислот, що призводить до локального підвищення кислотності в пухлинних тканинах. Цю особливість метаболізму вуглеводів пропонується використовувати в терапії деяких форм пухлин.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. У крові хворого натщесерце виявлена виражена гіпоглюкоземія, а при дослідженні біоптата печінки виявилось, що в гепатоцитах не відбувається синтез глікогену. Виберіть фермент, недостатність якого є причиною патології:
 - A. Альдолаза
 - B. Фруктозодифосфатаза
 - C. Глікогенсинтетаза
 - D. Фосфорилаза
 - E. Піруваткарбоксилаза

2. Після інтенсивного фізичного тренування у спортсмена активується глюконеогенез у печінці. Укажіть основний субстрат цього процесу:
 - A. Серин
 - B. Лактат
 - C. α -Кетоглутарат
 - D. Аспарагінова кислота
 - E. Глутамінова кислота

3. У дитини відзначається блювота і пронос після прийому їжі, загальна дистрофія, гепато- і спленомегалія. Після припинення годування молоком симптоми зменшуються. Укажіть можливе порушення обміну речовин у дитини:
 - A. Гіперсекреція залоз зовнішньої секреції
 - B. Порушення обміну фенілаланіну
 - C. Порушення обміну галактози
 - D. Порушення обміну тирозину
 - E. Недостатність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази

4. У шлунково-кишковому тракті відбувається перетравлення глікогену, що надійшов з їжею. Назвіть кінцевий продукт даного процесу:
 - A. Галактоза
 - B. Фруктоза
 - C. Лактат
 - D. Глюкоза
 - E. Лактоза

5. До лікаря звернувся хворий зі скаргами на постійну спрагу. Виявлено гіперглікемію, поліурію і підвищений вміст 17-кетостероїдів у сечі. Укажіть захворювання, для якого найбільш характерний вище зазначений анамнез:
 - A. Адисонова хвороба
 - B. Мікседема
 - C. Глікогеноз I типу
 - D. Стероїдний діабет
 - E. Інсулінозалежний цукровий діабет

6. У крові пацієнта вміст глюкози натщесерце був 5,55 ммоль/л, через 1 годину після цукрового навантаження склав 8,55 ммоль/л, а через 2 години - 4,95 ммоль/л. Такі показники характерні для:

- A. Здорової людини
- B. Хворого на тиреотоксикоз
- C. Хворого з прихованою формою цукрового діабету
- D. Хворого на інсулінозалежний цукровий діабет
- E. Хворого на інсулінонезалежний цукровий діабет

7. У хворої виявлена гемолітична анемія, обумовлена генетичним дефектом ферменту глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в еритроцитах. Укажіть, утворення якої речовини пентозофосфатного шляху буде при цьому порушено в еритроцитах в найбільшій мірі:

- A. Глюкозо-6-фосфату
- B. НАДФН
- C. ФАДН₂
- D. Фосфоенолпірувату
- E. Діоксіацетонфосфату

8. Назвіть процес вуглеводного обміну, за рахунок якого в організмі людини, переважно, відбувається утворення глюкози під час голодування в продовж першої доби:

- A. Розпад глікогену в печінці
- B. Гліколіз
- C. Цикл Корі
- D. Пентозофосфатний цикл
- E. Глікогенез

9. У дитини першого року життя виявлено збільшення печінки, нирок, затримка росту, судоми (як наслідок гіпоглікемії). Подальше дослідження показало відсутність ферменту глюкозо-6-фосфатази. Виберіть тип глікогенозу, пов'язаний зі спадковим дефектом синтезу даного ферменту:

- A. Хвороба Гірке
- B. Хвороба Помпе
- C. Хвороба Андерсена
- D. Хвороба Мак-Ардла
- E. Хвороба Томсона

10. У хворого поліневритом, обумовленого недостатністю тіамініпрофосфату, порушені метаболічні шляхи вуглеводного обміну. Укажіть фермент, активність якого знижується в цих умовах:

- A. Сукциніл-КоА-синтетаза
- B. Цитратсинтетаза
- C. Малатдегідрогеназа
- D. Піруватдегідрогеназа

Е. Піруваткіназа

11. Піруват – проміжний продукт обміну глюкози. Укажіть, при якому авітамінізмі порушується його аеробне окислення:

- A. Пантотенової кислоти
- B. Аскорбінової кислоти
- C. Вітаміну D
- D. Вітаміну B₆
- E. Вітаміну E

12. Укажіть вітамін, що не приймає участі в утворенні кофакторів ферментів аеробного окислення вуглеводів до вуглекислого газу і води:

- A. Тіамін
- B. Нікотинамід
- C. Ліпоєва кислота
- D. Фолієва кислота
- E. Пантотенова кислота

13. Пацієнт хворіє на цукровий діабет, що супроводжується гіперглікемією натще понад 7,2 ммоль/л. Рівень якого білка плазми крові дозволяє ретроспективно (за попередні 4-8 тижнів до обстеження) оцінити рівень глікемії :

- A. Глікозильований гемоглобін
- B. Альбумін
- C. Фібріноген
- D. С-реактивний білок
- E. Церулоплазмін

14. Хвора 58 років. Стан важкий, свідомість затьмарена , шкіра суха , очі запалі, ціаноз, запах гнилих яблук з рота. Результати аналізів: глюкоза крові 15,1 ммоль/л, в сечі 3,5 % глюкози. Причиною такого стану є:

- A. Гіпоглікемічна кома
- B. Анафілактичний шок
- C. Гіперглікемічна кома
- D. Уремична кома
- E. Гіповалемічна кома

15. Дитина квола, апатична. Печінка збільшена і при біопсії печінки виявлено значний надлишок глікогену. Концентрація глюкози в крові нижче норми. У чому причина зниженої концентрації глюкози в крові цієї хворої?

- A. Понижена (відсутня) активність гексокінази.
- B. Підвищена активність глікогенсинтетази.
- C. Понижена (відсутня) активність глюкозо-6-фосфатази.
- D. Понижена (відсутня) активність глікоген-фосфорилази в печінці
- E. Дефіцит гену, який відповідає за синтез глюкозо-1-

16. У дівчинки 7 років явні ознаки анемії. Лабораторно встановлений дефіцит піруваткінази в еритроцитах. Порушення якого процесу грає головну роль в розвитку анемії у дівчинки?

- A. Анаеробного гліколізу
- B. Окислювального фосфорилування
- C. Тканинного дихання
- D. Розкладу пероксидів
- E. Дезамінування амінокислот

17. У хворого на цукровий діабет після введення інсуліну настала втрата свідомості, спостерігаються судоми. Який результат дав біохімічний аналіз крові на вміст цукру?

- A. 3,3 ммоль/л
- B. 8 ммоль/л
- C. 1,5 ммоль/л
- D. 10 ммоль/л
- E. 5,5 ммоль/л

18. У крові дитини виявлено високий вміст галактози, концентрація глюкози знижена. Спостерігається катаракта, розумова відсталість, розвивається жирове переродження печінки. Яке захворювання має місце?

- A. Цукровий діабет
- B. Лактоземія
- C. Стероїдний діабет
- D. Фруктоземія
- E. Галактоземія

19. У хворого, який тривалий час страждає хронічним ентероколітом, після вживання молока з'явилися метеоризм, діарея, коліки. З нестачею, якого ферменту в кишечнику це пов'язано?

- A. Лактази
- B. Сахарази
- C. Мальтази
- D. Амілази
- E. Глікогенсинтази

20. В крові пацієнта вміст глюкози натщесерце 5,6 ммоль/л, через 1 год після цукрового навантаження - 13,8 ммоль/л, а через 3 години - 9,2 ммоль/л. Такі показники вірогідні для:

- A. Здорової людини
- B. Прихованої форми цукрового діабету
- C. Тиреотоксикозу
- D. Хвороби Іценка-Кушінга
- E. Акромегалії

КЛІНІКО-БІОХІМІЧНІ КРИТЕРІЇ ОБМІНУ ЛІПІДІВ В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ

Основні ліпіди плазми крові

Основними ліпідами плазми крові є вищі жирні кислоти (ВЖК), тригліцериди (ТГ), фосфоліпіди (ФЛ), серед них сфингомієлін (СФМ), холестерол загальний ($X_{\text{загальний}}$) складається з двох фракцій: вільного (ХВ) і етерифікованого (ЕХ).

Норми вмісту цих показників у плазмі крові дорослих здорових людей (чол.):

$$[\text{ВЖК}] = 0,28-0,71 \text{ ммоль\л}$$

$$[\text{ТГ}] = 0,56-2,15 \text{ ммоль\л}$$

$$[\text{ФЛ}_{\text{загальні}}] = 1,41-3,62 \text{ ммоль\л}$$

$$[\text{СФМ}] = 0,41-0,82 \text{ ммоль\л}$$

$$[X]_{\text{загальний}} = [XВ + ЕХ] = 3,88-6,46 \text{ ммоль\л}$$

Сумарний вміст усіх перелічених ліпідів ($\text{ЛП}_{\text{загальні}}$) у плазмі крові здорових людей коливається в межах 4-8 г/л.

Усі перелічені ліпіди в плазмі крові знаходяться у зв'язаній з білками формі: ВЖК з альбумінами, інші утворюють з α -, β - глобулінами ліпопротеїдні комплекси, що мають електрофоретичну рухливість.

Ліпопротеїди плазми крові: класифікація, склад, структура, функції

Вивчення ліпопротеїдів плазми (ЛП) крові розпочалося в 1929 р. у Франції М. Mashboeuf . За 80 років досліджень у цій галузі були зроблені фундаментальні відкриття, які дозволяють оперувати знаннями не тільки про структуру, властивості, обмін ліпопротеїдів, але й про їх участь у патогенезі ряду захворювань, в першу чергу - атеросклерозу судин.

Класифікація ліпопротеїдів плазми крові

Підходи до класифікації ліпопротеїдів базується на:

- 1) різниці у гідратованій щільності, а значить і в щільності флотації;
- 2) різниці в електрофоретичній рухливості;
- 3) різниці в апопротеїновому складі ЛП-частинок.

Найбільшого розповсюдження отримала класифікація, заснована на поведінці ЛП у гравітаційному полі в процесі ультрацентрифугування: хіломікрони (ХМ), ліпопротеїди дуже низької щільності (ЛПДНЩ), ліпопротеїди низької щільності (ЛПНЩ) та ліпопротеїди високої щільності (ЛПВЩ).

Крім того, ЛП класифікують за розподілом у білкових фракціях при електрофорезі білків плазми крові:

- після електрофорезу ХМ на старті (подібно γ -глобулінам)
- ЛПНЩ визначають у фракції β -глобулінів, тому їх друга назва β -ЛП
- ЛПДНЩ на електрофореграмі визначають як широку смугу перед фракцією β -глобулінів, їх друга назва - пре β -ЛП
- ЛПВЩ мають назву α -ЛП, тому що мігрують при електрофорезі з α -глобулінами.

ЛП-частинки можуть містити один апопротеїн (первинні ЛП), а можуть декілька у вигляді комплексів (вторинні ЛП). Доля асоційованих комплексів надзвичайно висока у ХМ і ЛПДНЩ, і дуже низька у ЛПВЩ.

Склад ліпопротеїдів плазми крові

Кожен з вказаних класів містить усі ліпіди, але відсоток розподілу кожного ліпідного компонента різний згідно з класом:

Процент холестеролу загального найбільший у ЛПНЩ (70%)

% розподілу $X_{\text{загальний}}$: ЛПНЩ >> ЛПВЩ > ЛПДНЩ > ХМ

% розподілу ТГ/заг: ХМ \geq ЛПДНЩ > ЛПНЩ > ЛПВЩ

% розподілу ФЛ/заг: ЛПВЩ > ЛПНЩ > ЛПДНЩ > ХМ

% розподілу білка: ЛПВЩ > ЛПНЩ > ЛПДНЩ > ХМ

% білків є найвищий у ЛПВЩ; білки представлені більшою мірою апопротеїнами. Апопротеїни, що використовуються, представлені у таблиці 1.

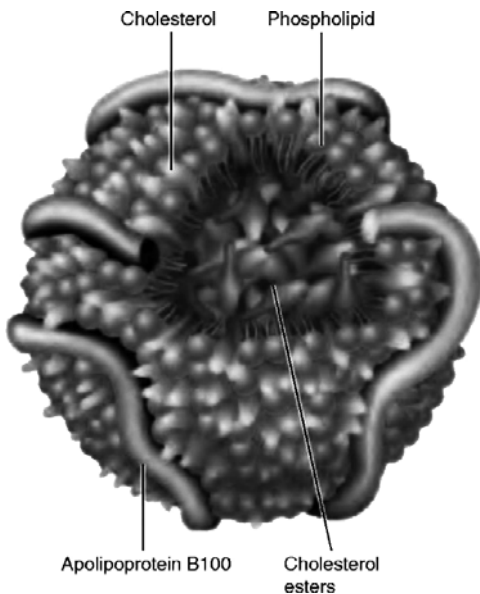
Таблиця 1. Загальні характеристики ліпопротеїнів плазми крові

Клас ЛП	Ліпіди	Апопротеїни	Щільність, г/мл	Діаметр, Å
ХМ	ТГ >> X	A-I, A-II, A-IV, B-48 C-I, C-II, C-III, E	<0,95	800-5000
ЛПДНЩ	ТГ >> X	B-100, C-I, C-II, C-III, E	<1,006	300-800
ЛПНЩ	ТГ = X	B-100, E	1,006-1,019	250-350
ЛПНЩ	X > ТГ	B-100	1,019-1,063	180-280
ЛПВЩ	X >> ТГ	A-I, A-II, C-I, C-II, C-III, E	1,125-1,210	50-90

При захворюваннях склад апопротеїнів змінюється. Це може бути використано у клінічній діагностиці. Гіперхолестеролемія зазвичай супроводжує підвищення рівня у плазмі крові ЛПП, які містять апо-В комплекс. Гіпертригліцеридемія корелює з підвищенням (\uparrow) наявності багатьох класів апопротеїнів, можливі варіації: \uparrow апо В, С; \uparrow апо В, С, Е; \uparrow апо- А-І, В, С, Д, Е комплексів.

Структура ліпопротеїдів плазми крові

Плазмені ЛП є частинки, які мають сферичну форму (міцели). Неполарні ТГ та ЕХ формують гідрофобне ядро. Полярні ліпіди (ФЛ, ХВ) спільно з білками формують гідрофільний шар, який забезпечує здатність ЛП частинки до розчинення та її транспорту у плазмі крові. Припускають, що зовнішня оболонка ЛП являє собою не гомогенний шар, а мозаїчну поверхню з виступаючими ділянками білка й, можливо, ХВ. Така будова ЛП-частинки пояснює легку рухливість ХВ (у меншій мірі білків і ФЛ), здатність цих компонентів переходити з одного класу ЛП в інший.



Положення білка в ЛП-частці нагадує картину білкового «айсберга», що плаває в «ліпідному морі». Така структура може забезпечувати безпосередній контакт білкових молекул з ліпідами. Окремі білки – апопротеїни можуть виконувати каталітичну функцію в естерифікації ХС, гідролізі ТГ, який перебігає на ЛП-частинки. Зазвичай це потребує прямого контакту ліпідів з апопротеїнами і ферментами.

Рис.1. Структура ЛПНЦ (за William J Marshall, Stephen K Bangert., 2004)

Функції ліпопротеїдів плазми крові

- ХМ потрібні для транспорту ресинтезованих ліпідів від кишечника до печінки. ХМ в організмі людини синтезуються в кишковій стінці під час прийому жирної їжі. ХМ відсутні у плазмі крові здорової людини натщесерце.
- ЛПДНЦ виконують транспорт ліпідів з печінки у кров і частково до жировій тканини.
- ЛПНЦ транспортують ліпіди з кровообігу у периферичні тканини.
- ЛПВЦ транспортують ліпіди з периферичних тканин до печінки.

Обмін ХМ, ЛПДНЩ, ЛПНЩ в організмі здорових людей

ХМ в організмі людини синтезуються в кишковій стінці під час прийому жирної їжі, ЛПДНЩ – переважно в печінці, але певний внесок у плазмовий пул вносить також секреція цих ЛП кишечником. Помічено, що нативні ХМ і нативні ЛПДНЩ не схильні до катаболізму в печінці, спочатку вони перетворюються у ремнантні частинки цих ЛП.

Як тільки ХМ і ЛПДНЩ надходять у кровообіг, відбувається обмін їх поверхневих ліпідних компонентів з компонентами мембран еритроцитів, лейкоцитів, ендотеліальних та інших клітин, а також деградація (ліполіз) ТГ під впливом ліпопротеїдліпази ендотелія судин (ЛПЛ) і печінкової тригліцеридліпази (П-ТГЛ). ХВ багатих тригліцеридами ЛП легко переходить на інші ЛП, особливо ЛПВЩ, а також на мембрани клітин периферичних тканин. При гідролізі ТГ з поверхні ХМ і ЛПДНЩ виділяється така ж кількість ХВ. По мірі гідролізу ТГ з поверхні ЛПДНЩ зникає частка ФЛ (особливо лецитин, який переходить у ЛПВЩ). Ліпід-транспортні білки (ЛТБ) виконують функцію транспорту ЕХ від ЛПВЩ на ХМ і ЛПДНЩ, а також транспорт ХВ, ФЛ, ТГ назад на ЛПВЩ.

Здійснення ліполізу і перенесення ліпідів за допомогою ЛТБ прискорює катаболізм ТГ в складі ЛП, сприяє зменшенню розмірів частинок ЛПДНЩ, ХМ, збагаченню їх ЕХ і, в результаті, перетворенню ЛП у ремнантні форми або ліпопротеїди проміжної щільності (ЛППЩ). Окрім деліпідації здійснюється обмін апопротеїновою частиною. Апопротеїни С переходять на ЛПВЩ, також спостерігається збагачення ХМ апопротеїнами Е. Припускають, що збагачення Е-протеїновою фракцією ремнантних частинок ХМ і ЛПДНЩ сприяє переважному захопленню їх печінкою з метою подальшої деградації. Катаболізм ХМ протікає також у кістковому мозку та селезінці. ХМ постачають кістковий мозок ВЖК, які використовуються у якості енергетичного матеріалу для гемопоеза, і жиророзчинними вітамінами (зокрема вітамін А). Захоплення ХМ та їх ремнантів відбувається у вказаних місцях завдяки участі макрофагів, Дані клітини секретують ліпопротеїдліпазу, яка сприяє швидкому переходу ХМ і ЛПДНЩ у ремнантні частинки.

Утворення ЛПДНЩ в печінці стимулюється підвищенням концентрації ВЖК, що потрапляють в печінку з током крові у вигляді комплексів з альбумінами, або в складі ремнантів ХМ. Крім того, ВЖК синтезуються в печінці і надалі використовуються для утворення ендеогенних ТГ. Ендеогенні ТГ, ФЛ, ХВ, ЕХ, апоВ-100 і частково апоС, апоЕ формують печінкові насцентні (незавершені) ЛПДНЩ (н-ЛПДНЩ). Цікаво зазначити, що кишкові ЛПДНЩ містять в основному апоВ-48.

При надходженні н-ЛПДНЩ у просвіт кров'яного синусоїда відбувається перенесення апо-С з н-ЛПДНЩ на ЛПВЩ, гідроліз ТГ ядра ЛП-частинки, видалення частки ФЛ і апо-Е з поверхні, а також збагачення ЕХ:

н-ЛПДНЩ → ЛППЩ → ЛПНЩ

Дрібні ЛПДНЩ, які містять 1-2 молекули апо-Е на частинку ЛП, здатні швидше до перетворення на ЛПНЩ. У процесі трансформації ЛПДНЩ беруть участь ферменти ЛПЛ ендотелія судин і П-ТГЛ.

Доведено, що ЛПНЩ можуть бути секретованими самою печінкою. Припускається, що роль печінки у прямому синтезі ЛПНЩ підвищується при тяжких формах II-го типу гіперліпопротеїдемії (ГЛП). У нормі 75% ЛПНЩ знову повертається в печінку, приблизно 25% ЛПНЩ захоплюється периферичними тканинами (які не забезпечують себе в достатній кількості ХВ). Активний захват ЛПНЩ та їх деградація відбувається у наднирникових залозах, печінці, селезінці, статевих залозах.

Механізм утилізації ЛПНЩ у периферичних тканинах за допомогою рецептор-опосередкованого ендоцитоза став відомий завдяки блискучим працям М. Brown та I. Coldstein (нобелівська премія 1985р.). Після зв'язування ЛПНЩ специфічними рецепторами утворюються ендоцитозні везикули, які містять комплекси «ЛПНЩ-рецептор», при злитті їх з клітинними везикулами відбувається утворення ендосом, які мають всередині рН середовища близько 5, що призводить до дисоціації комплексу ЛПНЩ-рецептор. Рецептори повертаються у мембрани (період життя – 1-2 діб\150 циклів). Ендосоми зливаються з лізосомами, де відбувається процес руйнування ЛПНЩ.

Рецептор-опосередковане затягнення ЛПНЩ клітинами периферичних тканин (в тому числі й ендотелієм судин) забезпечує підтримання рівня холестерола загального і ЛПНЩ у крові в межах норми, що запобігає розвитку атеросклерозу.

При недостатності рецепторної взаємодії зі ЛПНЩ розвивається ГХС і гіпер- β -ліпопротеїдемія (II тип). При недостатності ЛПНЩ-рецепторів спостерігається: підвищення ЛПНЩ в крові, (подовжується час їх циркуляції до 4,5-6 діб, замість 2,5 діб), що сприяє утворенню модифікованих форм ЛПНЩ, наділених високою атерогенністю. За участі апо-В і Е рецепторів здійснюється захоплення не тільки ЛПНЩ, але й ЛППЩ. Тому активне функціонування цих рецепторів лімітує перетворення ЛППЩ в ЛПНЩ. Як наслідок, при недостатності рецепторів відбувається накопичення ЛППЩ в крові, більш значне перетворення їх у ЛПНЩ, що також сприяє прогресуванню ГХС.

Обмін ЛПВЩ в організмі здорової людини

За даними Stein Y, Stein O, 1987 у печінці відбувається утворення насцентних ЛПВЩ (н-ЛПВЩ), які відрізняються від плазмових ЛПВЩ за формою (схожі на диски) і за складом (переважають ХВ і ФЛ, відношення апоЕ/апоА1→10:1), в той час як у ЛПВЩ плазми це відношення апоЕ/апоА1→1:7, і переважає ЕХ. Загальна фракція ЛПВЩ поділяється на підфракції: ЛПВЩ2, ЛПВЩ3, ЛПДВЩ (ліпопротеїди дуже високої щільності).

Трансформація частинок-«дисків» (н-ЛПВЩ) в частинки-«сферу» (ремнантні ЛПВЩ) відбувається під впливом лецитинхолестерол ацилтрансфери (ЛХАТ). Фермент синтезується в печінці, але активність

проявляє у плазмі; міцно прив'язаний до фракції ЛПДВЩ (1-8% від загальної фракції ЛПВЩ). Поповнення ЛПВЩ ХВ і лецитином відбувається за рахунок сполученої дії ЛПЛ, яка здійснює гідроліз ТГ в ЛП, багатих ними. н-ЛПВЩ у плазмі крові здорових людей не діагностують, однак вони виявляються у хворих зі спадковою недостатністю ЛХАТ. В усіх фракціях ЛП у такому випадку відбувається накопичення ХС, лецитину і зменшення лізолецитину.

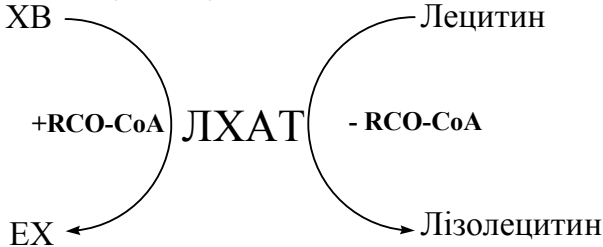


Схема 1. Каталітична дія ЛХАТ: ХВ – холестерол; ЕХ – естерифікований холестерол; RCO-CoA – активний ацил ВЖК.

Процес утворення фракції ЛПВЩ₂ відбувається загалом у плазмових ЛП, збагачених ТГ: ремнантних ХМ і ЛПДНЩ, ЛППЩ. При цьому відбувається обмін ТГ, ЕХ, зміна білкового компоненту.

Роль ЛПВЩ

ЛПВЩ здатні забирати ХВ з плазматичних мембран клітин периферичних тканин, а також з поверхні ЛП багатих ТГ-ами, де ХВ стає надлишковим при дії на ці частинки ЛПЛ. Забравши ХВ, ЛПВЩ транспортують його в печінку для окиснення до жовчних кислот. ХВ, що надійшов на частинки ЛПВЩ, етерифікується ЛХАТ в ЕХ, частка якого потрапляє в печінку, а інша за участі ЕХ-транспортуючого білку (ЕХ-ТБ) передається ЛПНЩ, ЛППП, ЛПДНЩ або у ремнантні ХМ.

Антиатерогенність ЛПВЩ проявляється в їх здатності до транспорту ЕХ і ХВ у печінку з метою їх руйнування до жовчних кислот. Крім того, ЛПВЩ здатні захищати ЛПНЩ від модифікацій, тому що запобігають перекисному окисненню ліпідів (ПОЛ) у складі ЛПНЩ (антиоксидантна дія ЛПВЩ).

Гіперліпопротеїдемії

Дослідження показників ліпідного обміну у хворих звичайно асоціюється з діагнозом дисліпопротеїдемія, що може визначатися гіперліпопротеїдемією (ГПЛ). Класифікація ГПЛ, прийнята ВООЗ і заснована на праці Фредриксона Д., 1970 р., (см. таблицю 2), в значній мірі є фенотиповою і будується за принципом пов'язаного з нею типу ліпопротеїда, концентрація якого збільшена.

Таблиця 2. Класифікація гіперліпопротеїдемії (ВООЗ)

Тип ГПЛ	Підвищений рівень ЛП	X _{загальний}	ТГ	Атерогенність	Зустрічаємість
I	Хіломікрони	Норма	з/з/з/з	Не доведена	<1%

IIa	ЛПНЩ	з/з	Норма	+++	10%
IIb	ЛПНЩ та ЛПДНЩ	з/з	з/з	+++	40%
III	ЛППЩ	з/з	з/з/з	+++	<1%
IV	ЛПДНЩ	Норма або з	з/з	+	45%
V	ЛПДНЩ і хіломікрони	з/з	з/з/з/з	+	5%

Примітка: "з" – збільшення

Існує певна кореляція між ліпідним, ліпопротеїдним складом плазми крові та її візуальною характеристикою і деякими властивостями плазми при різноманітних ГПЛ:

Тип I, Гіперхіломікронемія: ХМ↑, ТГ↑, ЛПДНЩ, ЛПНЩ и X_{загальний} в нормі. Плазма крові при отриманні каламутна, при стоянні на холоді (12 годин при +4°C) формується сметаноподібний шар зі збільшенням прозорості усього об'єму.

Тип IIa, Гіпер-β-ліпопротеїдемія: ЛПНЩ↑↑, X_{загальний} ↑↑, інші показники в нормі. ХМ відсутні. Плазма крові прозора, щільність плазми збільшена.

Тип IIb, Гіпер-β- і Гіпер-преβ-ліпопротеїдемія: ЛПНЩ↑, ЛПДНЩ↑, X_{загальний} ↑, ТГ↑, ХМ відсутні. Плазма крові каламутна, після стояння на холоді каламуть не зникає, сметанного шару немає.

Тип III, Дис-β- ліпопротеїдемія: на електрофореграммі широка β-смуга, поява флотуючих ЛП; ХС↑, ТГ↑, ХМ відсутні. Плазма крові каламутна, після стояння на холоді каламуть не зникає, є тонкий сметаноподібний шар.

Тип IV, Гіпер-преβ-ліпопротеїдемія поєднана з **гіперхолестеринемією:** ХС↑ чи у нормі, ТГ↑, ЛПДНЩ↑. Плазма крові каламутна, після стояння на холоді залишається зовнішньо незмінною.

Тип V, Гіперхіломікронемія поєднана з **гіпер-преβ-ліпопротеїдемією.** ЛПДНЩ↑, ХМ↑, ХС у нормі, чи ↑, ТГ↑↑, ЛПНЩ у нормі. Плазма крові каламутна з жовтуватим відтінком, в'язкість плазми збільшена. Після стояння на холоді виникає сироподібний шар на поверхні рідини.

Класифікація ВООЗ, нажаль не відповідає специфічним нозологічним формам. ГПЛ можуть бути вторинними відносно інших захворювань, а у пацієнтів з однією і тією самою патологією можуть бути прояви різних типів ГПЛ за класифікацією ВОЗ.

Наприклад, при гіпотиреозі спостерігаються як тип IIa, так і тип IIb ГПЛ. В той же час, один і той же варіант ГПЛ може спостерігатися при різних наслідуваних формах патології. Наприклад, тип IIa зустрічається як при сімейній (моногенній), так і при загальній (полігенній) ГХС. Класифікація ВОЗ має ще один недолік: тип ГПЛ може змінитися у пацієнта в результаті призначеної дієти, чи за умови медикаментозного лікування. І, нарешті, ця класифікація не враховує змін за складом $X_{\text{ЛПВЩ}}$.

Слід відмітити, що ГХС, яка визначається суттєвим збільшенням $X_{\text{ЛПВЩ}}$, не є атерогенною. Така ГХС супроводжує гіпер- α -ліпопротеїдемію. Такий стан може бути обумовлений двома генетичними причинами:

- дефіцит білка-переносника естерів холестеролу (ЕХ-ТБ);
- дефіцит II-ТГЛ (мутації відповідних генів).

У людей щонайменше 80% ЕХ, що утворились після функції ЛХАТ, переносяться з ЛПВЩ завдяки ЕХ-ТБ на ЛП, які містять апо-В. При дефіциті цього білка спостерігається порушення збагачення ЛПВЩ ТГ-ми, але вміст холестеролу загального сягає високих значень: до 8-9 ммоль\л. У гомозигот не вдалося знайти ознак передчасного розвитку атеросклерозу. Серед гетерозигот виявлені довгожителі. Вчені вважають, що недостатність ЕХ-ТБ можна розглядати як потенційний антиатерогенний фактор довголіття.

Найбільш атерогенними ГПЛ є типи IIa і IIb, III, IV. Первинні (генетичні) ГПЛ цих типів супроводжуються різким збільшенням $X_{\text{загальний}}$ до значень 18 ммоль\л у гомозигот.

Генетичні дефекти яких білків призводять до формування первинних ГПЛ вище вказаних типів? - Це:

- 1) порушення синтезу апо-В-100 рецепторів в печінці (швидкість утилізації ЛПНЩ знижується), або в периферичних тканинах зменшено зтягнення ЛПНЩ у клітину, внаслідок чого концентрація ЛПНЩ у крові підвищується і час їх циркуляції теж само;
- 2) Частково порушено синтез ліпопротеїн ліпази печінкового походження (II-ЛПЛ), ліпопротеїнліпази ендотелію судин: внаслідок чого ЛПДНЩ $\uparrow\uparrow$, ЛПНЩ \uparrow . Якщо II-ЛПЛ менш активна, це призводить до підвищення концентрації ЛПВЩ (при зниженні в них антиатерогенних властивостей), концентрацій ЛПДНЩ, ТГ у фракції ЛПНЩ
- 3) Інгібування синтезу ЛХАТ призводить до підвищення вмісту незрілих ЛПВЩ, ремнантні ЛПВЩ \downarrow , $X_{\text{загальний}} \uparrow$, ЕХ \downarrow , поява так званих ліпопротеїнів Х (ЛП-Х). ЛП-Х з'являються так само при зменшенні активності II-ЛПЛ, при обтураційній жовтяниці. За щільністю вони близькі до ЛПНЩ. Особливості складу та властивостей: ФЛ (~68%), $X_{\text{загальний}}$ (27%); дископодібні, легко злипаються в «монетні стовбці», деградують як ЛПНЩ.

- 4) Порушення синтезу апопротеїну А1 (апо-А1). Унаслідок цього концентрація ЛПВЩ зменшена. Мутації гену апо-А1 призводять до порушень спіральності цього білка, зменшують здатність апо-А1 активувати ЛХАТ, як наслідок спостерігаються зміни за складом ліпідів та ЛП, описаних у п.3;
- 5) Крапкові мутації гена апопротеїну В-100 (вміст амінокислотних залишків 4526). Крапкова мутація в 3500 положенні (Арг замінюється на Глу) змінює властивості апо- В-100 стосовно зв'язування його з рецептором (порушується контакт); частота виникнення в країнах Європи та США (1:500). Виникає ГХС, що нагадує випадки при наслідуваній відсутності рецепторів до ЛПНЩ (спостерігаються: $X_{\text{загальний}}$ приблизно 15 ммоль/л, ліпідна дуга рогівки, шкірні та зв'язочні ксантоми, розвиток ішемічної хвороби серця (ІХС);
- 6) Структурні аномалії апопротеїну Е (апо-Е) порушують рецепторне впізнавання ліпопротеїнів (ХМ і ЛПДНЩ), що призводить до розвитку ІІ типу ГПЛ. Апо-Е може синтезуватися у вигляді чотирьох ізоформ Е1 - Е4. Дослідження показали, що наявність у людини апо-Е4 пов'язана з підвищеним ризиком не тільки коронарного атеросклерозу, але і смертності від нього. Всмоктування екзогенного холестерину у кишківнику таких пацієнтів у три рази вище, ніж у пацієнтів з іншими ізоформами апоЕ.

Первинні гіперліпопротеїнемії

Первинні моногенні ГЛП являють собою генетичні захворювання, які передаються по аутосомно-домінантному або рецесивному типу з чітким характером наслідування в сім'ях. Зазвичай ГЛП виявляється не менш ніж у половини близьких родичів хворих. На долю первинних гомогенних ГЛП припадає близько 10-15% усіх випадків ГЛП.

Сімейна гіперхолестеринемія (СГ) є аутосомно-домінантним захворюванням, яке викликано дефектом гена, що кодує структуру і функцію рецептора до апопротеїнів В/Е. У хворих з ***гетерозиготною формою СГ***, яка зустрічається з частотою 1:500 в загальній популяції, функціонує половина В/Е рецепторів, в зв'язку з чим рівень холестеролу загального виявляється підвищеним приблизно вдвічі (до 9-12 ммоль/л). Гіперхолестеролемія виникає з моменту народження і зберігається на все життя. У переважній більшості випадків виявляється ГЛП Іа типу, підвищення рівня ХС при нормальній кількості ТГ, однак у деяких хворих може бути ГЛП Ів типу (підвищення рівня ХС і ТГ). Ознакою гетерозиготної форми СГ є ксантоматоз, тобто відкладення етерів холестерину у сухожиллях, що призводить до їх різко вираженому потовщенню. Найбільш доступним для досліду є ахілове сухожилля, його ксантоматоз викликає деформацію стопи та необхідність у носінні ортопедичного взуття. Вельми характерний також ксантоматоз сухожиллів екстензорів кисті. Може виявлятися і ліпідна дуга рогівки. Основний вплив СГ

полягає у передчасному виникненні ІХС, котра у чоловіків зазвичай розвивається на 4-5 десятилітті життя, а у жінок - на 10 років пізніше. Дієтичну і медикаментозну терапію СГ слід починати в ранньому дитячому віці і проводити на протязі усього життя.

Гомозиготна форма СГ зустрічається вкрай рідко – з частотою один випадок на 1 мільйон населення. У подібних хворих повністю відсутні рецептори до апопротеїнів В/Е, у зв'язку з чим рівень ХС може досягати 20-40 ммоль/л. Зазвичай ІХС розвивається не пізніше 20-річного віку. Описано і її виникнення у перші роки життя. Для пацієнтів з гомозиготною СГ характерна наявність не тільки ксантоматозу сухожиллів, але й еруптивних ксантом на сідницях, колінах, ліктях, слизовій оболонці порожнини рота. У зв'язку з тим, що у подібних хворих медикаментозна терапія неефективна, засобами лікування є плазмафорез або плазмасорбція. Найбільш радикальні результати можуть бути отримані при трансплантації печінки: Апо В/Е рецептори гепатоцитів донорської печінки швидко нормалізують рівень холестеролу в крові.

Сімейна комбінована гіперліпідемія (СКГ) зустрічається приблизно у 1 з 100 осіб. Передається по аутосомно-домінантному типу. Точна природа СКГ невідома, припускають, що в її основі лежить гіперпродукція апо-В-100. Для ліпідного спектру хворих з СКГ характерний поліморфізм: у одних пацієнтів виявляється Іа тип ГЛП (ізолювана гіперхолістеринемія), у інших - Ів тип ГЛП (підвищення рівня $X_{\text{загальний}}$ і ТГ), у третіх - ГЛП ІV типу (ізолювана гіпертригліцеридемія). Такий же поліморфізм характерний для родичів хворих. Цікаво, що тип ГЛП може неодноразово змінюватися протягом життя хворого. Рівень ХС зазвичай складає від 6,5 до 8,5 ммоль/л, а наявність ТГ не перевищує 4,5 ммоль/л. Частіше за все ознаки СКГ виникають у дорослих, але вона також може проявитися і у дітей. Основне значення СКГ полягає у передчасному розвитку ІХС. Від сімейної гіперхолестеролемії СКГ відрізняється відсутністю ксантоматоза сухожиллів. Медикаментозну терапію СКГ проводять виходячи з того типу ГЛП, який є на даний момент.

Сімейний дефект апопротеїна В-100 є аутосомно-домінантною генетичною аномалією, при якій значно підвищується рівень ЛПНЩ (Іа тип ГЛП). Дефект викликається мутацією єдиного нуклеотиду, яка призводить до заміщення аргініна на глютамін в апоВ-100, в результаті зменшується спорідненість ЛПНЩ до апо-В/Е -рецепторів.

Дис-бета-ліпопротеїдемія (ГЛП ІІІ типу) відноситься до найбільш рідкісних моногенних форм первинних ГЛП і зустрічається з частотою 1:5000. Захворювання передається по аутосомно-рецесивному типу і пов'язано з наявністю мутантної форми апо-Е. Оскільки цей апопротеїн опосередкує зв'язування ремнантних частинок, які утворюються при катаболізмі ХМ і ЛПДНЩ з апо-В/Е-рецепторами печінки з їх подальшим вилученням із крові, рівень цих частинок значно підвищується, що проявляється підвищенням як

складу ХС, так і ТГ в плазмі крові. Ремнантні частинки, які накопичуються в крові при ГЛП III типу, називаються бета-ЛПДНЦ, оскільки вони характеризуються більш швидкою рухомістю при електрофорезі, ніж звичайні ЛПДНЦ. Звідси і походить назва даної аномалії – дис-бета-ліпопротеїдемія. Для формування ГЛП III типу недостатньо наявності генетичного дефекту, необхідні й інші фактори – гіпотиреоїдизм, цукровий діабет, надмірна вага, зловживання алкоголем. Тому захворювання розвивається, як правило, у дорослих. Клінічні ознаки дис-бета-ліпопротеїдемії можуть включати лінійний ксантоматоз складок долонь і пальців. При ГЛП III типу виникає розповсюджений атеросклеротичний процес з ураженням коронарних, сонних, ниркових артерій і судин кінцівок. Діагноз встановлюють за допомогою ідентифікації ізоформ апо-Е.

Дис-бета-ліпопротеїдемія вельми чутлива до дієтичної терапії, і різке обмеження вживання насичених жирів поряд зі зниженням надлишкової маси тіла нерідко усуває порушення ліпідного складу крові. При медикаментозній терапії перевагу віддають фібра там і статинам.

Сімейна ендогенна гіпертригліцеридемія (СЕТ) зустрічається приблизно у 1 з 300 особин і характеризується підвищенням рівня ЛПДНЦ (IV тип ГЛП). Рівень ТГ зазвичай складає від 200 до 500 мг/дл (2,3-5,7 ммоль/л), вміст холестеролу загального нормальний або декілька підвищений, а рівень $X_{\text{ЛПДНЦ}}$ знижений. Ризик ІХС збільшений у помірному ступені. У рідких випадках СЕТ проявляється як ГЛП V типу зі вмістом ТГ > 1000 мг/дл (11,3 ммоль/л) і гіперхолестеролемією. При цьому варіанті СЕТ ризик ІХС значно підвищений. Крім того існує реальна загроза розвитку гострого панкреатиту. Проводиться терапія, яка направлена на зниження рівня ТГ (дієта з обмеженням жиру, заї застосуванням ліків - фібратів).

Сімейна хіломікронемія (СХ) зустрічається вкрай рідко і характеризується підвищенням рівня циркулюючих ХМ, які зберігаються у плазмі крові після 12 годин голодування. На наявність ХМ вказує вершкоподібний шар над супернатантом. Рівень ТГ може перевищувати 1000 мг/дл (11,3 ммоль/л), рівень ХС залишається нормальним або трохи підвищується. СХ виникає внаслідок зниження активності ліпопротеїдліпази в результаті її генетичного дефекту або утворення мутантних форм апо С-II, який є її активатором. СХ впадає по аутосомно-рецесивному типу, виникає у дітей і проявляється абдомінальними болями і панкреатитом. Є характерною наявністю ксантом, які можуть займати велику частину поверхні шкіри. Ефективна дієтична терапія, яка полягає в обмеженні споживання жирів до 10% від загальної калорійності раціону.

Вторинні (набуті) гіперліпопротеїдемії

1. **Цукровий діабет** обох типів (інсулін-залежний, інсулін-незалежний) супроводжується стимуляцією тканинного ліполізу (у жировій тканині, печінці). Це призводить до збільшення пулу ВЖК. Окислення ВЖК збільшує

концентрацію ацетил-КоА, що в свою чергу стимулює синтез ХС в печінці, внаслідок цього виникає гіперхолестеролемія при гіпер- β -ліпопротеїнемії, можливі типи гіперліпопротеїдемії Іа, ІV.

2. **Гіпотиреоз**: низька концентрація тиреоїдних гормонів (Т3, Т4) призводить до зменшення швидкості катаболізму ЛПНЩ, спостерігається гіперліпідемія типу Іа, Ів, ІІІ, ІV. Патологія має зворотний характер: зникає при терапії гормональними препаратами.

3. **Нефротичний синдром**: головна причина гіперліпідемії – гіпоальбумінемія у наслідок порушень процесу фільтрації у нирках; можливі гіперліпідемії типу Іа, Ів, ІV, V.

4. **Холестаз** (клінічний і біохімічний синдром, який розвивається внаслідок порушення виділення жовчі): спостерігається гіперхолестеролемія, зменшення ЕХ, поява ЛП-Х, інгібування ЛХАТ, можливий ксантоматоз.

5. **Алкоголізм**: спостерігається гіперліпідемія типу ІV, V. На початку розвитку захворювання ЛПВЩ підвищуються, потім при хронічному алкоголізмі кількість ЛПВЩ знижується.

6. **Синдром X** (Множинний метаболічний синдром) - поєднання декількох метаболічних дефектів, які зустрічаються разом, особливо у літніх людей.

Наприклад: порушення толерантності до глюкози при інсулін-незалежному цукровому діабеті, ожиріння, ГЛП, гіпертензія та схильність до розвитку атеросклерозу. Центральною ланкою в метаболічному порушенні є резистентність до інсуліну \rightarrow гіперінсулінемія. Ожиріння якщо і є, то важлива не загальна кількість жиру, а його абдомінальна локалізація. ГЛП асоціюється з підвищенням в крові хворого ТГ, кількості малих частинок ЛПНЩ та їх часу циркуляції, зі зменшенням $X_{\text{ЛПВЩ}}$. У хворого є наявний атеросклероз великих судин.

Застосування ліпідів плазми крові у діагностиці захворювань

В клініці прийнято оцінювати вміст ліпідів тільки в плазмі чи сироватці (в сироватці в середньому на 3% більше $X_{\text{загальний}}$ и $\text{TГ}_{\text{загальні}}$, ніж у плазмі).

Формула для розрахунку: плазм. $X = \text{сиров. } X : 1,03$

плазм. ТГ = сиров. ТГ : 1,03

Рівень ліпідів в крові залежить від віку, статі, факторів зовнішнього та внутрішнього середовища: характеру харчування, фізичної активності, гормонального стану. Для ХС плазми крові характерні сезонні коливання: у здорових людей ХС вищий взимку і нижчий влітку, це можливо пояснюється особливостями харчування та способом життя людини в ці сезони.

При народженні $X_{\text{загальний}} \leq 2,6$ ммоль/л, а $X_{\text{ЛПНЩ}} < 1$ ммоль/л. В дитинстві $X_{\text{загальний}} \leq 4,1$ ммоль/л. $X_{\text{загальний}}$ починає збільшуватись в період статевого дозрівання. В розвинутих країнах прийнято вважати за норму вміст ХСзаг у дорослих людей, що не перевищує значення $\leq 6,47$ ммоль/л.

Таблиця 3. Класифікація рівня холестеролу

Рівень X	$X_{\text{загальний}}$ (ммоль/л)	$X_{\text{ЛПНЩ}}$ (ммоль/л)
Припустимий	<5,2	<3,4
Суміжний	5,2-6,2	3,4-4,1
Підвищений	>6,2	>4,1

На даний час рівень $X_{\text{загальний}}$ в плазмі крові розглядають як бажаний менш ніж 5,2 ммоль/л. (см. табл.3) Через те, що ризик виникнення ішемічної хвороби серця (ІХС) значно зростає при $X_{\text{загальний}}$ більше ніж 5,2 ммоль/л, критичним або суміжним вважають діапазон від 5,2 до 6,2 ммоль/л.

При диференційній діагностиці порушень ліпідного обміну має місце визначення не тільки $X_{\text{загальний}}$, але і його концентрація у фракціях ліпопротеїнів плазми крові (табл.4).

Таблиця 4. Класифікація рівня холестеролу

у фракціях ЛПНЩ, ЛПВЩ

Концентрація в плазмі, ммоль/л	Ідеальна	Максимальна	Аномальна
$X_{\text{ЛПНЩ}}$	<4,0	4,0-5,0	>5,0
$X_{\text{ЛПВЩ}}$	>1,0	0,9-1,0	<0,9

Гіперхолестеролемія (ГХС) в ізольованому вигляді діагностується при $X_{\text{загальний}}$ більше ніж 6,47 ммоль/л. При гіперліпопротеїнеміях атерогенного типу звичайно спостерігається стан гіперхолестеролемії (ГХС) в ізольованому вигляді чи в поєднанні з гіпертригліцеридемією (ГТГ). ГТГ в ізольованому вигляді вста новлюється

при показниках $TG_{\text{загальні}} > 2,3$ ммоль/л (рекомендований рівень $TG_{\text{загальні}}$ для здорової людини не більш як 2,0 ммоль/л). Розрахунок показника $X_{\text{ЛПНЩ}}$ можна вести за формулою Фрідевальда (за умовою, якщо $TG_{\text{загальні}} < 4,5$ ммоль/л):

$$X_{\text{ЛПНЩ}} = X_{\text{загальний}} - (X_{\text{ЛПВЩ}} + TG_{\text{загальні}}/2,2),$$

Фактори, асоційовані з низьким рівнем $X_{\text{ЛПВЩ}}$:



Одним з важливих параметрів оцінки міри розвитку атеросклерозу судин людини є коефіцієнт атерогенності (К), який може бути розрахованим відповідно формул (1) і (2):

$$K = \frac{X_{\text{ЛПНЩ}} + X_{\text{ЛПДНЩ}}}{X_{\text{ЛПВЩ}}} \quad (1)$$

$$K = \frac{X_{\text{загальний}} - X_{\text{ЛПВЩ}}}{X_{\text{ЛПВЩ}}} \quad (2)$$

У здорових осіб $K = 3,0-3,5$ (у чоловіків вище, ніж у жінок). У хворих на ІХС він 5-6 одиниць.

Іноді існує необхідність розглядання співвідношення вмісту апопротеїн В-100/ апопротеїн А1 (в нормі це співвідношення складає $1.37 \pm 0,21$), коли діагноз ІХС ставиться у пацієнтів, що не мають ГЛП.

Які фактори впливають на змінення показників ліпідного обміну?

- Чим вище співвідношення ненасичених ВЖК до насичених ВЖК в раціоні людини, тим менше $X_{\text{СЛПНП}}$, менше ТГ загальні.
- Фізичні навантаження призводять до збільшення фракції ЛПВЩ, це асоціюється з підвищенням $X_{\text{ЛПВЩ}}$, зниженням $X_{\text{ЛПНП}}$ і ТГ.
- Алкоголь у малих дозах стимулює синтез ЛПВЩ, однак в хронічній фазі захворювання спостерігається виснаження синтезу ЛПВЩ і підвищення ТГ у крові.
- Екзогенні естрогени підвищують $X_{\text{ЛПВЩ}}$ і ТГ, знижують $X_{\text{ЛПНЩ}}$.

Вимоги до проведення аналізу на ліпіди плазми крові

Для отримання результатів показників ліпідного обміну адекватних до стану хворого слід дотримуватись наступних вимог:

1. 14-годинне голодування хворого до здачі крові на аналіз.
2. Протягом останніх 2-х тижнів пацієнт знаходиться на своїй звичайній дієті.
3. Виключене споживання алкоголю до здачі аналізу.
4. При обстеженні хворого з інфарктом міокарду (ІМ) кров слід брати або протягом 24 годин після ІМ, або через 3 місяці, оскільки в період одужання метаболізм ліпідів порушується (неадекватний до нормального стану обміну).
5. Дослідження ліпідів є **обов'язковим!** у пацієнтів з: 1) ІХС; 2) сімейними передумовами для раннього розвитку ІХС (у осіб молодших 60 років); 3) характерними ознаками гіперліпідемії: ксантома зв'язок, поява ліпідної дуги рогівки у віці до 50 років.

Рекомендоване обслідування на ліпіди при цукровому діабеті, при гіпертензії. Має сенс скринінг-дослідження чоловіків 20-60 років. На даний час рекомендується визначати рівень загального холестерину та холестерину фракції ЛПВЩ (необов'язково натщесерце) усім, кому виповнилося 20 років. Якщо $X_{\text{загальний}} < 5,2$ ммоль/л і $X_{\text{ЛПВЩ}}$ не менш ніж 35 мг/дл (0,9 ммоль/л), то

ніяких спеціальних заходів не проводиться. Але наступні аналізи слід проводити з інтервалами в 5 років, тому що рівень холестеролу підвищується при старінні людини. Якщо рівень $X_{\text{загальний}} > 5,2$ ммоль/л і $X_{\text{ЛПВЩ}}$ менш ніж 0,9 ммоль/л, слід провести забір крові натщесерце і визначити вміст $X_{\text{загальний}}$, $X_{\text{ЛПВЩ}}$, $\text{TГ}_{\text{загальні}}$ і розрухувати за допомогою формули Фрідвальда (См. вище). Подальша тактика залежить від розрахованого рівня $X_{\text{ЛПВЩ}}$ і кількості факторів ризику ІХС, які представлені у таблиці 5.

