

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кафедра клінічної лабораторної діагностики

ФУНКЦІОНАЛЬНА БІОХІМІЯ ТКАНИН

ПОСІБНИК

*для самостійної аудиторної та позааудиторної підготовки до
практичних занять і ліцензійного іспиту «Крок-Б»*

студента _____
_____ групи IV курсу II медичного факультету
спеціальності: **224 «Технології медичної діагностики та лікування»**

Запоріжжя
2022

*Затверджено на засіданні Центральної методичної Ради ЗДМУ
та рекомендовано для використання в освітньому процесі
(протокол № від 2022 р.)*

Укладачі:

*С. В. Павлов - д-р біол. наук, професор;
С. А. Біленький - канд. мед. наук, доцент;
Н. В. Бухтіярова - канд. мед. наук, доцент;
Л. В. Баранова - канд. фарм. наук, ст. викладач;
К. В. Левченко – канд. мед. наук, асистент;
Ю. В. Нікітченко – асистент;
К. А. Бурлака – асистент;
Д. В. Робота – асистент;
О. О. Марічева – асистент.*

Рецензенти:

О.В. Возний – д.мед.наук, завідувач кафедри терапевтичної, ортопедичної та дитячої стоматології ЗДМУ;

Б. С. Бурлака - канд. фарм. наук, доцент кафедри технології ліків ЗДМУ;

*За загальною редакцією зав. кафедрою клінічної лабораторної діагностики професора,
доктора біол. наук Павлова С.В.*

Функціональна біохімія тканин.: посібник для самостійної аудиторної та позааудиторної підготовки до практичних занять і ліцензійного іспиту «Крок-Б» студентів 4 курсу II медичного факультету спеціальності 224 «Технології медичної діагностики та лікування» / уклад. : С.В. Павлов, С.А. Біленький [та ін.]; за заг. ред. Павлова С.В. – Запоріжжя : ЗДМУ, 2022. – 123 с.

Запропонований посібник є необхідним навчальним посібником для вивчення клінічної біохімії студентами четвертого курсу II медичного факультету спеціальності «Технології медичної діагностики та лікування».

В посібнику міститься вся необхідна інформація щодо індивідуальної самостійної роботи студентів, а також питання для підготовки до складання підсумкового контролю засвоєння матеріалу навчальної дисципліни «Клінічна біохімія». Все вище зазначене допоможе студентам при підготовці до практичних занять, здачі підсумкового контролю засвоєння матеріалу та ліцензійного іспиту «КРОК-Б».

ЗМІСТ:

Розділ 3: Функціональна біохімія органів і тканин		
1	Клініко-біохімічні критерії при захворюваннях серцево-судинної системи	4
2	Загальна характеристика системи регуляції агрегатного стану крові. Система гемостазу, функціонування в нормі та при патології	27
3	Протизгортальна і фібринолітична системи та їх функціонування в нормі та при патології. Дослідження системи РАСК	46
4	Біохімічні функції печінки в нормі. Лабораторна діагностика порушень функцій печінки.	56
5	Мікросомальне окислення. Біотрансформація ксенобіотиків.	75
6	Біохімія нирок. Роль нирок в регуляції водно-сольового обміну. Обмін води та основи КЛС. Водний баланс в нормі та при патології. Мінеральний обмін та його регуляція в нормі та при патології.	86
7	Функціональна біохімія деяких тканин	98
8	Контроль засвоєння розділу 3	117
9	Підсумкове заняття з частини 2 дисципліни «Клінічна біохімія»	119
10	Література	123

ТЕМА № 1

ТЕМА: Клініко-біохімічні критерії при захворюваннях серцево-судинної системи

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ:

Серцево-судинні захворювання загалом та патологія міокарду зокрема є однією з актуальних причин смертності в сучасному суспільстві.

МЕТА ЗАНЯТТЯ:

На основі знань про біохімію та фізіологію серцевого м'яза сформувати значення та методи якісного і кількісного визначення активності індикаторних ферментів та специфічних білків в ранній діагностиці інфаркту міокарду та інших патологій серцевого м'яза.

ТЕОРЕТИЧНИЙ МАТЕРІАЛ З ТЕМИ

Серце – центральний орган серцево-судинної системи, “двигун”, що забезпечує безперервний рух крові. Для своєї роботи воно потребує значної кількості хімічної енергії, яка утворюється в результаті багатьох біохімічних реакцій в серцевому м'язі. Порушення будь-якої з них призводить до розладу роботи серця. Ефективність механічної роботи серця в даному аспекті можна розглядати як відношення енергії, яку потрібно затратити для нагнітання певного об'єму крові проти опору, що виникає в аорті, до енергії, яка вивільняється під час використання міоцитами кисню. У стані спокою вона становить 12 %, а при фізичному навантаженні зростає до 18-25 %.