Якщо $X_{\text{ЛПВЩ}}$ нижче 130 мг/дл (3,4 ммоль/л), то достатньо рекомендацій загального характеру і активного втручання у корекцію метаболічних шляхів організму не проводиться. Аналогічна тактика є можливою у пацієнтів зі $X_{\text{ЛПВЩ}}$ у межах від 130 до 160 мг/дл, які мають не більш одного додаткового фактора ризику.

Таблиця 5. Фактори ризику ішемічної хвороби серця (ІХС)

Модифіковані	Немодифіковані
Куріння сигарет	Вік
Артеріальна гіпертензія	45 років і вище (у чоловіків)
Цукровий діабет	55 років і вище (у жінок)
Низький ХС ЛПВЩ (<35 мг/дл-0,9 ммоль/л)	Чоловіча стать
	Семейна обтяженість по ІХС

Примітка: високий $X_{\text{ЛПВЩ}}$ (>60 мг/дл-1,6 ммоль/л) визначається негативним фактором ризику. При його наявності з-поміж суми факторів ризику слід відняти один фактор.

Якщо пацієнт має більш двох додаткових факторів ризику, то йому необхідно дотримуватися дієтичної терапії для зменшення $X_{\text{ЛПВЩ}}$ до норми (130 мг/дл і менше). Дієтична терапія є вимогою для усіх пацієнтів які мають $X_{\text{ЛПВЩ}} > 160$ мг/дл (обмеження споживання холестеролу, насичених жирів та калорійності раціону).

На даний час найбільш застосовані методи визначення вмісту ліпідів та ліпопротеїдів:

1. Імунопреципітація (визначення ЛП);
2. Імуноелектрофорез (визначення ЛП);
3. Афінна хроматографія на конканаваліні А (визначення ЛП)
4. Спектрофотометрія (визначення вмісту $X_{\text{загальний}}$, $\text{TГ}_{\text{загальні}}$)

Причини жирової інфільтрації печінки

1. **Перший тип жирової інфільтрації печінки обумовлено високим рівнем ВЖК**, які утворюються:
 - при посиленому ліполізі ТГ у жировій тканині;

- завдяки високій активності ліпопротеїналіпазі, яка розщеплює ТГ у периферичних тканинах.

Надлишок вільних ВЖК надходить з плазми крові у печінку, де відбувається їх етерифікація. Це є сигналом для зменшення продукції ЛПДНЩ, у такому разі більш концентрація ТГ залишається у печінці замість того, щоб бути відправленими у складі ЛПДНЩ з печінки у кровообіг. Слід зазначити, що зміст ТГ у печінці значно підвищується як при голодуванні, так і при дієті з високим змістом жирів. При голодуванні спостерігається зменшення секреції ЛПДНЩ з печінки у кров. Такий ж ефект спостерігається при порушенні секреції інсуліну, або при порушеннях синтезу білків в організмі. При запущеному цукровому діабеті у хворого спостерігається жирова інфільтрація печінки, яка супроводжується збільшенням маси органу та розвитком його дисфункцій.

2. Другий тип жирової інфільтрації печінки обумовлений метаболічним блокуванням продукції ліпопротеїдів плазми крові:

- При порушенні синтезу апопротеїнів;
- При формуванні ліпопротеїнів з ТГ, інших ліпідів та апопротеїнів;
- При порушенні продукції фосфоліпідів, які беруть участь у формуванні ліпопротеїдів.

Порушення формування фосфоліпідів може бути обумовлено нестачею холіну, якій використовується гепатоцитами для синтезу лецитину. Холін отримав назву ліпотропного фактору. Синтези холіну, лецитину з фосфатидилетаноламіну потребують присутності донора метильної групи - S-аденозилметіоніну. Порушення формування цієї активної форми метіоніну у гепатоцитах побічно призводить до зменшення продукції фосфоліпідів, що необхідні для формування ЛПДНЩ.

Дефіцит холіну на фоні недостатнього надходження в організм вітамінів піридоксину, пантотенової кислоти, α -токоферолів, незамінних насичених вищих жирних кислот призводить до підвищення швидкості жирової інфільтрації печінки.

3. Жирова інфільтрація печінки спостерігається при хронічному алкоголізмі.

Механізм розвитку жирової інфільтрації подібний до типу 1 (див. вище), однак високий рівень вільних ВЖК при хронічному алкоголізмі вчені пояснюють підвищенням швидкості їх синтезу у печінці, а не стимуляцією ліполізу у жировій тканині. Посилений синтез ТГ у печінці у хронічних алкоголіків супроводжується зменшенням швидкості утилізації ВЖК у мітохондріальному окисленні.

Діагностика порушень всмоктування жирів (мальабсорбції)

Тестування абсорбції жирів у тонкому кишечнику

Порушення всмоктування жирів (мальабсорбція) виникає при де яких захворюваннях шлунку, підшлункової залози, печінки та кишечника. Тести на

всмоктування жирів часто застосовують при діагностиці синдрому мальабсорбції.

Тестування жирів у фекаліях

Незначна кількість жирів виводиться з фекаліями у здорової людини, однак їхнім джерелом є ентероцити. Їх кількість не перевищує 18 ммоль/24 години. Тест виконується протягом трьох днів. Пацієнт повинен вживати 90-100 г жирів протягом 48 годин до початку дослідження і підчас його проведення. Точність розрахунку часу проведення експерименту визначається завдяки приймання кольорового маркера типу карміну, який не всмоктується. Кармін вводиться всередину, і збирання екскрементів починається з моменту, коли вони стають забарвленими. Друга порція карміну надається після 72 годин. Збирання фекалій припиняється, коли маркер знову з'являється у випорожненнях.

Дихальний тест з ^{14}C -триолеїном

Цей тест є найбільш зручним та надійним. Для тесту необхідним є лічильник β -випромінювання. Проведення тесту займає декілька годин і виконується в умовах денного стаціонару.

Принцип методу: Пацієнт досліджується натщесерце і у стані спокою. Помічений ^{14}C -триацілгліцерол надходить у ШКТ (пацієнту надають 10 мкКюрі ^{14}C -триолеїна у складі 60 г харчового жиру), він перетравлюється, продукти перетравлення всмоктуються, частина мітки потрапляє у повітря пацієнта у складі вуглекислого газу. Збирають по 1 ммоль вуглекислого газу щогодини протягом 7 годин. Вимірюється радіоактивність зібраних проб CO_2 . При мальабсорбції радіоактивність проб знижена у 3-5 разів.

Ожиріння : основні причини розвитку захворювання та його діагностика

Більшість випадків ожиріння виникає при абсолютному підвищенні споживання калорій або при відносному підвищенні споживання калорій у порівнянні зі витратами енергії. Затримання рідини в організмі також може асоціюватися зі збільшенням маси жирової тканини.

1. Підвищення споживання калорій. Цей тип ожиріння виникає внаслідок підвищення апетиту у людини. Причини підвищення апетиту асоціюються з типом ожиріння; розрізняють ідіопатичне ожиріння, психогенне ожиріння, гіпоталамічне ожиріння (виникає в наслідок розвитку пухлини гіпофізу або при пошкодженнях, які мають вплив на гіпоталамус), ожиріння при аденомі та карциномі клітин острівців Лангерганса (ці пухлини викликають розвиток гіпоглікемії, тому спостерігається підвищення апетиту), ожиріння при ранній

стадії цукрового діабету, ожиріння при синдромі Кушінгу, ожиріння при алкоголізмі.

2. Зниження продукції енергії в організмі людини. Така ситуація виникає в організмі при гіпотиреодизмі і гіпогонадизмі (синдромі Кляйнфельтер), коли у людини відсутня мотивація до фізичного руху та роботи. Гіпофізарна недостатність також викликає розвиток ожиріння за подібним механізмом.

3. Ожиріння в наслідок затримання рідини в організмі. Такий тип ожиріння спостерігається при карциномі легенів, гіпоталамічних пошкодженнях, нефротичному синдромі, цирозі, берібері та мікседемі.

4. Генетичні порушення у синтезі лептину та його рецепторів викликають ожиріння. Лептин людини є простим білком, що містить 167 амінокислотних залишків і синтезується у білій жировій тканині. Лептин секретується у кров, його рівень є прямо пропорційним загальній кількості відкладень жиру у людини. Дія лептину на рецептори гіпоталамусу викликає секрецію нейропептида Y, якій має здатність стимулювати апетит; у гіпофізі під впливом лептину синтезується α -МСГ, який подавляє апетит. У жінок лептин контролює секрецію гонадоліберину, тому опосередковано впливає на ліпогенез у жировій тканині. Лептин прямо стимулює окислення ВЖК у печінці і скелетних м'язах, це сприяє підвищенню швидкості ліполізу у печінці (але не в жировій тканині).

Мутації в гені лептину, або у генах його рецепторів є первинними причинами розвитку ожиріння у людини.

Діагностика причин ожиріння

У більшості випадків необхідно провести обстеження ендокринної системи пацієнта за визначенням показників вмісту гормонів у плазмі та сироватці крові відповідно клінічним симптомам захворювання, яке асоціюється з розвитком ожиріння. Є корисними такі діагностичні тести:

1. 48-годинне голодування при моніторингу вмісту глюкози у плазмі крові (при інсуліномії);
2. Визначення вмісту інсуліну у плазмі крові (при інсуліномії);
3. Визначення вмісту С-реактивного білку у плазмі крові (при інсуліномії);
4. Визначення вмісту кортизолу у сироватці крові (при синдромі Кушінгу);
5. Тест навантаження дексаметазоном (при синдромі Кушінгу);
6. Проведення хромосомного аналізу (при синдромі Кляйнфельтера).
7. Визначення вмісту лептину у плазмі крові за методом ELISA.

Діагностика порушень обміну фосфоліпідів

Обмін фосфоліпідів є важливою частиною обміну ліпідів в організмі людини, тому що він забезпечує нормальне формування будь-якої мембрани будь-якої клітини. Але найбільш за все страждають нервові клітини, коли виникає порушення цього типу обміну. У схемі 2 представлені метаболічні шляхи синтезу та деградації фосфоліпідів у нервовій тканині, де позначені основні порушення метаболізму:

Хвороба Німана-Піка виникає при генетичному дефекті сфінгомієлінази (1), це спричиняє накопичення сфінгомієліну у нервовій тканині.

Хвороба Гоше обумовлена генетичним дефектом β -глюкоцереброзидази, яка здійснює гідроліз надлишкового глюкоцереброзиду, утворюючи глюкозу і керамид у лізосомах нейронів (2). Ця хвороба асоціюється з накопиченням глюкоцереброзиду у нервовій тканині.

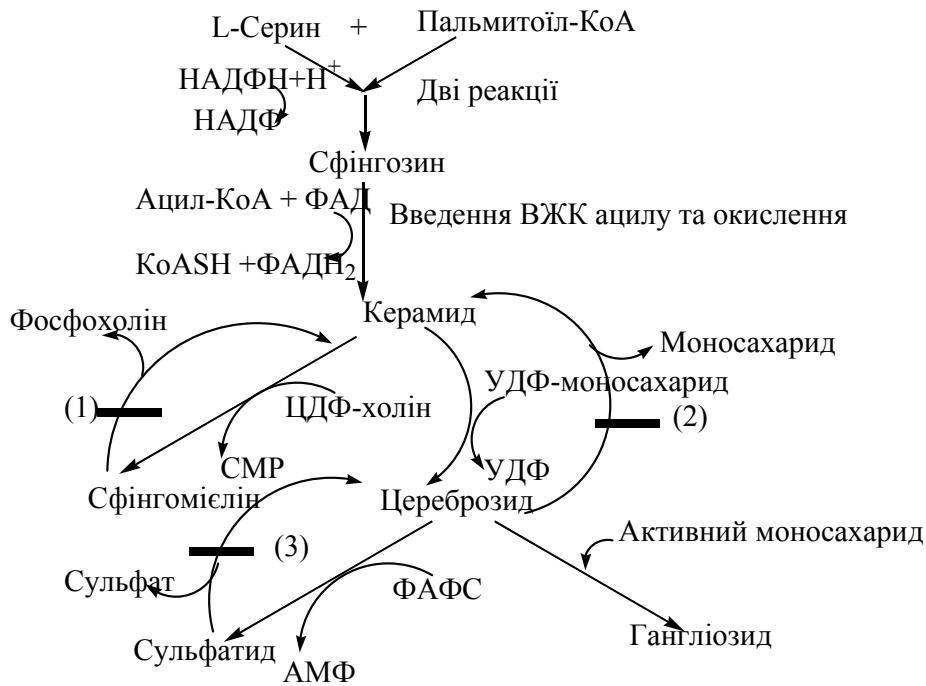
Метахроматична лейкодистрофія виникає у пацієнтів з генетичним дефектом лізосомального ферменту, якій здійснює гідроліз сульфатидів (3).

Хвороба Краббе асоціюється з генетичним дефектом β -галактоцереброзидази, цей дефект спричиняє акумуляцію галактоцереброзидів у нервовій тканині.

Ліпідози асоціюються зі різноманітними мутаціями генів лізосомальних ферментів, які необхідні для деградації гангліозидів. Найбільш вивчені хвороби - **Gm1-гангліозидоз** та **хвороба Тея-Сакса**.

Gm1-гангліозидоз це хвороба, яка асоціюється з накопиченням у нервовій тканині Gm1-гангліозиду, глікопротеїнів та мукополісахарида кератин сульфату в наслідок дефіциту β -галактозидази.

Хвороба Тея-Сакса виникає в наслідок дефіциту лізосомального ферменту гексоамінідази А, яка здійснює гідроліз Gm2-гангліозидів з утворенням термінального N-ацетил-галактозоаміну. Дефіцит ферменту спричиняє накопичення гангліозидів у нервовій тканині.



ФАФС- Фосфо Аденозил Фосфо Сульфат

Схема 2. Метаболічні шляхи синтезу та деградації фосфоліпідів у нервовій тканині

Методи діагностики порушень обміну фосфоліпідів у нервовій тканині

Хвороба Гоше

1. Самий точний метод – це визначення активності ферменту глюкоцереброзидази в лейкоцитах або у культурі фібробластів шкіри. Проведення цього аналізу дозволяє остаточно визначити діагноз.
2. Аналіз ДНК дозволяє виявити генетичні мутації і недостатність ферменту. Перевага цього методу у його можливості як можна раніше (у пренатальному періоді) установити діагноз з точністю 90% і прогнозувати міру ускладнень хвороби у подальшому розвитку.

Хвороба Тея-Сакса

Скринінг-тест на хворобу проводиться відразу при народженні дитини, для аналізу береться кров з вени, чи з пупкового канатику і визначається в сироватці крові (або плазмі крові) активність ферменту гексоамінідази А.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Визначте коефіцієнт атерогеності, якщо $\text{ХСзаг} = 8$ ммоль/л, $\text{ХС}_{\text{ЛПВЩ}} = 0,8$ ммоль/л.:
 - A. 5
 - B. 9
 - C. 6
 - D. 3
 - E. 3,5

2. Назвіть ліпопротеїди, які відсутні у плазми крові здорової людини натщесерце:
 - A. ЛПДНЩ
 - B. ЛПВЩ
 - C. ЛПНЩ
 - D. ЛПВЩ₂
 - E. Хіломікрони

3. Найдіть описання плазми крові хворого при дис- β - ліпопротеїдемії:
 - A. Плазма крові каламутна, після стояння на холоді каламуть не зникає, є тонкий сметаноподібний шар
 - B. Плазма крові каламутна, після стояння на холоді каламуть зникає
 - C. Плазма крові прозора, але дуже низька її щільність
 - D. Плазма крові жовта, прозора
 - E. Плазма крові прозора, але дуже висока її щільність

4. Назвіть фермент, активність якого найбільш важлива для формування ремнантних ЛПВЩ:
 - A. Гангліозидаза
 - B. ЛХАТ
 - C. АСАТ
 - D. Гексоамінідаза А
 - E. Пролін гідроксилаза

5. У пацієнта виявлена гіперхолестеролемія (7,5 ммоль/л). Які додаткові біохімічні аналізи плазми крові необхідно провести для підтвердження діагнозу «Гіпер- β -ліпопротеїдемія, тип Іа»:
 - A. Визначення ХС у фракції ЛПНЩ
 - B. Визначення активності ЛХАТ
 - C. Визначення ХС у фракціях ЛПВЩ, ЛПНЩ і вмісту ТГ
 - D. Визначення С-реактивного білку
 - E. Визначення активності П-ТГЛ

6. Назвіть ліпопротеїн, якій здійснює транспорт надлишкового холестеролу з периферичних тканин у печінку з метою його деградації:
 - A. ЛПДНЩ

- В. ЛПВЩ
- С. ЛПНЩ
- Д. ЛППЩ
- Е. Хіломікрони

7. Хвороба Німана-Піка асоціюється з накопиченням у нервовій тканині одного з фосфоліпідів, назвіть його:

- А. Сфінгомієлін
- В. Сульфатид
- С. Галактоцереброзид
- Д. Глюкоцереброзид
- Е. Керамид

8. Назвіть клас ліпідів, зміст якого підвищується при розвитку гіперхіломікронемії:

- А. Холестерол та його похідні
- В. Гліцерофосфоліпіди
- С. Сфінгомієліни
- Д. Триацилгліцероли
- Е. Гангліозиди

9. Розрахунок змісту ХС_{ЛПНЩ} можна вести за формулою Фрідевальда:

$ХС_{ЛПНЩ} = ХС_{Заг} - (ХС_{ЛПВЩ} + ТГ_{Заг}/2,2)$, за умови, якщо:

- А. $ТГ_{Заг} < 2,5$ ммоль/л
- В. $ТГ_{Заг} < 3,5$ ммоль/л
- С. $ХС_{Заг} > 5,5$ ммоль/л
- Д. $ХС_{Заг} > ХС_{ЛПВЩ}$
- Е. $ТГ_{Заг} < 4,5$ ммоль/л

10. Вчені вказують деякі фактори, які асоційовані з низьким рівнем ХС_{ЛПВЩ} у людини. Назвіть їх:

- А. Ожиріння
- В. Високе споживання вуглеводів
- С. Куріння
- Д. Висока фізична активність
- Е. Факторі в позиції А, В, С

11. ЛППЩ – ліпопротеїди проміжної щільності, які утворюються у плазмі крові з ліпопротеїдів:

- А. ЛПДНЩ
- В. ЛПВЩ
- С. ЛПНЩ
- Д. ЛПДВЩ

Е. Хіломікрони

12. Сімейний дефект апопротеїна В-100 є аутосомно-домінантною генетичною аномалією, при якій значно підвищується рівень ліпопротеїна:

- А. ЛПДНЩ
- В. ЛПВЩ
- С. ЛПНЩ
- Д. ЛПДВЩ
- Е. Хіломікрони

13. Дефіцит холіну на фоні недостатнього надходження в організм вітамінів призводить до розвитку:

- А. Жирової інфільтрації печінки
- В. Атеросклерозу судин
- С. Інсулін-незалежного цукрового діабету
- Д. Гіпертригліцеридемії
- Е. Пухлини інсуліноми

14. Визначення змісту лептину у плазмі крові хворих необхідно проводити при:

- А. Інсулін-незалежному цукровому діабеті
- В. Атеросклерозі судин
- С. Жирової інфільтрації печінки
- Д. Ожирінні, причину якого трудно пояснити
- Е. Синдромі Кушінгу

15. Порушення всмоктування жирів у ШКТ має назву:

- А. Мальабсорбція
- В. Квашіоркор
- С. Берібері
- Д. Ксантоматоз
- Е. Акумуляція

16. При гіпотиреозі спостерігається гіперліпідемія, тому що низька концентрація тиреоїдних гормонів призводить до зменшення швидкості катаболізму класу ліпопротеїдів:

- А. Хіломікрони
- В. ЛПДВЩ
- С. ЛПДНЩ
- Д. ЛПВЩ
- Е. ЛПНЩ

17. Дихальний тест з ^{14}C -триолеїном застосовується в клініці для діагностики порушень:

- А. Транспорту ліпідів в крові
- В. Синтезу апопротеїнів у печінці

- C. Всмоктування жирів у ШКТ
- D. Синтезу ЛПДНЩ у печінці
- E. Перетравлення ліпідів у ШКТ

18. В плазмі крові пацієнта спостерігається підвищення змісту ЛПДНЩ, ЛПНЩ, ТГзаг, ХСзаг; хіломікрони відсутні. Така зміна показників плазми крові відповідає патологічному стану:

- A. Гіперхіломікронемія
- B. Гіпер- β -ліпопротеїдемія поєднана з гіпер-пре β -ліпопротеїдемією
- C. Дис- β -ліпопротеїдемія
- D. Гіпер-пре β -ліпопротеїдемія
- E. Гіперхіломікронемія поєднана з гіпер-пре β -ліпопротеїдемією

19. Ішемічна хвороба серця (ІХС) супроводжується зміною показників ліпідного обміну у плазмі крові пацієнта, більшість з них підвищується за обсягом, але один показник зменшується, це:

- A. ХСзаг
- B. ХСлпнщ
- C. ЕХС
- D. ТГзаг
- E. ХСлпвщ

20. Самий точний метод діагностики хвороби Гоше – це визначення активності спеціального ферменту в лейкоцитах або у культурі фібробластів шкіри. Назвіть цей фермент:

- A. Глюкоцереброзидаза
- B. Гексоамінідаза А
- C. Сфінгомієліназа
- D. Холестеролестераза
- E. Галактоцереброзидаза

КЛІНІКО-БІОХІМІЧНІ КРИТЕРІЇ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ НИРОК І СЕЧОВИВІДНИХ ШЛЯХІВ

Нирки виконують в організмі більше десяти життєво необхідних функцій, до яких відносять:

1. Фільтруючу
2. Реабсорбційну
3. Секреторну
4. Синтезуючу
5. Концентраційну
6. Осморегуляторну
7. Волюморегуляторну
8. Екскреторну
9. Інкреторну
10. Метаболічну
11. Регуляцію кислото-основної рівноваги.

Порушення хоча б однієї із перерахованих функцій може привести до тяжких наслідків для всього організму людини в цілому і мати летальний кінець.

Ось чому своєчасна і точна діагностика уражень нирок та сечовивідної системи є актуальним завданням сучасної медицини.

Структурні особливості нирок

Нирки (ren)- парний бобоподібний орган з масою 120-200г, розташований з двох боків хребта позаочеревинно: права - на рівні 12 грудного (верхня межа) і 3 поперекового (нижня межа) хребців, ліва - на рівні нижньої половини 11 грудного - 2 поперекового хребців. Нирки відгородженні шаром жирової тканини. Увігнутих краєм нирки звернені до хребта - це ворота нирки (hilus renalis). Крізь них проходять ниркова артерія, ниркова вена, лімфатичні судини, нерви та сечовід.

Кожна нирка покрита сполучнотканинною капсулою і складається з кіркового і мозкового шарів. Кірковий шар проходить у вигляді стовбців до мозкової речовини. Між стовбцями мозковий шар утворює піраміди, основи яких направлені до кіркового шару. Кількість пірамід у кожній нирці приблизно від 8 до 16. Верхівки 2-3 пірамід поєднуються між собою і утворюють сосочки (papilla renalis), що мають отвори через які витікає сеча в малі, потім в великі ниркові чашечки, а з - них в ниркову миску, сечовід та сечовий міхур.

Структурно-функціональною одиницею нирки є **нефрон**. У нирці налічується близько 1 млн. нефронів. Нефрони функціонують не одночасно. Їх діяльність залежить від потреб нирок.

Кожний нефрон (рис. 1) має:

- капсулу клубочка (капсула Шумлянського-Боумена);
- проксимальний звивистий каналець;
- петлю Генле (низхідну та висхідну частини петлі);
- дистальний звивистий каналець;

- збирну трубочку.

Кілька збирних трубочок зливаючись утворюють сосочковий канал, який відкривається невеликим отвором на сосочку у малу ниркову чашку. Ниркові каналці разом із трубочками пронизують кіркову і мозкову речовини нирок.

Більша частина нефронів (майже 4/5) розташована у кірковому шарі (звідси кірковий нефрон), менша - у мозковому, це юкстамедулярні нефрони (juxta - біля, поряд; medulla - мозковий). У нефронів мозкового шару приносна і виносна судини капсули мають однаковий діаметр, і виносна не утворює вторинної сітки капілярів. Отже, такі нефрони не бувають участі в утворенні сечі. Вони виробляють ренін (регуляція кров'яного тиску) та нирковий еритропоетичний фактор (стимулює еритроцитопоез).

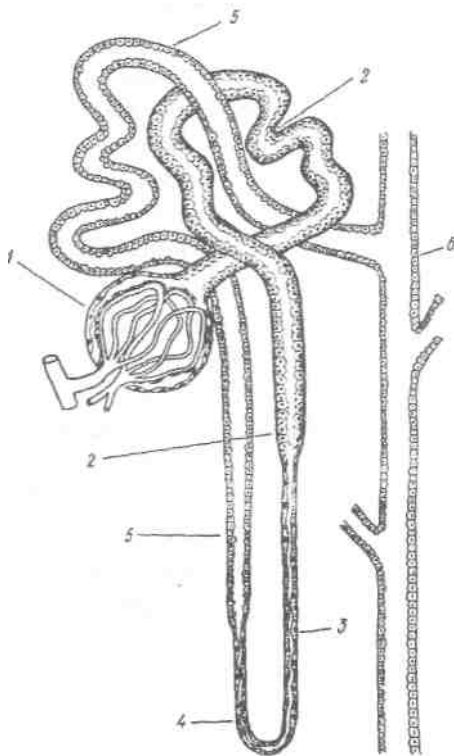


Рис. 1. Будова нефрона:

- 1 - капілярний клубок і капсула;*
- 2 - проксимальний канадець;*
- 3 - низхідна частина петлі Генле;*
- 4 - висхідна частина петлі Генле;*
- 5 - дистальний звивистий канадець;*
- 6 - збірні трубочки.*

Механізм сечоутворення

Існує декілька теорій сечоутворення, з яких найбільш розповсюджена фільтраційно-реабсорбційно-секреторна. У основі утворення сечі лежать три процеси, що відбуваються в нефронах: фільтрація, реабсорбція і секреція.

Клубочкова фільтрація в нирках

Сечоутворення починається з процесу клубочкової фільтрації, яка відбувається в капсулах. Клубочкова фільтрація - це пасивний процес, який проходить без затрат енергії. Завдяки високому тиску крові, в капілярах клубочка (70-80 мм. рт. ст.) плазма крові разом з розчиненими в ній неорганічними та органічними речовинами проштовхується крізь тонку стінку капіляра та фільтрується в просвіт капсули Шумлянського-Боумена і утворюється первинна сеча, яка за складом відрізняється від плазми крові тільки відсутністю білків. За добу в дорослої людини фільтрується близько 150-180 літрів первинної сечі, з яких із сечею виділяється лише 1,5 літрів.

В нормі через нирковий фільтр не проходять форменні елементи крові, білки та ліпіди. Проникність ниркового фільтру може змінюватись під впливом речовин, що виробляються самою ниркою. В патологічних умовах проникність ниркового фільтру зростає. В сечі з'являються форменні елементи, а саме – еритроцити (гематурія), білок (протеїнурія).

Виражене в різній ступені звуження або розширення приносних та виносних артеріол в нирках веде до зміни тиску в капілярах, а саме змінює рівень клубочкової фільтрації в кожному окремому нефроні. Артеріола, що “виносить”, приблизно на 30% менше в діаметрі артеріоли, що “приносить”. Регуляція їх просвіту здійснюється насамперед кініновою системою. При високій концентрації катехоламіни звужують і приносну, і виносну артеріоли. Ангіотензин-II звужує виносні артеріоли. Звуження артеріоли, що “виносить” збільшує рівень клубочкової фільтрації, а звуження артеріоли, що “приносить” знижує фільтрацію. Зміна ефективного ниркового кровотоку змінює кількість функціональних клубочків.

По величині клубочкової фільтрації судять про фільтраційну здатність нирок.

Канальцева реабсорбція в нирках

Другим чинником сечоутворення є реабсорбція.

Первинна сеча надходить в канальці. В міру її проходження по канальцях відбувається реабсорбція (всмоктування) в кров більшої частини води і ряду речовин глюкози, амінокислот, вітамінів, гормонів, іонів Na, K, Ca, Cl.

Реабсорбція може відбуватися пасивно (осмос, дифузія, піноцитоз) та активно (з витратами енергії АТФ).

Пасивно, шляхом піноцитозу в проксимальних канальцях реабсорбуються близько 90% амінокислот, фосфати, калій. Брадикінін, гастрин, низькомолекулярні білки спочатку гідролізуються до амінокислот, ферментами щіткової облямівки, а потім реабсорбуються у кров. За механізмом осмосу реабсорбується вода. Сечовина, сечова кислота реабсорбуються частково, завдяки простій дифузії.

Активно здійснюється реабсорбція глюкози в комплексі з іонами натрію, за участю білків-переносників. Глюкоза є пороговою речовиною. При нормальній функції нирок, якщо концентрація глюкози в плазмі не перевищує 10 ммоль/л (нирковий поріг), вона реабсорбується повністю. При збільшенні

концентрації глюкози в плазмі, вона не може бути реабсорбована через нестачу відповідних транспортних білків та починає виділятися з сечею.

Порушення реабсорбції може бути первинним, при відсутності ферментів-переносників, та вторинним, при наявності запального процесу в канальцях нирок.

Канальцева секреція в нирках

Секреція – третій етап процесу сечоутворення, що представляє собою перенос деяких речовин із крові в просвіт канальців та збільшення їх виділення із сечею. Шляхом канальцевої секреції виводяться крупномолекулярні колоїдні речовини, які погано фільтруються, але мають бути виведеними з організму (деякі катіони та аніони органічних речовин, парааміногіпурова кислота, глюкуронова кислота, сульфати, сульфаніламідні препарати, антибіотики).

Процес секреції сприяє виділенню речовин із організму, які утворюються епітелієм канальців в результаті обміну речовин (наприклад, аміак та іони водню).

Транспортування речовин, що декретуються, в залежності від властивостей може протікати активно (органічні кислоти) чи пасивно (органічні основи). Порушення процесів секреції іонів водню та аміаку приводять до змін кислотного-основного стану, реакції сечі.

Секреція речовин відбувається в різних відділах канальців нирок. В проксимальному сегменті нефрона протікає переважно секреція органічних кислот та основ; аміак, іони калію секретуються дистальними звивистими канальцями та збиральними трубками; іони водню секретуються в дистальних, та в проксимальних звивистих канальцях.

Кліренс

Механізм виділення різних речовин, а також величину ефективного ниркового кровотоку можна оцінити, визначивши кліренс для різних речовин.

Кліренс (clearance – очищення; англ.) – коефіцієнт очищення (мл/хв), що показує, який об'єм плазми при проходженні крові через нирки очищується від даної речовини за одну хвилину.

Кліренс визначають за формулою:

$$C = \frac{K_c}{K_p} \times V, \text{ де}$$

C – кліренс (мл/хв);

K_c – концентрація речовини в сечі;

K_p – концентрація речовини в плазмі;

V – хвилинний об'єм сечі, який дорівнює кількості сечі, що виділилась за певний проміжок часу поділеної на час виділення в хвилинах (мл/хв).

Нирки за хвилину утворюють ультрафільтрат близько із 120 мл плазми. Якщо кліренс будь-якої речовини менший 120 мл/хв, то це означає, що речовина не тільки фільтрується, але й реабсорбується. При збільшенні

кліренсу 120 мл/хв речовина не тільки фільтрується в клубочках, а й секретується в каналцях нефрону. Величини коефіцієнтів очищення різних речовин коливаються від 0 до 700 мл/хв.

За механізмом потрапляння речовин в сечу, їх можна поділити на декілька груп:

1. Фільтруючі (креатинін, інулін, манітол та ін.);
2. Реабсорбуючі та секретуючі (калій, натрій, кальцій та ін.);
3. Секретуючі (деякі органічні кислоти та основи);
4. Продукуючі в нирках (аміак, деякі ферменти);
5. Реабсорбуючі (глюкоза, амінокислоти).

Реабсорбуючі відносять до порогових речовин. Речовини, що зазнають активної реабсорбції, називаються високопороговими. Ця група має велике значення для медичної практики. Поява високопорогової речовини говорить про патологічний стан в організмі. Так, наприклад, глюкоза реабсорбується повністю, якщо концентрація її в плазмі не перевищує порогової (10 ммоль/л). При підвищенні її порогової концентрації в крові вона частково виділяється з сечею.

Таким чином, механізм виділення різних речовин вивчають визначаючи коефіцієнт їх очищення і порівнюють його з коефіцієнтом очищення інуліну (полімер фруктози). Інулін виділяється тільки за допомогою фільтрації і не реабсорбується. Встановлено, що якщо коефіцієнт очищення якої-небудь речовини вище, ніж коефіцієнт очищення інуліну, то ця речовина виділяється не тільки за допомогою фільтрації, але й секретії. Якщо коефіцієнт очищення речовини, що вивчається нижче коефіцієнта очищення інуліну, то вона не тільки фільтрується, але й реабсорбується. Коефіцієнт очищення глюкози дорівнює 0. Сечова кислота, натрію хлорид, аскорбінова кислота та інші речовини мають порівняно низький коефіцієнт очищення. Завдяки значній дифузії сечовини в каналцях коефіцієнт очищення сечовини нижче коефіцієнта очищення інуліну. Коефіцієнт очищення екзогенного креатиніну вище коефіцієнта очищення інуліну. Ендогенний креатинін тільки фільтрується, тому коефіцієнти очищення ендогенного креатиніну і інуліну однакові.

Кліренсу очищення речовини, що не реабсорбується та не секретується (фільтруючої) відповідає величина клубочкової фільтрації. Речовиною, за якою найчастіше визначають клубочкову фільтрацію в клініко-діагностичних лабораторіях, є креатинін ендогенний (проба Реберга-Тарєєва).

Проба Реберга—Тарєєва дозволяє судити про клубочкову фільтрацію і каналцеву реабсорбцію в нирках.

Клубочкову фільтрацію визначають за формулою:

$$\text{КлФ} = \frac{\text{КрС}}{\text{КрП}} \times \text{ХВД}, \text{ де}$$

КрС – креатинін сечі;

КрП – креатинін плазми;

ХвД – хвилиний діурез.

Канальцеву реабсорбцію (КР) визначають за формулою:

$$\text{КР} = \frac{\text{КлФ} - \text{ХвД}}{\text{КлФ}} \times 100\%, \text{ де}$$

КР – реабсорбція;

КлФ – клубочкова фільтрація;

ХвД – хвилиний діурез.

Клубочкова фільтрація по ендogenousму креатиніну в нормі становить 80-120 мл/хв, канальцева реабсорбція – 97-99%.

Значення компонентів системи залишкового азоту в діагностиці нирок

Залишковий азот – азот небілкових азотовмісних речовин, продуктів білкового обміну, який залишається після осадження білків трихлороцтовою кислотою або іншим осадником. Залишковий азот включає в себе азот сечовини, амінокислот, сечової кислоти, креатину, креатиніну, аміаку, індикану, та інших небілкових речовин. У нормі вміст залишкового азоту (небілкового) в крові складає 14,3—28,6 ммоль/л. Підвищення у крові небілкового азоту називають азотемією. Азот сечовини найбільша фракція залишкового азоту (біля 60%), тому від збільшення концентрації сечовини в крові залежить підвищення небілкового азоту (азотемія). Визначити сечовину в сироватці крові набагато простіше ніж залишковий азот, тому в клініко-діагностичних лабораторіях використовують дослідження сечовини. При різних патологічних станах кількість азоту сечовини може збільшуватись до 90% від кількості залишкового азоту.

У азотемії існує три класифікації, в залежності від причини виникнення, але вони об'єднані декількома загальними властивостями. Для усіх форм азотемій характерні зниження швидкості клубочкової фільтрації у нирках, підвищення азоту сечовини у крові. За патогенезом розрізняють ретенційну та продукційну азотемії.

Для визначення типу азотемій використовують індекс відношення азоту сечовини до креатиніну. У нормі він становить менше 15.

Ретенційна азотемія буває в разі нормального надходження у кров азотовмісних продуктів, але недостатнього виділення їх з сечею. Можуть бути ниркові та позаниркові ретенційні азотемії.

При нирковій - порушується вивідна (екскреторна) функція нирок. Цей стан характерний для різних захворювань, при будь-якому пошкодженні паренхіми нирок. Зустрічається при:

- пієлонефритах;
- гломерулонефритах;
- амлоїдозі;
- туберкульозі нирок;
- гострій та хронічній нирковій недостатності.

Вміст сечовини в сироватці крові залежить від ступеня ураження функцій нирок та перевищує 13 – 15 ммоль/л.

Швидке корегування азотемії може відновити ниркові функції, та навпаки, відстрочена корекція може привести до ниркової недостатності.

Причинами позаниркової азотемії є зниження артеріального тиску (нижче 60 мм. рт. ст.) та ниркового кровоплину, порушення гемодинаміки, що приведе до зменшення клубочкової фільтрації. Це може виникати при:

- крововиливах;
- серцевій недостатності;
- зниженні об'єму циркулюючої крові;
- гіпофункції наднирників;
- отруєнні арсеном (arsenicum);
- інфекційних захворюваннях.

Іншою причиною виникнення позаниркової азотемії є порушення відтоку сечі уже після її виділення у нирці:

- здавлення пухлиною сечівника;
- вагітність;
- блокування сечівника каменями;
- гіпертрофія присечникової залози, тощо.

Вміст сечовини в сироватці крові при позаниркових азотеміях не перевищує 13 ммоль/л, але кількість азоту сечовини від кількості залишкового азоту може збільшуватись до 90%.

Продукційна (надниркова) азотемія спостерігається при надлишковому надходженні у кров продуктів розпаду білків:

- післяопераційних станах;
- опіках;
- злоякісних новоутвореннях;
- при споживанні дуже великої кількості білкової їжі;
- різних запальних процесах з вираженим посиленням катаболізму білків (сепсис, туберкульоз, дифтерія, скарлатина);
- обезводненні в результаті блювоти, проносу, зменшеного вживання води.

Концентрація сечовини при цих станах не перевищує 10 ммоль/л. Проте надлишок сечовини швидко виводиться із організму нирками. Функція нирок при цій азотемії не порушена.

Біохімічні констеляції при найбільш поширених захворюваннях нирок

Хвороби нирок — широко поширені патології. В індустріально розвинених країнах у здорового населення ці патології спостерігаються у 7-10%. Зростанню ниркової патології сприяють інші захворювання (опіки, синдром тривалого здавлення, ін.). Важливе значення в діагностиці хвороб нирок займає лабораторна діагностика. Методи, якими користуються в

Захворювання	Біохімічні зміни
--------------	------------------

сучасних лабораторіях, дають уяву про функціональний стан нирок, та дозволяють контролювати перебіг захворювання, ефективність лікування.

До найбільш поширених рекомендованих біохімічних тестів при різних формах ниркової патології відносять дослідження сечовини, креатиніну, проби Реберга-Тарєєва, аланінамінопептидази (ААП₃ з'являється в сироватці крові та в сечі при ураженні ниркової тканини), трансамінідази (з'являється в сироватці крові при ураженні ниркової тканини), електролітів, загального білка та білкових фракцій, сечової кислоти та ін. Біохімічні констеляції при найбільш поширених захворюваннях нирок представлені в таблиці №1.

Підвищення концентрації сечовини в сироватці крові не є ранньою ознакою порушення функції нирок, але ступінь її підвищення вказує на характер поразки нефрону, рівень інтоксикації.

Підвищення креатиніну в сироватці крові залежить від клубочкової фільтрації. Чим нижче показник клубочкової фільтрації, тим вище концентрація креатиніну в сироватці крові. Концентрацію креатиніну в сечі досліджують переважно для визначення клубочкової фільтрації.

	у крові	у сечі
Гострий пієлонефрит	аланінамінопептидаза (ААП ₃) ↑аланінамінотрансфераза	Протеїнурія аланінамінопептидаза (ААП ₃) ↑лейцинамінопептидаза
Хронічний пієлонефрит	↑сіалові кислоти ↑фібриноген ↑α ₂ - і γ-глобуліни С-реактивний білок ↑средньомолекулярні пептиди (СМІ, СМІІ) ↑креатинін ↑сечовина ↑залишковий азот ↑сечова кислота трансамінідиназа ↑лужна фосфатаза ↑γ-глутамілтрансфераза ↓натрій ↓хлор	протеїнурія (до 1-3 г/л) ↓сечова кислота
Гострий гломерулонефрит	↑креатинін ↑сечовина ↑холестерол ↑альбумін ↑α ₂ - і γ-глобуліни ↑лактатдегідрогеназа ↑малатдегідрогеназа ↑фібриноген	протеїнурія (до 1г/л)

	↑ПІ (протромбіновий індекс)	
Хронічний гломерулонефрит	↓загальний білок ↓альбумін ↑ α_2 - і γ -глобуліни ↑сіалові кислоти ↑серомукоїди ↑фібриноген ↑креатинін ↑сечовина ↑ γ -глутамілтрансфераза ↑лужна фосфатаза порушення водно-електролітного обміну	протеїнурія (до 10 г/добу) ↓клубочкова фільтрація ↑аланінамінопептидаза (ААП ₃)
Інтерстиціальний нефрит	↑ α_2 - і γ -глобуліни ↑білки гострої фази ↑креатинін ↑сечовина ↓натрій ↓калій ↓хлориди зміна показників кислотно-лужного стану — зсув у бік ацидозу	протеїнурія глюкозурія ↓натрій ↓калій ↓кальцій ↓клубочкова фільтрація ↓канальцева реабсорбція
Гостра ниркова недостатність	↓альбумін ↑ α_2 - і γ -глобуліни ↑средньомолекулярні пептиди (СМІ, СМІІ) ↑залишковий азот	протеїнурія

	<p>підвищено відношення сечовини крові до креатиніну</p> <p>метаболічний ацидоз</p> <p>трансамінідаза</p> <p>↑калій</p> <p>↑магній</p> <p>↑фосфор</p> <p>↓натрій</p> <p>↓кальцій</p> <p>↓хлориди</p>	
Хронічна ниркова недостатність	<p>↓натрій</p> <p>↓кальцій</p> <p>↑калій</p> <p>↑магній</p> <p>↑фосфор</p> <p>↑хлор</p> <p>↑средньомолекулярні пептиди (СМІ, СМІІ)</p> <p>мікроглобулінемія</p> <p>гіперліпідемія</p> <p>↓вітамін D</p> <p>↑глюкоза</p> <p>↑індикан</p> <p>азотемія</p> <p>виразність змін залежить від стадії процесу</p> <p>латентна стадія:</p> <p>↑креатинін до 0,7ммоль/л</p> <p>↑сечовина до 8,8ммоль/л</p> <p>тяжка стадія:</p> <p>↑креатинін до</p>	<p>протеїнурія</p> <p>↓клубочкова фільтрація до 40 мл/хв</p>

	1,0ммоль/л ↑сечовина до 19ммоль/л	
Термінальна ниркова недостатність	азотемія уремія ↑креатинін до 1,25 ммоль/л ↑сечовина у 5 - 10 разів від норми ↑натрій (вище 150 ммоль/л) ↑осмолярність (вище 330 мосмоль/л) метаболический декомпенсований ацидоз ↓рН крові (нижче 7,35)	↓ клубочкова фільтрація (нижче 10 мл/хв) ↓ осмолярність (нижче 500 мосмоль/л)
Нефротичний синдром	↑креатинін ↑сечовина ↑холестерин (10ммоль/л і вище) ↑тригліцериди ↑фосфоліпіди ↑гаптоглобін ↓альбумін ↑γ-глобуліни ↑α ₂ -глобуліни ↑альдостерон ↑церулоплазмін ↑натрій ↑калій ↑альдостерон ↑АКТГ	протеїнурія (до 5 г/добу) ↓альбумін ↓клубочкова фільтрація ↑канальцева реабсорбція ↓α-амілаза

	↑ТТГ ↑α-амілаза трансамінідиназа	
--	--	--

Таблиця №1. Біохімічні констеляції при найбільш поширених захворюваннях нирок

Умовні позначення:

↑ – підвищення концентрації (активності);

↓ – зниження концентрації (активності).

Клініко-діагностична характеристика сечокам'яної хвороби.

Сечокам'яна хвороба – хронічне захворювання нирок та сечових шляхів, яке характеризується порушенням обміну речовин з утворенням каменів. Причини та механізм утворення сечових каменів недостатньо з'ясовані. До загальних факторів виникнення сечокам'яної хвороби відносять порушення обміну білків, пуринів, вуглеводів, ліпідів, мінерального обміну, кислотно-основної рівноваги, нестачу вітамінів, тощо.

Ендогенними факторами, що сприяють відкладенню каменів, є запальні захворювання нирок і сечовий стаз. До екзогенних відносять кліматичні (температура, вологість повітря), географічні фактори (характер ґрунту, недостатність йоду, склад питної води, насиченість її мінеральними солями), особливості харчування (обмежене вживання води, гостра та кисла їжа підвищує кислотність сечі, внаслідок чого камені утворюються легше).

В сечі солі утримуються в розчинному стані завдяки захисним колоїдам, що знаходяться в сечі та в крові. Основні властивості захисних колоїдів – це їх адсорбуюча здатність впливати на розчинність солей при певній температурі та рН сечі (5,5-7,5). Захисні колоїди включають нуклеоальбумін, альбумін, муцин, нуклеїнову, хондроїтинсіркову кислоти, гепарансульфати, хондроїтинсульфати тощо. Незначне порушення колоїдно-кристалічної рівноваги приводить до утворення нерозчинних солей, які формуються в камені.

За хімічним складом 70-80% сечових каменів відносяться до неорганічних з'єднань катіону кальцію – оксалати, фосфати, карбонати, 5-10% каменів представлена магнієвими солями, 15% - уратами. Рідше зустрічаються білкові, холестеринові, цистинові та ксантинові камені. Камені абсолютно однорідного складу зустрічаються рідко. Частіше зустрічаються змішані по складу в різних пропорціях камені. В залежності від їх виду при сечокам'яній хворобі в сечі виявляють уратурію, оксалурію, гіперкальціурію, гіперфосфатурію.

Склад сечі в нормі і патології

Сеча - це рідина, в якій містяться органічні й неорганічні речовини, що виводяться з організму (близько 200 хімічних інгредієнтів). Із сечею виходить надлишок води, в якій розчинені кінцеві продукти азотого обміну (сечовина, сечова кислота, креатинін); продукти гниття білків, що всмоктуються в кишківнику і через кров надходять до печінки; мінеральні солі, органічні, неорганічні кислоти та сторонні для організму речовини (ксенобіотики). Із сечею виділяються також ферменти, мікроелементи, пігменти, гормони, вітаміни та їх похідні та ін.

Кількість сечі

Об'єм добової сечі у дорослих – 1000 – 2000 мл.

Діурез – це виділення сечі за певний проміжок часу (за день, ніч або повністю за добу).

Добовий діурез змінюється від характеру дієти, умов праці, температури середовища, сну тощо. Зменшення кількості утворення сечі в період сну відбувається під дією антидіуретичного гормону задньої частки гіпофізу.

Фізіологічне порушення добового діурезу спостерігається при вживанні великої кількості води, фруктів, ягід та овочів, багатих на воду, супроводжується збільшенням діурезу до 2000-3000 мл, і навпаки, споживання сухих продуктів, особливо солоних, обмеження води призводить до зменшення діурезу (менше 600 мл).

Зменшується діурез при роботі в гарячих цехах, в спеку, при значних фізичних навантаженнях, коли людина втрачає воду переважно з потом, при проносі, блюванні.

Органічні речовини сечі

Білки

В нормі сеча практично не містить білку. За добу здорова людина виділяє із сечею до 0,02 г/л низькомолекулярних білків з молекулярною масою до 70 кД (альбуміни, пепсин, трипсин, підшлункову амілазу та ін.), які потрапляють через нирковий клубочковий фільтр і повністю не реабсорбуються в каналцях нирок та не визначаються звичайними існуючими лабораторними якісними методами. До таких білків можна віднести також білки злущених клітин сечовивідних органів.

Протеїнурія - виділення білка із сечею в концентраціях, при яких якісні реакції на білок стають позитивними, що свідчить про патологічний стан. Вона може бути ниркового (ренальна) та позаниркового (преренальна та постренальна) походження. Ниркова протеїнурія в свою чергу ділиться на функціональну та органічну.

Преренальна протеїнурія виникає при посиленому розпаді білка в тканинах і гемолізі. Зустрічаються при мієломній хворобі, при переливанні несумісної крові та ін.

Ниркова (ренальна) протеїнурія може виникнути внаслідок ураження нирок.

Функціональні ниркові протеїнурії виникають внаслідок збільшення проникності ниркового фільтру або порушенні гемодинаміки в клубочках нирки у відповідь на сильні зовнішні подразники, що не пов'язані з захворюваннями. Зустрічаються:

- при вживанні їжі багатой білками (аліментарна);
- при стресових станах (емоційна);
- при сильних фізичних навантаженнях (транзиторна);
- у зв'язку з аномаліями осанки при гіперлордозі у дітей та підлітків (частіше у віці 14 – 15 років), котрі обумовлені частіше анатомічними порушеннями клубочків, які в умовах змінення ниркової гемодинаміки, при переході у вертикальне положення, сприяють проходженню білку через стінку клубочкових капілярів;
- у немовлят в перші 4 – 6 діб зумовлена наявністю поки що не зміцнілого ниркового фільтру (при різких перепадах температур або втратою рідини в перші дні після народження).

Органічні протеїнурії виникають внаслідок пошкодження нефрона нирок (паренхіматозні захворювання). Характерні при гострих і хронічних гломерулонефритах, пієлонефритах, нефрозах, нефропатіях вагітних, гіпертонічній хворобі, амілоїдозі, туберкульозі нирок, застійних явищах у нирках.

Розрізняють наступні види органічних протеїнурій:

- клубочкові протеїнурії виникають при запальних процесах нирок, які супроводжуються порушеннями фільтрації білку за рахунок підвищення проникності базальних мембран клубочків нефрону, в разі їх пошкодження імунними комплексами;
- канальцеві протеїнурії зустрічаються при нефрозах, коли порушується реабсорбція білків у канальцях;
- змішані протеїнурії виникають при нефропатії (одночасні пошкодження клубочків та канальців).

Постренальні протеїнурії викликаються білковими домішками (запальних ексудатів, клітин, що розпалися), які виділяються сечовивідними шляхами та статевими органами. Зустрічаються при циститах, пієлітах, уретритах, простатитах, вульвовагінітах та ін.). Така протеїнурія не перевищує 1 г/л.

На протязі доби в окремих порціях сечі спостерігається нерівномірне виділення білку.

Визначення вмісту білку в добовій кількості сечі дає більш вірне уявлення про хворобу і повинно бути обов'язковим при обстеженні хворих з будь-якою патологією нирок. По рівню втрат білку з сечею можливо судити про активність патологічного процесу в нирках і оцінювати ефективність лікування. Виділяють наступні ступені протеїнурії:

1. слабо виражена екскреція білку 0,1-0,5 г/добу
2. помірна – 0,5-1 г/добу
3. виражена - 1-3 г/добу

більш висока протеїнурія розцінюється як прояв нефротичного синдрому.

Амінокислоти

В нормі за добу людина виділяє із сечею до 1 г амінокислот.

Гіпераміноацидурия – підвищений вміст амінокислот у сечі, що супроводжується порушенням їх реабсорбції в канальцях нефронів. Спостерігають при слідуючих станах:

- вживанні великої кількості м'яса (гістидинурия);
- голодуванні;
- вітамінній недостатності;
- розпаду тканинних білків (травмах, променевої і опікової хвороби);
- порушенні функцій печінки;
- спадкових порушеннях обміну окремих амінокислот (пролінурия, гліцинурия, фенілкетонурия, що зумовлена спадковою нестачею в печінці фенілаланінгідроксилази, і призводить до розвитку захворювання розумової відсталості – фенілпіровиноградної олігофренії; алкаптонурия, при якій у сечі різко зростає вміст гомогентизинової кислоти - проміжного продукту обміну тирозину);
- вагітності (коли знижується нирковий поріг);
- ураженнях токсичними речовинами проксимальної частини нефронів.

Глюкоза

В сечі здорової людини глюкоза знаходиться в дуже малих кількостях (менше 150 мг/л) і не визначається прийнятими в клініко-діагностичних лабораторіях якісними методами дослідження.

Глюкозурия – виділення глюкози з сечею. Спостерігається в разі досягнення її концентрації в крові понад 10,0 ммоль/л для дорослих (нирковий поріг глюкози) та понад 12,5 ммоль/л у дітей, а також залежить від стану клубочкової фільтрації та канальцевої реабсорбції.

Глюкозурия може бути фізіологічною та патологічною.

Фізіологічна глюкозурия спостерігається:

- при введенні з їжею великої кількості вуглеводів;
- при стресах (емоційна);
- у вагітних (аліментарна);
- після вживання лікарських препаратів.

Патологічна глюкозурия обумовлена частіш за все порушенням обміну речовин. Умовно розрізняють:

- діабетичну глюкозурию (панкреатогенну), що виникає при цукровому діабеті;
- гормональну глюкозурию, яка зустрічається при патології гіпофізу, при тиреотоксикозі, феохромоцитомі та ін.;
- екстраінсулярну глюкозурию, що пов'язана з подразненнями та травмами центральної нервової системи (менінгітах, енцефалітах, крововиливах в головний мозок та ін.);
- ренальну (ниркову) глюкозурию, яка обумовлена порушенням реабсорбції глюкози в проксимальних канальцях нирок, причому рівень глюкози в крові нормальний або, навіть, незначно понижений. Вона

спостерігається при хронічних нефритах, при гострій нирковій недостатності, отруєнні морфіном, хлороформом, фосфором та як вроджена недостатність ниркового фільтру, світло-клітинному раці нирок.

Кетонові (ацетонові) тіла

Кетонові (ацетонові) тіла – продукти неповного окислення жирів та білків. До них відносять ацетон, ацетооцтову та β -оксималяну кислоти. Це токсичні речовини, які викликають ацидоз. Добова сеча містить 20-50 мг кетонових тіл, які не можна виявити звичайними якісними пробами, тому в нормі кетонові тіла в сечі не визначаються.

Розрізняють фізіологічну кетонурію, яка спостерігається при:

- голодуванні;
- надмірному вживанні жирів та білків на тлі обмеження вуглеводів, тощо.

Патологічна кетонурія виявляється при деяких патологічних станах, які призводять до зростання концентрації кетонових тіл у сечі. Кількість їх може сягати 20-50 г і більше. Спостерігається при:

- цукровому діабеті;
- гарячці;
- раці шлунка;
- кахексії;
- хворобі Іценко-Кушинга;
- субарахноїдальному крововиливі;
- черепно-мозкових травмах;
- алкогольної інтоксикації;
- післяопераційних станах та ін.

Кров

Поява в 1 л сечі еритроцитів крові вище 1×10^6 (гематурія), або кров'яного пігменту гемоглобіну (гемоглобінурія) може виникати при ураженні сечовивідних шляхів або нирок:

- сечокам'яній хворобі;
- хронічній нирковій недостатності (ХНН);
- пухлинах сечовивідної системи;
- папіломах;
- інфекції сечового тракту;
- інфаркті нирок;
- гломерулонефриті;
- пієлонефриті;
- нефроптозі;
- травмі нирок та ін.

Гематурія та гемоглобінурія може виникати без органічних уражень нирок та сечовивідних шляхів при:

- геморагічних діатезах;
- тяжких фізичних навантаженнях;

- вживанні деяких лікарських препаратів (сульфаніламідів, уротропіну, передозування антикоагулянтів);
- отруєнні;
- опіках;
- переливанні несумісної крові;
- захворюваннях крові.

Білірубін

Сеча здорової людини практично не містить білірубину і в нормі рутинними методами не виявляється. За добу у дорослої людини виділяється до 4,23 мкмоль/л білірубину. Підвищення концентрації прямого білірубину в крові (35–85 мкмоль/л) зумовлює появу його і в сечі. У сечі виявляють кон'югований (прямий) білірубін. Некон'югований (непрямий) білірубін, не проходить через нирковий фільтр.

Білірубінурія спостерігається при:

- закупорці жовчної протоки (обтураційні жовтяниці);
- ураженні паренхіми печінки (паренхіматозні жовтяниці, цироз печінки, рак печінки);
- токсикозах;
- бронхопневмоніях.

Сечовина

Сечовина – кінцевий метаболіт білкового (азотистого) обміну, що становить основну масу органічного залишку сечі. Доросла людина за добу виділяє із сечею 20-35 г сечовини, або 333- 583 ммоль/добу. В клінічній практиці дослідження концентрації сечовини в сечі використовують для реанімаційних хворих, які одержують їжу ентерально (зондово) та парентерально, для контролю процесів анаболізму та катаболізму. Підвищення концентрації сечовини в сечі свідчить про негативний азотистий баланс, пониження – про позитивний. Визначив азотистий баланс, розраховують необхідну кількість білкових препаратів, які потрібно ввести хворому.

Зменшення концентрації сечовини спостерігається при:

- обмеженні білку в раціоні;
- в період інтенсивного росту;
- вагітності;
- порушенні функції печінки (цироз, рак, паренхіматозна жовт'яниця);
- ацидозі, оскільки значна частина NH_3 використовується для нейтралізації кислот;
- порушенні функцій нирок (нефрити), що супроводжуються погіршенням виділення сечовини в сечу і нагромадженням її у крові - настає отруєння організму продуктами азотного обміну (уремія);
- прийомі гормонів.

Підвищення рівня сечовини в сечі супроводжується при:

- харчуванні переважно білковою їжею;

- захворюваннях, що пов'язані з посиленням розпадом білків (злоякісні пухлини, деякі інфекційні хвороби, що супроводжуються лихоманкою, післяопераційні стани);
- цукровому діабеті;
- гіперфункції щитовидної залози;
- вживанні лікарських препаратів (саліцилатів, хініну та ін.).

Креатин

В нормі креатину в сечі немає. З'являється він (креатинурія) при збільшенні концентрації в сироватці крові вище 120 мкмоль/л. Креатинурія буває фізіологічною та патологічною. Фізіологічна креатинурія спостерігається:

- у дітей, яка обумовлена активним синтезом креатину;
- у вагітних жінок;
- в ранньому післяпологовому періоді;
- у старих людей як наслідок атрофії м'язів;
- при безвуглеводній дієті;
- при значних операційних втручаннях.

Патологічна креатинурія з'являється раніше ніж поява клінічних проявів хвороби при:

- міопатіях;
- міастеніях;
- прогресивних м'язових дистрофіях;
- міоглобінуріях;
- гіпертиреозі;
- цукровому діабеті;
- паренхіматозних гепатитах.

Виділення креатину у дітей більше, ніж у дорослих, у жінок більше, ніж у чоловіків.

Креатинін

У нормі доросла людина виділяє до 3 г креатиніну за добу, або 4,4-17,7 ммоль/л×добу, що є величиною відносно постійною та індивідуальною. По відношенню до показника вмісту креатиніну в сечі можна визначити рівень екскреції багатьох інших метаболітів (гомованілінової кислоти, адреналіну, норадреналіну та ін.). Краще визначати екскрецію речовин у добовій сечі. Кількість виділеного креатиніну залежить від синтезу креатину, з якого утворюється креатинін, що відбувається в нирках і печінці. Тому при ураженнях печінки і нирок кількість креатиніну в сечі зменшується. Також його рівень в сечі залежить від м'язової маси людини та вивідної здатності нирок. На кожний 1 кг маси тіла за добу у чоловіків виділяється 18-32 мг креатиніну (креатиніновий коефіцієнт), а у жінок 10-25 мг.

Концентрація креатиніну в сечі зменшується при втраті білкової маси тіла внаслідок тривалого негативного азотого балансу. Зниження екскреції спостерігається при:

- атрофії м'язів;

- хронічному нефриті;
- амілоїдозі нирок;
- гіпертиреозі;
- анемії;
- лейкозах;
- вживанні лікарських препаратів (сульфаніламідів, барбітуратів, антибіотиків та ін.).

Виділення креатиніну зростає при:

- інтенсивних фізичних навантажень;
- цукровому діабеті;
- лихоманці;
- ураженнях паренхіми печінки;
- кишковій непрохідності;
- гіпотиреозі.

Сечова кислота

За добу в нормі у дорослих виводиться 0,6-0,8 г сечової кислоти, або 1,48-4,43 ммоль/добу.

Сечова кислота легко фільтрується в канальці, але 90% її реабсорбується. Зменшення її виділення буває при харчуванні переважно вуглеводною їжею, що не містить пуринів.

Вміст сечової кислоти в сечі в нормі у дітей: новонароджені - 0,24 ммоль/добу; 1 року - 0,71-1,27 ммоль/добу; 5 років - 0,59-2 ммоль/добу; 12-14 років - 2,36- 5,9 ммоль/добу.

Патологічне підвищення виділення сечової кислоти (гіперурикурія) буває при:

- подагрі;
- лейкозах;
- інфаркті міокарда;
- злоякісних пухлинах;
- артритих;
- променевої хвороби;
- прийомі аспірину, кортикостероїдів, тощо.

Фізіологічна гіперурикурія зустрічається при вживанні продуктів, які багаті на нуклеопротейни:

- печінки;
- м'яса;
- ікри;
- кави.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Укажіть функцію, яку не виконують нирки:

- A. Осморегуляторну
- B. Волноморегуляторну
- C. Екскреторну

- D. Інкреторну
E. Правильної відповіді не має
2. Як змінюється активність α -амілази в крові та у сечі хворих з нефротичним синдромом?
- A. У крові активність α -амілази підвищена, у сечі – без змін
 - B. У крові активність α -амілази підвищена, у сечі – різко знижена
 - C. У крові активність α -амілази знижена, у сечі – не визначається
 - D. У крові та у сечі активність α -амілази підвищена
 - E. У крові та у сечі активність α -амілази знижена
3. Укажіть захворювання при якому трансамінідаза появляється в крові:
- A. Гостра ниркова недостатність
 - B. Нефротичний синдром
 - C. Туберкульоз нирок
 - D. Хронічний пієлонефрит
 - E. Всі відповіді правильні
4. Назвіть нирковий поріг для глюкози:
- A. 5 ммоль/л
 - B. 7 ммоль/л
 - C. 10 ммоль/л
 - D. 15 ммоль/л
 - E. 17 ммоль/л
5. Укажіть біохімічні дослідження які використовуються у діагностиці захворювань нирок:
- A. Креатинін сироватки крові та сечі
 - B. Електроліти сироватки крові та сечі
 - C. Загальний білок та білкові фракції
 - D. Трансамінідаза, аланінамінопептидаза (ААП₃)
 - E. Всі перелічені
6. Проба Реберга-Тарєєва дозволяє оцінювати:
- A. Тільки клубочкову фільтрацію
 - B. Тільки канальцеву секрецію
 - C. Нирковий плазмолін
 - D. Швидкість клубочкової фільтрації та канальцеву реабсорбцію
 - E. Все перераховане
7. Укажіть коли кліренс будь-якої речовини буде більшим, ніж кліренс ендogenous креатиніну?
- A. Коли речовина реабсорбується в канальцях
 - B. Коли речовина фільтрується в клубочках
 - C. Коли речовина секретується
 - D. Коли речовина реабсорбується і секретується

Е. Коли речовина секретується і фільтрується

8. Укажіть коли кліренс будь-якої речовини буде менше, ніж кліренс ендогенного креатиніну?

- А. Коли речовина реабсорбується в канальцях
- В. Коли речовина фільтрується в клубочках
- С. Коли речовина секретується
- Д. Коли речовина реабсорбується і секретується
- Е. Коли речовина секретується і фільтрується

9. Назвіть нормальні значення добової екскреції креатиніну

- А. 2,4- 14,4 ммоль/л×добу
- В. 4,4-7,7 ммоль/л×добу
- С. 4,1-21,7 ммоль/л×добу
- Д. 4,4-17,7 ммоль/л×добу
- Е. 24,1-37,4 ммоль/л×добу

10. Які показники найбільш правильно оцінюють клубочкову фільтрацію нирок?

- А. Сечовина
- В. Ендогенний креатинін
- С. Екзогенний креатинін
- Д. Індикан
- Е. Всі перераховані

11. Відношення креатиніну сечі до креатиніну сироватки крові є показником:

- А. Клубочкової фільтрації
- В. Канальцевої реабсорбції
- С. Канальцевої секреції
- Д. Екскреторної функції нирок
- Е. Всі відповіді вірні

12. В нормі в сечу потрапляють через нирковий клубочковий фільтр білки з молекулярною масою не більше:

- А. 20 кДа
- В. 40 кДа
- С. 70 кДа
- Д. 90 кДа
- Е. 100 кДа

13. Який фермент з'являється в сироватці крові при ураженні ниркової тканини?

- А. Креатинкіназа
- В. Трансамінідиназа

- С. Аланінамінотрансфераза
- Д. Холінестераза
- Е. Сукцинатдегідрогеназа

14. Яка протеїнограма характерна при ураженні нирок:

- А. Альбумін – знижений, α_1 -глобуліни – в нормі, α_2 -глобуліни – в нормі, β -глобуліни – підвищені, γ -глобуліни – підвищені
- В. Альбумін – знижений, α_1 -глобуліни – підвищені, α_2 -глобуліни – підвищені, β -глобуліни – підвищені, γ -глобуліни – підвищені
- С. Альбумін – знижений, α_1 -глобуліни – в нормі, α_2 -глобуліни – в нормі, β -глобуліни – підвищені, γ -глобуліни – підвищені
- Д. Альбумін – знижений, α_1 -глобуліни – в нормі, α_2 -глобуліни – підвищені, β -глобуліни – в нормі, γ -глобуліни – підвищені
- Е. Альбумін – знижений, α_1 -глобуліни – в нормі, α_2 -глобуліни – підвищені, β -глобуліни – підвищені, γ -глобуліни – в нормі

15. Яка ступінь протеїнурії розцінюється як прояв нефротичного синдрому:

- А. 0,03-0,1 г/добу
- В. 0,1-0,5 г/добу
- С. 0,5-1 г/добу
- Д. 1-3 г/добу
- Е. Більше 3 г/добу

16. Яку сечу потрібно брати для виявлення протеїнурії?

- А. Першу ранкову
- В. Добову
- С. Порційну
- Д. Після прийому діуретиків
- Е. У будь-який час доби

17. До азотемій призведе:

- А. Підвищення глюкози в сечі
- В. Підвищення білку в сечі
- С. Підвищення синтезу білку
- Д. Зниження клубочкової фільтрації
- Е. Підвищення клубочкової фільтрації

18. До компонентів залишкового азоту відносять азот:

- А. Сечовини
- В. Сечової кислоти
- С. Креатиніну
- Д. Амоніаку
- Е. Все перераховане

19. У якій сечі визначається екскреція речовини?
- A. Добовій
 - B. Ранковій
 - C. Годинній
 - D. Порційній
 - E. У всіх перелічених
20. При яких станах клубочкова фільтрація нижче 10 мл/хв.?
- A. Гострий гломерулонефрит
 - B. Гостра ниркова недостатність
 - C. Хронічна ниркова недостатність
 - D. Термінальна ниркова недостатність
 - E. Нефротичний синдром

ПОРУШЕННЯ ЕНДОКРИННИХ ФУНКЦІЙ ТА КЛІНІКО-БІОХІМІЧНА ОЦІНКА СТАНУ ЕНДОКРИННОЇ СИСТЕМИ

Гормони – це біоорганічні молекули, що продукуються спеціалізованими клітинами, безпровідникової сигнальної дії, які розпізнаються рецепторами та впливають на експресію генів й активність ферментів в клітинах-мішенях.

Всі ендокринопатії супроводжуються гіпо- або гіперфункцією того чи іншого гормону.

Недостатня дія гормону може бути результатом впливу деяких факторів, що так чи інакше зачіпають функціонування залоз:

1. Порушення вивільнення гормону в кров, що виникає внаслідок деструкції залози чи інформаційної блокади гормоноутворюючих клітин. Причиною деструкції гормонпродукуючих залоз може бути:

- 1) негормоноутворюючі пухлини чи метастази в ендокринну залозу неендокринних пухлин;
- 2) інфекція та запалення з альтерацією залози;
- 3) неінфекційне запалення аутоалергійного генезу;
- 4) гостре порушення кровообігу, що призводить до ішемічного некрозу чи тромбоемболічної апоплексії ендокринної залози.

2. Генетично обумовлений дефект синтезу гормону.

3. Дефіцит компонентів для синтезу гормону.

4. Інтоксикації, що вибірково порушують продукцію гормонів.

5. Недостатній перехід прогормону в гормон. При цьому спостерігаються симптоми дефіциту активності гормону навіть за нормального синтезу.

6. Циркулюючі антагоністи гормону, які знижують його ефективні концентрації (антитіла до гормону).

7. Периферична резистентність до гормонів.

- 1) спадковий дефект внутрішньоклітинних рецепторів (поодинокі амінокислотні заміни чи відсутність їх експресії);
- 2) спадковий дефект мембранних поверхневих рецепторів;
- 3) блокада рецепторів аутоантитілами.

Гіперпродукція гормонів може спостерігатися за наявності наступних причин:

1. Обхід фізіологічного механізму зворотного зв'язку внаслідок появи надлишку стимуляторів гормоноутворюючих клітин. Ця група ендокринопатій майже завжди має аутоімунну природу та викликані імуноглобулінами-агоністами рецепторів тропних гормонів.

2. Витік гормону із залози внаслідок її деструкції (гіпертиреоз за розвитку підгострого тиреоїдиту).

3. Некерована гіперпродукція гормону відносно високо-диференційованої доброякісної пухлини.

4. **Ятрогенний надлишок гормону або його аналогу** як результат лікування або самолікування.

5. **Тканинна гіперчутливість до гормонів.** Була описана ниркова гіперчутливість до мінералокортикоїдів (*псевдогіперальдостеронізм* з низьким рівнем реніну й альдостерону й затримкою натрію).

Усе зазначене вище схематично відображено на рисунку 1.

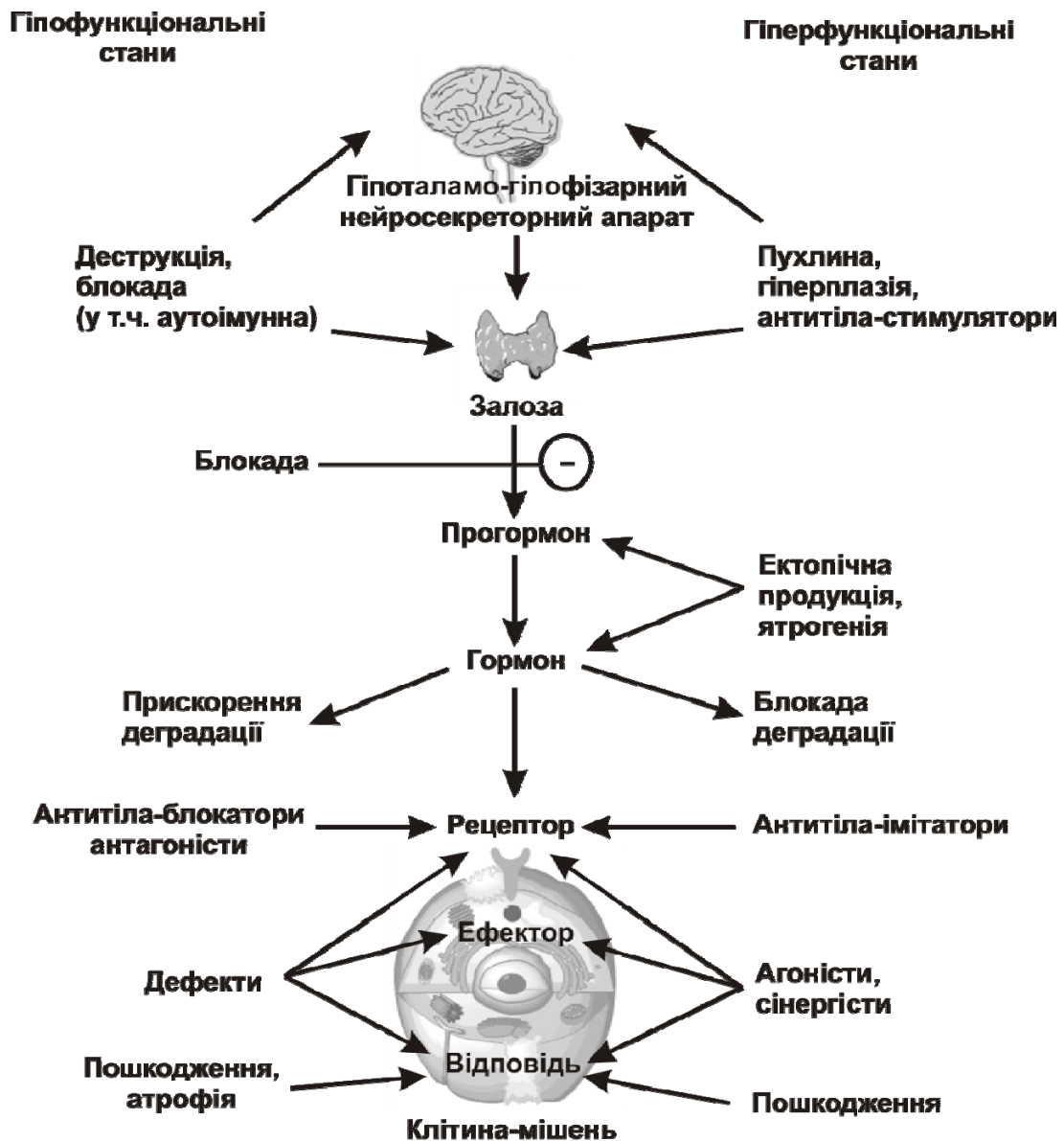


Рис. 1. Можливі механізми ендокринопатій.

Ендокринопатії бувають *моногланулярними* (ураження однієї ендокринної залози) та *плюригланулярними* (ураження декількох ендокринних залоз).

Плюригланулярні ендокринопатії поділяють на гіпоталамо-гіпофізарні, аутоімунні, рецепторні та спадкові.

Для визначення ендокринопатій в медичній практиці знайшли широке застосування РІА та ФІА методи, які були описані раніше.

Патологія гіпоталамо-гіпофізарної системи

Порушення гіпоталамо-гіпофізарної системи проявляються як підвищенням продукції гормонів (гіперпітуїтаризм), так і зниженням (гіпопітуїтаризм).

Гіперпітуїтаризм – розлад функцій аденогіпофіза, який характеризується підвищенням його гормонпродукуючої активності (функціональні пухлини гіпофіза). У більшості випадків гіперфункція гіпофіза проявляється у підвищенні секреції тільки одного гормону. До проявів гіперфункції аденогіпофіза відносять акромегалію, гігантизм, хворобу Іценка-Кушинга, синдром персистуючої галактореї-амінореї.

Акромегалія та **гігантизм** у 95 % випадків є наслідком гіперсекреції гормону росту пухлинами гіпофіза, що призводить до посилення росту м'яких тканин та кісток. Якщо це відбувається до зрощування епіфізів довгих кісток, то розвивається гігантизм. Частіше пухлини, що викликають підвищення секреції гормону росту, виникають у дорослих. При цьому спостерігається розвиток акромегалії – підвищується ріст м'яких тканин, кистей, стоп, щелеп, внутрішніх органів. Слід зазначити, що виникненню акромегалії сприяють травми черепа, нейроінфекції, психічні травми.

За гіперпродукції гормону росту спостерігається підвищення основного обміну. У третини хворих порушується обмін вуглеводів, вірогідність виникнення цукрового діабету має місце у 15-20 % випадків. Порушення ліпідного обміну проявляється гіперліпідемією, гіперхолестеринемією.

Лабораторна діагностика: підвищений рівень соматотропіну до $20,5 \pm 2,06$ нг/мл (в нормі $3,8 \pm 0,8$ нг/мл), неорганічного фосфору (вище 1,4 ммоль/л) і залишкового азоту (більше 2,9 – 3,6 ммоль/л) внаслідок підсилення анаболічних процесів. В сечі – підвищена екскреція глюкози, сечовини, креатиніну, фосфору, кальцію.

При офтальмологічному дослідженні – застійні диски зорового нерва, обмеження полів зору, бітемпоральна геміанопсія, глаукома. Спостерігаються розладу слуху, нюху, функції центральної нервової системи.

Хвороба Іценка-Кушинга. Захворювання, зумовлене первинним ураженням підкоркових і стовбурових утворень (гіпоталамус, таламус) з наступним включенням в патологічний процес гіпофізу і кори наднирників. Виникнення хвороби пов'язують з черепно-мозковими травмами, інфекціями, інтоксикаціями, вагітністю, пологамі, гормональною перебудовою в період клімаксу. Вважають, що головним в патогенезі є порушення в ЦНС на рівні серотонінових і дофамінових рецепторів. Серотонін підвищує активність системи: кортикотропін-релізінг-гормон (КРГ)-АКТГ-кортизол, а дофамін – гальмує її. В результаті порушення медіаторного контролю секреції КРГ виникає надлишкова секреція АКТГ, яка є основним патогенетичним фактором захворювання. Гіперпродукція АКТГ підсилює функцію пучкової і сітчастої зон

кори наднирників. Збільшення продукції глюкокортикоїдів веде до артеріальної гіпертензії, остеопорозу, появи широких смуг розтягнення шкіри (стрії), ожиріння, зниження резистентності до інфекції, розвитку цукрового діабету (стероїдного). Посилення продукції стероїдних гормонів призводить до гірсутизму, акне.

Лабораторна діагностика: при дослідженні гормонального дзеркала спостерігається збільшення рівня кортизолу в плазмі крові (в нормі – 289-400 нмоль/л, Додаток 1), а також екскреції з сечею його метаболіту – 17-оксикортикостероїди (17-ОКС) – понад 20 мкмоль/добу.

При кортикостеромі спостерігається швидке прогресування хвороби, більше виражені ознаки вірилізму, істотно збільшена екскреція 17-ОКС з сечею до 400 мкмоль/добу, наявність пухлини при спеціальному обстеженні.

Проба з *кортикотропіном* (40 од. два дні підряд) і *метаніроном* (1 г на 500 мл ізотонічного розчину хлориду натрію упродовж 7 годин) викликає збільшення екскреції 17-кетостероїди (17-КС) і 17-ОКС при хворобі Іценко-Кушинга і не впливає на ці показники при кортикостеромі. Введення дексаметазону (2 мг 4 рази на добу) також не впливає на рівень екскреції 17-ОКС і 17-КС, при кортикостеромі, тоді як при хворобі Іценко-Кушинга – знижує вказані показники.

При гіпоталамічному синдромі за типом хвороби Іценко-Кушинга на відміну від останньої менше виражені симптоми гіперкортицизму. Смуги на шкірі вузькі, блідо-рожевого кольору, гіпертензія і гіперглікемія менш стабільні, немає перерозподілу жиру. Разом з тим є прояви гіпоталамічного синдрому, в тому числі неврологічні. Деякі автори розглядають гіпоталамічний синдром як початкову стадію хвороби Іценко-Кушинга.

Юнацький диспитуїтаризм (базофілізм), що спостерігається у хлопчиків віком 16-18 років, і у дівчат в 13-15 років має деякі риси хвороби Іценко-Кушинга. Спостерігається ожиріння, рожеві смуги на шкірі, вегетосудинна дистонія за гіпертонічним типом, незначне підвищення екскреції 17-ОКС, після санації вогнищ інфекції (тонзиліту, синуситу) – зміни зворотні. Іноді може розвинутих гіпоталамічний синдром.

При гіпертонічній хворобі та ожирінні немає ознак гіперкортицизму.

Синдром персистуючої галактореї-амінореї (СПГА). Даний симптомокомплекс розвивається у жінок за тривалої гіперпродукції пролактину. У чоловіків хронічна гіперпродукція пролактину виникає значно рідше, ніж у жінок, і супроводжується розвитком імпотенції, гінекомастії та іноді лактореї. СПГА спостерігається в основному у молодих жінок дітородного віку. У чоловіків захворювання діагностується у віці 25-40 років.

Серед причин виникнення СПГА виділяють:

1. **Фізіологічні** (стрес, сон, вагітність).
2. **Лікарські препарати:**

- а) блокатори допамінергічних рецепторів (фенотіазини, галоперідол);
- б) препарати, що вичерпують запаси допаміну (метилдопа, резерпін);
- в) інші (естрогени).

3. Пошкодження гіпофізу:

- а) пролактинсекретуюча пухлина (пролактинома);
- б) пухлини, що блокують допамінергічне гальмування секреції пролактину;
- в) перерізування воронки гіпоталамусу.

4. Інші:

- а) гіпотиреоз;
- б) ектопічна секреція;
- в) хронічна ниркова недостатність.

Лабораторна діагностика: в сироватці крові визначається рівень пролактину (підвищення концентрації), лютеїнізуючого гормону, фолітропіну, естрогенів у жінок та тестостерону у чоловіків (зниження концентрації).

Гіпопітуїтаризм – недостатність функцій гіпофізу чи гіпоталамусу зі зниженням чи припиненням продукції одного чи декількох тропних гормонів передньої частки гіпофізу. Зниження рівня всіх гіпофізарних гормонів спостерігається дуже рідко (хвороба Симмондса). До основних причин виникнення гіпопітуїтаризму відносять:

1. **Пухлини** гіпофіза (аденома, краніофарингіома), мозку (первинна, вторинна).
2. **Гіпоталамічні порушення:**
 - а) пухлини;
 - б) функціональні розлади (нервова анорексія та голодування, які викликають зворотній гіпогонадотропний гіпоганадізм);
 - в) ізольована секреція гормону росту та гонадотропінів як наслідок порушення секреції гіпоталамічних рилізінг-гормонів.
3. **Хвороби судин:**
 - а) синдром Шихена;
 - б) інфаркт;
 - в) гіпотензія;
 - г) артеріт краніальний.
4. **Інші хвороби:**
 - а) саркоїдоз;
 - б) гемохроматоз;
 - в) гістіоцитоз Х.
5. **Інфекції** (менінгіт, сифіліс).
6. **Ятрогенні фактори** (хірургічне втручання, опромінення, довготривале лікування глюкокортикоїдами чи тиреоїдними гормонами).
7. **Травма.**

За повільно прогресуючої деструкції тканин гіпофізу формується недостатність гормону росту (СТГ) і гонадотропінів і лише пізніше

розвивається недостатність тиреотропного гормону (ТТГ), АКТГ та пролактину (ЛТГ). В цілому симптоми визначаються зниженням функцій щитовидної залози, наднирників і гонад. У дітей спостерігається затримка фізичного та статевого розвитку. Так, зниження секреції СТГ в дитячому віці викликає гіпофізарний нанізм. Недостатня секреція гонадотропінів (ЛГ і ФСГ) у жінок в репродуктивному віці викликає аменорею, атрофію молочних залоз, сухість шкіри, зниження лібідо. У чоловіків гіпопітуїтаризм проявляється в повній чи частковій втраті вторинних статевих ознак, зниженням лібідо, гіпотрофією м'язів.

Недостатність ТТГ призводить до гіпотиреозу. Дефіцит АКТГ виявляється гіпофункцією наднирників: слабкість, гіпотензія, зневоднення, іноді гіпоглікемія. Недостатність ЛТГ проявляється відсутністю лактації у післяпологовий період.

Для діагностики використовують визначення базального рівня тропних гормонів, а також естрадіолу, тестостерону, тиреоїдних гормонів і кортизолу. Однак низький базальний рівень гормонів периферійних залоз не має діагностичного значення. Уточнення причини їх зниження досягається проведенням стимулюючих функціональних проб з хоріонічним гонадотропіном людини (ХГЛ) чи кломіфеном, з тиреотропіном.

Гіпофізарний нанізм проявляється різким відставанням у рості та фізичному розвитку. До людей карликового зросту відносять чоловіків, які мають зріст нижче 130 см, і жінок – нижче 120 см. Найменший описаний зріст карлика склав 38 см. Діти з класичною соматотропною недостатністю частіше народжуються з нормальною масою і довжиною тіла, і починають помітно відставати у розвитку з 2-4-річного віку. Для дітей з органічним генезом дефіциту гормону росту (краніофарінгіома, черепно-мозкова травма і т.п.) характерні більш пізні терміни прояви дефіциту росту, після 5-6-річного віку. При ідіопатичному гіпофізарному нанізмі на тілі відставання у рості відзначаються нормальні пропорції тіла дитини. У нелікованих дорослих відзначаються дитячі пропорції тіла. Риси обличчя дрібні («лялькове обличчя»), перенісся западає. Шкіра бліда, з жовтуватим відтінком, суха, іноді спостерігаються ціаноз, мармуровість шкіри. У нелікованих хворих рано спостерігається витончення і зморшкуватість шкіри (геродерма), що пов'язано з недостатністю анаболическої дії гормону росту і сповільненою зміною клітинних генерацій. Розподіл підшкірної жирової клітковини коливається від виснаження до ожиріння з переважно верхнім, або «кушингоїдним» (вісцеральним) відкладенням. Волосся може бути як нормальними, так і сухим, тонким, ламким. Вторинне оволосіння частіше відсутнє. М'язова система розвинена слабо. У хлопчиків, як правило, мікропеніс. Статевий розвиток затримується і настає в терміни, коли кістковий вік дитини сягає пубертатного рівня. Значна частка дітей з дефіцитом гормону росту має супутній дефіцит гонадотропінів.

Гіпофізарний нанізм слід диференціювати від ряду рідкісних генетичних синдромів, таких як прогерія (синдром Гетчинсона-Гілфорда), синдром Ларона

(периферична нечутливість до гормону росту в результаті дефекту гена його рецептора), синдром Рассела-Сільвера (внутрішньоутробна затримка росту з асиметрією тулуба), синдром Секкеля (птахоголові карлики), синдром Прадера-Віллі (затримка росту з народження, ожиріння, крипторхізм, гіпоспадія, олігофренія), синдром Лоуренса-Муна-Барде-Бідля (низькорослість, пігментна дегенерація сітківки, атрофія дисків зорових нервів, гіпогонадізм, затримка розумового розвитку), ахондроплазія (затримка росту за рахунок диспропорційного укорочення кінцівок).

Лабораторна діагностика: головним є вивчення секреції гормону росту, його базального рівня, циркадного ритму, резервів в умовах стимуляції. У хворих на гіпофізарний нанізм відзначається значне зниження вихідного рівня СТГ (занчення нормальної концентрації наведено в Додатку 1), при проведенні стимуляційних проб приріст його не перевищує 6 нг/мл. Проводять тести з інсуліном, аргініном, тіреоліберіном, а також визначення СТГ через 2 години після настання сну. Введення інсуліну (інсуліновий тест) або аргініну не супроводжується підвищенням секреції гормону росту, в деяких випадках може бути короткочасне та незначне підвищення його секреції.

Порушення функцій нейрогіпофіза

Гіпоталамічні нейрони синтезують вазопресин і окситоцин, які надходять до нейрогіпофізу, де зберігаються у вигляді гранул в нервових закінченнях. Серед порушень секреції вазопресину виділяють **гідропексичний синдром** та **нецукровий діабет**.

Гідропексичний синдром (нецукровий антидіабет, синдром Пархона) – патологічний стан, що викликається надмірним синтезом вазопресину. Неадекватна продукція вазопресину, яка не залежить від факторів фізіологічної регуляції, обумовлює затримку рідини в організмі, олігурію, симптоми водної інтоксикації.

Гіперпродукція вазопресину може мати гіпоталамічне або ектопічне походження. Причина збільшення синтезу вазопресину до цих пір невідома. Гідропексичний синдром спостерігають при захворюваннях легенів, в т.ч. при туберкульозі легень, захворюваннях і травмах, що призводять до ураження ЦНС, гострої переміжної порфірії, психозів. Гідропексичний синдром викликають деякі лікарські та токсичні речовини: вінкрисдин, дихлофос, хлорпропамід, нікотин, тегретол та ін. Гідропексичний синдром може бути спровокований грипом, нейроінфекціями, вагітністю, пологами, абортom, психотравмуючими ситуаціями, перегріванням на сонці та ін. Ектопічний гідропексичний синдром найчастіше має пухлиноподібну природу і пов'язаний головним чином з дрібноклітинним раком легенів. Виділяють також ідіопатичний варіант гідропексичний синдром, або синдром Пархона.

Гіперпродукція вазопресину веде до затримки води в організмі, зменшення осмолярності плазми крові, втрати натрію через нирки та гіпонатріємії, які не викликають компенсаторного, адекватного зниження синтезу вазопресину. Гіперволемія обумовлює придушення продукції альдостерону, посилюючи тим самим втрату натрію організмом. Можливо, що в умовах гіперволемії натрійурез посилюється за рахунок активного викиду в кров натрійуретичного фактора, синтезованого в передсердях. Виникаюча гіпонатріємія пригнічує центр спраги, а гіперволемія веде до водної інтоксикації організму.

Гідропексичний синдром характеризується олігурією, збільшенням маси тіла, ознаками водної інтоксикації (головний біль, запаморочення, анорексія, нудота, блювання, порушення сну). Периферичні набряки через втрату натрію не виражені. При значній гіпонатріємії (110-100 ммоль/л) в клінічній картині гідропексичного синдрому переважають симптоми ураження ЦНС (дезорієнтація в просторі, судоми, коматозний стан), аритмії серця. Олігурія може бути постійною або пароксизмальною, коли протягом 5-10 днів кількість сечі, що виділяється становить усього 100-300 мл на добу. Час від часу олігурія може змінюватися спонтанною поліурією. Іноді відзначають так звані компенсаторні проноси, а при спонтанній поліурії – різку слабкість, нудоту, озноб, судоми, аритмію, тобто симптоми зневоднення організму.

Лабораторна діагностика: проводять біохімічний аналіз крові (визначають концентрацію Na^+ , K^+ , Cl^-), визначають осмолярність крові та сечі, визначають рівень гормонів в крові (ТТГ, вільного T_4 , альдостерону).

Нецукровий діабет – захворювання зумовлене абсолютним дефіцитом антидіуретичного гормону (АДГ). Існує нирковий варіант – нечутливість рецепторів ниркових каналців до АДГ. Вперше описав клініку захворювання Томас Уїлліс в 1674 р. і назвав на відміну від цукрового діабету – діабет безсмаковий.

У виникненні захворювання мають значення нейротропні вірусні інфекції (грип), інші гострі і хронічні інфекції. Діабет може виникнути в результаті черепно-мозкових травм, пухлин гіпофіза і гіпоталамуса. В ряді випадків він розвивається при ендокринних захворюваннях гіпоталамо-гіпофізарного генезу (синдром Шиєна, акромегалія, хвороба Іценко-Кушинга).

Дефіцит АДГ веде до зменшення реабсорбції води в каналцях нирок, що викликає збільшення діурезу (поліурія). Зневоднення супроводжується подразненням центру спраги в гіпоталамусі, результатом чого є полідипсія.

Розрізняють симптоми, що обумовлені дефіцитом вазопресину та ураженням гіпоталамо-гіпофізарної системи.

Головними симптомами захворювання є поліурія і полідипсія. Добова кількість сечі у дітей може сягати 5-10 л, у дорослих – 10-20 л. Дегідратація

викликає сухість шкіри та слизових оболонок, відсутність пітливості, закрепи, мерзлуватість, тахікардію, вегетативну дистонію.

Обмеження рідини таким хворим небезпечно, можливий коматозний стан, декомпенсація захворювання, яка проявляється підвищенням температури тіла, колаптоїдним станом, психічними розладами. Введення води, глюкози, гіпотонічного (0,45 %) розчину хлориду натрія тамує важкий стан хворого.

Перебіг нецукрового діабету у дітей проявляється у затримці фізичного та статевого розвитку. У дорослих чоловіків – імпотенцією, у жінок – розладами менструального циклу, мимовільними викиднями, безпліддям.

З боку внутрішніх органів спостерігаються зниження секреції шлунка, лабільність пульсу та артеріального тиску. При наявності пухлини гіпофізу – виникають ознаки, пов'язані з підвищенням внутрішньочерепного тиску або ендокринними розладами: головний біль, бітемпоральна геміанопсія, параліч очних м'язів, набряк дисків зорових нервів, зниження зору.

При рентгенографії турецького сідла – збільшення його розмірів, деструкція спинки, кальцинати.

Аналіз сечі – низька відносна щільність – 1,000-1,005 г/мл.

Для встановлення причини захворювання необхідно дослідити стан гіпоталамо-гіпофізарної системи (детальне рентгенологічне, неврологічне і офтальмологічне обстеження).

Порушення функцій щитовидної залози

Тиреоїдні гормони мають складний багатогранний вплив на всі органи і тканини, на всі види обміну речовин: вони стимулюють теплоутворення, підсилюють окислювальні процеси в організмі, підвищують поглинання кисню тканинами, роз'єднують окислювальне фосфорилування в мітохондріях. У фізіологічних дозах тиреоїдні гормони стимулюють синтез білків, а в надлишкових – підсилюють їх дисиміляцію.

Тиреоїдні гормони впливають на ріст і диференціацію тканин. При їх дефіциті відмічається затримка росту та розлади психіки.

Дифузний токсичний зоб (хвороба Базедова) – захворювання, в основі якого лежить гіперфункція щитоподібної залози, її гіперплазія та гіпертрофія, і характеризується в першу чергу змінами серцево-судинної і нервової систем.

Захворювання частіше зустрічається серед жінок у віці 20-50 років.

Основними причинами виникнення дифузного токсичного зобу є: психічна травма (80%); нейроциркуляторна дистонія; інфекція (грип, ангіна, хронічний тонзиліт, кір, кашлюк, ревматизм, СЧВ); спадковий фактор

(генетичний); вплив фізичних та гормональних факторів – перегрівання на сонці, вагітність, клімакс, патологія гіпоталамуса.

Захворювання розглядається як процес аутоімунний з гіперчутливістю сповільненого типу. Про це свідчать наступні факти: наявність у крові хворих тиреостимулятора білкової природи; підвищення титру антитіл до тиреоглобуліну, мікросомальної фракції; порушення клітинного імунітету; інфільтрація лімфоцитами і плазматичними клітинами щитоподібної залози і ретробульбарної клітковини; гіперплазія вилочкової залози; зниження вмісту абсолютного і відносного числа Т-супресорів та підвищення В-лімфоцитів. Значно частіше виявляються лейкоцитарні антигени HLA-B₈.

Тиреостимулюючий агент є імуноглобуліном (антитілом) класу G (IgG), що утворюється в В-лімфоцитах при стимулюючому впливі Т-лімфоцитів. Він отримав назву тривало діючого тиреоїдного стимулятора (ТДТС або LATS). За останній час знайдено ТДТС-протектор, специфічний лише для людини.

Під впливом ТДТС фактора, який діє через ТТГ-рецептори щитовидної залози, виникає гіперпродукція тиреоїдних гормонів – основна ланка в патогенезі дифузного токсичного зобу.

Патогенез клінічних симптомів обумовлений впливом тиреоїдних гормонів на нервову, серцево-судинну системи, органи травлення, на різні види обміну речовин.

Порушення обміну:

- вуглеводів проявляється підвищенням всмоктування глюкози в кишечнику, гальмуванням переходу вуглеводів у жири;
- білків: підвищенням розпаду білка; виникненням негативного азотистого балансу;
- жирів: підсиленням мобілізації жиру з депо і схудненням хворих.

Окрім цього має місце порушення обміну вітамінів і водно-сольового обміну, в т. ч. мікро- і макроелементів.

За ступенем важкості токсичного зобу розрізняють легку, середню і важку форму його.

Легка форма характеризується неврологічною симптоматикою, помірною тахікардією (ЧСС 100 за 1 хв.), втратою маси тіла до 10 %, підвищенням основного обміну (до +30 %), загального тироксину до 190-200 нмоль/л та поглинанням еритроцитами трийодтироніну (ПЕТ₃) на 10-12 %.

Форма середньої важкості характеризується значними емоційними та вегетативними розладами, тахікардією до 120 за 1 хв., серцевою недостатністю І-ІА ст., втратою маси тіла до 20 %, підвищенням основного обміну до 40 %, загального тироксину до 245-258 нмоль/л, ПЕТ₃ на 12-13 %.

Важка форма – ЧСС більше 120 за 1 хв., аритмія, серцева недостатність II-III ст., втрата маси тіла на 30 %, підвищення тироксину до 258-270,9 нмоль/л, ПЕТ₃ понад 14 %.

Тиреотоксичний криз – загрозливе для життя погіршення стану хворого з дифузним тиреотоксичним зобом, яке розвивається, в основному, у осіб з важкою формою захворювання. Кризи розвиваються в літній період.

Причини – тиреоїдектомія, використання I¹³¹ з лікувальною метою, інтенсивна пальпація щитовидної залози, психотравма. При недіагностованому токсичному зобі, відсутності його лікування, тиреотоксичний криз можуть спровокувати інфекції, інтоксикації, хірургічні втручання, реакції на різні медикаменти.

Криз розвивається швидко (години), рідше – поступово (дні) внаслідок різкого підвищення тону симпато-адреналової системи, викиду в кров значної кількості T₃ і T₄, зниження функції кори наднирникових залоз. Основні ознаки: температура до 40 °С, різка тахікардія (ЧСС 200 уд./хв.), аритмія, гіпер- або гіпотензія, наростання серцево-судинної недостатності. Бурхливо наростають шлунково-кишкові розлади (нудота, безперервна блювота, профузна діарея, болі в животі), дифузне потовиділення, що веде до зневоднення організму. Обтяжують стан хворого психічне збудження, галюцинації, порушення свідомості. В ряді випадків розвивається жовтяниця. Аналіз крові виявляє лейкоцитоз, підвищення ШОЕ, патологічні печінкові тести (цитолітичний та холестатичний синдроми). УЗД виявляє гепатоз, гепатит. Виділяють 3 варіанти тиреотоксичного кризу: церебро-бульбарний, серцево-судинний, шлунково-кишковий. Летальність без лікування тиреотоксичного кризу сягає 70-100 %.

Гіпотиреоз – синдром, що розвивається в результаті патологічного зниження функціональної активності щитоподібної залози. При цьому спостерігається різке зниження рівня тиреоїдних гормонів, або абсолютний дефіцит – мікседема, та підвищення рівня тиреотропіну в сироватці крові.

Гіпотиреоз буває: первинний, вторинний, третинний.

До найпоширеніших причин виникнення зазначеного синдрому відносять:

- спадкові дефекти в біосинтезі тиреоїдних гормонів (дефект кумуляції йоду, конденсації йодованих тирозинів, тощо) – ідіопатичний гіпотиреоз;
- гіпоплазія і аплазія щитовидної залози;
- тиреоїдектомія, лікування I¹³¹.

Вторинний гіпотиреоз обумовлений ураженням гіпофіза (зменшення секреції ТТГ), третинний – гіпоталамуса (зниження секреції тиротропінрелізінг-гормону).

Патогенез гіпотиреозу пов'язаний із зниженням продукції тиреоїдних гормонів, порушенням основного обміну та інших обмінних процесів. Дефіцит тиреоїдних гормонів веде до сповільненого синтезу і розпаду білка, порушення

обміну глікозаміногліканів, накопичення в тканинах глікопротеїда муцину, гіалуронової і хондроїтинсірчаної кислот, які мають гідратаційну властивість і викликають своєрідний слизовий набряк тканин і органів, а також асцит, гідроперикард, гідроторакс.

Порушення ліпідного обміну проявляється зниженням їх синтезу та розпаду. Тому в крові зростає вміст холестерину, триацилгліцеридів, ліпопротеїнів (II і IV тип гіперліпопротеїнемії).

При гіпотиреозі сповільнюється всмоктування глюкози в кишечнику, її утилізація в організмі.

Отже, патогенез гіпотиреозу позначається на стані нервової та серцево-судинної систем, шлунково-кишкового тракту, обмінних процесів.

Лабораторна діагностика: проводять визначення вмісту холестерину, β -ліпопротеїнів, тиреоїдних гормонів та ТТГ в крові (спостерігається гіперхолестеринемія, гіпербеталіпопротеїнемія, зниження рівня тиреоїдних гормонів – T_3 і T_4 та підвищення рівня ТТГ). Також визначають вміст йоду в сечі.

Ендемічний зоб – захворювання, основним симптомом якого є збільшення щитовидної залози у населення, що проживає в регіонах з дефіцитом йоду в зовнішньому середовищі.

Нестача йоду сама по собі сприяє зобогенезу та зменшенню секреторної активності щитовидної залози. Внаслідок зменшення йоду в залозі зменшується синтез дийодтирозину та зростає кількість монойодтирозину, зростає синтез біологічно активного трийодтироніну. Цим компенсується еутиреоїдний стан на тлі нестачі йоду. В плазмі зростає концентрація тиротропіну, який стимулює ріст тироцитів, активує кровоплин в залозі і збільшення її розмірів. Активується поглинання йоду в щитовидній залозі в 4-8 разів, він використовується економічніше за рахунок використання T_3 . Адаптивним проявом дефіциту йоду є зоб, який вважають основною ознакою йодної недостатності. Спочатку він дифузний, але зі зростанням дефіциту йоду і потреби в тиреоїдних гормонах (пубертат, вагітність, інфекційні чи соматичні захворювання) розміри зоба збільшуються і через 10-15 років гіперплазія носить локальний характер, у залозі з'являються вузли аденоми звапнення. Ендемічний зоб стає багатовузловим. У разі вичерпання компенсаторних можливостей організму виникає гіпотиреоз.