Значні енергетичні затрати потребують постійного забезпечення необхідною кількістю хімічної енергії у вигляді АТФ. Серце поглинає з крові коронарних судин близько 70 % кисню. Синтез великої кількості АТФ забезпечується великою кількістю мітохондрій. Так в лівому шлуночку мітохондрії займають близько 30-35 % об'єму кардіоміоцитів. Головним енергетичним джерелом для серцевого м'яза є ліпіди (вільні жирні кислоти, кетонів тіла) та вуглеводи. Використання конкретних субстратів залежить від їх рівня у

периферійній крові, який, в свою чергу, зумовлений їх співвідношенням в харчовому раціоні, а також фізичним та емоційним станом організму.

Аеробне окиснення ВЖК, кетонів, глюкози і лактату (через піруват) призводить до утворення ацетил-КоА, який надходить у цикл Кребса, де окиснюється до кінцевих продуктів (CO_2 і H_2O), а утворені при цьому відновлені нікотинамідні та флавінові ферменти беруть участь в синтезі АТФ, який використовується: при скороченні серцевого м'яза (60-70%), роботі йонних pomp (10-15%) та в анаболічних процесах (5-7%), в тому числі в синтезі білків, нуклеїнових кислот і структурних ліпідів.

Головна особливість енергетичного обміну серцевого м'яза полягає у тому, що він має аеробний характер. На це вказує те, що:

1. 40% сухого залишку м'яза – мітохондрії. Споживання кисню в 15 разів вище, ніж у інших тканинах.
2. 70% кисню витрачається на окислення жирних кислот.
3. В умовах фізичного навантаження збільшується частка глюкози та молочної кислоти.
4. Ca^{2+} екстрацелюлярного походження (через плазматичні мембрани).
5. Після фізичного навантаження основне джерело енергії – кетонів тіла.
6. При інтенсивній м'язовій роботі частка лактату становить від 60 до 90%. За рахунок лактат-дегідрогенази 1 (ЛДГ1).
7. Особливою є роль креатинфосфату (Кр~Ф). Вона подвійна: енергетична і роль переносія енергії з мітохондрій до міофібрил.

Ішемічна хвороба серця виникає в разі порушення рівноваги між потребою в кисні та його реальним постачанням до міокарда. Порівняно невелика кількість кисню, який залишається в еритроцитах капілярів чи зв'язаний із гемоглобіном, швидко витрачається. Зменшення вмісту кисню в тканинах зумовлює синюшність шкіри в перші 5-15 сек. важкої ішемії, яка впливає на метаболізм, функції та структуру клітин міокарду і призводить до їх загибелі.

Головна особливість ішемії полягає в тому, що потреба у високоенергетичних фосфатних сполуках (наприклад, АТФ) є значно вищою, ніж можливість продукування цих сполук. Гальмування окисних процесів призводить до зниження рівня клітинної АТФ, а також до накопичення у цитозолі деяких потенційно шкідливих метаболітів (H^+ , Ca^{2+} , вільні жирні кислоти, лактат, ацетилкофермент-А, ацетилкарнітин, вільні радикали тощо), які порушують клітинний гомеостаз і руйнують внутрішньоклітинні структури. Наслідки метаболічних та електролітних порушень виявляються нейро- й електрофізіологічними змінами та порушенням скоротливості серця.

Дуже раннім проявом ішемії міокарда є втрата клітинами K^+ , що зумовлює посилення анаеробного гліколізу та порушення скоротливості серця ще перед істотним зниженням рівня АТФ в тканинах. Гіпокаліємія, внутрішньоклітинний ацидоз, накопичення лізофосфоліпідів, а також Ca^{2+} спричиняє електрофізіологічні зміни на субклітинному рівні. Надмірний вміст Ca^{2+} може мати низку негативних наслідків для міоцита, зумовлюючи, зокрема, активацію протеаз, ліпаз, фосфоліпаз, АТФаз, пригнічення окисного фосфорилювання в мітохондріях, кальцифікацію мітохондрій (особливо під час реперфузії міокарда).