Наявність зоба – це лише косметичний дефект. Клінічні прояви захворювання зумовлюють субклінічний або наявний гіпотиреоз, із чим пов'язані підвищена втомлюваність, сповільнення психічних реакцій, дисменорея, галакторея, порушення репродуктивної функції жінок. У дітей провідною ознакою є сповільнення росту, фізична та розумова млявість, сонливість, мерзлякуватість, послаблення пам'яті. Діти з ендемічним зобом гірше навчаються в школі, частіше хворіють, страждають від анемії.

Нестача йоду на всіх етапах розвитку ембріона, плода та дитини може спричинити розвиток кретинізму. Розрізняють два варіанти кретинізму: неврологічний і мікседематозний. Неврологічному варіанту властивий нормальний зріст, наявність зоба, косоокість, розумова відсталість. Мікседематозному варіанту притаманний низький зріст, відставання у фізичному, розумовому та статевому розвитку, тяжкий гіпотиреоз.

Наявність ендемічного зоба великих розмірів у дорослих людей може викликати локальний дискомфорт, затруднення ковтання, захрипання голосу, задишку, серцебиття. Щитовидна залоза, що розташована аберадно (за грудиною, на корені язика, в середостінні) може спричинити появу різних скарг і об'єктивних змін. Важливим діагностичним тестом у даному випадку може бути сканування щитовидної залози, а також гормональні дослідження – рівень тиреоїдних гормонів та тиреотропіну у сироватці крові.

Лабораторна діагностика: дослідження екскреції йоду з сечею (у нормі в підлітків і дорослих йодурія становить понад 100 мкг/л), концентрація тиреотропіну в крові в нормі – від 0,2 до 5,5 мкОд/л. Концентрація тиреоглобуліну в плазмі крові в дорослих повинна бути меншою ніж 19 нг/мл, у немовлят – 24 нг/мл.

Порушення функцій підшлункової залози

Основним проявом ендокринної патології підшлункової залози є цукровий діабет.

Цукровий діабет (ЦД) – це захворювання, обумовлене абсолютним або відносним дефіцитом інсуліну і порушенням всіх видів обміну речовин, у першу чергу – вуглеводного.

Основними причинами виникнення ЦД є:

- 1) Спадковість – генетично обумовлена слабкість β -клітин або недосконалість процесів синтезу, секреції чи транспорту інсуліну, або відсутність інсулінових рецепторів у тканинах;
- 2) Автоімунний генез ЦД (доведено у хворих з поєднаною аутоімунною патологією, тиреоїдитом Хашимото, ідіопатичною формою хвороби Адісона);
- 3) Вірусне ураження інсулярного апарату підшлункової залози (вірус Коксакі, гепатотропні віруси В і С, вірус епідемічного паротиту);
- 4) Панкреатит гострий (2 % випадків) і хронічний (20-40 % випадків);
- 5) Вплив контрінсулярних гормонів (гіпофізу, щитовидної залози), кортикостероїдів, катехоламінів;
- 6) Гемохроматоз – відкладення в органах і тканинах гемосидерину з наступним розвитком сполучної тканини в печінці, підшлунковій

залозі, шкірі. У даному випадку ЦД резистентний до лікування інсуліном.

Також виділяють фактори ризику щодо виникнення ЦД:

- 1) Ожиріння;
- 2) Наявність серцево – судинних захворювань;
- 3) Жінки, що народжують дітей з масою більше 4 кг; мертвонароджуваність;
- 4) Хронічні психоемоційні розлади;
- 5) Гіперліпідемії, ксантелазми, ксантоми;
- 6) Схильність до гнійничкових захворювань;
- 7) Вагітність;
- 8) Переїдання.

Цукровий діабет виникає на тлі інсулінової недостатності – абсолютної або відносної. Дефіцит інсуліну призводить до порушення обміну речовин.

- 1) Порушується проникнення глюкози в клітину, її перетворення в глюкозо-6-фосфат із звільненням енергії.
- 2) Порушується утворення глікогену, відкладання його в печінці, м'язах, серці.
- 3) Порушується синтез ліпідів і підвищується ліполіз, нагромаджуються неетерифіковані жирні кислоти (НЕЖК), кетоніві тіла, які отруюють організм, зростає рівень β -ліпопротеїнів низької і дуже низької щільності та холестерину.
- 4) Підвищується глюконеогенез, знижується синтез білків.
- 5) Недостатня дія інших анаболічних гормонів – соматотропного гормону, андрогенів, естрогенів.

Отже, дефіцит інсуліну абсолютний або відносний веде до невикористання глюкози, яка в надлишку циркулює в крові, поступає в сечу, що викликає поліурію (кожний грам глюкози забирає з собою 20 мл води); полідипсію, поліфагію, схуднення, дегідратацію, загальну слабкість, у важких випадках – кетоацидоз. Чим глибші розлади вуглеводного обміну, тим більші зміни в обміні ліпідів, білків, води і електролітів.

Враховуючи клінічні і лабораторні дані розрізняють легку, середню і тяжку форми ЦД:

а) *легка форма* – вміст цукру в крові до 8,3 ммоль/л, в сечі – до 20 г/добу, компенсація дієтою;

б) *середньої важкості* – глікемія до 14 ммоль/л, глюкозурія від 20 г/добу до 40 г/добу, компенсація досягається прийомом цукрознижувальних таблеток і інсуліну до 30-40 ОД;

в) *важка форма* – глікемія вище 14 ммоль/л, глюкозурія більше 40 г/добу, схильність до кетоацидозу, компенсація – інсулін більше 60 ОД. Ретинопатія, нефросклероз, органічні зміни з боку нижніх кінцівок також відносяться до важкої форми навіть при невисокій глікемії і глюкозурії.

Лабораторна діагностика: Нормальний вміст глюкози в крові натще при визначенні глюкозооксидазним або ортотолудиновим методом становить 3,3-5,5 ммоль/л (60-100 мг/100 мл), а при визначенні методом Хагедорна-Йенсена – 3,89-6,66 ммоль/л (70-120 мг/100мл). За даними ВООЗ (1980), у дорослих нормальний рівень глюкози в плазмі, отриманої з венозної крові натще, 6,4 ммоль/л (<115 мг/100 мл), в цілісній венозній крові – 5,6 ммоль/л (<100мг / 100мл) і в цілісній капілярній крові – 5,6 ммоль/л (<100мг/100мл).

Як показали дослідження останніх років, з віком нормальний вміст глюкози в сироватці крові збільшується, тому після 60 років необхідно проводити корекцію, яка становить 0,056 ммоль/л (1 мг/100 мл) на кожний наступний рік. У практично здорових осіб похилого віку глікемія натщесерце може становити від 4,4 до 8,0 ммоль/л (80-145 мг/100мл).

Діагностичним критерієм цукрового діабету є підвищення концентрації глюкози в плазмі венозної та капілярної крові натще >7,8 ммоль/л (140 мг/100 мл) або в цілісній венозній або капілярній крові >6,7 ммоль/л (120 мг/100 мл); через 2 год. після навантаження 75 г глюкози рівень глюкози в плазмі венозної крові >11,1 ммоль/л (200 мг/100 мл) і в плазмі капілярної крові >12,2 ммоль/л (220 мг/100 мл); в цілісній венозній крові >10,0 (180 мг/100 мл) і в цілісній капілярній крові >11,1 ммоль/л (200 мг/100мл).

Порушена толерантність до глюкози, або латентний цукровий діабет, характеризується наступними показниками: натщесерце концентрація глюкози в плазмі венозної або капілярної крові становить <7,8 ммоль/л (140 мг/100 мл), а в цілісній венозній або капілярній крові <6,7 ммоль/л (120 мг/100 мл). Через 2 години після прийому 75 г глюкози ці показники відповідно становлять 7,8-11,0 ммоль/л (140-199 мг/100 мл) у плазмі венозної крові і 8,9-12,1 ммоль/л (160,0-179,0 мг/100 мл) у плазмі капілярної крові; тоді як в цілісній венозній крові – 6,7-9,9 ммоль/л (120-179 мг/100мл) і в цілісній капілярній крові – 7,7-11,0 ммоль/л (140-199 мг/100 мл).

Повторне (через певний проміжок часу) збільшення концентрації глюкози в плазмі, отриманої з венозної або капілярної крові, вище 7,8 ммоль/л або в цілісній венозній або капілярній крові вище 6,7 ммоль/л є ознакою цукрового діабету, і в цьому випадку немає необхідності проводити тест на толерантність до глюкози.

При підвищенні рівня глюкози в крові вище 8,88 ммоль/л з'являється глюкозурія, яка разом з гіперглікемією служить об'єктивним критерієм захворювання. У рідкісних випадках глюкозурія може відзначатися при нормальній концентрації глюкози в крові внаслідок зниження порогу прохідності каналців нирок для глюкози (нирковий діабет). Така нормоглікемічна глюкозурія може бути первинною (ідіопатична) або вторинною (при захворюваннях нирок). Вона може також зустрічатися при вагітності та синдромі Де Тоні-Фанконі-Дебре (ферментна тубулопатія, при

якій відзначається порушення реабсорбція глюкози, амінокислот, фосфатів і бікарбонатів в ниркових канальцях). При цукровому діабеті, що поєднується з нефросклерозом (або функціональною недостатністю нирок іншої етіології), при високій гіперглікемії, навпаки, виявляється мінімальна глюкозурія або її відсутність. З віком спостерігається підвищення ниркового порогу для глюкози, тому у хворих на цукровий діабет II типу компенсацію вуглеводного обміну краще контролювати по вмісту глюкози в крові (глікемія), а не по екскреції глюкози з сечею (глюкозурія).

У тому випадку, якщо відсутні клінічні симптоми діабету, а рівень глюкози в крові нижче зазначеного вище, для виявлення цукрового діабету проводять пробу на толерантність до глюкози (ПТГ) з одноразовим прийомом глюкози. Комітет експертів ВООЗ (1980, 1985) рекомендує застосовувати навантаження глюкозою у кількості 75 г (у дітей – 1,75 г на 1 кг ідеальної маси тіла, але не більше 75 г) з наступним забором крові протягом 2 годин.

Порушена толерантність до глюкози характеризується наступними параметрами.

1. Концентрація глюкози натщесерце повинна бути нижче тих значень, які розцінюються як діабет, тобто рівень глюкози в плазмі венозної крові не вище 7,8 ммоль/л, у венозній цільній та капілярній крові не вище 6,7 ммоль/л.

2. Рівень глюкози через 2 години після прийому 75 г глюкози не повинен знаходитися між нормальними значеннями і цифрами, характерними для діабету, а саме в плазмі венозної крові 7,8-11,1 ммоль/л, в цілісній венозній крові 6,7-11 ммоль/л і в цільній капілярній крові 7,8-11,1 ммоль/л.

3. Вміст глюкози через 0,5, 1 і 1,5 години повинен бути підвищеним і складати в цілісній капілярній крові та плазмі венозної крові більше 11,1 ммоль/л і в цільній венозній крові більше 10 ммоль/л.

Визначення інсуліну і С-пептиду в сироватці крові при проведенні ПТГ дає додаткову інформацію про стан інсулярного апарату, яка може мати прогностичне значення.

Природно, крім глікемії, в діагностиці захворювання широко використовують показники глюкозурії, яка до останнього часу була практично єдиним показником компенсації діабету. Впровадження спрощених методів визначення вмісту глюкози в крові за допомогою портативних глюкометрів (вітчизняний глюкометр "Сателіт"), а також індикаторних смужок для візуального визначення дозволяє проводити постійний контроль за станом вуглеводного обміну у хворих на діабет.

Кетонурия або ацетонурия. При недостатності інсуліну спостерігається накопичення "кетонових тіл" – продуктів метаболізму жиру: β -гідроксимасляна кислота, ацетооцтова кислота і ацетон. Наявність кетонових тіл у сечі свідчить

про декомпенсації цукрового діабету і диктує необхідність зміни інсулінотерапії. Слід зазначити, що кетонурія може зустрічатися, крім діабету, і при інших патологічних станах: голодуванні, дієті з високим вмістом жиру, алкогольному кетоацидозі та інфекційних захворюваннях, що протікають з високою температурою.

Мікроальбумінурія і протеїнурія. У практично здорових осіб нирки екскретуються лише незначна кількість білка, що становить протягом ночі менше 15 мкг/хв. або менше 30 мг на добу і носить назву нормоальбумінурії. Збільшення екскреції альбуміну від 20 до 200 мкг/хв. або вище (від 30 до 300 мг на добу) призводить до мікроальбумінурії, яка свідчить про початковій формі діабетичної нефропатії. Екскреція альбуміну понад 300 мг/добу – протеїнурія свідчить про прогресуванні діабетичної нефропатії. У важких випадках висока протеїнурія (3-6 г на добу) поєднується з набряками, гіпоальбумінурією, анемією, гіперхолестеринемією, що свідчить про нефротичний синдром.

Глікозильований гемоглобін або глікогемоглобін. Встановлено, що в гемолізат крові людини поряд з основною фракцією гемоглобіну (HbA) міститься незначна кількість інших фракцій, названих "мінорними" (HbA_{1a}, A_{1b}, A_{1c}). У здорових дорослих на частку HbA припадає 90 %, HbA_{1a} – 1,6%; HbA_{1b} – 0,8 %, HbA_{1c} – 3,6 %; HbA₂ – 2,5 % і HbF – 0,5 %. Глікозильований гемоглобін – це гемоглобін, в якому молекула глюкози конденсується з β-кінцевим валіном β-ланцюга молекули HbA. Цей неферментативний процес протікає повільно, протягом всього життя еритроцита (близько 120 днів). Встановлено, що глікозилювання здійснюється через стадію утворення альдіміна, порівняно нестійкої сполуки. Далі альдімін перетворюється на відносно стійкий кетоамін, який залишається приєднаним до білка на весь період його життя. Глікозилюванню піддаються багато білків організму (білки крові, кришталіка, нирок, нервів, судин та ін.). Швидкість глікозилювання і кількість глікозильованих білків залежить від величини і тривалості гіперглікемії.

HbA_{1c} складає 4-6 % загального гемоглобіну в крові практично здорових осіб, тоді як у хворих на цукровий діабет рівень цього білка підвищений у 2-3 рази. Глікозильований гемоглобін має пряму кореляцію з рівнем глюкози в крові і є інтегрованим показником компенсації вуглеводного обміну протягом останніх 60-90 днів. Швидкість утворення HbA_{1c}, так само як і HbA₁, залежить від величини гіперглікемії, а нормалізація його рівня в крові відбувається через 4-6 тижнів після досягнення еуглікемії. У зв'язку з цим зміст даного білка визначають у разі необхідності контролю вуглеводного обміну та підтвердження його компенсації у хворих діабетом протягом тривалого часу. За рекомендацією ВООЗ визначення вмісту глікозильованого гемоглобіну в крові хворих на цукровий діабет слід проводити 1 раз на квартал. Цей показник широко використовується як для скринінгу населення та вагітних жінок з метою виявлення порушення вуглеводного обміну, так і для контролю лікування хворих на цукровий діабет.

Фруктозамін. Це група глікозильованих білків крові, і частково тканинних білків. Вище зазначалося, що глікозилювання гемоглобіну проходить стадію перетворення альдіміна в кетоамін. Кетоамін (білок, що містить глюкозу) являє собою фруктозамін. Вміст фруктозаміну відображає стан вуглеводного обміну за попередні 1-3 тижні завдяки більш короткому періоду напівжиття глікозильованих білків крові в порівнянні з гемоглобіном. В сироватці крові практично здорових осіб концентрація фруктозаміну становить 2-2,8 ммоль/л, у хворих діабетом при задовільній компенсації вуглеводного обміну – 2,8-3,2 ммоль/л, а при декомпенсації діабету – вище 3,7 ммоль/л.

Визначення інших глікозильованих білків. Недоліком методів визначення вмісту HbA_{1c} , HbA_1 і фруктозаміну є те, що отримані показники, що свідчать про стан вуглеводного обміну за попередні 3-9 тиж, не можуть бути використані для короткострокового контролю за станом вуглеводного обміну у хворих після зміни режиму інсулінотерапії або інших видів лікування. У зв'язку з цим триває пошук нових можливостей визначення кількості інших глікозильованих білків. Так, М. Hammer і співавт. (1989) запропонували новий метод контролю глікемії у хворих діабетом – визначення вмісту глікозильованого фібриногену в крові. Період напіврозпаду фібриногену складає 4 дні, тому кількість глікозильованого фібриногену є відображенням компенсації вуглеводного обміну за більш короткий період часу в порівнянні з рівнем HbA_{1c} або фруктозаміну.

Визначення глікозильованого альбуміну в сироватці крові дозволяє здійснювати контроль глікемії за попередні 7 днів. Показники глікозильованого альбуміну в крові хворих на діабет корелюють зі ступенем глікемії.

Для об'єктивної діагностики ЦД досліджують, крім крові, сечу, слину, слюзну рідину та ін.

В слюзах здорових людей вміст глюкози $0,32 \pm 0,05$ ммоль/л, що на порядок нижче ніж у сироватці крові. При інсулінзалежному ЦД рівень глюкози у слюзовій рідині зростає у 7 разів, а при інсуліннезалежному ЦД – у 5. Крім того, вміст лактату та пірувату в слюзі здорової людини майже такий як і в крові, а в слюзі хворих на ЦД збільшується у 2 рази. Збільшення рівня лактату свідчить про підвищений анаеробний розпад глюкози у таких хворих. Збільшення рівня пірувату пов'язано з посиленням процесу глюконеогенезу із амінокислот і зниженням активності піруватдегідрогеназного комплексу крові.

Гіперінсулінізм – стан, при якому відзначається підвищена продукція інсуліну, яка обумовлює розвиток гіпоглікемії. Гіперінсулінемія розвивається при пухлинах підшлункової залози, інсуліннезалежній формі ЦД, панкреатитах і ожирінні, хворобі Іценко-Кушинга, тиреотоксикозі.

Лабораторна діагностика: визначають показник імунореактивного інсуліну в крові, який в нормі становить 50-180 нмоль/л.

Порушення функцій наднирників

Серед дисфункцій наднирників виділяють такі: хронічна недостатність кори наднирників, гостра недостатність кори наднирників, хвороба Іценко-Кушенга.

Хронічна недостатність кори наднирників (хвороба Адісона) – це захворювання обумовлене двобічним ураженням кори наднирників, яке супроводжується недостатнім синтезом гормонів (гіпокортицизм).

Первинний гіпокортицизм найбільш часто розвивається внаслідок фіброкавернозного туберкульозу наднирників. Рідше причиною є гіпоплазія і атрофія кори наднирників, пов'язані з аутоагресією, амілоїдною дегенерацією або метастазами злоякісних новоутворень. Хронічний гіпокортицизм може виникати також при тривалій кортикостероїдній терапії різних захворювань. Вторинний гіпокортицизм пов'язаний з патологією гіпоталамо-гіпофізарної системи (післяпологовий Шиена, посттравматичний гіпопітуїтаризм, пухлина гіпофізу) і зниженою секрецією АКТГ гіпофізом.

Дефіцит глюкокортикоїдів, мінералокортикоїдів та андрогенів викликає порушення різних обмінних процесів і функціонального стану численних органів та систем. Недостатність мінералокортикоїдів призводить до втрати натрію і води (1 ммоль/л Na призводить до виділення 6,5-8,5 мл води, що за добу складає 300-850 мл понад норму), зниження артеріального тиску, через порушення ренін-ангіотензин-альдостеронового механізму. За таких умов порушується мікроциркуляція, утилізація кисню тканинами.

Недостатність глюкокортикоїдів спричиняє глибокі порушення вуглеводного і білкового обміну, зростання процесів гліконеогенезу, відносного гіперінсулінізму та гіпоглікемії, пригнічення синтезу альбумінів у печінці, РНК, активності внутрішньоклітинних ферментів крові, еритропоезу та лейкопоезу. Зменшується адаптація хворих до стресових ситуацій, інфекційних захворювань. Меланодермія пов'язана з гіперпродукцією АКТГ.

Недостатній синтез андрогенів призводить до порушення статевої функції та зниження анаболічних процесів, що проявляється атрофією м'язів, втратою маси тіла на 15-20 кг.

Лабораторна діагностика: гемограма – нормоцитарна анемія, лімфоцитоз, еозинофілія, при активному туберкульозі підвищення ШОЕ.

Біохімічні аналізи – гіпоглікемія, плоска глікемічна крива, зниження толерантності до інсуліну; гіпонатріємія, гіпокаліємія, гіпохлоремія, гіпоальбумінемія; спостерігається ортостатична гіпотензія (синдром Шелонга); виділення аскорбінової кислоти з сечею зменшено (до 5-10 мг/добу при нормі 30-50 мг/добу).

Гостра наднирникова недостатність (синдром Уотерхауза-Фрідріксена) – це стан, який характеризується швидким розвитком важких розладів водно-електролітного обміну, гострої недостатності кровообігу,

неврологічних і диспепсичних явищ внаслідок раптового випадіння функцій кори наднирників.

Причиною гострої наднирникової недостатності може бути крововилив у кору наднирників інфекційні захворювання (грип, менінгококовий або стафілококовий сепсис), геморагічний діатез, гемофілія та інші захворювання крові, тромбоз наднирникових вен, опіки, після видалення гормонально-активної пухлини кори наднирників.

Клінічна картина гострої наднирникової недостатності включає ряд синдромів: шлунково-кишковий; менінгоенцефалічний; серцево-судинний; змішаний.

При переважанні шлунково-кишкової форми мають місце: біль у животі, нудота, блювання, холероподібний пронос, зниження температури тіла, гіпотонія, колапс.

При серцево-судинній формі основним є розвиток гострої недостатності кровообігу (тахікардія, ціаноз, ниткоподібний пульс, колапс).

Менінгоенцефалічна форма характеризується раптовим розвитком коматозного стану, якому передують ознаки ураження нервової системи (головний біль, марення, судоми, ознаки менінгіту).

Частіше спостерігається змішана форма захворювання.

При будь-якій формі гострої недостатності кори наднирників спостерігається лейкоцитоз із зсувом формули вліво, еозинофілія, тромбоцитопенія, гіпонатріємія, гіпохлоремія, гіпоглікемія. Колапс і його наслідок – анурія ведуть до підвищення рівня залишкового азоту.

Порушення функцій статевих залоз у чоловіків

Основною функцією статевих залоз є продукція репродуктивних статевих клітин і статевих гормонів. Сім'яники секретують тестостерон і сперматозоїди.

Гіпогонадізм у чоловіків (тестикулярна недостатність) вражає сперматогенез у звивистих сім'яних канальцях і синтез тестостерону в клітинах Лейдига. Основними симптомами гіпогонадізму є імпотенція та беспліддя. Гіпогонадізм проявляється недорозвиненням статевих органів чоловіків, евнуховим типом тілоскладу, затримкою розумового розвитку. Виділяють первинний (пов'язаний із захворюванням сем'яників) і вторинний (пов'язаний з гіпоталамо-гіпофізарними порушеннями) гіпогонадізм. Первинний гіпогонадізм характеризується зниженим рівнем тестостерону та підвищеною концентрацією гонадотропінів і негативними функціональними пробами з хоріонічним гонадотропіном людини (ХГЛ) і префізоном. При вторинному гіпогонадізмі в крові знижена концентрація тестостерону і гонадотропінів, проби з ХГЛ і префізоном позитивні.

Передчасне статеве дозрівання у хлопчиків має місце при пухлині чи гіперплазії клітин Лейдига, наднирників, ЦНС, інфекціях, травмах. Цей стан характеризується надмірним продукуванням тестостерону і гонадотропінів.

Порушення функцій статевих залоз у жінок

Зниження функціональної активності яєчників чи гіпогонадізм у жінок проявляється аменореєю. В більшості випадків аменорею викликають гіпоталамо-гіпофізарні порушення. При первинному і вторинному гіпогонадізмі спостерігається зниження рівня естрадіолу і прогестерону в крові. Визначення концентрацій гонадотропінів в крові дозволяє диференціювати первинну недостатність гонад (високі рівні гонадотропінів) від гіпоталамо-гіпофізарних порушень (низькі рівні гонадотропінів).

Передчасне статеве дозрівання класифікують як справжнє передчасне статеве дозрівання (підвищене продукування гонадотропних гормонів, що призводить до передчасного розвитку вторинних статевих ознак і появи менструальних циклів) і хибне передчасне статеве дозрівання (не спостерігаються менструальні цикли). Кісти і пухлини яєчників – найчастіші причини передчасного псевдодозрівання.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Укажіть кінцевий продукт обміну кортикостероїдів, визначення якого в сечі має діагностичне значення:
 - A. 11-Дезоксикортизол
 - B. 18-Оксипрегнанелон
 - C. 17-Кетостероїди
 - D. 17-Оксипрегненолон
 - E. 21-Дезоксикортизол

2. Укажіть гормон, порушення синтезу якого в гіпоталамусі призводить до нецукрового діабету:
 - A. Інсулін
 - B. Вазопресин
 - C. Глюкагон
 - D. Кортизол
 - E. Окситоцин

3. Укажіть причину виникнення ендемічного зобу:
 - A. Надлишок йоду у продуктах харчування
 - B. Недолік йоду у питній воді і продуктах харчування
 - C. Недолік Ca^{2+} у м'язовій тканині
 - D. Надлишок Ca^{2+} у м'язовій тканині
 - E. Недолік фосфору у тканинах

4. Укажіть патологію, при якій у чоловіків екскреція 17-кетостероїдів із сечею різко знижена, а в жінок практично не спостерігається:
 - A. Діабет
 - B. Хвороба Аддисона
 - C. Хвороба Гірке
 - D. Хвороба Грейвса
 - E. Хвороба Паркінсона

5. Укажіть причину виникнення мікседеми:
 - A. Гіпертиреоз
 - B. Гіпотиреоз
 - C. Гіпокальціємія
 - D. Гіперальдостеронемія
 - E. Гіперплазія наднирників

6. Укажіть гормон, недостатність якого призводить до розвитку клінічного симптому карликовості при гіпофізарному нанізмі:
 - A. СТГ
 - B. ТТГ
 - C. Тироксин

D. АКТГ

E. Кальцитонін

7. Укажіть назву патології, що викликана аномальним збільшенням концентрації кортизолу в організмі:

A. Хвороба Вільсона

B. Хвороба Адисона

C. Хвороба Паркінсона

D. Хвороба Іценко-Кушинга

E. Хвороба Боткіна

8. До лікаря звернувся хворий зі скаргами на постійну спрагу. Виявлено гіперглікемію, поліурію і підвищений вміст 17-кетостероїдів у сечі. Укажіть захворювання, для якого найбільш характерний вище зазначений анамнез:

A. Адисонова хвороба

B. Мікседема

C. Глікогеноз I типу

D. Стероїдний діабет

E. Інсулінозалежний цукровий діабет

9. У літньої жінки розвилася катаракта на тлі цукрового діабету. Назвіть процес, стимуляція якого є причиною змутнення кришталика:

A. Глікозилювання білків

B. Протеоліз білків

C. Кетогенез

D. Ліполіз

E. Глюконеогенез

10. У крові пацієнта вміст глюкози натще був 5,55 ммоль/л, через 1 годину після цукрового навантаження склав 8,55 ммоль/л, а через 2 години – 4,95 ммоль/л. Такі показники характерні для:

A. Здорової людини

B. Хворого на тиреотоксикоз

C. Хворого зі схованою формою цукрового діабету

D. Хворого на інсулінозалежний цукровий діабет

E. Хворого на інсулінонезалежний цукровий діабет

11. Укажіть гормон, що знижує концентрацію глюкози в крові, якщо її вміст перевищує 6,8 ммоль/л:

A. Тироксин

B. Тестостерон

C. Глюкагон

D. Адреналін

E. Інсулін

12. Виберіть рівень глюкози крові (у ммоль/л), що перевищує "нирковий поріг", при якому спостерігається глюкозурія:

- A. 9,0-10,0
- B. 5,0-6,0
- C. 6,0-7,0
- D. 3,4-3,9
- E. 4,0-5,0

13. Лікар виявив у хворого різке зниження ваги тіла, підвищену дратівливість, невелике підвищення температури вечорами, витрішкуватість (екзофтальм), посилення загального обміну, збільшення споживання кисню, гіперглікемію, гіперазотемію. Порушення функції якої ендокринної залози призводить до таких змін?

- A. Статевих залоз
- B. Щитовидної залози
- C. Тімуса
- D. Підшлункової залози
- E. Кори надниркових залоз

14. Хворий 40 років скаржиться на часте сечовипускання, спрагу. За добу виділяється до 10 л сечі. Цукор в крові – 5,1 ммоль/л. У сечі цукру і кетонів тіл не виявлено. Порушення виділення якого гормону може бути причиною даних змін?

- A. Гонадотропіну
- B. Окситоцину
- C. Вазопресину
- D. Меланотропіну
- E. Тироксину

15. Після прийому ліків аналіз сечі пацієнта показав збільшення кількості Na^+ і зменшення кількості K^+ . Зміна секреції якого гормону може викликати цей стан?

- A. Порушення утворення альдостерону
- B. Порушення утворення інсуліну
- C. Порушення утворення тестостерону
- D. Порушення утворення тироксину
- E. Порушення утворення пролактину

16. У хворого туберкульозні ураження надниркових залоз. Типовою ознакою є гіперпігментація шкіри. Механізм розвитку даної ознаки найімовірніше пов'язаний з підвищеною секрецією:

- A. Окситоцину
- B. Кортикотропіну
- C. Соматотропіну
- D. Вазопресину

Е. Тиреотропіну

17. Які розлади можливі у разі гіпофункції щитовидної залози в ранньому дитячому віці?

- A. Гігантизм
- B. Базедова хвороба
- C. Нанізм
- D. Синдром Леша-Ніхана
- E. Синдром Іценко- Кушинга

18. З метою ранньої діагностики вагітності досліджується сеча жінки. Наявність якого з гормонів буде вірогідно свідчити про вагітність?

- A. Тестостерон
- B. Естріол
- C. Хоріонічний гонадотропін
- D. Прогестерон
- E. Альдостерон

19. До лікаря звернулися батьки хлопчика 10 років, у якого спостерігається посилений ріст волосся на тілі, бороди, вусів, низький голос. Підвищення секреції якого гормону можна припустити?

- A. Естроген
- B. Прогестерон
- C. Кортизол
- D. Соматотропін
- E. Тестостерон

20. Визначення яких компонентів в сироватці крові при проведенні проби на толерантність до глюкози дає додаткову інформацію про стан інсулярного апарату:

- A. Інсуліну і С-пептиду
- B. Інсуліну
- C. С-пептиду і загального білка крові
- D. Глікозильованого гемоглобіну
- E. Глікозильованого альбуміну

Додаток 1
ПОКАЗНИКИ ГОРМОНАЛЬНИХ ТА
КЛІНІКО-БІОХІМІЧНИХ КОНСТАНТ

Показник	Норма
Плазма крові	
<i>Гіпофіз</i>	
Вазопресин	0,6-4,5 нг/л
Кортикотропін	10-80 нг/л
Лютропін <i>жінки</i>	
фолікулярна фаза	2,3 (1,2-5,1) мкг/л
овуляційна фаза	10,0 (6,1-20,0) мкг/л
лютеїнова фаза	3,4 (1,4-5,6) мкг/л
постменопауза	13,1 (4,5-22,5) мкг/л
<i>чоловіки</i>	2,7 (1,1-5,7) мкг/л
Пролактин	
<i>жінки</i>	9-18 мкг/л
<i>чоловіки</i>	3,5-10 мкг/л
Соматотропін	0,3-3,6 мкг/л
Тиротропін	0,24-2,9 мкЕД/мл
Фолітропін <i>жінки</i>	
фолікулярна фаза	5,6 (3,5-9,5) мкг/л
овуляційна фаза	7,2 (4,0-14,5) мкг/л
лютеїнова фаза	1,7 (0,8-3,5) мкг/л
постменопауза	>24 мкг/л
<i>чоловіки</i>	1,8 (0,7-2,7) мкг/л
<i>Щитовидна залоза</i>	
Кальцитонін	50-450 нг/л
Тироксин	51-141 нмоль/л
Трийодтиронін	1,54-3,85 нмоль/л
<i>Паращитовидні залози</i>	
Паратгормон	0,3-0,8 мкг/л
<i>Надниркові залози</i>	
Адреналін	1,96 (0-3,82) нмоль/л
Альдостерон	222 (55-832) нмоль/л
Кортизол загальний	289 (138-432) нмоль/л

Продовж. додатку 1

Кортизол вільний	27,6 (16-44) нмоль/л
Кортизол зв'язаний	281 (110-460) нмоль/л
Кортикостерон	40 (6-127) нмоль/л
Норадреналін	4,15 (0-7,68) нмоль/л
11-Оксикортикостероїди (11-ОКС)	489 (306-695) нмоль/л
Панкреатична залоза	
Глюкагон	40-150 нг/л
Інсулін	129 (86-180) нмоль/л
С-пептид	1,0-2,8 мкг/л
Статеві залози	
Прогестерон <i>жінки</i> фолікулярна фаза лютеїнова фаза <i>чоловіки</i>	1,3 (0,6-2,5) нмоль/л 24,5 (2,9-31,2) нмоль/л 0,7 (0,3-1,2) нмоль/л
Тестостерон <i>жінки</i> <i>чоловіки</i>	1,2 (0,7-2,4) нмоль/л 25,3 (12,5-40,6) нмоль/л
Естрадіол <i>жінки</i> фолікулярна фаза овуляційна фаза лютеїнова фаза постменопауза <i>чоловіки</i>	110-550 нмоль/л 1281-2200 нмоль/л 735-1468 нмоль/л 22-80 нмоль/л 51-132 нмоль/л
Сеча	
Надниркові залози	
Адреналін	41 (11-76) нмоль/добу
Альдостерон-18-глюкоронід	26 (8-55) нмоль/добу
Альдостерон вільний	0,36 (0,19-0,55) нмоль/добу
ДОФА	264 (41-558) нмоль/добу
Дофамін	2112 (656-5024) нмоль/добу
17-Кортикостероїди загальні <i>жінки</i> 20-40 років 41-60 років	42 (17-62) мкмоль/добу 35 (17-42) мкмоль/добу

Продовж. додатку 1

61-75 років чоловіки	21 (14-21) мкмоль/добу
20-40 років	55 (28-86) мкмоль/добу
41-60 років	38 (24-62) мкмоль/добу
61-75 років	31 (14-52) мкмоль/добу
Норадреналін	159 (47-236) нмоль/добу
17-ОКС загальні	12,8 (6-21) мкмоль/добу
17-ОКС вільні	1,29 (0,36-2,21) мкмоль/добу
Тестостерон <i>жінки</i>	31 (19-57) нмоль/добу
<i>чоловіки до 45 років</i>	367 (152-751) нмоль/добу
Прегнандіол <i>жінки</i>	
фолікулярна фаза	6,9 (4,7-8,7) мкмоль/добу
лютеїнова фаза	15,9 (12-25) мкмоль/добу
постменопауза	3,1-6,2 мкмоль/добу
<i>чоловіки</i>	1,6-6,7 мкмоль/добу
Естрадіол <i>жінки</i>	
фолікулярна фаза	18 (11-37) нмоль/добу
овуляційна фаза	33 (15-51) нмоль/добу
лютеїнова фаза	29 (11-44) нмоль/добу
постменопауза	2,2 (0-14) нмоль/добу
<i>чоловіки</i>	5,5 (0-23) нмоль/добу
Естрон <i>жінки</i>	
фолікулярна фаза	26 (15-44) нмоль/добу
овуляційна фаза	74 (40-115) нмоль/добу
лютеїнова фаза	63 (37-85) нмоль/добу
постменопауза	9,2 (3-26) нмоль/добу
<i>чоловіки</i>	20 (11-30) нмоль/добу
Естріол <i>жінки</i>	
фолікулярна фаза	42 (21-69) нмоль/добу
овуляційна фаза	94 (45-187) нмоль/добу
лютеїнова фаза	104 (62-215) нмоль/добу

Продовж. додатку 1

постменопауза <i>чоловіки</i>	11 (2-30) нмоль/добу 12 (3-38) нмоль/добу
Естрогени загальні за Брауном <i>жінки</i>	
фолікулярна фаза	47 (13-82) нмоль/добу
овуляційна фаза	266 (161-323) нмоль/добу
лютеїнова фаза	165 (78-372) нмоль/добу
постменопауза	24 (6-56) нмоль/добу
<i>чоловіки</i>	52 (30-82) нмоль/добу

КЛІНІКО-БІОХІМІЧНІ КРИТЕРІЇ ПРИ ПАТОЛОГІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ

Сполучні тканини — це комплекс тканин мезенхімного походження, які беруть участь в підтримці гомеостазу внутрішнього середовища організму та відрізняються від усіх інших тканин порівняно незначним вмістом клітин та меншою потребою в аеробних окислювальних процесах. Разом з кров'ю і лімфою сполучні тканини об'єднуються в так звані *«тканини внутрішнього середовища»*.

Всі різновиди сполучної тканини, їх морфологічні відмінності, побудовані за єдиними принципами, які полягають в наступному:

а) сполучні тканини, як і всякі інші тканини, складаються з клітин та міжклітинної речовини, але на відміну від них всі види даної тканини характеризуються значно меншим співвідношенням загальної кількості клітин до вмісту міжклітинної речовини;

б) міжклітинна речовина сполучної тканини має дуже складний хімічний склад: чисельні своєрідні волокнисті структури (колагенові, еластичні та ретикулінові волокна), що розташовані в оточенні проміжної субстанції.

Таким чином, головними компонентами сполучних тканин є:

- різноманітні за функціями клітини, які створюють всі необхідні неклітинні компоненти і підтримують кількісне і якісне співвідношення їх складу
- фібрилярні (волокнисті) структури різних типів
- основна (аморфна) речовина, що відіграє роль інтеграційно-буферного метаболічного середовища.



Рис. 1. Морфологічна структура сполучної тканини

Сполучні тканини – дуже велика і різноманітна група, що включає власне сполучні тканини (рихла і щільна волокнисті), тканини зі спеціальними властивостями (ретикулярна, пігментна, жирова, драглиста), рідкі (кров, лімфа) та скелетні (кісткова і хрящова, зуби). Органна специфічність клітинних

елементів різних типів сполучної тканини виражається в кількості, формі і співвідношенні різних видів клітин, особливостях їх метаболізму та функцій, оптимально пристосованих до підтримки функцій того або іншого органу. Так, в рихлій волокнистій сполучній тканині клітини та аморфна речовина превалюють над волокнами, а в щільній, навпаки, основну масу сполучної тканини складають волокна.

Сполучні тканини складають більше половини маси тіла людини. Вони беруть участь у формуванні строми органів, прошарків між іншими тканинами в органах, формують дерму шкіри, скелет і різноманітні анатомічні утворення – фасції й капсули, сухожилля та зв'язки, хрящі й кістки.

Поліфункціональний характер сполучних тканин визначається складністю їх складу і організації. Сполучні тканини виконують наступні важливі в біомедичному відношенні функції:

Трофічна функція – регуляція живлення різних тканинних структур, участь в обміні речовин і підтримка гомеостазу внутрішнього середовища організму. У забезпеченні цієї функції головну роль відіграє основна речовина, через яку здійснюється транспорт води, солей, молекул поживних речовин.

Захисна функція – оберігання організму від механічних дій і знешкодження чужорідних речовин, які поступають ззовні або утворюються всередині організму. Це забезпечується фізичним захистом (наприклад, кістковою тканиною), а також фагоцитарною діяльністю макрофагів та імунокомпетентними клітинами, які беруть участь в реакціях клітинного й гуморального імунітету.

Опорна функція (біомеханічна) забезпечується, перш за все, колагеновими і еластичними волокнами, які утворюють волокнисті основи всіх органів, а також складом та фізико-хімічними властивостями міжклітинної речовини скелетних тканин (насамперед, мінералізацією). Чим щільніша міжклітинна речовина, тим значніша опорна функція (наприклад, кісткові тканини).

Пластична функція сполучної тканини виражається в адаптації до змінних умов існування, регенерації, участі в заміщенні дефектів органів при їх пошкодженні (приклад – формування рубцевої тканини при загоєнні ран).

Морфогенетична функція (структуроутворююча) – формування тканинних комплексів і забезпечення загальної структурної організації органів (утворення капсул, внутрішньоорганних перегородок), а також регулюючий вплив деяких її компонентів на проліферацію та диференціювання клітин різних тканин.

В усіх тканинах клітини знаходяться в постійному контакті з великою кількістю позаклітинних макромолекул, об'єднаних в поняття **позаклітинний матрикс**. У сполучних тканинах молекули матриксу займають значну частину об'єму позаклітинного простору. Матрикс визначає основні біологічні властивості сполучної тканини. В більшості органів молекули матриксу сполучних тканин утворюються специфічними клітинами, що живуть в ньому. Їх називають **постійними клітинами**. Це, передусім, фібробласти, а також

аналогічні клітини цього сімейства (наприклад, хондробласти в хрящі і остеобласти в кістковій тканині, одонтобласти в зубах).

Фібробласти (фібробластоцити) – найважливіші в функціонально-морфогенетичному відношенні клітини, в яких інтенсивно здійснюється біосинтез колагенових та еластинових білків, протеогліканів і глікопротеїнів, необхідних для формування основної речовини та волокон, котрі відіграють найважливішу роль, наприклад, при загоєнні ран, рубцюванні, утворенні сполучнотканинної капсули навколо чужорідного тіла і т.п. Стимулюючими чинниками біосинтезу колагену є іони заліза, міді, хрому, аскорбінова кислота. Ці процеси посилюються в умовах зниженої концентрації кисню. Спадкові та порушення синтетичної функції фібробластів лежать в основі мукополісахаридозів та інших дифузних захворювань сполучної тканини.

Фібробласти – це рухомі клітини. В їх цитоплазмі, особливо в периферичному шарі, розташовуються мікрофіламенти, які містять білки типу актину й міозину. Рух фібробластів стає можливим тільки після з'єднання зазначених білків з опорними фібрилярними структурами за допомогою **фібронектину** – глікопротеїну, що синтезується фібробластами й іншими клітинами та забезпечує адгезію клітин і неклітинних структур. Під час руху фібробласт сплющується, а його поверхня може збільшитися в 10 разів.

Плазмолема фібробластів є важливою рецепторною зоною – посередником дії різних регуляторних чинників. Активізація фібробластів зазвичай супроводжується накопиченням глікогену та підвищенням активності гідролітичних ферментів. Енергія, що утворюється при метаболізмі глікогену, використовується для синтезу поліпептидів та інших компонентів, що секретуються клітиною. Гідролази мають різні функціональні ролі. Так, наприклад, **колагеназа** розщеплює незрілий колаген всередині клітин, регулюючи, таким чином, інтенсивність його секреції на клітинному рівні.

Регулюючий вплив на проліферативну, колагенсинтезуючу і колагенолітичну функції фібробластів у вогнищі запалення здійснюють лімфоцити, нейтрофіли та лаброцити. Разом з цим і самі фібробласти продукують специфічні речовини – **фіброкіни**, які активно впливають на функції їх власної популяції (стимулятори та інгібітори росту), а також чинники, що впливають на лімфоцити, моноцити, макрофаги, лаброцити, тромбоцити, епітеліальні клітини. Фіброкіни проявляють дистантну дію. До них відносяться: колонієстимулюючий чинник, чинник зростання макрофагів, чинник, що індукує диференціювання моноцитів, інтерлейкин-6, чинник, що пригноблює міграцію макрофагів, чинник, що впливає на диференціювання імунних та епітеліальних клітин і ін.

Фіброкласти — клітини з високою фагоцитарною та гідролітичною активністю, які беруть участь в «розсмоктуванні» міжклітинної речовини в період інволюції органів (наприклад, в матці після закінчення вагітності). Вони поєднують в собі структурні ознаки фібрилоутворюючих клітин (розвинену гранулярну ендоплазматичну мережу, апарат Гольджі, відносно крупні, але нечисленні мітохондрії), а також лізосоми з характерними для них гідролітичними ферментами. Комплекс ферментів, що виділяється ними за межі

клітини розщеплює цементуючу субстанцію колагенових волокон, після чого відбуваються фагоцитоз і внутріклітинне переварювання колагену.

До постійних відносять також макрофаги (гістіоцити), тканинні базофіли (огрядні, лаброцити, гепариноцити), адіпоцити (ліпоцити), мезенхімальні, перицити. Всі вони відіграють важливу роль в забезпеченні нормального функціонування сполучної тканини. Так, в гранулах лаброцитів виявлені гепарин, гістамін, серотонін, допамін, хондроїтин-сульфати, гіалуронова кислота, глікопротеїни, фосфоліпіди, хемотаксичні чинники чинник активації тромбоцитів, а також ферменти – ліпаза, естераза, триптаза, що активує кініноген, ферменти циклу Кребса, анаеробного гліколізу і пентозного циклу. При дегрануляції лаброцитів відбувається виділення в навколишнє середовище всіх зазначених біологічно активних речовин, а також активація синтезу цими клітинами похідних ненасичених жирних кислот (простагландинів, лейкотрієнів, простагландинів і тромбоксану) та цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-3, ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-8), а також колонієстимулюючого чинника (GM-CSF) та чинника некрозу пухлин (TNF). Вказані речовини відіграють важливу роль в судинних реакціях, зміні проникності клітинних мембран і капілярних стінок, скороченні гладких м'язів та інших адаптаційно-захисних механізмів, які миттєво реалізуються у внутрішніх органах при виникненні різних патологічних процесів. Особливістю лаброцитів і базофільних гранулоцитів є наявність на їх поверхні високоафінних рецепторів для Ig E, а також компонентів комплементу (C3, C3a, C4a, C5a).

На молекулярний склад міжклітинної речовини впливають і **транзиторні клітини**. Вони мігрують в сполучну тканину з крові у відповідь на специфічний стимул. До них відносяться лімфоцити, плазматичні клітини, еозинофіли, нейтрофіли, базофіли та ін.

Біомедична роль позаклітинного матриксу:

- забезпечення пересування під час ембріогенезу
- в тканинах за активним посередництвом молекул матриксу розгортаються гострі і хронічні запалення
- з позаклітинним матриксом тісно пов'язана проблема метастазування пухлинних
- за участю молекул позаклітинного матриксу протікають найбільш «популярні» захворювання серед людей – ревматоїдний артрит, остеоартрит, атеросклероз
- з генетичними порушеннями обміну молекул матриксу пов'язаний широкий спектр колагенових захворювань
- дефекти лізосомальних гідролаз призводять до важких наслідків (мукополісахаридози).
- з можливостями впливу на обмін молекул матриксу тісно пов'язані проблеми косметики та процес старіння.

До складу міжклітинного матриксу входять три основних класи білкових молекул: **фібрилярні білки** двох функціональних типів – переважно

структурні (сімейства колагену і еластину) та переважно **адгезивні** (сімейства фібронектину або ламініну), а також **протеоглікани**.

Всі зазначені білки відносяться до групи білково-вуглеводних комплексів.

Білково-вуглеводні комплекси позаклітинного матриксу

Білково-вуглеводні комплекси класифікуються за двома критеріями: за кількістю (долею) вуглеводів в комплексі та за якісним моносахаридним складом. Серед них виділяють **протеоглікани** (понад 95% вуглеводів), **мукопротеїни** (10-50% вуглеводів) та **глікопротеїни** (менше 10% вуглеводів).

Протеоглікани — це білкові комплекси, в яких з молекулами білка ковалентно зв'язані **глікозаміноглікани**. Білки протеогліканів називають ко'ровими білками (*core* — серцевина, стрижень).

Глікозаміноглікани — це гетерополісахариди, побудовані за стандартним принципом. Вони складаються з великої кількості сполучених **$\beta(1-4)$** глікозидними зв'язками **дисахаридів**, що повторюються, мономери яких — **уронові кислоти** та **гексозаміни** — зв'язані між собою **$\beta(1-3)$** або **$\beta(1-4)$** глікозидним зв'язком.

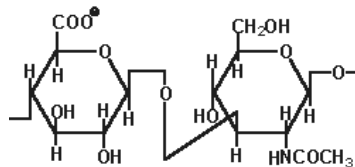
Для більшості глікозаміногліканів характерні наступні ознаки:

- містять сульфатовані моносахариди
- мають тенденцію складатися з різних дисахаридних одиниць, що утворюють складніші структури
- один з двох залишків, що повторюються, у складі дисахариду — це аміноцукор: N-ацетилглюкозамін або галактозамін, який в більшості глікозаміногліканів сульфатується; другий цукор, як правило, уронова кислота (глюкуронова або ідурунова)
 - мають короткі олігосахаридні ланцюги
 - олігосахаридні ланцюги ковалентно зв'язані з білками
 - синтезуються й покидають її шляхом екзоцитозу.

Глікозаміноглікани класифікують за залишками моносахаридів, які утворюють їх структурні дисахаридні мономери, за типами зв'язків між ними, за локалізацією сульфатних груп та ін.:

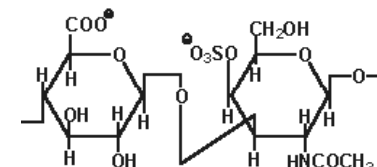
1) гіалуронати

D-глюкуронат + ГлюNAц
 $\beta(1-3)$ глікозидний зв'язок

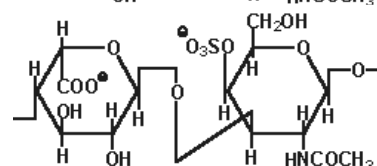


2) хондроїтин і дерматан сульфати

D-глюкуронат + ГалNAц-4- або 6-сульфат
 $\beta(1-3)$ глікозидний зв'язок

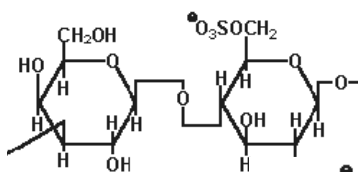


L-ідуруонат (частково сульфатований) + ГалNAц-4-сульфат
 $\beta(1-3)$ глікозидний зв'язок



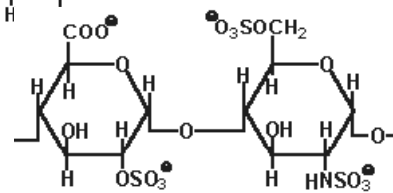
3) кератан сульфати;

D-галактоза + ГлюНАц-6-сульфат
 β (1-4) глікозидний зв'язок



4) гепарин і гепаран сульфати

(гепарани менш сульфатовані ніж гепарини)
D-глюкуронат (або ідуронат)-2-сульфат) + N-
сульфо-глюкозамін-6-сульфат
 β (1-4) глікозидний зв'язок



Полісахаридні ланцюги глікозаміногліканів – рухомі структури. На відміну від білків вони не можуть утворювати компактні глобули. Структурна та хімічна організація глікозаміногліканів зумовлює їх здатність утворювати впорядковані мережі з порами певної величини, що забезпечують селективну проникність для різних речовин (молекулярне сито). Саме у цьому полягає їх бар'єрна роль. Глікозаміноглікани зв'язують величезну кількість води (до 500 молекул на одну макромолекулу). Порушення цієї властивості може привести до обезводнення або, навпаки, до надмірного накопичення води (наприклад, при мікседемі). Завдяки високій гідрофільності та свободі вибору конформації, глікозаміноглікани займають великі об'єми, утворюючи гелі при досить низьких концентраціях самого полісахариду. Цим зумовлений тургор тканин, який дозволяє протистояти компресійним силам. Наприклад, суглобовий хрящ може витримати тиск в сотні атмосфер.

Загальна характеристика окремих глікозаміногліканів

Гіалуронат (гіалуронова кислота або гіалуронан) – найбільш простий глікозаміногліканів, котрий складається з нессульфатованих дисахаридних одиниць, що повторюються (до 250000). Він виявлений в усіх тканинах на всіх стадіях розвитку тварин. Це найбільш рання еволюційна форма глікозаміногліканів і, можливо, тому не може служити типовим їх будови.

Гіалуронова кислота не містить в своєму складі сульфату, може утворюватися прямо на поверхні комплексами ферментів, занурених в їх плазматичну мембрану. Вона не завжди з білками, а якщо і з'єднується, то цей зв'язок нековалентний.

Гіалуронат синтезується на базальній стороні епітеліального шару і часто служить для створення вільного позаклітинного простору, по якому під час морфогенезу і загоєння ран мігрують.

На відмну від гіалуронату глікозаміноглікани, що містять сульфат – відносно невеликі молекули.

Хондроїтин-сульфати (ХД-4-S, ХД-6-S). Протеоглікани, що містять хондроїтин-сульфати, з O-глікозидним зв'язком, виявлені в хрящі. Кожен ланцюг містить до 40 дисахаридних одиниць з молекулярною масою 20000-50000. Хондроїтин-сульфати локалізуються також в місцях кальцифікації ендохондральних кісток. Крім цього, протеоглікан, що містить хондроїтин-сульфати, виявлений в деяких нейронах, де виконує роль ендоскелету, підтримуючи форму нейрона.

Дерматан-сульфат. Широко поширений в тваринних тканинах. Структурно подібний хондроїтин- і гепаран-сульфатам. На відміну від хондроїтин-сульфату замість глюкуронової кислоти містить ідурунову кислоту. Дерматан-сульфат склери додає їй міцність, що забезпечує підтримку форми очного яблука.

Кератансульфати I і II. Вони побудовані з дисахаридів, котрі включають галактозу і N-ацетилглюкозамін. Галактоза і глюкозамін у складі цих дисахаридів сульфатуються. Кератан-сульфати відрізняються типом зв'язку з білком. Кератансульфат I і дерматансульфат присутні в рогівці. Вони розташовуються між колагеновими волокнами та відіграють важливу роль в прозорості рогівки.

Гепарин. Складається з глюкозаміну та двох типів уронових кислот: глюкуронової та ідурунової. Більша частина аміногруп глюкозаміну сульфатована, а менша – ацетильована. Ідурунова кислота утворюється з глюкуронової вже після збірки молекули гепарину за участю спеціальних ферментів (епімераз). У тканинах входить до складу протеоглікану. Унікальна будова білкової частини цих протеогліканів: вона багата такими амінокислотами, як серин і гліцин. Гепарин виділений з гранул огрядних клітин, а також з печінки, легенів і шкіри. Гепарин є важливим антикоагулянтом. Він зв'язується з гемостатичними факторами IX і XI, але найбільш важливою є його взаємодія з антитромбіном III. Зв'язуючись з ним в співвідношенні 1:1, гепарин різко підсилює інгібуючу дію антитромбіну. Це пов'язано з тим, що гепарин змінює конформацію білка, підсилюючи взаємодію з сериновими пептидазами. Гепарин відомий також як сполука, здатна специфічно зв'язуватися з ліпопротеїнліпазою на стінках капілярів, призводячи до виходу ферменту в кровотік і підсилюючи катаболізм хіломікронів.

Гепаран-сульфат. Зустрічається переважно на клітинній поверхні. На відміну від гепарину в ньому переважає малосульфатований глюкозамін і глюкуронова кислота.

Глікозаміноглікани характеризуються інтенсивним метаболізмом. Так наприклад, період напівжиття гіалуронової кислоти складає 2-4 дні. Деградація глікозаміногліканів здійснюється, головним чином, лізосомальними ферментами (екзо- та ендоглікозидазами, сульфогідролазами і ін.).

Патологія глікозаміногліканів полягає в порушенні їх синтезу, розпаду або того й іншого процесів одночасно. Найбільш детально досліджено ряд патологічних станів, які об'єднані під назвою **хвороб накопичення глікозаміногліканів (мукополісахаридози)**. Їх причина – це дефіцит ферментів, необхідних для деградації зазначених олігосахаридів. Як правило, цей дефіцит носить спадковий характер. Причому, в переважній більшості випадків блок на певному етапі розпаду глікозаміногліканів перешкоджає дії наступного по черзі ферменту, тому найхарактернішим для таких захворювань є накопичення в лізосомах клітин негідролізованих субстратів блокованої ферментативної реакції (часто разом з попередниками) і в той же час збільшене виділення їх з екскретами.

У зв'язку з тим, що в тканинах людини є декілька типів глікозаміногліканів (гіалуронова кислота; хондроїтин-, гепарин-, гепаран- та кератан-сульфати), і катаболізм кожного з них визначається специфічним ферментом, мукополісахаридози диференціюють на декілька нозологічних одиниць (хвороб або синдромів)

Таблиця 1. Характеристика основних нозологічних типів мукополісахаридозів

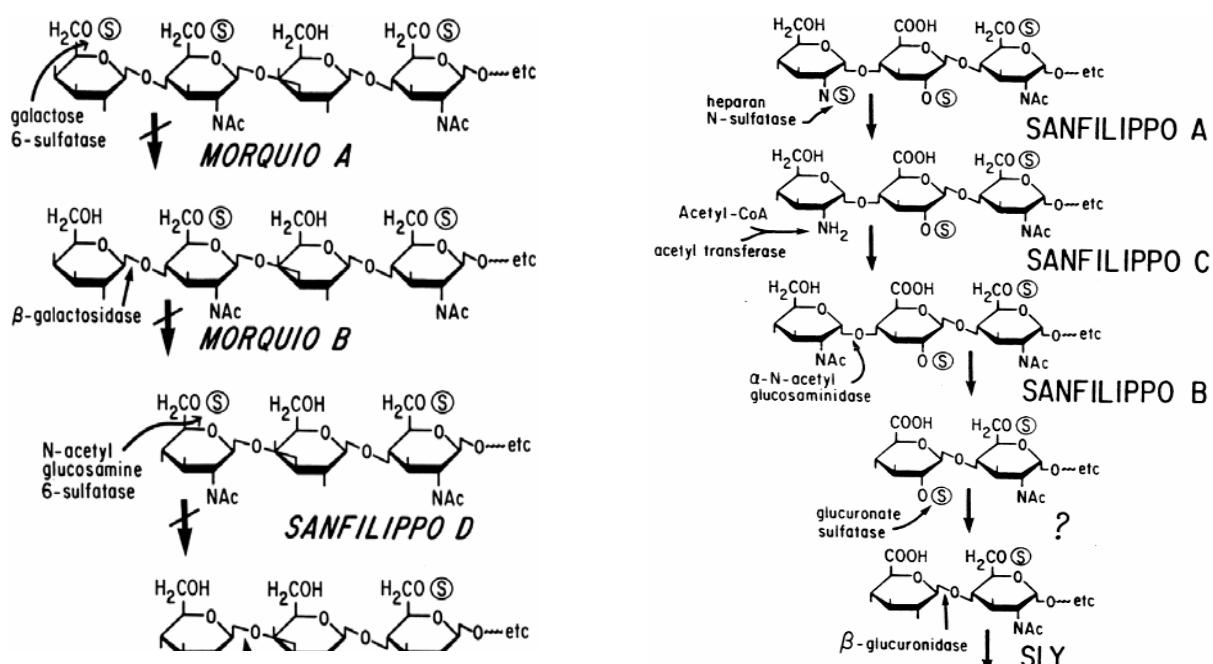
Синдром	Дефект ферменту	Продукт накопичення
Гурлера	α -L-ідуронідаза	дерматан- і гепаран-сульфати
Хантера	сульфоідуронат-сульфатаза	дерматан- і гепаран-сульфати
Санфіліппо	A. гепаран-N-сульфатаза B. α -N-ацетилглюкозамінідаза C. α -глюкозамін-ацетил-трансфераза * D. N-ацетилглюкозамін-6-сульфатаза	гепаран-сульфати
Моркіо	A. N-ацетилгалактозамін-6-сульфатаза B. β -галактозидаза	кератан- і хондроїтин-6-сульфати
Шейє**	α -L-ідуронідаза	дерматан-сульфати
Марото-Ламі	N-ацетилгалактозамін-4-сульфатаза	дерматан-сульфати
Слая	β -D-глюкуронідаза	хондроїтин-сульфати

* фермент бере участь не в розпаді, а в синтезі(!) гепаран-сульфату

** на сьогодні вважається більш м'яким варіантом типу I (маніфестується пізніше та повільніше); описана також проміжна клінічна форма – синдром Гурлера-Шейє

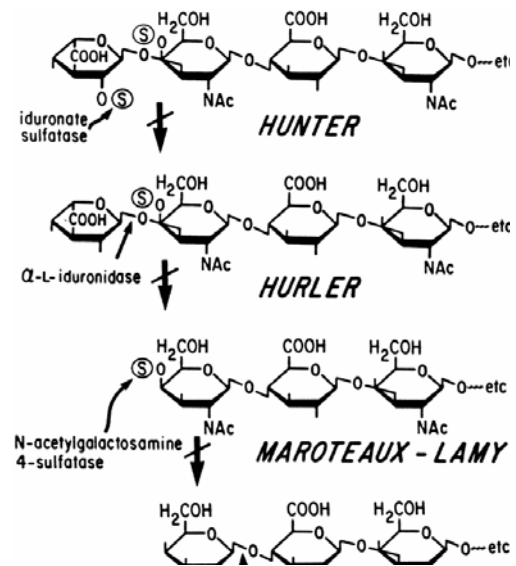
На приведених схемах вказані місця блоку ферментативних реакцій при різних типах мукополісахаридозів:

Схема 1. Спадкові дефекти ферментів – причини виникнення різних мукополісахаридозів



Всі зазначені хвороби успадковуються по аутосомно-рецесивному типу, за винятком синдрому Хантера (рецесивний, зчеплений з X-хромосою тип).

Ураження сполучної тканини при різних варіантах мукополісахаридозів суттєво відрізняються за ступенем вираженості симптомів та органом локалізацією.

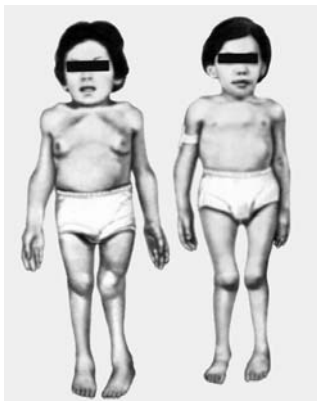


Таблиця 2. Клінічні прояви різних типів мукополісахаридозів

Тип мукополісахаридозу	Характерні симптоми
Гурлера	Розумова відсталість, рання катаракта, важкі порушення скелету, гарголізм, вісцеромегалія
Хантера	Розумова відсталість, дизостоз, карликовість, гепатоспленомегалія, кардіопатії
Санфіліппо	Розумова відсталість, помірні порушення скелету, вісцеромегалія, катаракта
Моркіо	Інтелект в нормі, катаракта, важкі порушення скелету, аортальна недостатність
Шейс	Інтелект в нормі, катаракта, незначні порушення скелету
Марото-Ламі	Інтелект в нормі, катаракта, важкі порушення скелету, гарголізм
Спая	Розумова відсталість, дизостоз, гепатоспленомегалія

Зовнішній вигляд хворих синдромами (http://dic.academic.ru/dic.nsf/enc_medicine)

Моркіо



Марото-Ламі



Хантера



Комплексна біохімічна діагностика мукополісахаридозів включає:

1. Кількісне визначення глікозаміногліканів, що екскретуються (за вмістом уронових кислот та гексоз)
2. Електрофоретичне фракціонування їх (по можливості з денситометрією).
3. Визначення активності ферментів деградації глікозаміногліканів.

Вказані дослідження дозволяють провести диференційну діагностику мукополісахаридозів з клінічно подібними патологічними станами (глікопротеїнозами, муколіпідозами, артрогрипозом, гіпотиреозом, спондилоепіфізарними дисплазіями та ін.), а також віднести хворих до відповідної фенотипічної групи (за видом продукту накопичення).

Протеоглікани побудовані з різних за розміром та структурою ланцюгів глікозаміногліканів, ковалентно зв'язаних з "коровими" білками. Нижче наведені дві загальні схеми будови різних видів протеогліканів.

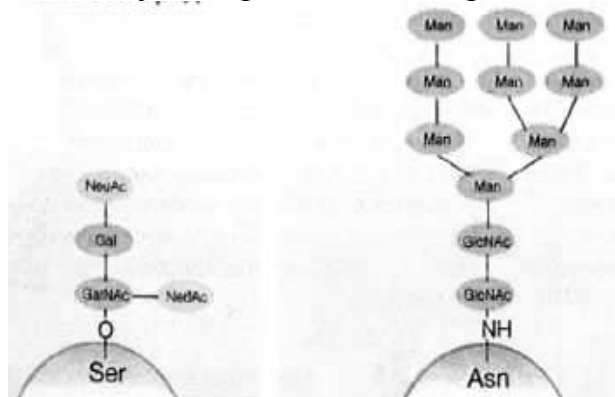
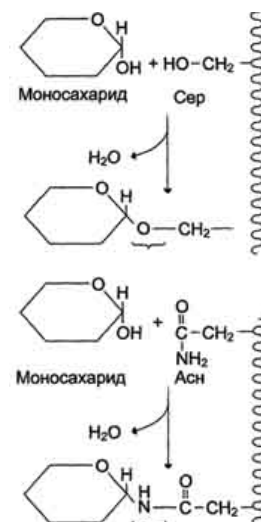


Схема 2. Загальні схеми будови глікозаміногліканів

Виділяють три типи зв'язку між глікозаміногліканами та "коровими" білками в протеогліканах:

- **O-глікозидний зв'язок** між ксилулозою та серином. Цей зв'язок характерний для більшості протеогліканів. Він утворюється при пострибосомальному процесингові зазначених білків шляхом перенесення ксилулози на серин корового білка. Субстратом для такого перенесення служить УДФ-ксилулоза. Потім до ксилулози додаються два залишки галактози, утворюючи зв'язуючий трисахарид. Ланцюг глікозаміноглікану росте шляхом поступового нарощування вказаного трисахариду.
- **O-глікозидний зв'язок** між N-ацетил-галактозаміном і серином (треоніном), характерний для кератансульфату. Донором галактозаміну є УДФ-N-ацетилгалактозамін.
- **N-глікозиламінний зв'язок** між N-ацетил-глюкоз(галактоз)-аміном і амідним азотом аспарагіну.



Протеоглікани можуть утворювати величезні полімерні комплекси, сумірні з розмірами бактерій, а з'єднуючись з іншими білками, вони утворюють складні структури. Прикладом цього є базальна мембрана. Не всі протеоглікани секретуються в позаклітинний матрикс. Одні, знаходячись на поверхні кліток, є частиною рецепторних комплексів, в той час, як інші утворюють інтегральну частину плазматичних мембран (їх корові білки пронизують мембрану або зв'язуються з її ліпідами).

Будучи компонентами секреторних бульбашок (везикул), протеоглікани сприяють упаковці та секретії різноманітних сигнальних молекул. Крім того, вони беруть участь в регуляції активності зазначених молекул. Обумовлене це тим, що з протеогліканами може обмежувати простір дії таких молекул (локалізація дії) або стерично блокувати їх активність, створювати резервуар сигнальних молекул, пролонгуючи їх дію, та захищати їх від розщеплення. Змінюючи конформацію або концентруючи подібні молекули, протеоглікани сприяють їх ефективнішій дії.

На цих властивостях і механізмах засновані функції протеогліканів в організмі. Будучи структурними компонентами позаклітинного матриксу, вони:

- специфічно взаємодіють колагеном, еластином, фібронектином, ламініном та іншими білками;
- забезпечують міжклітинну взаємодію, беручи участь у формуванні рецепторів на поверхні мембран;
- входять до складу синаптичних та інших везикул ;
- впливають на клітинну міграцію;
- забезпечують тургор різних тканин;
- як поліаніони зв'язують полікатиони та катіони;
- регулюють фільтрацію в клубочках нирок;
- протистоять компресійним силам в хрящовій тканині;
- підтримують прозорість рогівки;
- виконують структурну роль в склері;
- діють як антикоагулянти.

Найбільш вивчені представники протеогліканів: агрекан хряща, синдекан фібробластів, перлекан та бетаглікан клітинних і базальних мембран, сергліцин секреторних везикул.

Глікопротеїни і мукопротеїни – це два класи білково-вуглеводних комплексів, які можна об'єднати в один. Відмінності між ними стосуються лише кількості вуглеводів, ковалентно приєднаних до білків: у глікопротеїнів вуглеводи складають до 10%, а у мукопротеїнів – до 50% від маси молекули. Зі складу гліко- та мукопротеїнів виділено 7 моносахаридів.

Функції гліко- та мукопротеїнів:

1. Є структурними компонентами клітинних мембран, фібрилярних волокон, кісткового матриксу.
2. Муцини виконують роль змащувального матеріалу, обумовлюючи зменшення тертя дотичних поверхонь.
3. Транспортні молекули для вітамінів, ліпідів, мікроелементів.

4. Імуноглобуліни, антигени гістосумісності, комплемент та інтерферон.
5. Гормони-глікопротеїни: тиреотропін, хоріонічний гонадотропін.
6. Ферменти гліко-(муко)протеїнової природи: гідролази, нуклеази, глікозидази, чинники системи гемостазу.
7. Виконують роль сполучного елементу в міжклітинній взаємодії
8. Лектіни – речовини, що специфічно взаємодіють вуглеводними компонентами складних і простих молекул, в частині випадків самі є глікопротеїнами.

Моносахариди гліко- та мукопротеїнів представляють собою більш різноманітну групу, порівняно з глікозаміногліканами. Крім глюкози, галактози та їх амінів в складі олігосахаридних компонентів цих складних білків виявлено фукозу, маннозу, N-ацетилнейрамінову кислоту і ін. Субстратами, які приймають участь в синтезі гліко- та мукопротеїнів, є активні форми зазначених моносахаридів та їх похідних: УДФ-галактоза(глюкоза), УДФ-ацетилгалактоз(глюкоз)аміни, ГДФ-манноза та ГДФ-фукоза, ГМФ-нейрамінова кислота.

Тип зв'язку між білком і вуглеводом в білково-вуглеводних комплексах є результатом різних механізмів синтезу. Поліпептидні ланцюги (корові білки) обох типів білково-вуглеводних комплексів синтезуються на мембранозв'язаних полірибосомах. Вуглеводна ж їх частина утворюється двома різними способами.

Олігосахаридні ланцюги **O-зв'язаних** комплексів синтезуються шляхом поступового приєднання моносахаридів до утвореного поліпептидного ланцюга. Цей процес каталізують мембранозв'язані глікозилтрансферази.

Утворення одного типу зв'язку вимагає окремого специфічного ферменту (гіпотеза один зв'язок – одна глікозилтрансфераза). Приєднання першого цукру відбувається під час трансляції, а інші додаються ферментами, локалізованими на ендоплазматичній мережі. Ферменти, що приєднують останній цукор, локалізовані в апараті Гольджі.

Утворення олігосахаридної частини **N-зв'язаних** комплексів відбувається окремо від білкової компоненти. Провідну роль в синтезі олігосахаридів займає поліізопренова сполука **доліхол** (складається з 17-20 одиниць ізопренів).

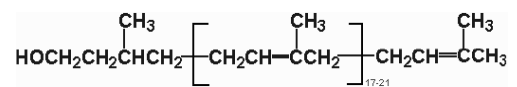
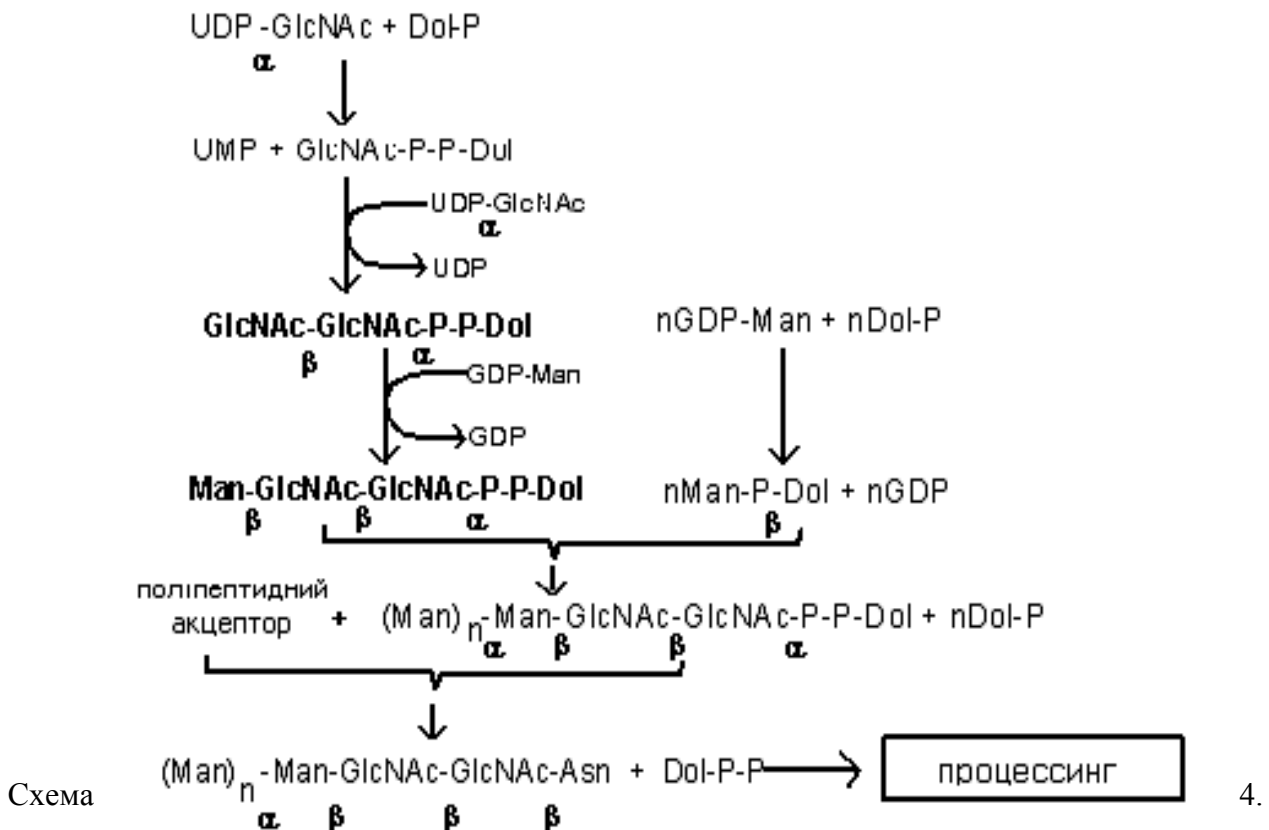


Схема 3. Будова молекули доліхолу

Роль доліхол-фосфату в синтезі вуглеводної частини білково-вуглеводних комплексів полягає в наступному (схема 4):

Доліхолкіназа перетворює доліхол в доліхолфосфат, котрий вступає в реакцію з УДФ-N-ацетилглюкозаміном з утворенням доліхол-пірофосфат-N-ацетилглюкозаміну, до якого послідовно приєднується ще одна молекула N-ацетилглюкозаміну, 5 молекул маннози (ГДФ-манноза як субстрат), потім ще 4 маннози (донор – доліхол-манноза). В багатьох випадках на кінцевій стадії до олігосахариду додаються залишки моносахаридів або їх похідних (глюкоза, галактоза, їх аміни чи N-ацетиламіни, нейрамінова кислота та ін.).



Участь доліхолу в синтезі вуглеводної частини білково-вуглеводних комплексів

Утворений олігосахарид переноситься на амідний азот аспарагіну корового білка, розташованого на люмінальній поверхні едоплазматичної мережі. Каталізує цей процес мембранозв'язаний фермент – олігосахарид-трансфераза.

Аспарагін, до амідного азоту якого приєднується оліго-сахарид, входить до складу характерного трипептиду корового білка *аспарагін-У-серин* (*треонін*), де У – будь-яка аміно-кислота окрім проліну або аспартату. Продукт трансферазної реакції, доліхолдифосфат, перетворюється на доліхолфосфат за допомогою фосфатази. Доліхолфосфат знов використовується в реакціях перенесення.

Глікозуються, в основному, секреторні білки, тоді як білки цитозоля зазвичай не глікозуються. Ряд може порушувати різні етапи синтезу глікопротеїнів. В експериментах часто використовують тунікаміцин, дезоксіноджириміцин і свайнсонін. Наприклад, якщо ростуть в присутності тунікаміцину, порушується процес глікозювання. При цьому збільшується чутливість таких білків до протеолізу, хоча механізми секреції суттєво не порушуються.

Порушення синтезу білково-вуглеводних комплексів призводить до важких системних захворювань.

Розпад білково-вуглеводних комплексів відбувається за участю великої кількості лізосомальних гідролаз – α -нейрамінідази, β -галактозидази, β -гексозамінідази, α - і β -маннозидаз, α -фукозидази, ендо- β -N-ацетилглюкозамінідази, аспартилглюкозамінідази та ін. На приведеній схемі представлені місця дій деяких гідролаз:

Генетично детермінований дефект вказаних ферментів до порушення розпаду відповідних білково-вуглеводних комплексів та розвитку одного з видів хвороб накопичення (**глікопротеїнозів**). Характерні приклади захворювань цього типу: сіалидози, маннозидози, фукозидози та аспар-

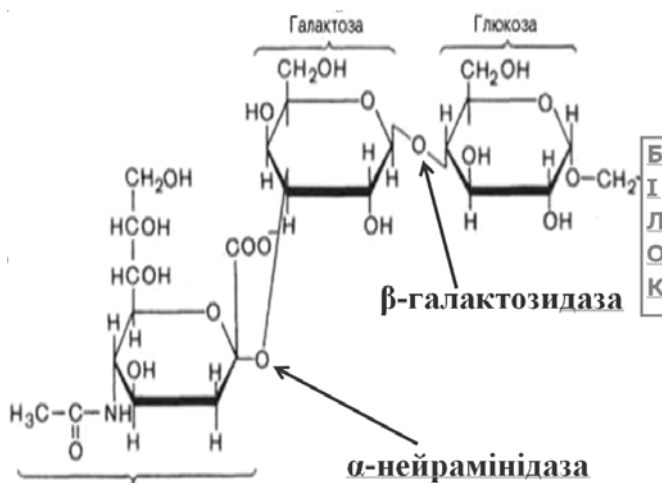


Схема 5. Місця дій деяких гідролаз

тилглюкозамінурія, є наслідками недостатності відповідно α -нейрамінідази, α -чи β -маннозидаз, α -фукозидази, аспартилглюкозамінідази. Ці захворювання мають різноманітні клінічні прояви, іноді їх відносять до муколіпідозів. Основними ознаками хвороб, пов'язаними з недостатністю глікозидаз, є:

- аутосомно-рецесивне наслідування;
- різні порушень психіки;
- вакуолізація деяких , видима під мікроскопом;
- присутність ненормальних продуктів розпаду в сечі.

Діагностика подібних захворювань заснована на дослідженні активності зазначених ферментів (найчастіше в лейкоцитах). У ряді випадків можлива пренатальна діагностика шляхом аналізу відповідних ферментів в амніотичній рідині і крові матері.

Специфічні білки сполучної тканини

Колаген - головний білок позаклітинного матриксу

Колагени – досить добре досліджені фібрилярні білки, виявлені в усіх живих організмах. Вони складають близько 25% всіх білків організму дорослої людини або 6% від маси тіла. Колагени синтезуються та секретуються як сполучнотканинними , так і деякими іншими типами . С для всякого колагену є розташування в позаклітинному матриксі та обов'язкова присутність одного чи декількох доменів, які містять потрійну спіраль (три первинні спіральні поліпептидні ланцюги додатково згорнуті в суперспіраль).

Властивості колагену визначаються структурою його макромолекул, а також специфічним амінокислотним складом поліпептидних ланцюгів спіралі, що забезпечує її жорсткість та здатність до бічної агрегації з утворенням мікрофібрил і фібрил. Вивчення амінокислотного складу і послідовності чергування амінокислот в поліпептидних ланцюгах тропоколагену, утворюючих потрійну спіраль, показало, що існує два типи ланцюгів – α_1 та α_2 , а також чотири різновиди ланцюга α_1 : α_1 (I), α_1 (II), α_1 (III) і α_1 (IV).

В даний час описано 28 типів колагену, які кодуються більш ніж 40 генами, відповідні комбінації яких піддаються експресії в різних тканинах. Типи колагенів відрізняються один від одного амінокислотними послідовностями в первинних ланцюгах, а також ступенем модифікації – інтенсивністю гідроксилювання та глікозилювання. Більше 90% всього колагену вищих організмів на колаген I, II, III і IV типів.

Таблиця 3. Місце знаходження, склад та особливості структури основних типів колагену

Тип	Місце знаходження	Склад суперспіралей	Особливості структури
I	Шкіра, сухожилля, кістки, рогівка ока	$2\alpha_1(I)+1\alpha_2$	<10 остатків оксилізіну в ланцюзі
II	Хрящ, склоподібне тіло	$3\alpha_1(II)$	>10 остатків оксилізіну в ланцюзі
III	Судини, шкіра плоду	$3\alpha_1(III)$	дуже високий вміст гліцину та оксипроліну
IV	Базальні мембрани	$3\alpha_1(IV)$	високий вміст 3-оксипроліну і низький аланіну, >20 остатків оксилізіну в ланцюзі

В залежності від здатності формувати ті чи інші морфологічні структури всі типи колагенів об'єднуються в декілька функціональних груп:

Таблиця 4. Різновиди колагену

Різновиди колагену	Типи
Фібрилоформуючі колагени	I, II, III, V, XI, XXIV, XXVII
Фібрилоасоційовані колагени	IX, XII, XIV, XVI, XIX, XX, XXI, XXII
Колагени, які формують філаменти-намистини	VI
Мережоутворюючі колагени	IV, VIII, X
Колаген, що формує якірні фібрили	VII
Трансмембранні колагени	XIII, XVII, XXIII, XXV
Інші колагени	XXVIII, XV, XVIII

Найбільш поширеними є представники фібрилоформуючих та фібрилоасоційованих колагенів. Останні таку назву, тому що вони, зазвичай зв'язуючись з колагеновими волокнами, утвореними фібрилоформуючими типами колагену, забезпечують з'єднання колагенових волокон з іншими молекулами матриксу. Мережеформуючі колагени утворюють мережевидні структури і, найчастіше, знаходяться в базальних мембранах, забезпечуючи зв'язок епітелію з розташованою під ним сполучною тканиною, що особливо важливо для шкіри. Характерну локалізацію та специфічні функціональні ролі властиві й усім іншим різновидам колагену.

Порушення структури колагену призводить до виникнення різноманітних захворювань, приклади котрих наведені в таблиці:

Таблиця 5. Типи колагенозів

Тип колагену	Органи	Асоційовані хвороби
I	Повсюди в м'яких і твердих тканинах, в шкірі, кістках	Синдром Елерса-Данлоса, остеогенез, ревматизм, синдром Марфана, дисплазії
II	Хрящі, склоподібне тіло, міжхребцеві диски	Колагенопатії II та XI типу, синдром Стиклера, ахондрогенез
III	М'які тканини і порожнисті органи	Синдром Елерса-Данлоса, фибром'язечна дисплазія, аневризма аорты
IV	Базальні мембрани	Синдром Альпорта, синдром Гудпасчера

V	М'які тканини, плацента, судини, хоріон	Синдром Елерса-Данлоса
VI	Мікрофібрили у м'яких тканинах і хрящах	Міопатія Ульріха, міопатія Бетлема, атопічний дерматит
VII	Прикріплювальні волокна в зв'язці шкіри і епідермію	Бульозний епідерміоліз
VIII	Рогівка, ендотелій	Дистрофія рогівки
IX	Хрящі, склоподібне тіло	Синдром Стиклера, остеоартрит, епіфізарна дисплазія
X	Гіпертрофічна зона області росту кісток	Метафізарна дисплазія Шміда
XI	Хрящі, склоподібне тіло	Колагенопатії II та XI типів, остеопороз
XII	М'які тканини	Пошкодження сухожиль
XV	Ендотеліальні клітини	Карцинома
XVII	Поверхня епідермальних клітин	Бульозний епідерміоліз, пухирчатка
XIX	Повсюди	Меланома, карцинома
XXIV	Кістки, що формуються	Остеохондроз
XXV	Атеросклерозні бляшки	Хвороба Альцгеймера

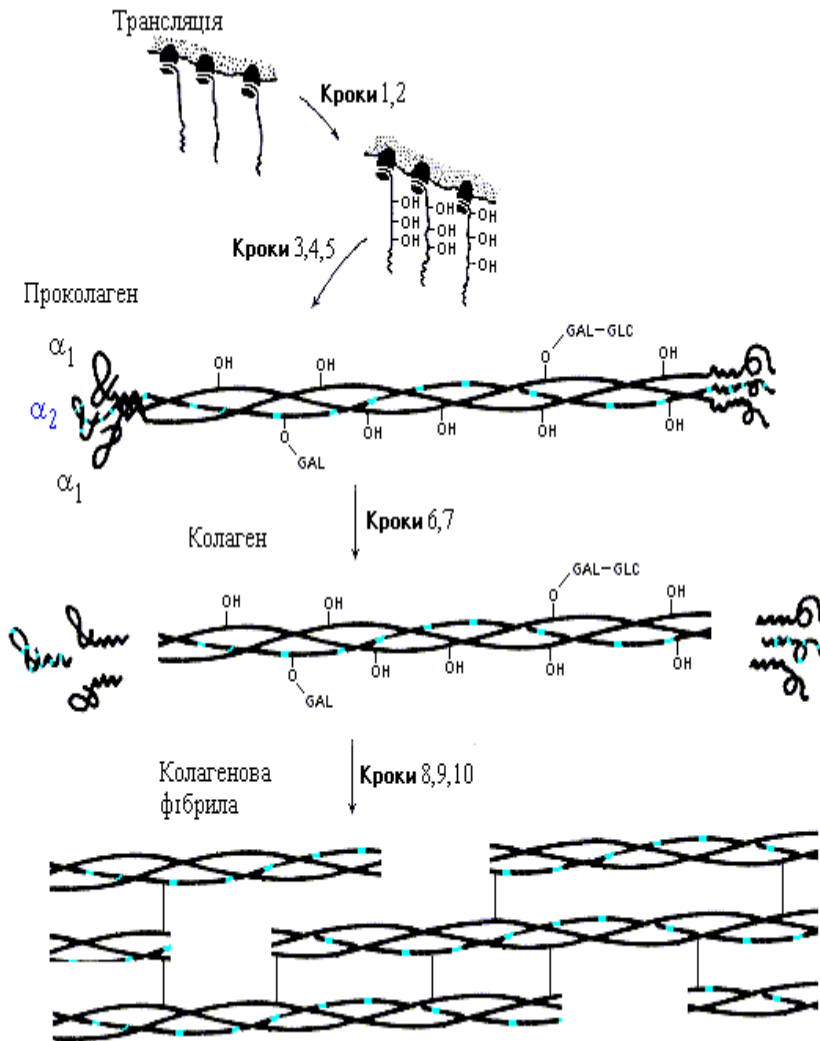
У колагену особливий тип просторової організації, загальні принципи якої добре простежуються в найкраще вивченому колагені шкіри. Первинний поліпептидний ланцюг його молекули є лівозакрученою спіраллю з трьома амінокислотними залишками на кожен крок спіралі. На відміну від α -спіралей багатьох інших глобулярних білків, для стабілізації цієї структури в колагені водневі зв'язки не використовуються. Три поліпептидні ланцюги щільно згортаються в правозакручену потрійну суперспіраль діаметром 1,4 нм і довжиною 300 нм Її утворенню сприяють розміри та фізико-хімічні властивості гліцину – найпопулярнішої амінокислоти колагену, яка на рівні первинної структури займає кожен третю позицію в його поліпептидному ланцюзі. Наявність гліцину забезпечує виключно низьку стеричну напругу, збільшуючи, тим самим, міцність спіралі (інші амінокислоти в переважній більшості мають надто великі бічні радикали, які перешкоджають утворенню нормальної суперспіральної структури). Найчастіше поруч з гліцином зустрічаються пролін або гідроксіпролін. Крім того, в цих місцях може знаходитися лізин чи гідроксілізин. Зрілий колаген характеризується низьким вмістом ароматичних амінокислот та відсутністю цистеїну і триптофану. Амінокислотний склад колагену в %% представлений в таблиці (жирним шрифтом виділені найбільш характерні та специфічні амінокислоти):

Таблиця 6. Амінокислотний склад колагену

Гліцин	33,50	Лізин	2,60
Пролін	11,82	Валін	2,02
Аланін	10,93	Треонін	1,87
Гідроксіпролін	9,21	Ізолейцин	1,36
Глутамат	7,19	Фенілаланін	1,31
Аспартат	4,90	Гідроксілізин	0,76
Аргінін	4,45	Метіонін	0,61
Серин	3,87	Тирозин	0,52
Лейцин	2,66	Гістидин	0,42

Утворення колагенових волокон є особливим типом багатоступеневого пострибосомального процесингу білкової молекули, кожна наступна стадія котрого можлива лише після повної реалізації попередньої. Тому порушення будь-якої з них призводить до виникнення різноманітних патологічних процесів.

Індивідуальні ланцюги колагену синтезуються на рибосомах, після чого в вигляді попередників про- α -ланцюгів, які містять додаткові пептиди на N і C кінцях, переходять до ендоплазматичної мережі. Додаткові пептиди багаті цистеїном. Вони беруть участь у формуванні потрійних спіралей, разом з тим перешкоджаючи передчасному утворенню поява котрих могла б бути катастрофою для неї.



Гідроксилування проліну та лізину в молекулі проколагену відбувається після закінчення синтезу поліпептидного ланцюга за допомогою специфічних пролін- та лізилгідроксилаз, кофактором яких є аскорбінова кислота. Прискорюють даний процес іони Fe^{2+} , O_2 і α -кетоглутарова кислота.

Рис. 2. Посттрансляційна модифікація колагену.

Крок 1. Біосинтез про- α_1 - та про- α_2 -ланцюгів (по 1300 амінокислотних залишків в кожному) в співвідношенні 2:1.

Крок 2. Гідроксилування деяких залишків Pro і Lys.

Крок 3. Приєднання гексоз (GLC-GAL) до залишків, що гідроксильються.

Крок 4. Утворення тримера та S-S зв'язків на його кінцях.

Крок 5. Утворення потрійної спіралі проколагену.

Крок 6. Секреція проколагену в позаклітинний простір.

Крок 7. Відщеплення глобулярних частин (додаткових пептидів).

Кроки 8-10. Спонтанне утворення фібрил з потрійних суперспіралей, остаточна модифікація їх амінокислотних залишків і утворення поперечних ковалентних зшивок модифікованих колагенових ланцюгів.

Глікозилювання забезпечується трансглікозидазами, субстратами яких є УДФ-глюкоза і УДФ-галактоза.

Після секреції з клітин проколагенові молекули втрачають додаткові пептиди, утворюючи молекули колагену, які об'єднуються у волокна. Видалення додаткових пептидів каталізують позаклітинні ферменти: проколагенамінопептидаза і проколагенкарбоксипептидаза.

Після остаточного формування молекули тропоколагену шляхом утворення основ Шиффа та альдольної конденсації між модифікованими залишками лізину і 5-гідроксілізину (відбувається окислювальне дезамінування їх ϵ -аміногруп) замикаються поперечні ковалентні зв'язки, стабілізуючі ф колагену.

Процес утворення волокон призводить до того, що розчинність колагенових молекул майже в 1000 разів менше, ніж молекул проколагену. Ця властивість забезпечує їх тенденцію до самоагрегації. Під електронним мікроскопом колагенові волокна мають поперечну покресленість з періодом 67 нм. Причиною такої покресленості спосіб укладання молекул колагену під час фібрилогенезу. Кожна з сусідніх молекул зміщена на 1/4 своєї довжини одна іншої.

Порядок і локалізація процесингу проколагену представлені в таблиці 7:

Таблиця 7. Процесинг колагену

Внутрішньоклітинно	Позаклітинно
1. Видалення сигнального пептиду	1. Відщеплення додаткових пептидів
2. Гідроксилювання проліну та лізину	2. Утворення колагенових волокон
3. Глікозилювання гідроксілізину	3. Окислювальне дезамінування ϵ -аміногруп (гідроксі)лізину
4. Утворення S-S зв'язків між ланцюгами	4. Утворення поперечних зшивок між волокнами
5. Утворення потрійної суперспіралі	

З усього вищезазначеного витікає, що мутації генів, які задіяні у формуванні різних типів колагену на будь-якій стадії – транскрипції, трансляції, процесингу, транспорту (секреції), деградації – призводять до виникнення **колагенових хвороб**. Виділяють дві групи таких мутацій:

- мутації, що приводять до зменшення кількості поліпептидних ланцюгів або їх структури;
- мутації, що порушують взаємодію ланцюгів при формуванні потрійної суперспіралі.

Особливо значні порушення в структурі і функції багатих колагеном тканин викликають мутації, що приводять до **зрушення рамки зчитування**, а також заміни гліцину в поліпептидній молекулі, який має істотне значення для правильного формування потрійної колагенової спіралі.

Симптоматика коллагенопатій різноманітна. В даний час добре вивчені клініко-генетичні характеристики декількох захворювань, перш за все, синдрому Елерса-Данло, недосконалого остеогенезу і міопатії Бетлема.

Еластин – основний білковий компонент, з якого складаються еластичні волокна.

Еластин відрізняється від колагену за хімічним складом і молекулярною структурою. Це спеціалізований білок з молекулярною масою від 64 до 66 кДа. Еластин синтезується клітинами фібробластів через попередник – розчинний тропоеластин, що не містить поперечних зв'язків, в реакції, яка каталізується лізілоксидазою.

Спільними для еластину й колагену є великий вміст гліцину і проліну, наявність оксипроліну, хоча останнього в еластині приблизно в 10 разів менше, ніж у колагені. Як і в колагені, в еластині мало метіоніну, і відсутні триптофан та цистеїн.

На відміну від колагену в еластині значно більше валіну та аланіну і менше глютамінової кислоти і аргініну. У цілому характерною особливістю первинної структури еластину є занадто малий вміст полярних амінокислотних залишків.

В еластині присутні **десмозин** (старогрец. *δεσμός* - зв'язка) та **ізодезмозин**, через що еластин може розтягуватися в двох напрямках. Ці сполуки містяться тільки в еластині. Структура їх досить незвичайна: 4 залишки лізину, з'єднуючись своїми радикалами, утворюють заміщене піриди-

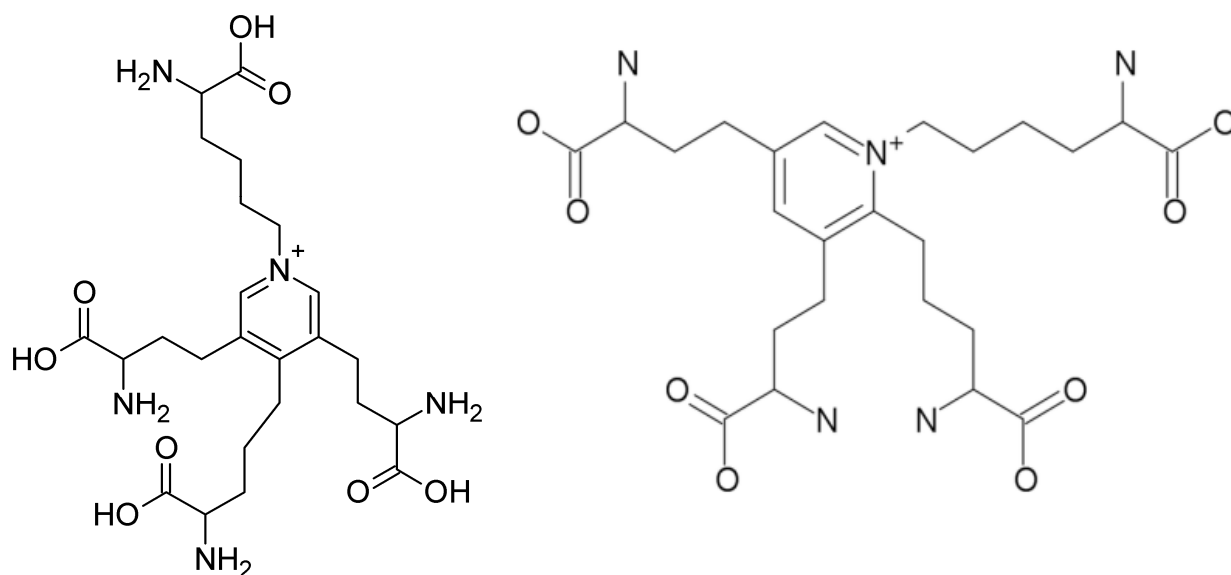


Рис 3. Структура десмозину (зліва) та ізодезмозину (справа).

нове кільце. Вважають, що при утворенні десмозину спочатку 3 залишки лізину окислюються до відповідних ϵ -альдегідів, а потім відбувається їх з'єднання з четвертим залишком лізину.

Ізодезмозин – ізомер десмозину, що відрізняється від нього лише розташуванням бічних ланцюгів на піридиновому кільці.

Завдяки розгалуженій структурі, яка має чотири амінокислотних групи, одна молекула десмозину (ізодезмозину) може входити одночасно в чотири пептидні ланцюги, скріплюючи різні нитки еластину та надаючи цьому білку пружність.

Фібронектин – один з ключових білків міжклітинного матриксу, неколагеновий глікопротеїн, який синтезується та виділяється в міжклітинний

простір багатьма клітинами. Він побудований з двох ідентичних поліпептидних ланцюгів, з'єднаних біля своїх С-кінців дисульфідними містками. Це фібрилярний білок адгезивного функціонального типу. Його поліпептидний ланцюг містить 7-8 доменів, на кожному з яких розташовані специфічні центри для зв'язування різних речовин. Фібронектин може пов'язувати колаген, протеоглікани, гіалуронову кислоту, вуглеводи плазматичних мембран, гепарин, фермент трансглютаміназу. Завдяки своїй структурі фібронектин може виконувати інтегруючу роль в організації міжклітинної речовини, а також сприяти адгезії клітин. Існує кілька форм фібронектину, які синтезуються різними клітинами. Розчинний, або плазмовий, фібронектин синтезується гепатоцитами. Нерозчинний, або тканинний фібронектин синтезується в основному фібробластами або ендотеліоцитами, гліоцитів та епітеліальними клітинами. Обидві форми фібронектину залучаються до різноманітних процесів: сприяють адгезії і поширенню епітеліальних і мезенхімальних клітин, стимулюють проліферацію та міграцію ембріональних і пухлинних клітин, контролюють диференціювання та підтримання цитоскелету клітин, активно беруть участь в запальних і репаративних процесах. Це пов'язано з тим, що кожна субодиниця фібронектину містить послідовність **АРГ-ГЛІ-АСП** (RGD-ділянки), за допомогою якої він може приєднуватися до клітинних рецепторів (інтегринів). Ці рецептори опосередковано взаємодіють з актиновими мікрофіламентами, які знаходяться в цитозолі. У цьому процесі беруть участь так звані білки прикріплення: талін, вінкулін, α -актинін. За допомогою таких білок-білкових взаємодій інформація може передаватися з міжклітинного матриксу всередину клітини, а також у зворотному напрямку. Відомо також, що фібронектин бере участь в міграції клітин, які можуть приєднуватися до його RGD-ділянок, і, таким чином, фібронектин допомагає їм переміщатися в міжклітинному матриксі.

В міжклітинному матриксі, оточуючому трансформовані (або пухлинні) клітини, кількість фібронектину помітно знижена, що може бути однією з причин появи метастазів.

Ламінін – найбільш поширений неколагеновий глікопротеїн базальних мембран. Він складається з трьох поліпептидних ланцюгів: α , β_1 та β_2 . Молекула ламініну має хрестоподібну форму з трьома одноланцюжковими гілками і однією триланцюжковою. Кожен ланцюг ламініну містить кілька глобулярних і стержневидних доменів, на яких є специфічні центри зв'язування для різних речовин. Ламінін взаємодіє з усіма структурними компонентами базальних мембран, включаючи колаген IV типу, нідогени, фібронектин. Крім того, молекула ламініну має кілька центрів зв'язування з клітинами. Головні функції ламініну визначаються його здатністю пов'язувати клітини і модулювати клітинну поведінку. Він може впливати на зростання, морфологію, диференціювання і рухливість клітин. Ламінін виконує роль адгезивного білка для різних епітеліальних і мезенхімальних клітин.

Коротка характеристика деяких поширених видів патології сполучної тканини та методи їх діагностики

Дисплазія сполучної тканини – це генетично детерміноване порушення її розвитку, котре призводить до зміни структури та функцій сполучної тканини, що реалізується в клінічному різноманітті фенотипічних ознак та органних проявів.

Група спадкових захворювань сполучної тканини та скелету була вперше виділена американським генетиком Mc.Kusick в 1955 році. На той час вона об'єднувала лише деякі нозологічні форми: *недосконалий остеогенез, синдром Елерса-Данло, синдром Марфана, еластичну псевдоксантому та гарголізм*. В подальшому, завдяки досягненням генетики, були описані й класифіковані понад 200 захворювань сполучної тканини та скелету спадкового характеру. Насьогодні всі відомі різновиди дисплазії відносять до *диференційованої* або *недиференційованої дисплазії*. Диференційовані дисплазії характеризуються встановленим генним або біохімічним дефектом з певним типом успадкування та клінічною картиною захворювання (недосконалий остеогенез, синдром Елерса-Данлоса, синдром Марфана, еластична псевдоксантома та ін.) Недиференційовані дисплазії сполучної тканини діагностуються у випадках, коли набір фенотипічних ознак не відповідає жодному з диференційованих синдромів.

Недосконалий остеогенез – є одним з найбільш поширених захворювань цієї групи з аутосомно-домінантним типом спадкоємства, яке зустрічається з частотою 1:10000-25000 новонароджених. Виділяють чотири клінічні варіанти, які виникають в результаті різних мутацій в генах, кодуєних утворення двох поліпептидних ланцюгів проколагенів $\alpha_1(I)$ та α_2 , що входять до складу колагену I типу. Найбільш важкі клінічні прояви обумовлюють мутації зі зрушенням рамки зчитування, що захоплюють 48-й екзон гена. В цьому випадку утворюється нестабільна м-РНК, яка не забезпечує нормальне проходження процесів трансляції.

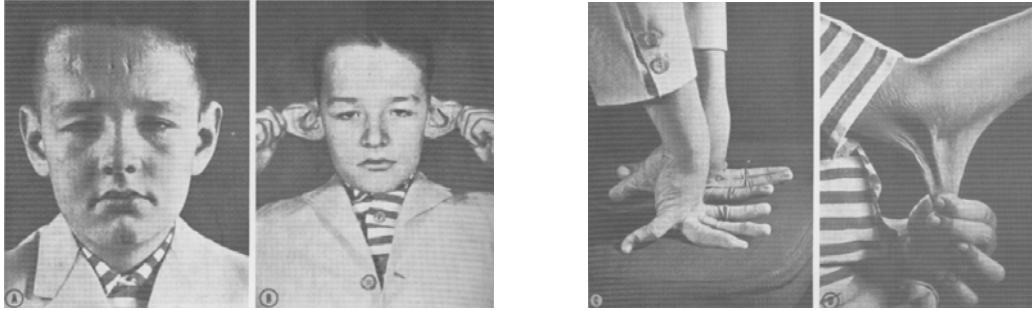
Тип I, причиною розвитку якого є *половинна* по відношенню до норми *експресія* гену проколагену $\alpha_1(I)$, характеризується тріадою клінічних ознак – блакитними склерами, чисельними переломами кісток (головним чином, в дитячому та похилому віці), що виникають при мінімальній травматизації, і глухотою (приблизно у половини хворих). Переломи, як правило, швидко зростаються і не призводять до виникнення деформації кісток. Зріст хворих не змінений. Тривалість життя і фертильність хворих не понижена. Патологія кісткової тканини (остеопенія) виявляється тільки при проведенні денситометрії. Залежно від наявності або відсутності недосконалого дентиногенезу в рамках цього типу виділяють два підтипи – 1a (з аномаліями дентину) та 1b (зуби не уражені).

Подібна клінічна картина (за виключенням блакитних склер) характерна для типу IV.

Тип II супроводжується значними системними порушеннями і є летальним в пре- та ранньому перинатальному періодах. Його причиною якраз і являються мутації, які стосуються 48 екзона.

Тип III характеризується малим ростом (90-100 см для дорослих), грубими деформаціями скелету, мікрогнатією, порушенням дентиногенезу, блакитними склерами.

Генетичні дефекти **синдрому Елерса-Данлоса** (недосконалий десмогенез) різні, але кінцевий результат кожного з біохімічних механізмів формування патології єдиний – зменшення стабільності колагенових волокон різної локалізації.



Клінічні прояви синдрому Елерса-Данлоса (<http://dic.academic.ru/dic.nsf/enc/medicine>)

За переважаючими клінічними симптомами виділяють декілька типів даного захворювання (класичні – I та II, гіпермобільний – III, судиний – IV, кіфосколійозний – V, артроклазійний – VI та ін.).

При цьому синдромі виявлені різноманітні мутації в декількох генах, відповідальних за формування первинної структури ланцюгів багатьох різновидів колагену, зокрема: α_1 III типу; α_1 та α_2 V типу; α_1 та α_2 I типу. Мутації включають заміщення гліцину (значно рідше – проліну або аланіну), делеції, інсерції, дупікації, дефекти сплайсингу РНК і нульові алелі. Так, у пацієнтів, страждаючих синдромом Елерса-Данлоса IV типу – найбільш важкою формою серед усіх клінічних варіантів, яка поєднує порушення структури колагену шкіри і суглобів зі значними патологічними змінами багатьох внутрішніх органів, через що може викликати раптову смерть від розриву крупних артерій, виявлено близько 50 різних мутацій гена колагену α_1 III типу.

Сполучнотканинна дисплазія, зачіпаючи певною мірою всі органи й системи, проявляється широким комплексом фенотипічних ознак. Найбільш характерним для неї є генералізована гіпермобільність суглобів, яка може бути провідною ознакою як недиференційованої дисплазії, так і частиною диференційованих синдромів. Крім цього, існують позасуглобові ознаки, що включають пролапс мітрального клапана, браходактілію, деформацію грудної клітки, сколіоз, сандалевидну щілину стопи, Hallux valgus, ламкість кісток, туговухість, зміну структури шкіри та ін.

Важливу роль в **діагностиці** варіантів дисплазії сполучної тканини відіграє комплексна оцінка **фенотипічних маркерів**. Так генералізована гіпермобільність суглобів при супутній надмірній розтягливості шкіри (діагностується при товщині шкірної складки над ключицями >2 см), підвищеній її вразливості, атрофованих рубцях, найімовірніше свідчить про наявність класичного варіанту синдрому Елерса-Данло (I або II підтипу).

Великі синці на шкірі, сімейний анамнез судинних або кишкових розривів і раптової смерті є ознаками IV (судинного) підтипу даного синдрому, а наявність вродженого вивиху суглобів свідчить на користь артрохалазичного типу (VII підтип). Якщо помірна гіпермобільність суглобів поєднується з характерним зовнішнім виглядом, підвивихом кришталика та дилатацією аорти або аневризмою, необхідно думати про синдром Марфана. Та ж клінічна комбінація без очних та кардіальних проявів свідчить на користь гіпермобільного (III) підтипу синдрому Елерса-Данло. Підвищена ламкість кісток (переломи виникають при невеликих навантаженнях або спонтанно), сині склери, низький зріст, руйнування дентину зубів, прогресуюча приглухуватість в дитячому та юнацькому віці, контрактури, м'язова гіпотонія та підвищена частота пупкових і пахових гриж, вроджених вад серця та нефролітіазу – характерний комплекс патологічних змін при недосконалому остеогенезі. Інші характерні ознаки в поєднанні з генералізованою гіпермобільністю суглобів можуть вказувати на наявність псевдоахондроплазії, синдрому Ларсена, м'язової дистрофії Ульріха та ін

Разом з клінічною оцінкою дисплазії сполучної тканини важливу роль у діагностиці захворювання відіграють **біохімічні методи дослідження**. Вони дозволяють оцінити стан обміну сполучної тканини, уточнити діагноз, спрогнозувати перебіг захворювання. Найбільш інформативним є визначення в периферичній крові вмісту *лізину, проліну й оксипроліну*, а також глікозаміногліканів за рівнем продуктів їх метаболізму (*уронових кислот, гексоз, N-ацетилнейрамінової кислоти*). Генетичні дефекти синтезу колагену призводять до зменшення його поперечних зв'язків та зростання кількості легкорозчинних фракцій. Саме тому у хворих з вродженою дисплазією сполучної тканини спостерігається достовірне підвищення оксипроліну та продуктів катаболізму глікозаміногліканів в сечі, ступінь якого корелює з важкістю патологічного процесу.

Для спадкових захворювань сполучної тканини характерна зміна співвідношення колагенів різних типів і порушення структури колагенового волокна. Типування колагену проводиться методом **непрямої імунофлюоресценції** за допомогою поліклональних антитіл до фібронектину та колагену. Сучасною і перспективною є **молекулярно-генетична діагностика** (ДНК-діагностика) дисплазії, що припускає застосування молекулярних методів виявлення генних мутацій. Так, наприклад, при підозрі на синдром Марфана може бути виконаний молекулярний аналіз гена *fibrillin1 (FBN1)* на геномній ДНК, витягнутої з лейкоцитів крові. У випадках діагностики синдрому Елерса-Данло чи недосконалого остеогенезу проводиться **біопсія шкіри** з наступним біохімічним аналізом колагену типів I, III і V. Залежно від клінічної та біохімічної оцінки подальший молекулярний аналіз проводиться на ДНК, витягнутої з культивованих фібробластів.

Крім того, істотну роль в деградації сполучної тканини відіграють аутоімунні реакції, тому що продукти обміну її основної речовини володіють антигенними властивостями й здатні стимулювати імунні реакції в тканинах.

Проявами цього є **зрушення клітинного імунітету** (зниження вмісту Т-лімфоцитів периферичної крові на тлі підвищення кількості В-лімфоцитів) і **патологічні зміни показників гуморального імунітету** (підвищення в крові концентрації циркулюючих імунних комплексів, імуноглобулінів М, А, G та ін.)

Особлива роль у регуляції метаболізму сполучної тканини належить **магнію**. В умовах його нестачі відбувається посилення деградації колагенових і, можливо, еластинових волокон, а також полісахаридних ниток гіалуронану. Це обумовлено інактивацією гіалуронансинтез та еластаз, а також підвищенням активності гіалуронідази та матричних металопротейназ. На клітинному рівні дефіцит магнію призводить також до збільшення числа дисфункціональних молекул т-РНК, сповільнюючи, тим самим, швидкість білкового синтезу. Застосування препаратів магнію уповільнює процеси дегенерації сполучної тканини за рахунок посилення біосинтетичної активності фібробластів, відповідальних за нормалізацію волокнистих структур сполучнотканинного матриксу.

З'ясування порушень метаболізму сполучної тканини, їх взаємозв'язку з аутоімунними процесами в організмі важливе для розуміння механізму розвитку захворювань, а також для вдосконалення методів лікування. З урахуванням патогенетичної основи порушень сполучної тканини та системного характеру проявів основним напрямом терапії є корекція метаболізму колагену, що дозволяє запобігати можливим ускладненням при дисплазії сполучної тканини. До засобів, що стимулюють колагеноутворення, відносять, зокрема, **аскорбінову кислоту**, препарати мукополісахаридної природи (**хондроїтинсульфат, глюкозамінсульфат**), **вітаміни групи В** (В₁, В₂, В₃, В₆) та **мікроелементи** (мідь, цинк, магній). Останні є кофакторами внутрішньо- та позаклітинного дозрівання молекули колагену й інших структурних елементів сполучної тканини.

Пошкодженням **основної речовини сполучної тканини**, розвитком васкулітів і фібріноідного некрозу морфологічно характеризується також велика група так званих **дифузних захворювань сполучної тканини** (застарілий синонім: колагенози, колагенові хвороби) – досить різноманітних захворювань з низкою спільних клінічних і патоморфологічних ознак (лихоманка, поліартрит, міозит або міалгії, рідше рецидивуючі серозити, різноманітні ураження внутрішніх органів, генералізований васкуліт, лімфаденопатія, ураження ЦНС). До них відносяться: системний червоний вовчак, системна склеродермія, дерматоміозит (поліміозит), синдром Шегрена, ревматоїдний артрит, ревматизм, дифузний еозинофільний фасцит, ревматична поліміалгія, змішані захворювання сполучної тканини і ін. Морфологічно всі ці хвороби.

Виразність основних клінічних та морфологічних проявів колагенозів при різних колагенових захворюваннях може широко варіювати. Клінічно для всіх них характерна системність ураження із залученням в типових випадках у процес ряду органів і систем (шкіра, м'язи і суглоби, серце, нирки, легені і т.д.), появою низки загальних симптомів у вигляді псіінфекційної лихоманки,

втрати у вазі, а також зміною ряду *лабораторних показників* (збільшення ШОЕ, зміна числа лейкоцитів, білкових фракцій сироватки, перш за все рівня α_2 -глобулінів, С-реактивного білку, серомукоїду та ін.). Існують загальні групові і характерні для кожної хвороби *імунологічні маркери*. До групових відносяться гіпергаммаглобулінемія, поліклонова імуноглобулінемія, наявність антинуклеарних та ревматоїдних факторів, гіпокомplementемія, циркулюючі імунні комплекси, а до характерних – високий рівень антитіл до нативної ДНК при вовчаку, до рибонуклеопроїну при змішаних захворюваннях сполучної тканини, до цитоплазматичних антигенів при хворобі Шегрена.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Укажіть основний білок сполучної тканини:
 - A. Актин
 - B. Колаген
 - C. Міозин
 - D. Альбумін
 - E. Глобулін

2. Укажіть амінокислотні залишки колагену, які перетворюються в ході посттрансляційного процесингу:
 - A. Серин, метіонін
 - B. Пролін, аїзин
 - C. Триптофан, валін
 - D. Гліцин, аланін
 - E. Глутамат, аспартат

3. Головними продуцентами колагену є:
 - A. Ретикулоцити
 - B. Остеокласти
 - C. Макрофаги
 - D. Фібробласти
 - E. Адипоцити

4. Укажіть вітамін – кофактор пролілгідроксилази, що бере участь в утворенні колагену:
 - A. E
 - B. B₁
 - C. A
 - D. C
 - E. B₅

5. Укажіть, завдяки якому структурному компоненту еластин може розтягуватися в 2-х напрямках:
 - A. Десмозину
 - B. Проліну
 - C. Лізину
 - D. Метіоніну
 - E. Колагену

6. Мутації гену якого колагену є причиною синдрому Елерса-Данлоса IV типу – найбільш важкої форми серед усіх його клінічних варіантів, яка поєднує порушення структури колагену шкіри і суглобів зі значними патологічними змінами багатьох внутрішніх органів, через що може викликати раптову смерть від розриву крупних артерій:

- A. колагену α_1 III типу
- B. колагену α_2 III типу
- C. колагену α_3 III типу
- D. колагену α_1 II типу
- E. колагену α_1 I типу

7. Провідну роль в синтезі олігосахаридних компонент багатьох білково-вуглеводних комплексів займає поліізопренова сполука доліхол. Утворення олігосахаридної частини яких (за типом зв'язку) комплексів забезпечує доліхол?

- A. N-зв'язаних комплексів
- B. O-зв'язаних комплексів
- C. P-зв'язаних комплексів
- D. S-зв'язаних комплексів
- E. всіх зазначених

8. Укажіть кількість поліпептидних ланцюгів, що одночасно зв'язуються з однією молекулою десмозину:

- A. 12
- B. 6
- C. 2
- D. 4
- E. 8

9. Укажіть складові компоненти протеогліканів:

- A. Фосфоліпіди
- B. Глікозаміноглікани
- C. Цереброзиди
- D. Глікоген
- E. Ліпіди

10. Укажіть важливий структурний компонент глікозаміногліканів:

- A. Глікоген
- B. УДФ-глюкуронова кислота
- C. D-глюкуронова кислота
- D. D-глюкозо-6-сульфат
- E. Аскорбінова кислота

11. Укажіть компоненти глікозаміногліканів, які додають їм негативний заряд:

- A. Глюкозамін.
- B. Галактозамін
- C. Уронові кислоти
- D. Аспарагінова кислота

Е. Молочна кислота

12. Укажіть локалізацію процесу синтезу гепарину:

- А. Хондроцити
- В. Фібробласти
- С. Тучні клітини печінки
- Д. Макрофаги
- Е. Ретикулоцити

13. До колагенозів відносять:

- А. Ревматизм
- В. Цукровий діабет
- С. Інфаркт міокарду
- Д. Атеросклероз
- Е. Гепатит

14. Сполучні тканини відрізняються від усіх інших тканин:

- А. порівняно значним вмістом клітин та меншою потребою в аеробних окислювальних процесах
- В. порівняно незначним вмістом клітин та меншою потребою в анаеробних окислювальних процесах
- С. порівняно незначним вмістом клітин та більшою потребою в аеробних окислювальних процесах
- Д. порівняно незначним вмістом клітин та меншою потребою в аеробних окислювальних процесах
- Е. порівняно значним вмістом клітин та більшою потребою в аеробних окислювальних процесах

15. Білково-вуглеводні комплекси класифікуються за кількістю (долею) вуглеводів в комплексі. Вкажіть варіант, де вони розташовані в порядку зростання кількості вуглеводів в комплексі:

- А. мукопротеїни, глікопротеїни, протеоглікани
- В. глікопротеїни, мукопротеїни, протеоглікани
- С. протеоглікани, мукопротеїни, глікопротеїни
- Д. глікопротеїни, протеоглікани, мукопротеїни
- Е. протеоглікани, глікопротеїни, муко протеїни

16. Дайте правильне визначення глікозаміногліканам:

- А. гомополісахариди, що складаються з великої кількості сполучених $\beta(1-4)$ глікозидними зв'язками дисахаридів
- В. гетерополісахариди, що складаються з великої кількості сполучених $\alpha(1-4)$ глікозидними зв'язками дисахаридів
- С. гомополісахариди, що складаються з великої кількості сполучених $\alpha(1-3)$ глікозидними зв'язками дисахаридів

- D. гетерополісахариди, що складаються з великої кількості сполучених $\beta(1-3)$ глікозидними зв'язками дисахаридів
- E. гетерополісахариди, що складаються з великої кількості сполучених $\beta(1-4)$ глікозидними зв'язками дисахаридів

17. Вкажіть процес, який не відноситься до внутрішньоклітинної стадії процесингу колагену:

- A. Видалення сигнального пептиду
- B. Гідроксилування проліну та лізину
- C. Утворення S-S зв'язків між ланцюгами
- D. Окислювальне дезамінування ϵ -аміногруп (гідроксі)лізину
- E. Глікозилування гідроксілізину

18. Вкажіть найбільш характерні та специфічні амінокислоти для колагену:

- A. гліцин, пролін, аргінін
- B. гліцин, пролін, аланін
- C. гліцин, пролін, аспарагін
- D. гліцин, гідроксіпролін, аргінін
- E. гліцин, гідроксіпролін, триптофан

19. Виділяють три типи зв'язку між глікозаміногліканами та "коровими" білками в протеогліканах. N-глікозиламінний зв'язок утворюється між N-ацетил-глюкоз(галактоз)-аміном та:

- A. аспарагіном
- B. аспартатом
- C. аргініном
- D. лізіном
- E. серином

20. Мукополісахаридози зумовлені головним чином дефектом специфічного ферменту, котрий забезпечує катаболізм (розпад) певного виду глікозаміноглікану. Вкажіть виняток – синдром, який зумовлений дефектом α -глюкозамін-ацетил-трансферази – ферменту, котрий забезпечує синтез гепаран-сульфату:

- A. Хантера
- B. Гурлера
- C. Марото-Ламі
- D. Санфіліппо В
- E. Санфіліппо С

ВОДНО-ЕЛЕКТРОЛІТНИЙ ОБМІН В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ

Кількість і розподіл води в організмі

Вміст води в організмі дорослої людини становить приблизно 60% від маси тіла, у тому числі води у мозку – 75%, у м'язах – 75%, у крові – 92%. Кількість води також залежить від віку. У новонароджених вміст води найбільший (80 % маси тіла) і з віком він зменшується (у дорослої людини – 60 %). Тканини значно відрізняються одна від одної за вмістом води (табл.1).

Таблиця 1. Розподіл води по органах і тканинах

Тканина	Вміст води (%)
М'язи	50,8
Скелет	12,5
Шкіра	6,6
Кров	4,7
Шлунок, кишечник	3,2
Печінка	2,8
Мозок	2,7
Легені	2,4
Жирова тканина	2,3
Нирки	0,6
Селезінка	0,4
Інші тканини	11,0
	100,0

Вода організму ділиться на внутрішньоклітинну (у дорослих людей 2 / 3 води тіла або 66% всієї води) і позаклітинну рідину (1 / 3 або 33% всієї води). Позаклітинна рідина до якої належить лімфа, плазма крові, а також інтерстиціальна рідина, утворює в усіх частинах тіла єдину фазу. Більша частина внутрішньоклітинної рідини приходить на м'язову тканину (оскільки вона складає переважну частину маси тіла).

Обидві рідини тіла насамперед відрізняються за складом електролітів. В позаклітинній рідині переважають катіони натрію, а з аніонів - хлорид і бікарбонат; внутрішньоклітинна рідина містить головним чином калій, а з аніонів - білок і фосфорні ефіри. Рідини знаходяться в постійному русі: рідина, що обмива клітини, доставляє організму поживні речовини і кисень, видаляє продукти метаболізму та вуглекислий газ.

Вся вода в організмі оновлюється приблизно впродовж місяця, а внутрішньоклітинна – за тиждень. Клітинні мембрани вільно проникні для води, але не проникні для багатьох розчинених речовин, тому рух рідини між внутрішньоклітинним і позаклітинним просторами виникає за осмотичним градієнтом, який створюють осмотично активні речовини.

Добова потреба у воді складає приблизно 21-43мл на кг маси тіла (приблизно 2400мл).

Шляхи надходження води: з їжею – 900мл; під час пиття – 1200мл; ендогенна вода, яка утворюється під час обміну речовин – 300мл.

Втрата води відбувається кількома шляхами:

- через нирки, які є головним органом регулювання водно-електролітного обміну, з сечею (приблизно 1,5 л на добу). Відповідно до цього кількість і склад сечі виявляють надзвичайно велику варіабельність. В умовах нестачі води (гідропенії) виділяється мало сечі і вона є сильно концентрованою. Навпаки: при надлишку води в організмі нирки здатні виділяти багато сильно розведеної сечі. Порушення здатності змінювати концентрацію сечі відзначаються при важких ниркових захворюваннях, а також при випадінні функції задньої частки гіпофіза;

- через легені у формі водяної пари при нормальних умовах виділяється води близько 500 мл на добу (при гіпервентиляції і лихоманці може збільшитися в 10 разів).

-через шкіру здійснюється двома різними процесами: шляхом випаровування (становить на день від 200 до 300 мл, постійний процес, що відбувається на поверхні шкіри і залежить від температурної відмінності між поверхнею тіла і зовнішнім середовищем) та шляхом виділення поту. Останній процес є активною секреторною діяльністю специфічних залоз і представляє собою функцію теплового обміну. При цьому мова йде лише про періодичне виділення поту, яке викликається перш за все шляхом підвищення зовнішньої температури за допомогою умовного рефлексу. Кількість поту в залежності від функціонального стану організму коливається і може за короткий час досягати максимального рівня до 4 л на годину.

-через шлунково-кишковий тракт. Кількість травних соків, що виділяються щоденно становить приблизно 8 л (табл.2). Велика частина

травних соків всмоктується назад, тому в нормальних умовах втрачається приблизно 2% їх обсягу з калом. При порушенні зворотного всмоктування соків організм втрачає велику кількість води і електролітів.

-з калом (приблизно 100 мл).

Таблиця 2. Приблизна кількість травних соків, що виділяються у дорослого за добу

Секрет	Кількість (мл)
Слина	1500
Шлунковий сік	2500
Жовч	500
Підшлункової сік	700
Кишковий сік	3 000
	8 200

Регуляцію водно-електролітного обміну забезпечують центральна нервова та ендокринна системи, нирки. Дія гормонів спрямована або на зміну реабсорбції, або на збільшення виділення води. Так, вазопресин (АДГ), альдостерон та дезоксикортикостерон знижують виділення води, а тироксин, паратгормон, андрогени та естрогени стимулюють виділення води нирками.

Порушення водного балансу

Розрізняють дві основні форми порушення водного балансу:

- **гіпергідратація** - збільшення загального вмісту води в організмі. Спостерігається при голодуванні, пухлинах, алергійних та запальних процесах (супроводжується набряками).

- **гіпо- та дегідратація** - зменшення загального вмісту води в організмі. Спостерігається при недостатності наднирників, поліурії, блювоті, діареї, посиленому потовиділенні.

Крім того розрізняють поняття:

Гіперволемія - збільшення обсягу позаклітинної рідини (інтерстиціальної та внутрішньосудинної), що як правило, супроводжується розвитком набряків, тобто надмірним накопиченням рідини в інтерстиціальному просторі.

Причинами, що призводять до розвитку гіперволемії є:

- патологічні стани, що супроводжуються затримкою натрію - серцева

недостатність, захворювання нирок, цироз печінки, надлишок мінералокортикоїдів, застосування ліків (кортикостероїди, нестероїдні протизапальні препарати);

- гіпопротеїнемія – при хворобах печінки, нефротичному синдромі.

Гіповолемія - зменшення обсягу позаклітинної рідини (менше 14 л у чоловіків з масою тіла 70 кг) При гіповолемії, викликаній втратою позаклітинної рідини, тяжкість розладів залежить від співвідношення в ній води і солей (головним чином натрію).

Причинами, що призводять до розвитку гіповолемії є втрата солей і води:

- нирками (застосування діуретиків, осмотичний діурез, недостатність надниркових залоз);

- шлунково-кишковим трактом (блювота, пронос);

- шкірою (опіки, профузний піт);

- при перерозподілі рідини в «третьій» простір (перитоніт, непрохідність кишечника).

- при порушенні продукції або вивільнення АДГ (нецукровий діабет), чи відповіді нирок на АДГ (нирковий діабет). Поліурія в цих випадках досягає 3-5 л на добу.

Оскільки внутрішні та позаклітинні біологічні рідини організму людини представляють собою розчини, які містять різні за кількістю електроліти, порушення балансу катіонів та аніонів викликають значні зміни у функціонуванні життєво важливих органів. Зниження або збільшення вмісту електролітів в організмі приводить до розвитку важких патологічних станів.

Натрій

Референтні величини концентрації натрію в плазмі крові - 135 - 155 ммоль / л, в еритроцитах – 9-28 ммоль / л.

В організмі здорової людини з масою тіла 70 кг міститься 3500 ммоль або 150 г натрію, 20% цієї кількості сконцентровано в кістках і безпосередньої участі в метаболізмі не приймає. Натрій - основний катіон позаклітинної рідини, де його концентрація в 6-10 разів вище ніж всередині клітини. Фізіологічне значення натрію полягає в підтримці осмотичного тиску та рН у внутрішньо- і міжклітинних просторах. Він впливає на процеси нервової діяльності, на стан м'язової та серцево-судинної системи, здатність тканинних колоїдів до «набухання».

Натрій екскретується нирками (із сечею), шлунково-кишковим трактом (з калом) і шкірою (з потом). Виділення натрію нирками коливається в широкому діапазоні: 1-150 ммоль / добу. З калом втрачається 1-10 ммоль / добу. Концентрація натрію в поті складає 15-70 ммоль / л.

Нирковий механізм регуляції натрію є найважливішим фактором у підтримці його нормальної концентрації в плазмі крові.

Гіпонатріємія - зниження концентрації натрію в плазмі крові нижче 135 ммоль / л.

Розвитку гіпонатріємії сприяють:

- прийом діуретиків, осмотичний діурез (хвороби при яких накопичуються осмотично активні сполуки в крові - глюкоза, сечовина), захворювання нирок (гострий і хронічний пієлонефрит, обтурація сечовивідних шляхів, полікістоз нирок);

- втрата натрію, що пов'язана з хворобами шлунково-кишкового тракту (блювання, фістула тонкої кишки, хронічна діарея та ін.)

- втрати натрію через шкіру при рясному пітнінні, наприклад, при роботі в жарких приміщеннях та кліматі, при сповільненні інтенсивного загоєння опіків. У таких умовах концентрація натрію в сечі становить менше 20 ммоль/л;

- застосування антибіотиків групи аміноглікозидів (гентаміцину);

- недостатність кори надниркових залоз (хвороба Аддісона);

- цукровий діабет при якому підвищується осмолярність плазми крові (внаслідок збільшення концентрації глюкози), що призводить до переходу води з клітинної рідини в міжклітинну (кров) і, відповідно, до гіпонатріємії.

Хибна або псевдогіпонатріємія можлива в тому випадку, коли концентрація натрію в плазмі не зменшена, але при проведенні дослідження була допущена помилка. Це може статися при високій гіперліпідемії, гіперпротеїнемії (загальний білок вище 100 г / л) і гіперглікемії. У таких ситуаціях підвищується неводна (не містить натрію) фракція плазми (у нормі 5-7% її обсягу). Тому для правильного визначення концентрації натрію в плазмі краще застосовувати іоноселективні аналізатори, що більш точно відображають реальну концентрацію натрію. Осмолярність плазми при псевдогіпонатріємії в межах нормальних величин. Така гіпонатріємія корекції не потребує.

У більшості пацієнтів з вмістом натрію в сироватці крові нижче 135 ммоль / л клінічні симптоми відсутні. Коли концентрація натрію знаходиться в діапазоні 125-130 ммоль / л переважаючі симптоми включають апатію, втрату апетиту, нудоту, блювання. Симптоми з боку нервової системи превалюють, коли вміст натрію стає нижче 125 ммоль / л, в основному вони виникають через набряк мозку. Включають: головний біль, сонливість, оборотну атаксію, психози, судоми, порушення рефлексів, кому. Спрага у таких хворих, як правило, не спостерігається. При концентрації натрію в сироватці крові 115

ммоль / л і нижче, у пацієнта з'являються ознаки сплутаності свідомості, він скаржиться на втому, головний біль, нудоту, блювання, анорексію. При концентрації 110 ммоль / л порушення свідомості посилюються і пацієнт впадає в кому. Якщо цей стан своєчасно не купірують, то настає гіповолемічний шок і смерть.

Гіпернатріємія - збільшення концентрації натрію в сироватці понад 150-200 ммоль / л. Завжди пов'язана з гіперосмолярністю

Гіпернатріємію можуть спричинити:

- дегідратація при водному виснаженні (підвищені втрати води через дихальні шляхи під час віддишки, при лихоманці, проведення штучної вентиляції легень в умовах неправильного зволоження дихальної суміші, використанні не зволоженого кисню, лікуванні опіків, тривалому потовиділенні без відповідної водної компенсації);

- втрата води шлунково-кишковим трактом (діарея, блювання), шкірою (опіки);

- введення препаратів натрію з лікувальною ціллю (годування через зонд концентрованими сумішами без відповідного введення води при тривалому несвідомому стані, після операцій на головному мозку та в зв'язку з обструкцією стравоходу);

- нецукровий діабет (зниження чутливості рецепторів нирок до АДГ);

- ниркові захворювання, що протікають з олігурією;

- гіперальдостеронізм (надлишкова секреція альдостерону аденомою або пухлиною наднирників).

Клінічні прояви гіпернатріємії - спрага, тремтіння, дратівливість, атаксія, м'язові посмикування, сплутаність свідомості, судомні напади і кома. Симптоми яскраво виражені при різкому підвищенні концентрації натрію в сироватці крові.

Натрій належить до порогових речовин, і збільшення його концентрації в крові призводить до підвищення його екскреції. Для судження про баланс натрію в організмі необхідно одночасно визначати його вміст в крові та сечі. У табл.3 наведені стани та захворювання, при яких виявляють зниження або підвищення виділення натрію з сечею.

Таблиця 3. Захворювання і стани, при яких змінюється виділення натрію з сечею

Збільшення виділення натрію	Зниження виділення натрію
Підвищене споживання натрію	Недостатнє споживання натрію
Постменструальний діурез	Передменструальна затримка натрію і води
Нефрит з втратою солей, наднирникова недостатність	Гіперкортицизм
Нирковий каналцевий ацидоз (синдром Лайтвуда)	Нениркова втрата натрію при адекватному вживанні води
Лікування діуретиками	Протягом перших 24-48 годин після операції (синдром стресового діурезу)
Цукровий діабет	Застійна серцева недостатність
Синдром неадекватної секреції АДГ, алкалоз	Гостра олігурія і азотемія, на противагу гострому каналцевому некрозу з олігурією
Стани, що супроводжуються виділенням лужної сечі	

Калій

Референтні величини концентрації калію в сироватці крові - 3,5-6,1 ммоль/л .

В організмі здорової людини з масою тіла 70 кг міститься 3150 ммоль калію. Усього 50-60 ммоль калію знаходиться у міжклітинному просторі, решта його кількості розподілена у клітинному просторі. Добове споживання калію становить 60-100 ммоль. Майже така ж кількість виділяється з сечею і дуже мало (2%) виводиться з каловими масами. У нормі нирка виділяє калій зі швидкістю до 6 ммоль / (кг-день). Концентрація калію в сироватці крові є показником його загального вмісту в організмі, однак на його розподіл між клітинами і позаклітинної рідиною можуть впливати різні фактори (порушення кислотно-основного стану, підвищення позаклітинної осмолярності, дефіцит інсуліну). Так, при зсуві рН на 0,1, слід очікувати зміни концентрації калію на 0,1-0,7 ммоль / л у протилежному напрямку.

Калій відіграє найважливішу роль у процесах скорочення м'язів, діяльності серця, проведенні нервових імпульсів, ферментних процесах та обміну речовин.

При оцінці стану електролітного балансу мають значення лише дуже низькі і високі показники концентрації калію, що виходять за рамки норми.

Гіпокаліємія – зниження концентрації калію в сироватці крові нижче 3,5 ммоль/л.

Причинами гіпокаліємії можуть бути наступні ситуації:

- збільшена втрата калію з потом та з рідинами шлунково-кишкового тракту (блювання, діарея, дренаж шлунку);

- тривале лікування осмотичними діуретиками або салуретиками (манітол, фуросемід), а також діабетична глюкозурія;

- стресові стани, що супроводжуються підвищеною активністю наднирникових залоз, хвороба Кушинга;

- зменшення споживання калію в післяопераційний та посттравматичний періоди в поєднанні з затримкою натрію в організмі (ятрогенна гіпокаліємія), а також у пацієнтів зі зниженим харчуванням (при алкоголізмі, анорексії);

- тривалий ацидоз або алкалоз, в результаті яких порушується функція нирок і виникає калійурія;

- передуючий дефіцит калію, викликаний важким хронічним захворюванням і посилений післяопераційним періодом;

- хронічна ниркова недостатність;

- посилений перехід калію з міжклітинної рідини всередину клітини при введенні інсуліну (або наявності інсуліноми), тиреотоксикозі, алкалозі;

- тривале внутрішньовенне введення розчинів що не містять калій.

Симптоми недостатності калію: нудота, блювання, м'язова слабкість (у тому числі дихальної мускулатури - поверхневе дихання), атонія кишечника і сечового міхура, серцева слабкість. При концентрації калію в сироватці крові нижче 3 ммоль / л на ЕКГ відзначають зміни, що свідчать про порушення та ослаблення збудливості і провідності в серцевому м'язі.

При гіпокаліємії назначають препарати що містять калій – аспаркам, панангін, оротат калію тощо.

Гіперкаліємія - збільшення концентрації калію в сироватці вище 6,1 ммоль / л . Підвищення концентрації калію у плазмі понад 6,5 ммоль / л – загрозливе, у межах 7,5-10,5 ммоль / л - токсичне, а понад 10,5 ммоль / л – смертельне.

До гіперкаліємії можуть привести:

- зниження екскреції калію нирками при гострій та хронічній нирковій недостатності, а також оклюзія ниркових судин;

- гостра дегідратація;

- обширні травми, опіки або операції, особливо на тлі попередніх важких захворювань;

- важкий метаболічний ацидоз та шок;

- хронічна недостатність наднирникових залоз (гіпоальдостеронізм);
- швидка інфузія концентрованого розчину калію;
- олігурія або анурія будь-якого походження;
- діабетична кома до початку інсулінотерапії;
- призначення калійзберігаючих діуретиків, наприклад трімтерену, спіронолактону.

Псевдогіперкаліємія може бути обумовлена гемолізом при взятті крові на аналіз (накладення джгута понад 2 хв). Якщо кров беруть в скляну пробірку, то такі зміни можуть бути виявлені в 20% зразків крові.

Гіперкаліємія клінічно проявляється парестезіями, серцевими аритміями. Загрозливі симптоми інтоксикації калію включають колапс, брадикардію, затьмарення свідомості. Зміни на ЕКГ виникають при концентрації калію вище 7 ммоль / л, а при збільшенні концентрації його до 10 ммоль / л настає внутрішньощлункова блокада з мерехтінням шлуночків, при концентрації 13 ммоль / л серце зупиняється в діастолі.

Кальцій.

Референтні величини концентрації загального кальцію в сироватці крові 2,15- 2,6 ммоль / л або 8,6-10 мг%; іонізованого кальцію - 1,05-1,27 ммоль / л.

Вміст кальцію в організмі складає приблизно 2% від ваги тіла дорослої людини, тобто 1-1,5 кг. У малят та дітей старшого віку відносний вміст кальцію в організмі є меншим. Приблизно 99% кальцію знаходиться в кістках, дентині та емалі зубів, решта, головним чином, в міжклітинній рідині (майже тільки в сироватці крові). Приблизно половина кальцію сироватки здатна до дифузії та циркулює в іонізованій (вільній) формі у вигляді іону Ca^{2+} ; інша половина складається з неіонізованого, але здатного до дифузії та діалізу кальцію (у вигляді солей - фосфатів, цитратів - 9%) і білок-зв'язаного кальцію (переважає в комплексі з альбумінами - 40%), що не здатний до діалізу. Слід відмітити, що тільки іонізована форма являється біологічно активною.

Біологічне значення кальцію полягає в його участі у побудові скелета і системі гемостазу, у нервово-м'язовій діяльності. Метаболізм кальцію регулюють паратиреоїдний гормон (ПТГ), кальцитонін і вітамін D. ПТГ підвищує концентрацію кальцію в сироватці крові, посилюючи його вимивання з кісток та реабсорбцію в нирках. Кальцитонін - фізіологічний антагоніст ПТГ, він стимулює виділення кальцію нирками. Метаболіти вітаміна D стимулюють всмоктування кальцію і фосфатів у кишечнику.

Гіпокальціємія. Найбільш поширена причина зниження загального кальцію в сироватці крові - гіпоальбумінемія. Якщо зміст іонізованого кальцію при цьому знаходиться в межах норми, то обмін кальцію в організмі непорушений.

Зниження сироваткової концентрації іонізованного кальцію спостерігається при:

- нирковій недостатності (нефрози,гломерулонефрити);
- гіпопаратиреозі;
- механічній жовтяниці;
- гострому панкреатиті;
- некрозі скелетних м'язів;
- розпаду пухлини;
- гіпо- та авітамінозі D.

Клінічними проявами гіпокальціємії є підвищена збудливість нервів і м'язів, що призводить до тетанії, включаючи тонічні судоми м'язів кистей і стоп. Важка гіпокальціємія викликає сонливість, сплутаність свідомості, рідко - спазм гортані, судоми і зворотню серцеву недостатність.

Гіперкальціємія - майже завжди результат підвищеного надходження кальцію в кров є результатом резорбції його з кісткової тканини або з їжі, в умовах зниження його ниркового кліренсу. Більше 90% випадків гіперкальціємії обумовлені первинним гіперпаратиреозом і злоякісними новоутвореннями. Гіперкальціємія може бути наслідком інтоксикації вітаміном D, а також можлива в педіатричній практиці в умовах недостатнього надходження вітаміну D.

Клінічні прояви гіперкальціємії спостерігають при концентрації кальцію в крові вище 3 ммоль / л. До ниркових проявів відносяться поліурія та сечокам'яна хвороба. Шлунково-кишкові порушення включають анорексію, нудоту, блювання і запор. Серед неврологічних симптомів характерні слабкість, стомлюваність, сплутаність свідомості, ступор, кома. Якщо концентрація кальцію в сироватці крові перевищує 3,75 ммоль / л, можливі ниркова недостатність і ектопічна кальцифікація м'яких тканин.

Підставою для дослідження кальцію в сироватці крові вважають сечокам'яну хворобу, патологію кісткової тканини, артеріальну гіпертензію, подагру, міопатію, пептичні виразки шлунку, виражену втрату маси тіла, панкреатит, ниркову коліку, гематурія, пієлонефрит.

Гіперкальціурія. При метаболічній рівновазі добове виведення кальцію з сечею відповідає всмоктуванню кальцію в кишечнику. Гіперкальціурія - виділення з сечею понад 300 мг / добу кальцію у чоловіків і більше 250 мг / добу у жінок.

Причини гіперкальціурії включають надлишкове споживання вітаміну D, кальцію і лугів, саркоїдоз, синдром Іценко-Кушинга, нирковокам'яна хвороба, гіпертиреоз.

Підвищене виділення кальцію з сечею спостерігають при гіперкальціемії, пов'язаної із злякисними новоутвореннями, остеопорозі, дисфункції проксимальних каналців, застосуванні діуретиків (фуросемід, етакринова кислота).

Гіпокальціурія - зниження концентрації кальцію в сечі, виникає при нефритах, вираженому гіпаратиреозі, гіпотиреозі.

Хлориди

Референтні величини концентрації хлоридів у сироватці крові - 97-108 мекв / л (ммоль / л).

Хлор є головним позаклітинним катіоном. В організмі він знаходиться переважно в іонізованому стані, у вигляді солей натрію, калію, кальцію, магнію і т.п. Хлор відіграє важливу роль у підтримці кислотно-основної рівноваги (між плазмою і еритроцитами), осмотичної рівноваги (між кров'ю і тканинами), балансу води в організмі, активізує амілазу, бере участь в утворенні соляної кислоти шлункового соку, газообміні в еритроцитах.

Хлориди з організму виводяться головним чином з сечею (90%), а також з потом (6%) і калом. Обмін хлору регулюють гормони кори наднирників та щитовидної залози.

Гіпохлоремія. Гіпохлоремію можуть спричинити наступні захворювання і стани:

- підвищене виділення хлору з потом в умовах жаркого клімату, при гарячкових станах, що супроводжуються рясним потовиділенням;
- підвищене виділення хлору з калом при діареях;
- повторна блювота в зв'язку з дуоденальною виразкою, високою кишковою непрохідністю;
- стани після різних хірургічних операцій, якщо вони супроводжуються післяопераційним ацидозом, при якому вміст вуглекислого газу в плазмі збільшується і хлор переходить в еритроцити;
- діабетичний ацидоз, який зазвичай супроводжується переходом хлору з крові в тканини;
- нирковий діабет, внаслідок великої втрати хлору із сечею;
- захворювання наднирників з порушенням утворення мінералокортикоїдів.

Гіперхлоремія. Гіперхлоремію поділяють на абсолютну, що розвивається при порушенні видільної функції нирок, і відносну - пов'язану з обезводненням організму і згущенням крові. При нефрозі, нефритах і особливо нефросклерозі настає затримка солей в організмі і розвивається гіперхлоремія. Недостатнє надходження води в організм, діарея, блювання, втрата рідин і солей при опіках можуть призвести до зневоднення організму і розвитку відносної гіперхлоремії.

Гіперхлоремія може мати місце при декомпенсації серцево-судинної системи, розвитку набряків. Надходження з їжею великих кількостей хлориду натрію також може призвести до гіперхлоремії.

Крім того, гіперхлоремія можлива при алкалозі, що супроводжується зниженням вмісту вуглекислого газу в крові і приводить до виходу хлору з еритроцитів в плазму, а також при розсмоктуванні набряків, ексудатів і трансудатів.

Хлориди в сечі

Кількість хлору в сечі залежить від його вмісту в їжі. У грудних дітей з сечею виводиться дуже мало хлору, так як його вміст в грудному молоці низький. Перехід до змішаного харчування веде до значного збільшення вмісту хлору в сечі. Його кількість в сечі збільшується відповідно до зростання вживання кухонної солі. Між вмістом хлору в крові і його виведенням з сечею не існує прямої залежності.

Гіпохлорурія розвивається внаслідок виділення підвищеної кількості хлору з потом, блювотними масами і через кишечник.

Гіперхлорурія, як фізіологічне явище, можлива при значному введенні в організм хлориду натрію. Як патологічне явище гіперхлорурія виникає рідше і супроводжує процеси розсмоктування набряків, ексудатів і трансудатів, а також у період одужання при інфекційних захворюваннях (пневмонія).

Визначення вмісту хлору в сечі має важливе діагностичне значення у реанімаційних хворих у важкому стані. Особливе значення це дослідження має для встановлення причин розвитку метаболічного алкалозу і можливості його корекції введенням хлору.

Вирізняють такі види метаболічного алкалозу:

■ Хлорид-чутливий алкалоз (з концентрацією хлоридів у сечі нижче 10 ммоль/л) - найбільш поширена форма метаболічного алкалозу. Зазвичай він супроводжується зниженням обсягу міжклітинної рідини. Може виникнути при втратах хлору через шлунково-кишковий тракт (блювання, аспірація вмісту шлунка, ворсинчаста аденома і вроджена хлоридорея) або при використанні діуретиків (через супутнє зниження обсягу позаклітинної рідини і гіпокаліємії). Останнє слід завжди враховувати при оцінці метаболічного алкалозу і результатів визначення хлору в сечі.

Постгіперкапнічні стани (що обумовлені стійкою нирковою затримкою бікарбонату), надлишкове введення бікарбонату або неодноразові переливання крові (перевантаження цитратом) також можуть викликати чутливий до хлору метаболічний алкалоз.

■ Хлорид-резистентний алкалоз (з вмістом хлору в сечі вище 20 ммоль/л) спостерігають набагато рідше (за винятком випадків синдрому Барттера і недостатності магнію в організмі). При алкалозі цього типу зазвичай спостерігається артеріальна гіпертензія, а обсяг позаклітинної рідини – не знижений. Інші причини алкалозу даного типу - первинний альдостеронізм, синдром Кушинга, стеноз ниркової артерії, синдром Ліддла, гіперкальціємія і важка гіпокаліємія.

Фосфат

Референтні величини вмісту неорганічного фосфору в сироватці крові представлені в табл. 4 (Тіц У., 1986).

Таблиця 4. Референтні величини концентрації неорганічного фосфору в сироватці крові

Вік	Концентрація фосфору в сироватці крові	
	мг/дл	ммоль/л
24-48 годин.	5,5-9,5	1,78-3,07
До 1 року	4,5-6,5	1,35-2,60
Діти	4,5-5,5	1,45-1,78
Дорослі	2,7-4,5	0,87-1,48
Старше 60 років		
Чоловіки	2,3-3,7	0,74-1,20
Жінки	2,7-4,1	0,90-1,32

З таблиці видно, що нормальна концентрація фосфату має виражену вікову залежність.

Вміст в організмі фосфату становить близько 1% від ваги тіла, тобто 500-800 г. Приблизно 85% цієї кількості знаходиться в неорганічній формі в скелеті. Інша кількість фосфату розташовується переважно у формі ефірів фосфату внутрішньоклітинно (головний внутрішньоклітинний аніон), і тільки 1% - у позаклітинній рідині. Фосфорні сполуки служать пластичним матеріалом, їх

виявляють як складову частину білків (фосфопротеїнів), нуклеїнових кислот, фосфатидів, ефірів вуглеводів і коензимів; вони беруть участь у регуляції кислотно-основного стану (входять до складу буферних систем крові). Концентрація фосфору нижче 0,3 ммоль / л веде до порушення енергетичного обміну клітин.

У клітинних елементах крові фосфор присутній тільки в складі органічних сполук, а в сироватці крові, в основному, містяться неорганічні фосфати, визначення кількості яких представляє найбільший інтерес для лабораторної діагностики. Крім неорганічного фосфору, концентрація якого у сироватці та еритроцитах приблизно однакова, в крові знаходяться:

а) фосфати, розчинні в кислотах. До цієї групи відносяться 2,3-дифосфогліцерінова кислота (приблизно 2/3 всього кислоторозчинного фосфору), АТФ та АДФ;

б) ліпідні фосфати. У цю фракцію входять перш за все фосфатидилхоліни та фосфатидилетаноламіни.

У харчуванні людини недостатність фосфату не грає ніякої ролі, так як фосфат є в усіх харчових продуктах.

Приблизно 40% не використаного організмом фосфору виводиться з калом, а решта - з сечею.

Обмін фосфору в організмі тісно пов'язаний з обміном кальцію, тому важливе діагностичне значення має кількісне співвідношення кальцію і неорганічного фосфору в крові. У нормі це співвідношення у дітей дорівнює 1,9-2, а при рахіті - підвищується до 3 і вище.

Основними факторами, які регулюють фосфорний обмін, є:

- паратиреоїдний гормон, що знижує концентрацію фосфору в сироватці крові за рахунок пригнічення реабсорбції фосфатів в нирках та активації їх виведення;

- 1,25-дигідроксихолекальциферол (кальцитріол), підвищує концентрацію фосфору за допомогою активації всмоктування фосфату в кишечнику;

- кальцитонін, який має гіпофосфатемічний ефект;

- інсулін, знижує концентрацію фосфору шляхом стимуляції його перенесення в клітини.

Гіпофосфатемія - зниження концентрації неорганічних фосфатів у плазмі крові. Гіпофосфатемія може не відображати загального вмісту фосфору. Нерідко зниження фосфатів (до 1-2,5 мг/100 мл) зазвичай не призводить до будь-яких серйозних розладів, зниження фосфату до рівня нижче 1 мг/100 мл збігається з розвитком клінічних симптомів і вимагає корекції.

Причинами помірної гіпофосфатемії можуть бути:

- збільшення втрати фосфатів з сечею (гіперпаратиреоз, дефіцит вітаміну D, зловживання алкоголем, ацидоз, діуретики, кальцитонін);

- падіння всмоктування фосфатів кишечником (застосування антацидів, дефіцит вітаміну D, зловживання алкоголем, голодування);
- посилений перехід фосфатів в клітини (зниження маси тіла, респіраторний алкалоз, інтоксикація саліцилатами, введення інсуліну, глюкози, фруктози).

Важка гіпофосфатемія може розвиватися при синдромі абстиненції, зниженні маси тіла, при порушенні всмоктування фосфатів у кишечнику, цукровому діабеті, діабетичному кетоацидозі.

Пошкодження м'язів розвивається при поєднанні зменшення рівня фосфатів зі зниженням вмісту в клітинах води, натрію і хлоридів. Чітке взаємовідношення між гіпофосфатемією та алкогольною міопатією виявляється при хронічному алкоголізмі.

Клінічні прояви гіпофосфатемії спостерігають тільки при виснаженні загального запасу фосфату в організмі і падінні концентрації фосфатів в сироватці крові менше 1 мг% (менше 0,32 ммоль/л). Порушення м'язової системи включають слабкість, рабдоміоліз, знижену функцію діафрагми, дихальну і застійну серцеву недостатність. До неврологічних порушень належать парестезії, дизартрія, сплутаність свідомості, ступор, судоми і кома. Рідко відзначають гемоліз, тромбоцитопатію та метаболічний ацидоз. При гострому дефіциті фосфатів знижується скоротлива здатність серцевого м'яза, а при хронічному - розвивається кардіоміопатія. Хронічна гіпофосфатемія викликає рахіт у дітей та остеомалачію у дорослих.

Гіперфосфатемія - збільшення вмісту фосфатів у плазмі понад 4,5 мг/100 мл.

Частою причиною гіперфосфатемії є зниження екскреції фосфатів внаслідок розвитку ниркової недостатності. До інших причин належить гіперпаратиреоз, підвищене надходження фосфатів з позаклітинної рідини, вихід фосфору з клітин при посилених катаболічних процесах (інфекціях, синдромі розтрощення м'язів, перегріванні, застосуванні цитостатиків, гемолітичній анемії, гострій лейкемії).

При підвищенні рівня фосфатів у плазмі виникає гіпокальціємія, механізм якої до кінця неясний. Встановленим фактом вважається збільшене відкладення кальцію в м'яких тканинах.

Клінічні прояви гіперфосфатемії обумовлені гіпокальціємією і ектопічною кальцифікацією м'яких тканин, включаючи кровеносні судини, рогівку, шкіру, нирки та періартикулярну тканину. Хронічна гіперфосфатемія сприяє розвитку ниркової остеодистрофії.

Неорганічний фосфор в сечі

Референтні величини виділення неорганічного фосфору з сечею у дорослих при дітї без його обмеження складають 0,4-1,3 г на добу (12,9-42,0 ммоль / добу).

Для діагностики порушень обміну неорганічного фосфору в організмі одночасно визначають його вміст у сироватці крові та сечі.

Гіпофосфатурію спостерігають:

- при зменшенні секреції фосфатів у дистальних канальцях у разі гіпаратиреозу;
- при обмеженні кількості клубочкового фільтрату;
- при таких захворюваннях, як рахіт (при високому вмісті кальцію в їжі), остеопороз, ряд інфекційних захворювань, гостра жовта атрофія печінки, акромегалія, туберкульоз, гарячкові стани, недостатності функції нирок;
- при дефіциті фосфору в їжі, великих втратах фосфору через кишечник та/або порушенні його всмоктування (при ентероколітах).

Гіперфосфатурія може бути:

■ ниркового походження, яка обумовлена порушенням реабсорбції фосфору в проксимальних канальцях нирок, тобто при рахіті, що не піддається лікуванню вітаміном D, після трансплантації нирки. Екскреція фосфору більше 0,1 г/добу при наявності гіпофосфатемії вказує на надлишкову втрату його нирками;

■ нениркового походження, що обумовлена первинною гіперфункцією паращитовидних залоз, злякісними пухлинами кісток із підвищеним остеолізом, рахітом, при підвищеному розпаді клітин (при лейкозах).

При рахіті кількість видаленого з сечею фосфору збільшується в 2-10 разів у порівнянні з нормою. Найбільш виражена фосфатурія при фосфатному діабеті, коли спостерігаються симптоми рахіту, що не піддаються терапії вітаміном D. В цьому випадку масивна фосфатурія служить важливою ознакою для постановки діагнозу.

Залізо

Референтні величини концентрації заліза в сироватці крові наведено в табл.5.

Таблиця 5. Референтні величини концентрації заліза в сироватці крові(Тіц У., 1997)

Вік	Концентрація заліза в сироватці крові	
	мкг/дл	мкмоль/л
Новонароджені	100-250	17,90-44,75
Діти до 2 років	40-100	7,16-17,90
Діти	50-120	8,95-21,48
Дорослі:		
чоловіки	65-175	11,6-31,3
жінки	50-170	9,0-30,4

Загальний вміст заліза в організмі людини становить приблизно 4-5 г, причому 75-80% загальної кількості заліза входить до складу гемоглобіну, 20-25% заліза є резервним, 5-10% входить до складу міоглобіну, 0,2% -1% міститься в тканинних ферментах.

У складі біологічно активних сполук залізо виконує наступні біологічні функції:

- транспорт електронів (цитохроми, залізо-сіркові білки);
- транспорт і депонування кисню (гемоглобін, міоглобін);
- участь у формуванні активних центрів окислювально-відновних ферментів (оксидази, каталаза, пероксидаза та ін);
- транспорт і депонування заліза (трансферин, гемосидерин, феритин).

Концентрація заліза в сироватці залежить від всмоктування в ШКТ, накопичення в кишечнику, селезінці і червоному кістковому мозку, від синтезу і розпаду гемоглобіну та його втрат організмом.

Всмоктування заліза залежить від:

- віку, забезпеченості організму залізом;
- стану шлунково-кишкового тракту (для оптимального всмоктування заліза необхідна нормальна секреція шлункового соку);
- кількості та хімічних форм в яких надходить залізо;
- кількості і форм інших компонентів їжі, що покращують всмоктування заліза (аскорбінова та інші органічні кислоти, вуглеводи - лактоза, фруктоза,

сорбіт, а також амінокислоти - гістидин, лізин, цистеїн) або знижують його всмоктування (поліфенольні з'єднання що міцно пов'язують цей елемент, та такі напої, як кава і чай).

На засвоєння заліза дуже впливають різні захворювання. Воно посилюється при недостатності заліза, при анеміях (гемолітичній, апластичній, перніціозній), гіповітамінозі В₆ і гемохроматозі, що пояснюється посиленням еритропоезу, виснаженням запасів заліза і гіпоксією.

Найбільш інтенсивне всмоктування заліза відбувається в проксимальних відділах тонкої кишки. Плазмовий трансферин доставляє залізо до тканин, які мають специфічні рецептори. Кількість заліза, що надходить у клітину, прямо пропорційна кількості мембранних рецепторів. У клітині відбувається вивільнення заліза з трансферину. Залізо, що вивільнилося, всередині клітини зв'язується з феритином, який доставляє залізо в мітохондрії, де воно включається до складу гему та інших сполук.

В організмі людини відбувається постійний перерозподіл заліза. Зазвичай 70% плазмового заліза надходить у червоний кістковий мозок. За рахунок розпаду гемоглобіну за добу вивільняється приблизно 21-24 мг заліза, що у багато разів перевищує надходження заліза з травного тракту (1-2 мг / добу). Гемоглобін, що надходить в плазму крові при розпаді еритроцитів, специфічно зв'язується з гаптоглобіном, що попереджає його фільтрацію через нирки. У інші тканини трансферин доставляє в 4 рази меншу кількість заліза, ніж у червоний кістковий мозок. Загальний вміст заліза у складі гемоглобіну становить 3000 мг, у складі міоглобіну - 125 мг заліза, в печінці - 700 мг (переважно у формі феритину).

Залізо виділяється з організму в основному злущуванням слизової оболонки кишечника та з жовчю. Також воно втрачається з волоссям, нігтями, сечею і потом. Загальна кількість виділеного таким чином заліза становить у здорового чоловіка 0,6-1 мг / добу, а у жінок репродуктивного віку - більше 1,5 мг / добу. Така ж кількість заліза засвоюється з їжі (5-10% його загального вмісту в раціоні). Залізо тваринного походження засвоюється в декілька разів краще, ніж рослинного. Концентрація заліза має добовий ритм, а у жінок існує зв'язок з менструальним циклом. При вагітності вміст заліза в організмі зменшується (особливо в другій половині).

При деяких патологічних станах і захворюваннях вміст заліза в сироватці крові змінюється. У табл.6 представлені основні ознаки дефіциту (гіпосидероз) і надлишку (гіперсидероз, гемосидероз) заліза в організмі людини.

Таблиця 6. Найважливіші захворювання, синдроми, ознаки дефіциту і надлишку заліза в організмі людини (А.А.Кишкун, 2009).

Захворювання, синдроми та ознаки дефіциту заліза	Захворювання, синдроми та ознаки надлишку заліза
Гіпохромна анемія	Спадковий гемохроматоз Міокардіопатія з гіпереластозом

<p>Міоглобіндефіцитная міокардіопатія Атрофічний риніт</p> <p>Атрофічний глосит</p> <p>Дизгевзія і анорексія</p> <p>Гінгівіт і хейліт</p> <p>Спадкова і вроджена сідеропенічна атрофія слизової оболонки носа, смердючий нежить (озена)</p> <p>Залізодефіцитна езофагопатія (у 5-20% дисфагія)</p> <p>Синдром Пламмера-Вінсона (у 4-16% випадків передрак та рак стравоходу)</p> <p>Атрофічний гастрит</p> <p>Міоглобіндефіцитна атонія скелетних м'язів</p> <p>Койлоніхія та інші трофічні зміни нігтів</p>	<p>ендокарда (сидероз серця)</p> <p>Гепатоз з пігментним цирозом</p> <p>Сидероз і фіброз підшлункової залози</p> <p>Бронзовий діабет</p> <p>Спленомегалія</p> <p>Гіпогеніталізм</p> <p>Вторинний сидероз при таласемії та інших захворюваннях</p> <p>Професійний сидероз легенів і сидероз очей</p> <p>Ятрогенний трансфузійний сидероз</p> <p>Алергічна пурпура</p> <p>Локальна ліпоміодистрофія на місці внутрішньом'язових ін'єкцій препаратів заліза</p>
--	--

До сучасних методів діагностики порушень обміну заліза відносять визначення концентрації заліза в сироватці, загальної залізо зв'язуючої здатності сироватки (ЗЗЗС), трансферину та феритину в сироватці.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. До складу якої сполуки входить основна частина катіонів заліза?
 - A. Трансферину
 - B. Лактоферину
 - C. Гемоглобіну
 - D. Міоглобіну
 - E. Цитохромоксидази

2. Вміст якого іону найбільший у внутрішньоклітинній рідині?
 - A. Калію
 - B. Натрію
 - C. Сірки
 - D. Магнію
 - E. Кальцію

3. Яка тканина є депо кальцію?
 - A. Сполучна тканина
 - B. М'язова тканина
 - C. Кісткова тканина
 - D. Нервова тканина
 - E. Епітеліальна тканина

4. Який електроліт відіграє найбільш відповідальну роль у підтриманні об'єму позаклітинної рідини?
 - A. Магній
 - B. Калій
 - C. Кальцій
 - D. Натрій
 - E. Фосфор

5. До гормонів, що специфічно регулюють водно-електролітний обмін організму відносяться:
 - A. Альдостерон
 - B. Вазопресин
 - C. Натрійуретичний фактор (НУФ)
 - D. Всі перераховані гормони
 - E. Жоден з гормонів

6. Вплив альдостерону на водно-сольовий обмін:
- A. Затримка води в організмі
 - B. Збільшення ниркової реабсорбції натрію
 - C. Збільшення ниркової секреції калію
 - D. Збільшення вмісту натрію в клітинах
 - E. Все перераховане вірно
7. Вплив вазопресину на водно-сольовий обмін:
- A. Збільшення реабсорбції натрію і води в нирках
 - B. Зменшення осмоляльності сироватки крові
 - C. Збільшення позаклітинної рідини
 - D. Все перераховане вірно
 - E. Все перераховане невірно
8. Основним іоном, який визначає збільшення обсягу позаклітинної рідини в організмі є:
- A. Калій
 - B. Натрій
 - C. Кальцій
 - D. Хлор
 - E. Поліелектроліти білків
9. Біологічна роль калію полягає в:
- A. Формуванні нервового імпульсу
 - B. Необхідний для збудження клітин
 - C. Створення мембранного потенціалу клітин
 - D. Участь у синтезі глікогену
 - E. Все перераховане вірно
10. Основний секрет (екскрет) для виділення калію з організму:
- A. Жовч
 - B. Сеча
 - C. Кал
 - D. Пот
 - E. Слина
11. Рівень кальцію в крові регулює гормон:
- A. Кальцитонін
 - B. Паратгормон
 - C. Кальцитріол
 - D. Всі перераховані
 - E. Жоден з перерахованих
12. При яких захворюваннях відбувається зниження концентрації іонів хлору в крові ?
- A. Пневмонії

- В. Альбінізм
 - С. Холециститі
 - Д. Полеомієліті
 - Е. Ішемічній хворобі серця
13. Як називається підвищення кількості позаклітинної рідини ?
- А. Олігурія
 - В. Гематурія
 - С. Гіперволемія
 - Д. Протеїнурія
 - Е. Поліурія
14. Яка роль кальцію в життєдіяльності організму ?
- А. Бере участь в утворенні гормонів щитовидної залози
 - В. Входить до складу міоглобіну
 - С. Здійснює вплив на розмноження
 - Д. Є одним з основних компонентів кісток
 - Е. Сприяє синтезу білків-нуклеопротейнів
15. Який із хімічних елементів входить до складу гемоглобіну ?
- А. Кобальт
 - В. Фосфор
 - С. Магній
 - Д. Ферум
 - Е. Купрум
16. Нестача якого хімічного елементу призводить до порушення процесів кісткоутворення ?
- А. Фосфор
 - В. Ферум
 - С. Йод
 - Д. Магній
 - Е. Калій
17. Метод визначення кількості натрію в плазмі крові:
- А. Спектрофотометрія
 - В. Рефрактометрія
 - С. Флюориметрія
 - Д. Нефелометрія
 - Е. Полунева фотометрія

18. Після прийому ліків аналіз сечі пацієнта показав збільшення кількості Na^+ і зменшення кількості K^+ . Зміна секреції якого гормону може викликати цей стан?
- A. Порушення секреції альдостерону
 - B. Порушення секреції інсуліну
 - C. Порушення секреції гідрокортизону
 - D. Порушення секреції тироксину
 - E. Порушення секреції пролактину
19. Біологічне значення фосфору полягає в:
- A. Утворенні макроергічних сполук
 - B. Учасі в обміні ліпідів
 - C. Учасі у процесах окостеніння
 - D. Учасі в обміні білків
 - E. Все перераховане вірно
20. Основними регуляторами рівня фосфору в крові є:
- A. Паращитовидні залози
 - B. Вітамін D
 - C. Кишечник
 - D. Нирки
 - E. Все перераховане вірно

МЕТОДИ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ

Метою клінічної біохімії є якісне та кількісне визначення біохімічних показників у біологічних рідинах організму, вивчення характеру змін цих показників при патології та ряді фізіологічних станів, а також розробка методів їх визначення. Однією з умов розвитку клінічної лабораторної діагностики вважають розробку та впровадження високоефективних, але приступних та відносно простих аналітичних методів і діагностичних підходів.

Методи лабораторної діагностики сьогодні доволі численні, та спектр цих методів продовжує розширюватися. Велика кількість методів дозволяє лікарю побачити всю картину захворювання, отримати важливу інформацію, аби точно поставити діагноз та призначити лікування.

Сучасна лабораторна діагностика здійснюється в кількох напрямках:

- загальноклінічні дослідження,
- біохімічні,
- бактеріологічні,
- імунологічні,
- імуносерологічні,
- гематологічні,
- цитологічні (мікроскопічні),
- молекулярні аналізи та т.і..

В різних галузях медицини використовуються різні групи методів. Наприклад, для ізолювання ксенобіотиків з органів застосовуються методи екстракції, руйнування біологічного матеріалу, та інш.

Очищення екстрактів з біологічного матеріалу здійснюється за допомогою методів екстракції, діалізу, хроматографії в тонкому шарі сорбентів, адсорбційної молекулярної хроматографії на колонках, гель-хроматографії та інш.

Для ідентифікації та кількісного визначення метаболітів, що видалені з біологічного матеріалу, використовують якісні реакції, методи хроматографії в тонкому шарі сорбентів, газорідинну хроматографію, спектроскопію в УФ- та ІЧ-зонах, електрофорез, мікрокрystalоскопію, мікродифузію та інш.

Методи кількісного аналізу

Сукупність хімічних і фізичних методів, що застосовуються для визначення відносної кількості елементів, іонів або хімічних сполук в досліджуваних речовинах мають назву - кількісний аналіз. Методи кількісного аналізу базуються на низці теоретичних положень: закономірностях процесів кристалізації і утворення важкорозчинних речовин, явищах осадження, окислювально-відновних процесах, способах використання комплексних сполук для аналітичних визначень і таке інше.

Хімічні методи аналізу засновані на хімічних реакціях. У фізичних

методах аналізу хімічні реакції можуть зовсім не використовуватися або мати другорядне значення. Найбільш поширеними хімічними методами аналізу є гравіметричний (ваговий), титриметричний (або об'ємний), колориметричний і полярографічний. Методи кількісного аналізу розділяють на декілька груп:

Перша група методів кількісного хімічного аналізу включає методи, в основу яких покладено вимірювання показника особливостей продукту реакції. Сюди відносяться гравіметричний і колориметричний аналізи.

У *гравіметричному* (ваговому) *аналізі* вимірюють масу продукту реакції. Суть вагового аналізу полягає в тому, що складову частину досліджуваної речовини відокремлюють осадженням у вигляді важкорозчинної сполуки відомого складу і потім зважують.

Підрозділом гравіметричного аналізу є електроваговий, де «реактивом» служить електричний струм.

У основі *колориметричного методу аналізу* лежать реакції утворення або руйнування забарвлених сполук, які здатні поглинати світло. При утворенні забарвлених сполук кількість продукту реакції пропорційна інтенсивності забарвлення. Руйнування сполуки характеризується зменшенням інтенсивності забарвлення, пропорційно кількості продукту реакції.

Гравіметричний і колориметричний методи відрізняються між собою застосованою апаратурою (ваговий метод — терези, колориметричний — фотоелектроколориметри різних систем). Але між обома методами є багато спільного — в обох випадках вимірюють особливість продукту реакції Р.

Друга група методів кількісного хімічного аналізу включає методи, в основі яких лежить вимірювання кількості реактиву, витраченого на взаємодію з досліджуваним компонентом. До цієї групи відноситься *титриметричний (об'ємний) аналіз* з його типами.

Об'ємний аналіз об'єднує ряд методів, класифікація яких ґрунтується на різниці в типах хімічних реакцій, які лежать в основі методу, і різниці в способах встановлення точки еквівалентності.

- За типом хімічної реакції виділяють такі методи об'ємного аналізу: метод кислотно-основного титрування (метод нейтралізації),
- метод осадження і комплексоутворення,
- метод окислення — відновлення, який, залежно від характеру реактиву, підрозділяється на
 - ✓ перманганатометрію,
 - ✓ йодометрію,
 - ✓ хроматометрію.

За способом встановлення точки еквівалентності методи об'ємного аналізу класифікуються так:

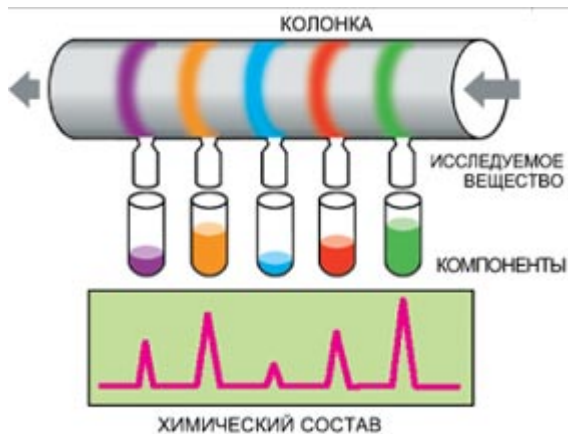
- визначення з кольоровими індикаторами,
- методи потенціометричного визначення,
- кондуктометричні методи визначення,
- амперометричний метод визначення.

До *третьої групи методів* кількісного хімічного аналізу відносять *хроматографічні методи*, які ґрунтуються на вимірюванні змін особливостей самого компонента, що обумовлені зв'язуванням його реактивом в певну хімічну сполуку.

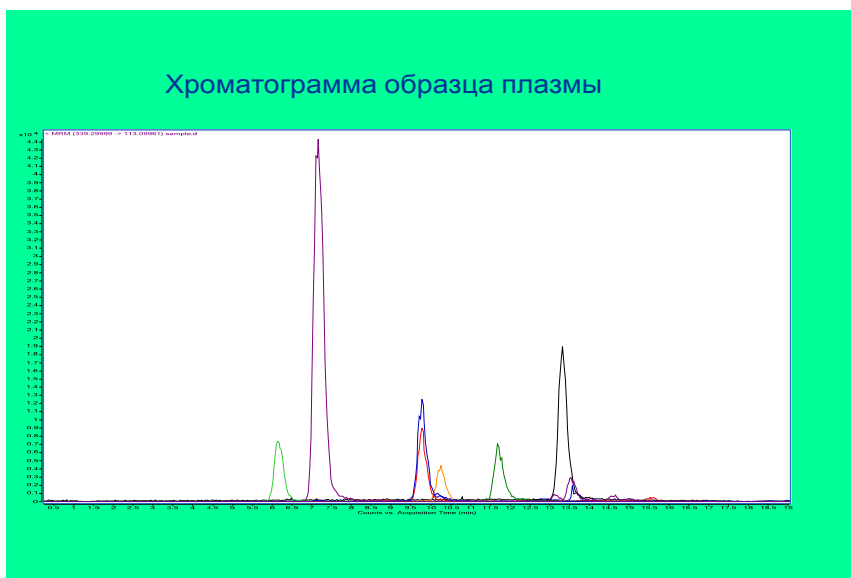
Хроматографічний аналіз — це фізико-хімічний метод розділення складних сумішей газів, пари, розчинів або розчинених речовин на окремі компоненти за допомогою сорбції в динамічних умовах.

Назва методу по'язана з першими експериментами з хроматографії, в ході яких розробник методу російський вчений *Михайло Цвет у 1900 році* розділяв яскраво забарвлені рослинні пігменти.

Розділення речовин хроматографічним методом полягає в тому, що суміш газів або багатокомпонентний розчин пропускають через "хроматографічну колонку" – скляну трубку з адсорбентом (оксидом алюмінію, силікагелем, карбонатом кальцію і т.і.), який вбирає окремі компоненти з неоднаковою швидкістю. Компонент, який має велику здібність до адсорбції, розташовується у верхній частині колонки, а з меншою – в нижній.



У *молекулярній адсорбційній хроматографії* механізм вбирання компонентів суміші називається адсорбцією на поверхні. Адсорбенти – силікагель, оксид алюмінію, карбонат кальцію – речовини з дуже розвиненою поверхнею. Метод використовується в біохімії і для розділення органічних речовин (ферментів, амінокислот, барвників). Цим методом можна розділити суміші газів (газова хроматографія).



Але розділення компонентів суміші, наприклад речовин А і Б, відбувається спочатку тільки частково; утворюється первинна хроматограма. Після цього її «проявляють». Для цього в колонку подають відповідний чистий розчинник (елюент), який десорбує раніше адсорбовані речовини і захоплює їх своїм потоком по колонці до низу. Під час переміщення по колонці відбуваються багаторазові акти адсорбції і десорбції, що призводить до розділення компонентів суміші. Внаслідок цього на колонці утворюється хроматограма.

Продовжуючи промивання колонки розчинником, досягають виходу з неї речовин, які розділяються. Ці речовини можна кількісно визначити за допомогою аналізу послідовних порцій розчину (елюату), який витікає з колонки.

Елюентна хроматографія. Найчастіше застосовують варіант проведення аналітичної хроматографії. Суміш для аналізу вводять в потік елюента у вигляді імпульсу. В колонці між окремими компонентами знаходяться рухомі фази, тому суміш розділяється.

Якщо компоненти суміші забарвлені, то при їх вбиранні окремі зони адсорбенту колонки забарвлюються в різні кольори.

Зональний розподіл компонентів суміші уздовж адсорбенту називається хроматограмою. Хроматограма дає можливість виділити і проаналізувати окремі складові суміші.

Хроматографію розрізняють:

За метою проведення

- Аналітична хроматографія
- Препаративна хроматографія
- Промислова хроматографія
- За способом вводу проби

За агрегатним станом фаз

- Газова хроматографія

- Газо-рідинна хроматографія
- Газо-твердофазна хроматографія
- Рідинна хроматографія
- Рідинно - рідинна хроматографія
- Рідинно -твердофазна хроматографія
- Рідинно -гелева хроматографія
- Надкритична флюїдна хроматографія

За механізмом взаємодії

- Розподільна хроматографія
- Іонообмінна хроматографія
- Адсорбційна хроматографія
- Ексклюзійна хроматографія
- Гель -хроматографія
- Осадочна хроматографія
- Адсорбційно-комплексоутворююча хроматографія

Існують окремі різновиди хроматографії:

- Високоєфективна рідинна
- Тонкошарова
- Газова з програмуванням
- Температур
- Витрат газу-носія
- Тиску газу-носія
- Хроматотермографія
- Хроматобарографія
- Хроматофокусування

Розглянемо деякі різновиди хроматографічних методів.

Фронтальна хроматографія

Суміш речовин безперервно подають у колонку. При цьому на виході з колонки тільки перший, найменш утримуваний компонент може видалятися в чистому вигляді. Інші зони утримують 2 та більше компонентів. Споріднений метод – це твердофазна екстракція (сорбційне концентрування).

Хроматографія витисканням

Після подання розподільної суміші в колонку додають спеціальну речовину – витискувач, який утримується сильніше за кожний компонент суміші. Утворюються зони розділених речовин, що прилягають одна до одної.

Осадова хроматографія

Цей вид хроматографії використовують для розділення компонентів, які з адсорбентом утворюють осади різної розчинності. Наприклад, можна розділити залізо і мідь, якщо розчин їх солей пропустити через колонку з

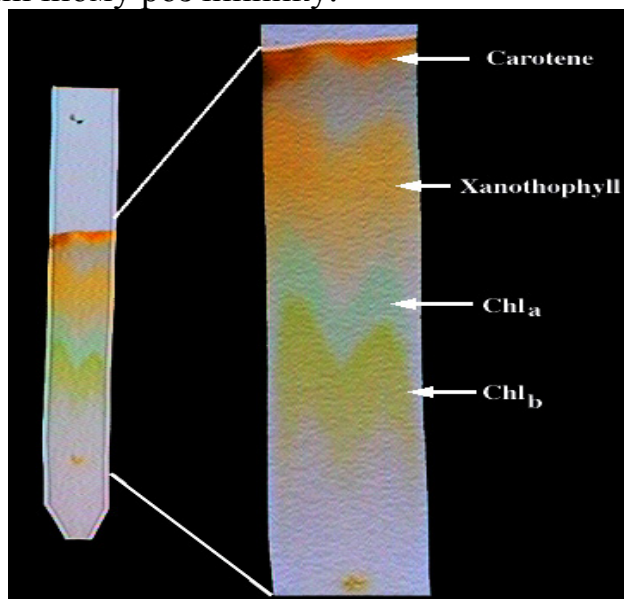
органічним реактивом – оксихіноліном. Оксихінолят заліза, як менш розчинний, міститиметься у верхній частині колонки, а більш розчинний оксихінолят міді – в нижній.

Іонообмінна хроматографія використовується для технологічного і аналітичного розділення сумішей неорганічних іонів.

Розподільна хроматографія на папері

У паперовій хроматографії адсорбент – це спеціальний папір. Механізм розділення заснований на різній розчинності компонентів дослідної суміші в органічному розчиннику, який використовується для розділення. Метод використовується для розділення органічних і неорганічних речовин.

При розподільній хроматографії на папері краплю водного розчину суміші наносять на нижню частину адсорбенту (довгої смужки фільтрувального паперу), який підвішують у високому циліндрі так, що б нижній кінець паперу був занурений в органічний розчинник. Останній піднімається по капілярах паперу (внаслідок капілярних сил), захоплюючи з собою, насамперед, той компонент суміші, який в нім краще розчиняється. Поступово суміш на папері розподіляється так: у нижній частині містяться компоненти легкорозчинні у воді і важкорозчинні в органічному розчиннику, у верхній частині – компоненти, важкорозчинні у воді і легкорозчинні в органічному розчиннику.



Хроматограмма

Смужку паперу можна розрізати на окремі частини і вимити речовини, які адсорбуються на них. Розподільна хроматографія на папері має велике значення для аналізу дуже малих об'ємів розчинів (0,01 - 0,1 мл).

Схожим на хроматографію на папері є метод **хроматографії в тонкому шарі**, запропонований російським вченим М.А.Ізмайловим. Тонкошарова хроматографія (ТШХ) на платівках швидко завоювала визнання і використовується як один з найефективніших методів фізико-хімічного дослідження. Його переваги перед іншими методами – в швидкості експерименту, який вимагає 5-30 хвилин. Цей метод відрізняється значною

чутливістю і дає можливість виявити надзвичайно малі кількості речовин. Метод ТШХ простий у виконанні; устаткування його недороге.

У всіх варіантах хроматографії на папері і хроматографії в тонкому шарі розташування зон компонентів характеризується величиною коефіцієнта R_f , рівною відношенню відстані, яку пройшла речовина, до відстані, яку пройшов фронт розчинника. R_f (хроматографічна рухливість) - постійна величина для кожної речовини в стандартизованих умовах і використовується для її ідентифікації.

Оптичні методи кількісного аналізу

Оптичні методи засновані на реєстрації змін, що відбуваються з променем світла при проходженні його крізь дослідний розчин. А саме:

- інтенсивність поглинання використовує *адсорбційна фотометрія*;
- утворення або розщеплення забарвленої сполуки, здатної поглинати світло – *колориметрія*;
- свічення молекул чи атомів речовини – *флюориметрія, полум`яна фотометрія*;
- відхилення світлового потоку від первинного напрямку його розповсюдження – *рефрактометрія*;
- зміна кута обертання плоскополяризованого світла – *поляриметрія*.

У відповідності з цим оптичні методи кількісного аналізу підрозділяють таким чином:

1. рефрактометрія;
2. поляриметрія;
3. фотометрія:
 - а) абсорбційна:
 - спектрофотометрія;
 - колориметрія;
 - нефелометрія;
 - турбидиметрія;
 - атомно-абсорбційна фотометрія.
 - б) емісійна:
 - флюориметрія;
 - полум`яна фотометрія;
 - атомно-емісійний спектральний аналіз.

В основу **колориметричного методу** кількісного аналізу покладено реакції утворення або руйнування забарвленої речовини, що здатна поглинати світло. При утворенні забарвленої речовини кількість продукту реакції пропорційна інтенсивності забарвлення. Руйнація обезбарвленої

сполуки характеризується зменшенням інтенсивності забарвлення, пропорційним кількості продукту реакції.

Колориметричне визначення складається з двох загальних етапів: утворення (або зникнення) забарвленої сполуки та вимірювання інтенсивності забарвлення.

Базовим в колориметричному визначенні є хімічна реакція. Від вибору хімічної реакції залежить час, витрачений на аналіз, чутливість та точність методу.

Колориметричні методи застосовуються для визначення складу малих кількостей речовини ($1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-6}$ г в об'ємі 50-100 мл). Такі кількості речовини не можна визначити ваговим або об'ємним методом.

Колір забарвлених розчинів залежить від нерівномірного поглинання світла різної довжини хвилі. Для характеристики кольору розчину використовують спектри поглинання або криві поглинання, які характеризують розподіл поглинальної здатності в залежності від довжини хвилі. Знаючи спектр поглинання, можна вибрати максимально чутливу довжину хвилі для вимірювання оптичної щільності розчину (інтенсивності забарвлення).

Найкращим для колориметричного визначення є вузький спектр поглинання, тому що в цьому випадку оптична щільність речовини вимірюється навіть в присутності інших забарвлених сполук.

Велике значення у колориметричному аналізі має інтенсивність поглинання розчину, віднесена до одного молю речовини, так званий *коефіцієнт поглинання*. *Молярним коефіцієнтом поглинання* називають оптичну щільність одномолярного розчину (товща шару 1 см.) даної речовини. Молярний коефіцієнт поглинання не залежить від довжини хвилі світла, що абсорбується, температури, природи розчинної речовини та розчинника і, як правило, від концентрації розчину.

Чутливість колориметричного методу пропорційна показнику молярного коефіцієнта поглинання. При проходженні крізь забарвлений розчин монохроматичного світлового пучка (світло зазначеної довжини хвилі), частина його поглинається, а частина проходить крізь розчин. При цьому інтенсивність світла зменшується.

Абсорбційний колориметричний аналіз заснован на фізичних властивостях речовин вибірково поглинати монохроматичний потік світлової енергії. За його допомогою вимірюють «світлопоглинання» розчину або інтенсивність забарвлення, яка безпосередньо залежить від концентрації речовини в розчині.

Вимірювання інтенсивності потоку світлової енергії, яка пройшла крізь дослідний розчин, завжди проводять відносно розчину співставлення. При приготуванні та дослідженні розчину співставлення застосовуються розчинник та кювети. Внаслідок цього поглинання світлового потоку стінками кювети та відображення його в оточуюче середовище кюветою і розчинником можуть не прийматися до уваги.

Залежність між ослабленням інтенсивності паралельно направленої монохроматичного світлового потоку, товщиною шару, що поглинає, та концентрацією відображається об'єднаним законом Бугера—Ламберта—Бера:

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-\epsilon \cdot c \cdot l}$$

де I_t — інтенсивність світла, що пройшло крізь розчин,

I_0 — початкова інтенсивність світла, що падає на розчин,

l — товща шару розчину в см,

C — концентрація розчину речовини, що поглинає світло;

ϵ — коефіцієнт поглинання (абсорбції, екстинкції). Він є коефіцієнтом пропорційності та показує, яка частка світлового потоку поглинається розчином шаром в 1 см.

Якщо концентрація розчину складає моль/л та $l = 1$ см, тобто $\epsilon = A$.

Логарифм відношення I_0/I_t є величиною абсорбції, або оптичною щільністю речовини (розчину), що зазначається літерою **A**. Раніше оптична щільність зазначалась літерами **D**, **E**:

$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = \epsilon l c.$$

Відношення інтенсивності монохроматичного потоку випромінювання, що пройшло крізь досліджуваний об'єкт, до інтенсивності попереднього світлового потоку називається *пропусканням*, або *прозорістю* (світлопроникненням) розчину та визначається літерою **T**. Зазвичай величину **T** виражають у відсотках:

$$T (\%) = I_t/I_0 \cdot 100.$$

Світлопроникнення розчину дає уявлення про те, яка частка світлового потоку пропускається крізь розчин, а оптична щільність характеризує долю світла, що ним поглинається. Характерно, що *оптична щільність* (абсорбція — **A**, або екстинкція — **E**, **D**) показує величину світлопоглинання безвідносно до абсолютної величини інтенсивності монохроматичного світлового потоку, що падає на кювету.

Прямо пропорційна залежність між величинами, що характеризують процес абсорбції, товщею поглинаючого шару та концентрацією речовини у розчині може бути отримана тільки при постійному молярному коефіцієнті поглинання. Величина оптичної щільності (**A**) є функцією довжини хвилі та не залежить від концентрації речовини у розчині. З цієї причини саме

абсорбція (але не світлопропускання) характеризує індивідуальні властивості поглинаючої речовини.

Дуже важлива умова отримання надійних результатів при виконанні абсорбційної фотометрії — досягнення монохроматизації світлового потіку. Для цієї мети найчастіше використовуються *світлофільтри*. Наряду зі звичайними фільтрами (пофарбованими скляними виробами), недоліком яких є широка смуга пропускання все ширше застосовуються так звані інтерференційні світлофільтри. Це звичайні скляні платівки, на які нанесені дві (або більше) полупрозорі металеві плівки, що розділені шаром прозорої речовини. Відстань між металевими плівками визначає довжину хвилі світла.

Властивості світлофільтрів пропускати світло обумовлено явищами інтерференції. А частина випромінювання, що падає, піддається багаторазовому внутрішньому відображенню шарами срібла. Промені, що виходять з платівки, підсилюють один одного. Це відбувається тільки при тій довжині хвилі, яка вдвічі більша за довжину хвилі, зумовлену відстанню між шарами срібла. При інших довжина хвиль промені послаблюють один одного.

На відміну від звичайного, інтерференційний світлофільтр пропускає практично монохроматичний світловий потік. Окрім властивості досягати високого ступеня монохроматизації світла з відносно високим його пропусканням інтерференційні світлофільтри мають більшу термостійкість. Останнє пов'язано з тим, що інтерференційні світлофільтри не поглинають, а відображають світло, що не пройшло крізь них. Це дозволяє використовувати їх з високоінтенсивними джерелами світлового (та теплового) випромінювання.

Найкращим способом вирізнити вузькі спектральні інтервали є використання монохроматорів, що влаштовані на базі призми або дифракційної решітки. При застосуванні джерела світла, що випромінює суцільний спектр, такі пристрої дозволяють отримувати практично любую довжину хвилі.

В якості основних приймачів випромінювання в ультрафіолетовій, видимій та інфрачервоній зоні спектра використовують фотоелементи, фотоопори та фотопомножувачі.

Принцип дії *фотоелементів* базується на явищі фотоэффекту, яке заключається в тому, що при дії світла речовина (зазвичай одновалентний метал: цезій або інш.) випромінює електрони, які у безповітряному просторі лампи переміщуються від фотокатода до аноду.

На практиці вирізняють *два типи фотоелементів*: з зовнішнім та внутрішнім фотоэффектом. Фотоелементи з зовнішнім фотоэффектом можуть бути вакуумними та газонаповненими. Вакуумні фотоелементи мають значно меншу інтегральну чутливість (мікроампери/люмен), ніж газонаповнені. Наповнення газом фотоелементів викликає збільшення фототоку внаслідок іонізації газу фото-електронами.

Вивільнення електронів відбувається не тільки в металах, але й в

напівпровідниках, що збільшує їх електропровідність при освітленні. Фотоелементи з внутрішнім фотоелементом мають назву фотоопор.

Широке застосування знайшли фотоелементи з замкнутим шаром. Вони не потребують зовнішнього джерела напруги тому, що мають високу чутливість.

Фотопримножувачі — дуже досконалий тип фотоелектричного приймача світла високої чутливості. Фотоелемент з зовнішнім фотоелементом дає фототік. Збільшити фототік можливо шляхом вторинної електронної емісії. *Вторинна електронна емісія* полягає в тому, що при ударі з поверхні речовини електрони вибивають вторинні електрони. Кожний електрон вибиває декілька вторинних. В фотопримножувачі поєднуються обидва принципи.

Найбільш широко використовуються фотопримножувачі в приборах для емісійної фотометрії (флюориметри та т.інш.).

До оптичних вимірювальних приладів, що використовують в клінічній лабораторній діагностиці, відносять:

- фотометри та спектрофотометри;
- нефелометри та турбідиметри (дозволяють судити про склад часток суспензії в об'ємі рідини по інтенсивності світлорозсіювання);
- денситометри (призначені для сканування розділених на носіях фракцій речовин, що аналізуються);
- флюориметри (застосовуються для визначення концентрації складних органічних речовин шляхом вимірювання інтенсивності флюоресценції);
- полум'яні фотометри (використовуються для вимірювання інтенсивності емісії внесених до полум'я іонів металу);
- поляризаційні флюориметри;
- люмінометри — прилади, що дозволяють виміряти кількість світла, яке випромінюється, (світлосуму). При розщеплення іонами металів змінної валентності або іншими реактивами деяких речовин, відбувається короткочасне випромінювання світла. На підставі цього роблять висновки про вміст в біологічних рідинах цих речовин.

• атомні абсорбціометри - використовуються для вимірювання поглинання монохроматичного світлового потіку атомами речовини, що знаходиться в розпеченому газі (в полум'ї газового пальника). Це дозволяє судити про склад атомів (іонів) металів, мікроелементів при аналізуванні біологічних рідин, стічних вод, екстрактів з продуктів харчування та інш.);

Як і у емісійному методі фотометрії полум'я досліджуваній розчин у вигляді аерозолу вводиться в полум'ї за допомогою розпилювача. Однак, вимірюється не випромінювання, а поглинання монохроматичного світлового потіку атомами досліджуваного елемента. Метод придатний для визначення елементів, що знаходяться в полум'ї у вигляді вільних атомів.

Оскільки атомами речовини, що знаходиться в полум'ї, поглинається приблизно 99% монохроматичного світла, чутливість атомно-абсорбційного

методу значно вища за метод, заснований на фотометрії полум'я. *Атомні абсорбціометри*, що найчастіше використовуються, мають назву атомно-емісійних багатоканальних спектрометрів (наприклад, АЭС). *Принцип застосування* приладів такого типу заснован на тому, що підготовлена до аналізу проба розташовується у камері джерела збудження спектру. Під дією електричного розряду піддослідна речовина випарюється та її атоми збуджуються в зоні розряду. Світло, що випромінюється атомами, збирається оптичною системою та попадає в поліхроматор, де відбувається його розкладання за спектральними складовими.

Регістрація спектру за допомогою оптичного багатоканального аналізатора дозволяє за інтенсивністю або площею спектральних рисок досліджуваних елементів виміряти в одній пробі наявність 10 та більше хімічних елементів одночасно.

Кількісне визначення складу багатоконпонентних систем – біологічних рідин (кров, сеча, ліквор) можливо проводити різними методами.

Фотометричні методи дозволяють

- визначити склад світлопоглинаючих комплексних систем,
- визначити константи сталості світлопоглинаючих комплексних сполук та констант дисоціації органічних сполук
- вивчити хімічні рівноваги та визначити фотометричні характеристики світлопоглинаючих сполук.

Абсорбційна фотометрія. Фотометри

Більш ніж 80% клініко-лабораторних методів біохімічних досліджень базується на принципі абсорбційної фотометрії.

В основу фотометричного методу аналізу покладено явище фотоефекту, що відкрив **А.Г. Столетов** у 1888 році. *Фотоефект* – це явище відриву електронів від атомів сполуки під дією світлового потоку. За допомогою фотоелементу світлова енергія перетворюється в електричну, яка вимірюється гальванометром. Виникнення фототоку пропорційне інтенсивності світлового потоку. Кожний забарвлений розчин, який розташований між джерелом світла та фотоелементами, буде впливати на силу току. При співставленні двох забарвлених розчинів можливо виміряти різницю току, що зумовлена ступенем освітленості та за нею визначити концентрацію досліджуваного розчину. Співставити два світлові потоки можливо візуально (неозброєним оком) та у фотоелектричний спосіб (за допомогою фотоелектричних приладів). Всі візуальні способи базуються на співставленні двох світлових потоків різної інтенсивності, що можливо досягти, змінюючи концентрацію речовин, товщу шару або інтенсивність світлового потоку.

Оптичної рівності двох світлових потоків можливо домогтися за допомогою спеціальних приладів - *фотоелектроколориметрів* (ФЭК), змінюючи товщу шару розчину спеціальними ємностями (*кюветами*). Такі прилади співставляють світлові потоки, послаблюючи найінтенсивніший з них.

Фотокolorиметри – це прилади, що вимірюють інтенсивність забарвлення за допомогою фотоелементів. Вони призначені для вимірювання коефіцієнту поглинання при пропусканні прозорих середовищ у видимій зоні спектру. Прилад працює за принципом вимірювання співвідношення двох світлових потоків, повного та того, що пройшов крізь кювету з розчином. Співставлення результатів відбувається за методом пропорційних відхилень.

На барабані для вимірювання, який використовували у ФЄКах типу ФЕК-М, ФЕК-Н-57 та інш., шкала оптичної щільності нанесена червоною фарбою, а шкала пропускання – чорною. В цьому випадку вимірювання проводять за червоною шкалою.

Якщо оптична щільність розчину дорівнює 1, через нього проходить 10% інтенсивності світлового потоку. Інші 90 % поглинаються. Для більшості сучасних приладів ця кількість кінцева, вище за яку вже важко отримати надійні результати. Для звичайних лабораторних вимірювальних приладі ця кількість знаходиться поза діапазоном отримання вірогідних даних. В усіх рутинних приладах для вимірювання оптичної щільності найбільша точність досягається при значення абсорбції приблизно 0.3, та тільки за умов, що через розчин проходить половина світлового потоку. При зниженні або збільшенні абсорбції точність вимірювання та вірогідність отриманих результатів зменшується.

Абсорбція світла розчином або оптична щільність є добутком концентрації речовини на товщу розчину. Тому не має значення чи фотометрується даний розчин у кюветі з довжиною оптичного шляху у 1 см або той же розчин заздалегідь розведений у 2 рази, але в кюветі з довжиною оптичного шляху у 2 см. Подовження оптичного шляху призводить до підвищення чутливості лише в тому випадку, якщо об'єм розчину залишається початковим за рахунок зменшення поперечного перерізу кювети. Однак можливості такого варіанту фотометрії обмежені. Це пов'язано з довжиною кювети. Чим вона довше, тим більше вимог до фокусування та юстировки світла. Тому більшість біохімічних методик розраховано на проведення вимірювання в кюветі з довжиною оптичного шляху у 1 см (10 мм). Рідше використовується кювета з довжиною оптичного шляху у 0.5 см. А кювети у 2 см взагалі не використовують. Найправильніший режим використання кювет – це товща шару у 10 мм.

Підвищення чутливості фотометрії досягається шляхом застосування більш вузьких та довгих кювет. Це дозволяє значно скоротити об'єм розчину для фотометрії. Однак, якщо розчину менше, ніж 0.5 мл, точність знижується та збільшується похибка в результатах вимірювання.

Більшість сучасних прецизійних приладів потребує об'єми рідини у 0.5 – 1.0 мл при довжині хвилі у 1 см (10 мм).

Якщо використовувати проточні кювети, то відпадає необхідність виймати її кожного разу для заповнення новою порцією рідини. А це, в свою чергу, збільшує точність методу. Прилади, оснащені проточними кюветами, використовують при виконанні серійних аналізів.



Фотоелектроколориметр КФК-2

Фотометричні прилади підрозділяють на звичайні фільтрові фотометри та спектрофотометри. У *спектрофотометрах* ділянки спектру виділяють при допомозі призм або дифракційних решіток. Це дозволяє встановлювати довжину хвилі в широкому діапазоні.

Частіше за все при виконанні клініко-біохімічних досліджень фотометрію проводять в зоні довжин хвилі 400—700 нм. Наприклад, кількість НАД•Н та НАДФ•Н вимірюють за поглинанням світла в найближчому ультрафіолетовому діапазоні з довжиною хвилі 340 нм.

До того ж застосовують різні за складом кювети. Для видимої та інфрачервоної зон спектру використовують кювети, що зроблені із звичайного скла. Для найближчої ультрафіолетової зони потрібні кювети з увіолевого скла. У короткохвильовій ультрафіолетовій зоні – тільки кювети з кварці або сапфіру.

Оцінити результати досліджень при проведенні фотометрії можливо у три способи:

1. за кінцевою крапкою;
2. за фіксованим часом;
3. за кінетичним вимірюванням.

Визначення за кінцевою крапкою полягає у вимірюванні утвореного за час інкубації продукту. Розраховуються результати за стандартом.

Визначення за фіксованим часом потребує спектрофотометрів або ФЕКів зі звичайними світлофільтрами, які оснащені термостатом для кювет. В цьому методі визначається кількість продукту, що витрачається за визначений термін. Після чого за стандартом розраховується концентрація, тобто активність.

Флюориметричні методи

Вони у 100 – 1000 рази більш чутливі, ніж аналітичні, які базуються на абсорбційному фотометричному аналізі.

Зазвичай вони базуються на власній флюоресценції речовини. Чутливість цих методів стає збільшується набагато за рахунок використання флюоресцентного редоксіндикаторного ланцюга.

Метаболіт, що утворився шляхом реакції, флюоресцирує в 100 – 1000 разів сильніше за субстрат.

Останнім часом для визначення, наприклад, активності НАД(Ф)-залежних оксидоредуктаз все ширше застосовують *біоломінісцентний метод*. Він заснован на використанні біферментної системи НАД(Ф)•Н: флавінмононуклеотид (ФМН)-оксидоредуктаза-люцифераза світивих бактерій. Реакція випромінювання світла відбувається внаслідок ферментативного окислення НАД(Ф)•Н в ланцюзі послідовних реакцій.

Флюориметричний метод дозволяє абсолютно специфічно з високою чутливістю визначати ферменти та їх коферменти - відновлені піридинові нуклеотиди (НАД•Н, НАДФ•Н). А от наприклад, визначення активності лужної та кислої фосфатази, холінестерази, гамаглутамілтранспептідази реалізуються шляхом фотометрії розчину у видимій зоні спектру.

Спектрофотометричний аналіз.

В теперішній час в клінічних лабораторіях із усіх оптичних методів кількісного аналізу найпоширенішими є методи фотоколориметрії та спектрофотометрії. *Спектрофотометрія* заснована на фізичних якостях речовини вибірково поглинати монохроматичний потік світлової енергії.



Фотоприймальний пристрій приладу спектрального типу

Спектрофотометричні методи у порівнянні з фотоколориметричними вирішують більше коло завдань. Вони дозволяють кількісно визначати кількість елементів та органічних речовин у широкому інтервалі λ від 185 до 1100 нм.

Для кількісного аналізу в спектрофотометричних методах застосовуються прилади - спектрофотометри (СФи), які дозволяють проводити аналіз як забарвлених, так і безбарвних речовин по поглинанню монохроматичного світла у видимій, УФ, ІК-зонах спектру. Ці прилади високого класу ніж ФЕКі, бо в них виділяють більш вузька ділянка спектру.

В якості джерела світла у видимій ділянці спектру у СФах використовують лампи розжарювання. У УФ ділянці спектру – водневі або дейтерійові лампи.

При виконання клініко-біохімічних досліджень фотометрію найчастіше проводять в зоні довжини хвилі у 400-700 нм. Це видима частина спектру.

Світло з більшою довжиною хвилі відносять до найближчої інфрачервоної зони, вимірювання в якій проводять дуже рідко. Світло з довжиною хвилі за 400 нм відносять до ультрафіолетового діапазону.

Розрізняють ближчу зону з довжиною хвилі 300-400 нм та короткохвильовий діапазон у 220-300 нм. Довжина хвилі у 340 нм. – це ближчий ультрафіолетовий діапазон.

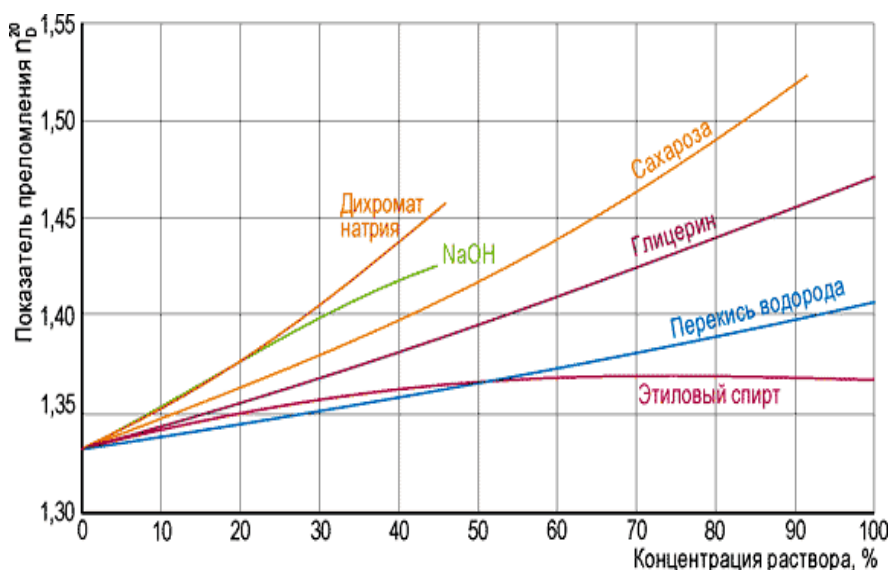
Існує оптимальний діапазон оптичних щільностей (D від 0,3 до 0,8), в якому необхідно проводити вимірювання на спектрофотометрі. Зазначені розміри D отримують зміною концентрації розчину та підбором кювет (товща шару речовини, що поглинає світло). В більшості сучасних СФів використовують обсяги рідини для дослідження у 0.5-1.0 мл у кюветах з довжиною оптичного шляху у 1 см.

На даний час існують різновиди методу спектроскопії, наприклад у Санкт-Петербурзькому інституті ядерної фізики РАН розробили метод *лазерної кореляційної спектроскопії* (ЛКС). Він використовується для визначення субфракційного складу різних біологічних рідин.

Метод ЛКС базується на змінах спектральних характеристик лазерного випромінювання у результаті світлорозсіяння при проходженні крізь дисперсійне середовище. Спектрометр з'єднан з комп'ютерною системою, яка дозволяє швидко здійснити математичну обробку результатів. Обробка даних відбувається за допомогою спектрального аналізу випадкових процесів. За його допомогою побудують гістограму, що відображає відсотковий вклад у світлорозсіювання окремих інгредієнтів біологічних рідин, що різняться за гідродинамічними розмірами у діапазоні від 1 до 10000нм.

Рефрактометрія

Рефрактометрія базується на вимірюванні показника заломлення світла (рефракції) при проходженні його крізь оптично різнорідні середовища.

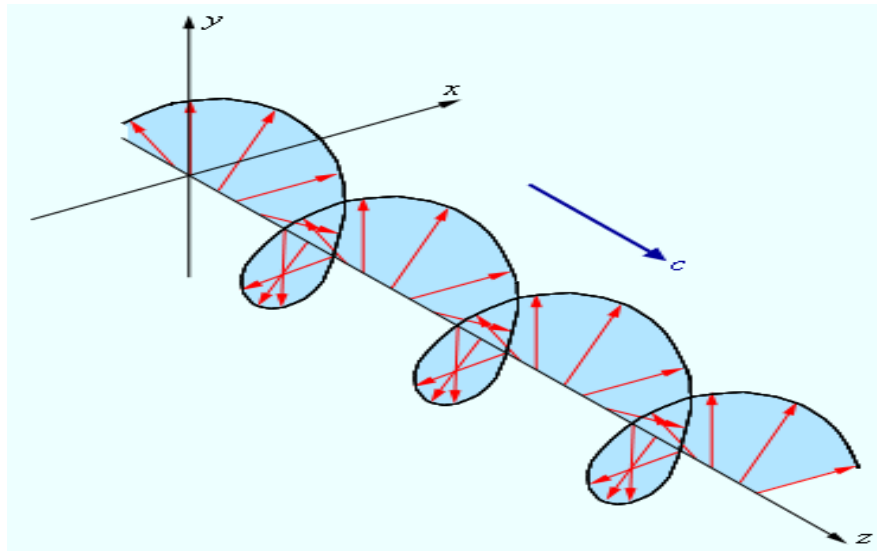


Раніше метод рефрактометрії застосовувався для визначення кількості загального білку у сироватці (плазмі) крові. Однак, заломлююча здатність

біологічної рідини залежить не тільки від наявності білків, а і від небілкових компонентів. Тому рефрактометричний аналіз показував завищені результати.

Поляриметрія

В основу поляриметрії покладено здатність прозорих речовин обертати площину поляризованого променя світла.



Електричне поле в поляризованій хвилі

Відомо, що природний неполяризований промінь являє собою сукупність хвиль, коливання яких рівномірно розподілено вздовж безлічі площин, що проходять крізь лінію поширення променю.

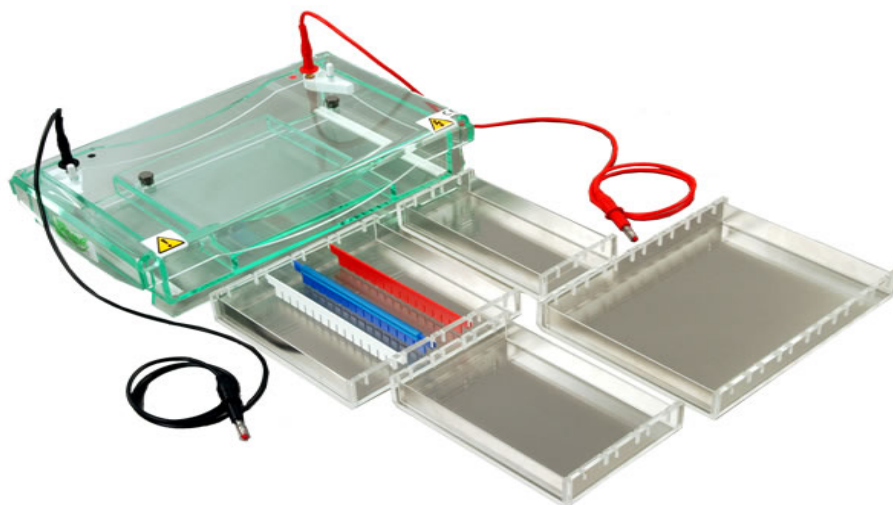
Якщо промінь складного білого світла пропускати крізь платівку поляроїду чи призму кальциту (ніколя), то кожна хвиля цього пучку розкладеться на складові, що спрямовані за взаємно перпендикулярними осями поляроїду. Кальцит (призма ніколя) має здатність поглинати одну з цих складових, тому електромагнітні коливання у вихідному світлі проходять тільки в одній площині. Такий промінь називають плоскополяризованим. Якщо на його шляху розмістити інший поляроїд, то крізь нього подібним чином пройде тільки та складова, площина коливань якої буде паралельною осі поляроїда. Пучок поляризованого світла проводить коливання тільки в одному напрямку. Якщо другий поляроїд обернути на 90 градусів, потужність світлового пучка падає до нуля. Отже, поляризований промінь світла буде проходити крізь призми ніколя тільки у тому випадку, якщо їх осі знаходяться в одній площині.

Раніше у клініко-лабораторній практиці широко використовувався придатний до визначення концентрації розчинів глюкози та інших вуглеводів поляриметр - сахариметр.

Електрофорез

Одним з вискоефективних та відносно простих методів розділення речовин вважають електрофорез. Він вирізняється різноманітністю завдань які можливо вирішити за його допомогою. *Метод електрофорезу* – це

переміщення заряджених часточок в розчині під дією електричного струму до аноду або до катоду.



Прилад для електрофорезу

Коли амінокислоти, пептиди, білки, нуклеїнові кислоти та інші біологічні молекули розчинені у воді, вони несуть визначений електричний заряд. Часточки переміщуються в електричному полі в залежності від знаку їх сумарного електричного заряду.

Електрофорез може застосовуватися для розділення та вивчення фракційного складу біологічних рідин. Це обумовлено залежністю швидкості руху молекул в електричному полі від їх розміру, заряду, форми.

Макромолекулам, що знаходяться в буферному розчині, притаманний деякий сумарний електричний заряд. Його знак та розмір залежить від кількості протонів водню (рН) в середовищі. Якщо через цей розчин пропустити електричний струм, то макромолекули згідно свого заряду почнуть мігрувати в напрямку аноду або катоду. Їх тертя в оточуючому середовищі обмежує швидкість міграції.

В залежності від розміру та заряду макромолекули отримують різну швидкість. В цьому полягає *сутність процесу електрофорезу*.

Поступово початковий розчин, що складається з багатьох різних молекул, розподіляється на зони однакових, що мігрують з однаковою швидкістю. Зазвичай електрофорез проводять у гелієподібному середовищі. Це пов'язано з конвекцією в рідині, яка деформує та змішує розділені зони.

Наявність гелієвої сітки гальмує макромолекули, коли вони стикаються з нитками полімеру сітки. Це збільшує ефективне тертя та знижує швидкість руху молекул.

Електрофорез дозволяє розділити макромолекули, що відрізняються за просторовою конфігурацією, молекулярною масою, розмірами, вторинною структурою та електричним зарядом. Ці параметри можуть бути наявними окремо або разом.

Різновиди електрофорезу

Існує кілька різновидів та модифікацій електрофорезу:

1. Зональний електрофорез у:

- ✓ вільному середовищі;
 - ✓ градієнті щільності;
 - ✓ підтримуючому середовищі з капілярною структурою.
2. Електрофорез:
 - ✓ з рухомою межею;
 - ✓ на фільтровальному папері;
 - ✓ на ацетаті целюлози;
 - ✓ у колонках та блоках гранульованої підтримуючого середовища;
 - ✓ у агаровому та агарозному гелі;
 - ✓ у крохмальному гелі;
 - ✓ у поліакриламідному гелі;
 3. Ізоелектричне фокусування;
 4. Ізоахофорез.

Електрофорез білків

Електрофорез білків – це спосіб розділення білків на фракції та індивідуальні білки. Цей різновид електрофорезу використовують для аналізу окремих білків та компонентів суміші (кров, сеча).

Розроблена велика кількість модифікацій електрофорезу білків у поліакриламідному гелі для різних пептидів та білків. Вони широко використовуються в сучасній молекулярній біології, біохімії, генетиці. Найпоширенішим різновидом є електрофорез білків у поліакриламідному гелі в присутності додецилсульфату натрію за методом Леммлі (англ. SDS PAGE). За цим методом білки розподіляються за електрофоретичною рухомістю. В свою чергу електрофоретична рухомість залежить від молекулярної маси, довжини поліпептидного ланцюга, форми вторинної структури та інших посттрансляційних модифікацій.

В свою чергу електрофорез білків підрозділяють на:

- Одновимірний та двовимірний (2D)
- Препаративний та аналітичний
- Електрофорез нативних білків та денатурованих
- Електрофорез
- Імуноелектрофорез

Електрофорез ДНК

Електрофорез ДНК – це аналітичний метод, що використовують для розділення фрагментів ДНК за їх довжиною. Під дією електричного струму фрагменти ДНК мігрують крізь гель. Залишки фосфорної кислоти та вуглеводний компонент ДНК мають негативний заряд. Тому ланцюг нуклеїнової кислоти рухається від негативно зарядженого катоду до аноду. Коротші фрагменти рухаються швидше за довгі.

Після розділення різні за розміром фрагменти ДНК забарвлюють за допомогою флуоресцентних барвників, які специфічно реагують з ДНК. Іноді барвник додають в розплавлену агарозу. Зазвичай агарозу забарвлюють бромним етидієм, що флуоресцирує у УФ-променях.

Визначення розмірів проводять шляхом співставлення стандартних (DNA ladder, «лінійка») фрагментів ДНК, що містяться у тест системах, розміри яких заздалегідь відомі.

Зазвичай для відносно довгих молекул ДНК у електрофорезі використовують агарозні гелі. Для коротких молекул - поліакриамідні. Так, наприклад, вчиняють при секвенуванні.

Горизонтальний електрофорез

При горизонтальному електрофорезі розділяють молекули ДНК за розміром. Для його проведення до агарозного гелю додають спеціальний барвник для ДНК. З такого гелю готують платівку, в якій агароза утворює просторову решітку. Під час заливання спеціальною гребінкою у гелі формують лунки. До них додають продукти ампліфікації. Таку платівку гелю розміщують у апараті для горизонтального електрофорезу та подають на нього електричний струм. Негативно заряджена ДНК починає рухатися у гелі від (-) катоду до аноду (+). Довші молекули рухаються повільніше за короткі, тому потребують більше часу. Ті молекули, що мають однакову довжину, рухаються з однаковою швидкістю. Барвник інтеркалірує (розміщується) у молекули ДНК шарами. Після закінчення аналізу реєструємо результати.

Метод вертикального електрофорезу

Метод вертикального електрофорезу принципово збігається з горизонтальним. Але агароза у даному методі не використовується. Тільки поліакриламідні гелі. Визначення проводять у спеціальній камері.

Метод вертикального електрофорезу має більшу дозвільну спроможність у порівнянні з агарозним, та дозволяє точніше розрізняти різні за розмірами молекули.

Середовище, у якому безпосередньо рухаються заряджені часточки, повинно бути в'язким або нерозчинним з пористою структурою.

Фронтальний електрофорез

Фронтальний електрофорез іноді має назву «вільний». Його використовують для нерозчинного підтримуючого середовища – фільтрувального паперу, агару, ацетату целюлози, крохмалю, агарози, поліакриламідного гелю та інш. Це розширює можливості методи.

Першим розділення білків методом фронтального електрофорезу у рідкому середовищі застосував **А. Тизеліус**. Зараз цей метод широко розповсюджен. Тизеліус назвав усі форми електрофорезу на твердому підтримуючому середовищі «зональним електрофорезом».

Капілярний електрофорез

Для розділення молекул за зарядом та розмірами у 1960 році почали використовувати тонкий капіляр, заповнений електролітом. Зараз цей метод англійською має назву **CZE** – капілярний зональний електрофорез.

Якщо розчин розмістити у електричному полі високої напруги, то в ньому виникають електроосмос та електрокінетичні явища - рух в електричному

полі заряджених часток (електронів, протонів, тощо) та іонів. Якщо розчин розмістити у тонкому кварцовому капілярі, то електричний струм, що проходить вздовж капіляру, викликає в ньому рух заряджених часточок та пасивний потік рідини. Кожен різновид заряджених часточок має специфічні параметри електроміграції. Тому у капілярі відбудеться розділення суміші на індивідуальні компоненти.

На цьому принципі і побудован метод капілярного електрофорезу.

В той же час, у капілярі дуже слабкі такі чинники як гравітація, сорбція, дифузія, конвекція. Завдяки цьому ефективність розділення в цьому методі дуже висока.

Використовують капілярний електрофорез при аналізі органічних сполук: амінокислот, вітамінів, наркотичних речовин, пігментів та барвників, фарм.препаратів, харчових продуктів та додатків. Також цим методом досліджують якості води та напоїв, сировини, криміналістичні зразки. В медицині та клінічній біохімії цим методом розшифровують генетичний код живих істот.

Імуноелектрофорез

Імуноелектрофорез (**ІЕФ**) – метод дослідження антигенного складу біологічного матеріалу. Він сполучає електрофорез та імунодифузію. У 1953 році **Грабар та Уільямс** застосували його вперше. А у 1965 році цей метод був мінімізований Шейдеггером. Так з'явилася мікрomodифікація ІЕФ-методу. Зразок піддослідного матеріалу розділяють електрофорезом у звичайному агарозному гелі. Під час досліду у гелі формуються характерні зони. Паралельно цим зонам вносять антисироватку для преципітації. Антигени та антисироватка дифундують на зустріч один до одного. У точці зустрічі з'являються дугоподібні смуги преципітації.

Після елюїрування та імунодифузії молекул, що не преципітували, гель забарвлюють спеціальними барвниками.

Існує ряд модифікацій ІЕФ-методу: за допомогою моноспецифічної антисироватки (за Геремансом), чистого антигену (за Оссерманом).

Детекцію розділених молекул при капілярному електрофорезі здійснюють за допомогою різних приладів. Найчастіше використовують прилади, що вимірюють зміну поглинання у ультрафіолетовій зоні спектру або у зоні видимого світла. Зазвичай у таких системах в якості вічка використовують частину капіляру. Довжина шляху, який проходить світло, при капілярному електрофорезі складає біля 50 мікрометрів. Це менше за звичайні УФ-вічка, у яких довжина шляху світла дорівнює приблизно 1 сантиметру.

Можлива детекція шляхом використання флуоресценції. Цей метод застосовують при вивченні примірників, що мають природну флуоресценцію або хімічний додаток (флуоресцентна мітка). Такий спосіб забезпечує високу чутливість, однак не може застосовуватися для визначення не флуоресцируючих зразків. Якщо флуоресценція викликана лазером, капілярний електрофорез дозволяє детекцію у межах 10¹⁸ - 10²¹ моль. Іонізовані часточки аналізуються мас-спектрометрами.

Деякі класи молекул не мають заряду або незначно відрізняються за електрофоретичною рухомістю. Такі речовини не підлягають електрофоретичному розділенню. Для полегшення розділення таких молекул додають поверхнево-активні сполуки. Заряджені полімери (ДНК) можуть розділятися у капілярах, що заповнені гелем, що ще більше гальмує довші молекули. Такий спосіб називають капілярним гель-електрофорезом.

Найбільшу чутливість мають методи, що використовують сумісні принципи. До таких методів належать: біохімічні; цитохімічні; імунохімічні; та т.і.

В свою чергу **імунохімічні методи аналізу** умовно розділяють на чотири великі групи:

До **першої групи** належать прямі (безпосередні) методи визначення реакції антиген-антитіло. Комплекс антиген-антитіло, що при цьому утворився, визначається візуально, або за допомогою звичайних оптичних приладів. До таких методів відносять преципітацію на полімерній плівці, у розчині або гелі, турбодиметрію, нефелометрію, аглютинацію бактеріальних клітин, найпростіших, пряма реакція аглютинації еритроцитів антитілами, вірусами.

До **другої групи** відносять реакції пасивної аглютинації, тобто аглютинації часток, з поверхнею яких зв'язані антигени або антитіла. Такі препарати отримали назву – діагностікум. До цих методів належать реакції пасивної та непрямой гемаглютинації (**РНГА**), латексаглютинації, коаглютинації, аглютинації часток бентоніту, желатинових капсул, часток сефарози та інш.

До **третьої групи** належать індикаторні методи, що базуються на використанні різних міток для визначення реакції антиген-антитіло. Найбільш поширені – імуноферментний (**ІФА**) аналіз, імунофлюоресцентний та радіоімунологічний (**РІА**) аналіз.

До **четвертої групи** треба віднести бурхливо розвинені напрямки лабораторного аналізу – імуносенсорні методи.

Принцип методів, заснованих на імуносенсорних технологіях містить визначення змін у фізико-хімічних властивостях мембрани або іншого носія, що має зв'язок з антитілами чи антигенами. Зменшення мембранного потенціалу, зміни оптичних чи хімічних властивостей середовища, прилеглого до носія, вимірюються за допомогою спеціального електроду або оптичного пристрою та відбиваються у вигляді електричного сигналу.

Розглянемо імунохімічні методи **третьої групи** - індикаторні методи

Метод імуноферментного аналізу

Для раннього виявлення хвороби та моніторингу її течії, контролю за ефективністю лікування та виявленням рецидивів у ранні строки, широко застосовують високо надійні імуноферментні методи аналізу

Загальною відзначною рисою імуноферментного аналізу є те, що в якості індикаторної молекули, що дозволяє слідкувати за імунним комплексом, використовується молекула ферменту. Відомо, що фермент може

модифікувати не одну молекулу субстрату, а декілька. Це робить метод ІФА дуже чутливим. Іноді вона вища за чутливість інших методів (РІА, імунофлюоресцентних).

Історія винаходу ІФА-методів починається з того часу, коли біохіміки почали ковалентно «пришивати» (іммобілізувати) молекули ферментів до молекул білків. І особливо – до імуноглобулінів. Однак, тільки через п'ять років кропіткої праці ми отримали методи ІФА у тому вигляді, що маємо зараз.

Метод ІФА базується на двох принципах: Першим є *властивість ферментів та антитіл зберігати свою функціональну активність навіть у зв'язаному з твердою основою вигляді*. І не має значення зв'язок ковалентний чи не ковалентний. Процедура пришивання не повинна змінювати імунні властивості фермент-міченого учасника реакції. Виявляти імунний комплекс зручно, використовуючи здатність ферменту розщеплювати субстрат, який змінює колір під час реакції. В такому разі використовують спектрофотометрію. Імунний комплекс можна виявляти як в розчині, так і при адсорбції чи ковалентній іммобілізації на твердому носії.

Другий принцип базується на *можливості створювати комплекс антитіло-фермент (At-F) у кон'югованому вигляді, який зберігає свою біологічну активність у розчині*.

Існує декілька модифікацій ІФА:

1. **ELISA** (enzyme linked immunoabsorbent assay) – метод визначення за допомогою імуносорбентів, зв'язаних з ферментами;
2. **EIA** (enzyme immunoassay) - метод на основі фермент-імуновизначення;
3. **EMIT** (enzyme multiplied immunoassay technique) - спосіб, заснований на зв'язку ферменту з декількома імунними агентами.

Розрізняють два принципово різних типи ІФА – гомогенний (EMIT) та гетерогенний (ELISA и EIA). Гетерогенний ІФА іноді називають *твердофазним* – гІФА.

Гомогенний ІФА (гІФА) найпростіший в методичному відношенні. При його постановці один з учасників (низькомолекулярний агент) помічають ферментом. Далі спостерігають за формуванням комплексу. Зміни активності ферменту реєструють.

гІФА має низку переваг перед іншими імунохімічними методами. По-перше, його відзначає висока експресія. За допомогою гІФА визначення потребує кількох хвилин.

По-друге, метод має одну стадію і не потребує трудомістких та потребуючих часу етапів промивки.

По-третє, метод потребує мінімальних об'ємів біологічного та клінічного зразків.

Однак, гІФА-метод має один *недолік*. Антитіло може ефективно екранувати або модифікувати зв'язану з ним молекулу ферменту тільки при взаємодії з низькомолекулярним антигеном. Тому, на засадах гІФА можливе

створення діагностичних тест-систем тільки для низькомолекулярних антигенів.

Для визначення широкого класу речовин: гормонів, онкомаркерів, лікарських препаратів у крові хворого, наркотиків, бактерій і вірусів та антитіл проти них застосовують твердофазний метод – тІФА.

Загальні принципи методу тІФА *Визначення антитіл*

Принцип методу не залежить від виду біологічного субстрату організму (сеча, кров, слина), в якому проводять визначення.

Під час кожної стадії в систему додають черговий компонент, для отримання імунного комплексу проводять інкубацію. Після цього вічко промивається для видалення компонентів, що не зв'язалися. Потім переходять до іншої стадії реакції.

На тверду поверхню планшету (тверда фаза) сорбують антигени будь-якого інфекційного агента (фрагмент бактерії, вірусу тощо). На першій стадії в це вічко вносять піддослідний матеріал (сироватка крові хворого).



Якщо в ній містяться антитіла до інфекційного агента, то вони закріплюються на відповідних антигенах. При промиванні вони залишаються зв'язаними.

На другій стадії аналізу до вічка вносять антитіло із заздалегідь прикріпленим ферментом. Цей комплекс здатен зв'язувати антигени людини, що закріпилися на інфекційному агенті – так званому кон'югаті. Якщо у вічку присутні імунні комплекси, що утворилися на першій стадії, то виникає молекулярний ланцюг. На його кінці знаходиться фермент.

На наступній стадії до вічка додають безбарвний розчин хромогену. Фермент з молекулярного ланцюга розщеплює хромоген і той отримує

забарвлення. Забарвлений комплекс утворюється тільки за умови присутності у вічку усіх компонентів ланцюга. Якщо імунні комплекси на першій стадії не виникають, то інші частини молекулярного ланцюга теж відсутні. Тому хромоген не буде забарвлювати розчин.

Специфічні антитіла із сироватки крові хворого до інфекційного агента відіграють ключову роль у цій реакції. Методом тІФА ми аналізуємо здатність деяких антитіл у піддослідному матеріалі зв'язуватися з антитілами, що нас цікавлять.



Тест-системи для проведення ІФА

На результати аналізу суттєво впливають властивості самої тест-системи – ступінь очистки, кількість антигенів, що доступні для утворення імунних комплексів, та особливості імунної відповіді хворого. До того ж багато залежить від виду антигену, який сорбують на тверду фазу.

Позитивний результат тесту свідчить тільки про наявність у зразку антитіл, здатних зв'язуватися з поверхневими антигенами, закріпленими на твердій фазі.

Визначення антигенів

Для визначення антигенів, що є інфекційними агентами, використовують іншу модифікацію тІФА. В цьому випадку на тверду фазу (поверхню планшету) сорбують антитіла до піддослідного агента. Утворюється реакційний ланцюг: антитіло → реакційний агент → антитіло + фермент. Якщо у зразку наявний антиген, то утворюється імунний комплекс.

Фермент, що присутній у вічку, здатен розщеплювати хромоген з утворенням забарвленого продукту. Це стає можливим тільки за умови повного ланцюга. Якщо у зразку дослідний антиген відсутній, то ланцюг не утворюється і хромоген не забарвлюється.

Наявність специфічних антитіл до дослідних антигенів не відображає стану загального імунного статусу. Динаміка змін концентрації специфічних антитіл тим більш не відображає ефективність терапії чи зберігання в організмі інфекційного агента. Отже, методом тІФА ми визначаємо тільки наявність у системі антигену, що може зв'язуватися.

Індикаторні методи аналізу дозволяють:

- Встановити стадію хвороби;
- Контролювати перебіг захворювання та прогнозувати його кінець;
- Встановлювати показники до вакцинації та контролювати її ефективність;
- Визначати критерії безпеки крові та її препаратів;
- Виявляти гострі та хронічні форми вірусних гепатитів;
- Встановити етіологію вірусних гепатитів А, В, С, D, Е та їх асоційовані форми (вірусологічний діагноз вірусних гепатитів С та Е має бути тільки приблизний);
- Визначати ризик передачі інфекції від матері до плоду.

За фізико-хімічними характеристиками тІФА дуже схожий на твердофазний РІА. Відмінності стосуються лише індикаторних молекул – у тІФА це фермент, а у тРІА це радіоактивні ізотопи. Інші принципи співпадають – в обох методах використовується тверда матриця, на яку сорбують імунний комплекс; ідентичний спосіб видалення компонентів, що не увійшли до комплексу.

Радіоімуноаналіз (РІА)

РІА-метод відносять до методів сатураційного аналізу. Різновид дослідження, що базується на конкурентному зв'язуванні деяких речовин (лігандів) з піддослідною сполукою та його міченим аналогом, що додають ззовні, називають сатураційним (насичуючим) аналізом.

Мічені аналоги конкурують за ліганд. При цьому ліганд додають у суміш в такій кількості, аби його здатність зв'язуватися повністю наситилася. Чим більше в пробі дослідної речовини, тим менше мічений компонент зв'яжеться з лігандом. Після цього видаляють вільні речовини, залишаючи комплекс ліганд-мічений аналог, та підраховують кількість мітки. Мітку підраховують у складі комплексу та поза ним.

В якості лігандів використовують три групи речовин:

- Антитіла
- Специфічні транспортні білки
- Рецепторні білки органів – мішеней.

Особливості методу конкурентного зв'язування полягають в тому, що ліганди використовують виключно біологічного походження, а мічений аналог отримують з природної радіоактивної речовини. Мітку до речовини додають у вигляді окремого атома чи хімічної групи.

Важливим різновидом сатураційного аналізу є радіонуклідний метод. Він базується на використанні сполуки з радіоактивною міткою.

В залежності від природи ліганду - акцептора, що зв'язує агент, методи розрізняють:

- ❖ *Істино радіоімунологічні методи.* В них в якості ліганду використовують антитіла, що специфічні до дослідної речовини;
- ❖ *Методи білково-конкурентного аналізу.* В них лігандом є специфічні білки сироватки крові (трансферрин, транскортин, глобулін, тироксин-зв'язуючий глобулін, тестостерон). Їх здатність до утворення комплексів з дослідними агентами у пробірці залишаються;
- ❖ *Методи радіорецепторного аналізу.* В них в якості акцепторів використовують тканинні білки.

У 1960 році **Розалін Сасмен Ялоу та Соломон Берсон** використали метод РІА для вивчення кількості ендogenous інсуліну у плазмі крові людини.



Розалін Сасмен Ялоу та Соломон Берсон

В основі РІА лежить феномен конкуренції - зв'язування антитіла з антигеном, що мічений радіоактивним ізотопом, придушується в присутності неміченого (вільного) антигену. Тобто дослідні та аналогічні їм мічені радіонуклідами речовини конкурують за можливість зв'язатися зі специфічними до них антитілами. Утворені комплекси антиген-антитіло визначаються на спеціальних лічильниках – радіоспектрометрах. Як правило, для мітки частіше за все використовують ізотоп йоду-¹²⁵, який має період напіврозпаду 60 днів та високу питому радіоактивність.

Як ми бачили, в ІФА ферментативна реакція сильно залежить від температури, часу, рН, якості води, ступеню спрямованості прямого світла. Тому добрі результати у ІФА досягаються тільки при використанні повністю автоматизованих аналізаторів, що виключає можливі неточності в процедурі

аналізу. Однак, такі аналізатори дуже дорогі та ставлять споживача в залежність від фірми-виробника.

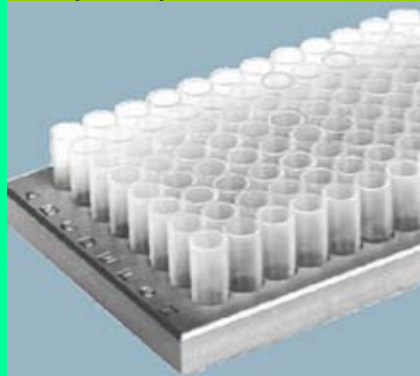
Перевагами РІА є проведення визначення без попереднього розведення зразків для аналізу. Метод РІА має високу чутливість та специфічність. Незаперечною перевагою цього методу також є можливість стандартизувати та автоматизувати процес визначення та отримання відповідей у числовому вираженні.

Спеціальне обладнання для РІА



• Ротор центрифуги для РІА

• Штатив з пробирками для РІА



Недоліки методу пов'язані з використанням радіоактивних речовин та відносно коротким терміном придатності тест-системи, що визначається розпадом радіоактивної мітки. Окрім того, діагностика за допомогою методу РІА передбачає наявність спеціалізованої лабораторії, а також гамма-лічильників.

Методика РІА проста у використанні. Вона включає наступні етапи:

- До сироватки крові, яка містить невідому кількість неміченого антигену, додають антисироватку (антитіла) та мічений антиген.
- Концентрацію антитіл в реакційній суміші підбирають так, аби кількість місць зв'язування була набагато меншою за загальне число антигенів. Концентрація міченого антигену повинна перевищувати максимально можливу кількість антигену в пробі.
- Реакційну суміш інкубують обумовлений час при зазначеній температурі. За цей час мічений та немічений антигени конкурентно зв'язуються з антитілами. Імунні комплекси, що утворилися, мають у своєму складі мічений або немічений антиген. Окрім того в суміші присутні вільні мічені та немічені антигени. Кількість зв'язаних мічених антигенів зворотно пропорційна кількості вільного неміченого антигену у зразку.
- Аби оцінити кількість мічених імунних комплексів, що утворилися, їх відокремлюють від вільних мічених антигенів, що не зв'язалися.

Найпоширенішими способами розділення зв'язаних та вільних антигенів є:

1) додавання до реакційної суміші речовини, що підвищує щільність (поліетиленгліколь),

2) додавання до реакційної суміші речовини з більшою молекулярною масою. Ця речовина специфічно зв'язується з антитілами у складі імунних комплексів. Для цього використовують вторинні антитіла або стафілококовий білок А.

В обох випадках імунні комплекси, що мають більшу молекулярну масу ніж вільні антигени, осаджують центрифугуванням та вимірюють радіоактивність осаду.

- Будують калібрувальну криву для визначення концентрації антигену у зразку. Для цього використовують декілька стандартних калібрувальних розчинів з відомими концентраціями неміченого антигену.

Розроблено багато варіантів РІА. Методика, що зазначена вище, має назву – *рідиннофазний РІА* тому, що усі реагенти знаходяться у розчинному вигляді. Існує і *твердофазний РІА*. В ньому антитіла іммобілізуються на водонерозчинному носії (полістеролі).

Особливий різновид методу РІА – це *імунорадіометричний аналіз* (ІРМА). На відміну від РІА, в ньому використовують мічені антитіла.

Неможливо переоцінити роль імунохімічних методів у діагностиці захворювань та фундаментальних медико-біологічних дослідженнях.

Безумовно, при плануванні та оцінці результатів імунохімічних досліджень необхідно мати на увазі всі їх особливості та тонкощі, ставити діагностичне завдання з урахуванням реальних можливостей методу.

Метод генного зондування

В теперішній час найбільш бездоганним діагностичним методом, який дозволяє виявляти поодинокі клітини збудників багатьох інфекційних хвороб за рахунок багаторазового збільшення кількості копій дослідних специфічних послідовностей ДНК, є метод генного зондування. Такі переваги досягаються за рахунок високої чутливості тест-систем. Чутливість імунологічних та мікроскопічних тестів коливається в межах 10^3 - 10^6 клітин. А у тест-системах до генного зондування – 10 бактеріальних клітин.

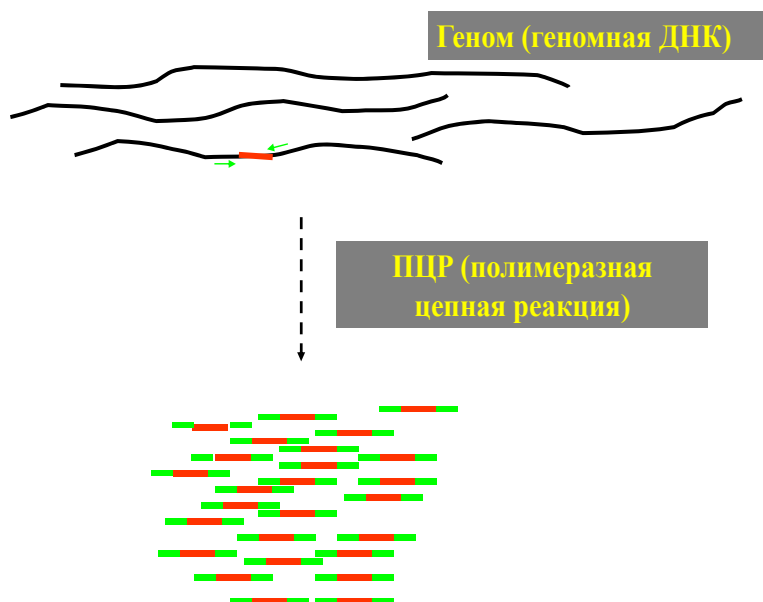
В основі методів генного зондування лежить спроможність нуклеїнових кислот до гібридизації – утворенню двохланцюгових структур за рахунок взаємодії комплементарних нуклеотидів. Для визначення потрібної послідовності ДНК або РНК спеціально створюється полінуклеотид з зазначеною послідовністю нуклеотидів – зонд. До його складу вводять спеціальну мітку, що дозволяє ідентифікувати утворений комплекс.

Істотним етапом розвитку методів генного зондування виявилось застосування полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) - ізольованого примноження гену чи його фрагменту. Цей метод дозволяє збільшити концентрацію

зазначеної послідовності ДНК, що відома заздалегідь, у зразку за рахунок численних копій *in vitro*.

Метод ПЛР

ПЛР (полімеразна ланцюгова реакція) – це метод, який використовує ампліфікацію. Ампліфікація (від фр. , англ. Amplification – «збільшення») – це збільшення кількості копій ДНК.



Метод дозволяє знайти в дослідному клінічному матеріалі невелику частину генетичної інформації будь-якого організму та багаторазово його примножити. У методі ПЛР використовують природну реплікацію ДНК, тобто розплетення подвійної спіралі ДНК, розходження ниток та їх комплементарне копіювання. Реплікація ДНК починається не у будь-якій крапці, а тільки у визначеній стартових ділянках огі (від англ. origin - початок). Таких ділянок (сайтів) на одній молекулі ДНК нараховують приблизно 100. До огі-ділянок повинен приєднатися короткий фрагмент зародку – праймер. При внесенні у дослідну пробу двох праймерів, що виконують роль генетичних детекторів, вони вишуковують у розчині ділянки, до яких вони комплементарні, тобто можуть приєднатися. При цьому утворюється двохнитчасту стартову ділянку. Після приєднання (відпал) праймерів починається відтворення специфічного фрагменту ДНК за допомогою ферменту – термостабільної ДНК полімерази.

Наново синтезовані фрагменти ДНК використовують у якості матриці для синтезу нових ниток у наступному циклі ампліфікації, тобто починається ланцюгова реакція у ПЛР.

В результаті кількість копій фрагменту збільшується у геометричній прогресії і через 25 циклів ампліфікації синтезується 106 копій фрагменту.

Впродовж 30-40 циклів напрацьовується кількість ДНК, що достатня аби візуально враховувати результати реакції.

Для переліку результатів ампліфікації необхідно провести електрофорез у агарозному гелі.

Тест-системи на засадах ПЛР ефективні при діагностиці важко культивованих та персистуючих форм патогенних бактерій.

До аналізу методом ПЛР придатний будь який матеріал, у тому числі кров, сеча, сироватка, лаважні маси, мокрота, шлунковий сік, гістологічні препарати, біопсійний матеріал. Також можливо використовувати матеріал, отриманий з об'єктів оточуючого середовища: вода, ґрунт.

У методі ПЛР результати отримують через декілька годин, тобто під час одного робочого дня.

Методика ПЛР складається з 3 загальних процедур:

1. Підготовка піддослідного зразка. Загалом це ізоляція ДНК або РНК з біологічного матеріалу.
2. Власне ПЛР.
3. Детекція ампліфікованої ДНК.

Виконання ПЛР у реальному часі потребує використання методу флуоресценції з подальшою детекцією сигналу. Це дозволяє спостерігати процес накопичення продукту під час ПЛР, а не після отримання продукту. Під час проходження ПЛР флуоресцентний сигнал зростає пропорційно кількості продукту ампліфікації. Якщо побудувати кінетичну криву сигналу, то можна побачити, що момент помітного збільшення сигналу та відриву його від фонового (пороговий цикл) залежить від початкової кількості ДНК-мішені. Чим більше ДНК у зразку, тим швидше спостерігається початок збільшення сигналу флуоресценції та тим менше пороговий цикл.

Проведення ПЛР-ампліфікації

1. У пробірці розміщують 0.1-0.01 мкг геномної ДНК або краплю слини, сечі або крові, шматочок тканини або кістки чи окрему волосяну сумку.

2. Додають у суміш праймери – хімічно синтезовані олігонуклеотиди. Послідовність нуклеотидів у них підбирають таким чином, аби вони були комплементарними до крайніх частин фрагменту ДНК, що ампліфікується. Зазвичай їх довжина сягає декількох сотен нуклеотидів. Праймери скеровані своїми 3'-кінцями один до одного, тобто всередину фрагменту ДНК, що ампліфікується.

3. Додають фермент - термостабільну ДНК-полімеразу, що каталізує подовження (елонгацію) молекули ДНК.

ДНК-полімераза використовує праймер як запал, а початкову ДНК як матрицю для синтезу.

Термостабільні полімерази бувають двох видів:

- Ті, що мають корегуючу активність та дають двохланцюговий

фрагмент з «тупими» кінцями;

- Ті, що не мають корегуючу активність та дають продукт з «гострими» залишками аденіну на кінцях;

Термостабільну ДНК-полімеразу, що необхідна для цієї реакції, вперше видалили та вивчили радянські вчені А.С. Каледін, А.Г. Слюсаренко та С.І. Городецький, що працювали у ВНДІ генетики. У квітні 1980 року в журналі «Біохімія» вийшла їх стаття.

4. До реакційної суміші додають дезоксинуклеотиди – цеглинки, з яких будуються ланцюги ДНК.

Пробірку з такою сумішшю нагрівають майже до температури кипіння води. Від теплової денатурації ланцюги подвійної спіралі ДНК розходяться та вивільняють місця для прикріплення праймерів.

Це і буде початок першого циклу. Потому пробірки охолоджують до оптимальної температури наплавлення праймерів на зазначенні місця. Праймери починають вишукувати комплементарні до них місця та прилипають до них. Потім починається синтез нового ланцюга ДНК. При цьому ДНК-полімераза повзе по старому ланцюгу, як по матриці, та синтезує (подовжує) новий. Пересування полімерази відбувається завжди у 5'-3' напрямку. Таким чином відтворюється точна копія попередньої нитки ДНК, що витопилася у результаті денатурації.

Оскільки праймери спрямовані один до одного, то ДНК-полімераза синтезує двохланцюговий фрагмент, що обмежен праймерами з обох боків. Цим закінчується 1-й цикл.

Потому цикл прогрівання та охолодження пробірки багаторазово повторюється. Ця процедура потребує спеціального приладу – термоциклеру.

Ампліфікатори



Для проходження 1-го циклу ампліфікації достатньо 1-3 хвилин. Під час кожного циклу кількість фрагментів ДНК подвоюється. Після 25-30 температурних циклів фрагментів ДНК стає у мільйон разів більше, ніж на

початку реакції. До того ж вони стають практично абсолютно чистими. Цієї кількості ДНК вже достатньо для подальшого аналізу нового фрагменту за допомогою, наприклад, електрофорезу або для визначення його структури шляхом секвенування.

Зараз реакція ампліфікації – це рутинний та повсякденний інструмент у кожній молекулярно-біологічній лабораторії. Застосування специфічних праймерів дозволяє використовувати варіанти методу не тільки у біотехнологічній галузі, але і у медицині. Наприклад, цим методом користуються для ідентифікації вірусу або мікроба за його ДНК, для контролю перебігу захворювання у пацієнтів на інфекційні захворювання, ідентифікації типу мутації при аналізі спадкових хвороб, тощо. Цим методом користуються у криміналістиці для ідентифікації особи за ДНК-вмісними рідинами та тканинами – так звана «геномна дактилоскопія». Ще його застосовують для встановлення батьківства, ступеню споріднення. Окрім того, метод ПЛР дозволяє досліджувати прадавні залишки бо ДНК дуже добре зберігається, та потребує невелику кількість піддослідного матеріалу.

Спеціальне обладнання для ПЛР



На сьогодні існує три варіанти ПЛР-лабораторій:

1. ПЛР-лабораторія з урахуванням результатів в режимі реального часу (Real-Time);
2. ПЛР-лабораторія з урахуванням результатів за кінцевою крапкою»;
3. ПЛР-лабораторія з урахуванням результатів електрофорезу у гелевому середовищі.

Як і інші індикаторні методи, ПЛР дуже залежить від вірності забору та транспортування піддослідного матеріалу. Якщо зразок взяти не з потрібного місця, він взагалі може не містити збудника або агента дослідження. Особливо чутливі до умов зберігання та транспортування РНК-вмісні віруси, вірус гепатиту С, ВІЧ.

Якщо від часу заборі зразка до проведення аналізу пройде більш ніж 6 годин, зразки обов'язково повинні піддаватися глибокій заморозці.

Для вірного тлумачення результатів необхідно знати, що знайдена ДНК збудника не завжди говорить про стан його життєздатності. Також не можна безпосередньо пов'язувати наявний інфекційний агент з зазначеним патологічним процесом. Найбільшу інформативність лікар отримає при комплексному обстеженні пацієнтів з використанням клінічних та лабораторних досліджень – ІФА, РІА, ПЛР тощо.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Хроматографія на папері – це метод розподілу речовин в залежності від:
 - A. Заряду молекул
 - B. Молекулярної маси
 - C. Ступеня помутніння
 - D. Флюоресценції
 - E. Розчинності та сорбції

2. Назвіть метод, в якому речовини розподіляються по носію під дією електричного струму при заданому значенні рН:
 - A. Хроматографія
 - B. Електрофорез
 - C. Фотометрія
 - D. ІФА
 - E. ПЛР

3. Метод електрофорезу використовується для визначення:
 - A. Білкових фракцій
 - B. Компонентів залишкового азоту
 - C. Ліпідного складу речовин
 - D. Молекул ДНК або РНК
 - E. Стероїдних гормонів

4. Газова хроматографія застосовується найчастіше в:
 - A. Цитології
 - B. Мікробіології
 - C. Токсикології
 - D. Паразитології
 - E. В усіх зазначених випадках

5. Основні компоненти радіоімунологічного аналізу (РІА):
 - A. Радіоактивна мітка
 - B. Антиген
 - C. Антитіло
 - D. Ліганди
 - E. Все перелічене

6. За допомогою РІА можна визначити таку кількість речовини:
 - A. 10 – 100 мг/л
 - B. 10 – 100 мкг/л

- C. до 1 г/л
 - D. 10^{-6} - 10^{-9} г/л
 - E. 10^{-9} – 10^{-12} г/л
7. Імуноферментний аналіз застосовується при:
- A. Діагностиці вагітності
 - B. Диспротеїнеміях
 - C. Подагрі
 - D. Дизбактеріозі вагіни
 - E. Гормонозамісній терапії
8. Для визначення імунних комплексів в ІФА використовують:
- F. Рецептори
 - G. Поліакриламідний гель
 - H. Радіоактивну мітку
 - D. Ферменти
 - E. Інертний газ
9. Переваги імунорадіометричного аналізу:
- A. Відбувається насичення агенту міченим та неміченим лігандами
 - B. Використовуються рецептори як зв'язкові агенти
 - C. Зберігається біологічна активність гормона
 - D. Конкуренція між стандартом і дослідом за зв'язок з антитілом
 - E. Використовується найбільш стабільний мічений реагент
10. Метод ПЛР -полімеразної ланцюгової реакції заснований на:
- A. Копіюванні молекул ДНК або РНК
 - B. Взаємодії зі сорбентом
 - C. Електрофоретичній рухомості молекул білка
 - D. Ступені забарвлення речовин
 - E. Утворенні комплексу “антиген / антитіло”
11. Принцип методу ПЦР – це:
- A. Визначення швидкості руху молекул
 - B. Флюоресценція речовин
 - C. Визначення міченої радіоактивною міткою речовини
 - D. Здатність молекул НК до копіювання
 - E. Взаємодія з інертним носієм
12. Виберіть основні етапи роботи, що проводяться при ПЛР:
- A. Денатурація, запал, синтез НК
 - B. Розподіл, денатурація, фарбування, денситометрія
 - C. Нанесення, зв'язування, елюювання, фотометрія
 - D. Зв'язування, насичення, фіксація, центрифугування

Е. Насичення, термостатування, фарбування, ідентифікація

13. Переваги методу ПЛР:

- А. Конкуренція між стандартом і дослідом за зв'язок з антитілом
- В. Мала кількість дослідницького матеріалу
- С. Тривалий час дослідження
- Д. Спеціальні умови роботи лабораторії
- Е. Використання якісних тест-систем

14. Діагностика захворювань за допомогою ПЛР, ІФА:

- А. Вірусні гепатити
- В. Герпетична Інфекція
- С. Туберкульоз
- Д. Онкологічні захворювання
- Е. Всі відповіді вірні

15. Для ідентифікації метаболітів, що видалені з біологічного матеріалу, використовують методи:

- А. Екстракції
- В. Хроматографії
- С. Діалізу
- Д. Центрифугування
- Е. Перегонки

16. Кількісний аналіз використовують для визначення відносної кількості:

- А. Елементів
- В. Іонів
- С. Хімічних сполук
- Д. Білків
- Е. Всі відповіді вірні

17. У гравіметричному аналізі вимірюють

- А. Масу
- В. Вологість
- С. Розчинність
- Д. Заряд
- Е. Оптичну щільність

18. Реакції утворення або руйнування забарвлених сполук, які здатні поглинати світло лежать в основі:

- А. Якісного аналізу
- В. Гравіметричного аналізу
- С. Колориметричного методу

- D. Флюориметричного методу
- E. Рефрактометричного методу

19. До оптичних методів кількісного аналізу належить:

- A. Хроматографія
- B. Поляриметрія
- C. Гравіметрія
- D. Електрофорез
- E. Екстракція

20. Яку товщину шару повинна мати кювета для визначення молярного коефіцієнта поглинання розчину:

- A. 10 см.
- B. 2 см.
- C. 1 см.
- D. 1 дм.
- E. 1 м.

ВІДПОВІДІ ДО ЗАВДАНЬ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ**До розділу: «Клінічна біохімія»**

1.E 2.C 3.D 4.B 5.A 6.D 7.C 8.E 9.B 10.A 11.A 12.D 13.B 14.C 15.D 16.E 17.A
18.B 19.E 20.A

До розділу: «Загальні уявлення про ферменти. Основи клінічної ензимодіагностики»:

1.B 2.E 3.A 4.B 5.A 6.C 7.D 8.D 9.B 10.B 11.A 12.D 13.A 14.C 15.E 16.C 17.D
18.B 19.C 20.A

До розділу: «Клініко-біохімічний критерій обміну білків в нормі та при патології»:

1.C 2.B 3.B 4.D 5.D 6.B 7.B 8.C 9.C 10.C 11.A 12.B 13.E 14.D 15.D 16.E 17.C
18.C 19.D 20.D

До розділу: «Клініко-біохімічні критерії обміну вуглеводів в нормі та при патології»

1.C 2.B 3.C 4.D 5.D 6.A 7.B 8.A 9.A 10.D 11.A 12.D 13.A 14.C 15.D 16.A 17.C
18.E 19.A 20.B

До розділу: «Клініко-біохімічні критерії обміну ліпідів в нормі та при патології»

1.B 2.E 3.A 4.B 5.C 6.B 7.A 8.D 9.E 10.E 11.A 12.C 13.A 14.D 15.A 16.E 17.C
18.B 19.E 20.A

До розділу: «Клініко – біохімічні критерії при захворюваннях нирок і сечовивідних шляхів»

1.E 2.B 3.E 4.C 5.E 6.D 7.E 8.A 9.D 10.B 11.A 12.C 13.B 14.E 15.E 16.B 17.D
18.E 19.A 20.D.

До розділу: «Порушення ендокринних функцій та клініко-біохімічна оцінка стану ендокринної системи»

1.C 2.B 3.B 4.B 5.B 6.A 7.D 8.D 9.A 10.A 11.E 12.A 13.B 14.C 15.A 16.B 17.D
18.C 19.E 20.A

До розділу: «Клініко-біохімічні критерії при патології сполучної тканини»

1.B 2.B 3.D 4.D 5.A 6.A 7.A 8.D 9.B 10.C 11.C 12.C 13.A 14.B 15.B 16.E 17.D
18.B 19.A 20.E

До розділу: «Водно-електролітний обмін в нормі та при патології»

1.C 2.A 3.C 4.D 5.D 6.E 7.A 8.B 9.E 10.B 11.D 12.A 13.C 14.D 15.D 16.A 17.E
18.A 19.E 20.E

До розділу: «Сучасні методи лабораторної діагностики»

1.B 2.B 3.A 4.C 5.E 6.E 7.A 8.D 9.A 10.A 11.D 12.A 13.B 14.B 15.B 16.E 17.A
18.C 19.B 20.C

ЛІТЕРАТУРА