Упродовж перших 15 хвилин гострої ішемії, коли порушення в міоцитах ще є зворотніми, спостерігаються ультраструктурні зміни: набряк мітохондрій і втрата ними крист, набряк цілої клітини, агрегація ядерного хроматину вздовж ядерної мембрани, зменшення запасів глікогену тощо.

Слід зазначити ще дві ознаки, які відрізняють змінені міоцити від незворотно ушкоджених, а саме: безсистемна зернистість, яка з'являється всередині мітохондріального матриксу, та розриви сарколеми. До складу цих комплексів входять кальцію фосфат, ліпіди й білки, які, можливо, виникають із мембранних структур і вивільняються внаслідок детергентної дії жирних кислот, ацетилкоферменту-А і ацетил-карнітину.

Раптова реперфузія ішемізованого серця призводить до досить важких наслідків, таких як швидке набрякання клітин, вихід ферментів, значне зрос-

тання в цитозолі клітин вмісту Ca^{2+} , підвищення утворення пероксиднорадикальних сполук (наприклад, в реакції за участю ксантиноксидази), що спричинює розрив сарколеми.

Лабораторні дослідження сприяють ранньому виявленню порушень в ліпідному обміні і є вирішальними для профілактики та лікування ішемічної хвороби серця. Вони пов'язані з визначенням загального рівня холестерину, LDL-холестерину (фактор ризику) і HDL-холестерину (фактор захисту), тригліцеридів у сироватці крові.

При інфаркті міокарда некроз клітин серцевого м'яза виявляють вже через 20 хвилин після гострого тромбозу коронарної артерії. Швидкість наростання некрозу може істотно різнитися і залежить від таких чинників, як периферійний кровообіг і потреба міокарда в кисні. Під час біохімічної діагностики інфаркту міокарда особливого значення набуває динаміка зростання в сироватці крові вмісту ферментів, які надходять із ушкоджених клітин міокарда. Некроз клітин призводить до таких змін:

- клітина втрачає внутрішньоклітинні йони (K^+ , Zn^{+2} , Mg^{+2} , фосфат неорганічний) внаслідок порушення енергетично залежної роботи йонних насосів;
- з'являються внутрішньоклітинні метаболіти (лактат, аденозин) внаслідок порушення регуляції клітинного метаболізму;
- відбувається втрата внутрішньоклітинних макромолекул (міоглобіну, тропоніну-Т, ферментів та інших білків) внаслідок ініційованого процесу функціональної та структурної дезінтеграції клітинних мембран.

Зазвичай для діагностики інфаркту міокарда використовують визначення в сироватці крові активності трьох ферментів: креатинкінази (КФК), лактатдегідрогенази (ЛДГ) та аспаратамінотрансферази (АсАТ). Кінетика підвищення активності цих ферментів у сироватці крові та тривалість збереження їх підвищеної активності мають різні часові характеристики. Найважливішими елементами їх зміни в часі є:

раннє зростання активності КФК у сироватці та швидке повернення її до нормальних значень; це зумовлено її Мм близько 85 000 Да і коротким півперіодом існування $t_{1/2}$ ферменту в сироватці крові;

більш пізнє й триваліше підвищення активності АсАТ (Мм 120 000 Да);

пізнє й тривале зростання активності ЛДГ (велика Мм 140 000 Да) ферменту ускладнює рухливість і дифузію його молекул).

Характеризуючи ці три ферменти з огляду на їх використання в діагностиці інфаркту міокарда, слід пам'ятати про те, що:

- 1) жоден із ферментів не є специфічним для серцевого м'яза;
- 2) активність в сироватці окремих ферментів після виникнення інфаркту міокарда залежить від часу забору крові для дослідження;
- 3) кінетика вивільнення ферментів після інфаркту міокарда залежить від перфузії ділянки інфаркту в його ранній фазі.

Це свідчить, зокрема, про можливість визначення масштабів інфаркту на підставі ферментативних досліджень.

Для уточнення діагнозу проводять:

- 1) визначення ізоферментів чи ізоформ з метою підвищення специфічності діагностики;
- 2) вибір відповідного ферменту, ізоферменту чи ізоформи, виходячи з часової залежності, характерної для певної клінічної ситуації;
- 3) використання ферментативного профілю (поєднання визначення активності кількох ферментів) та відповідних співвідношень (АсАТ/АлАТ, ЛДГ1/ЛДГзаг, ЛДГ1/ЛДГ2, КК-МВ/ККзаг);
- 4) впровадження в лабораторну діагностику інфаркту міокарда інших неферментних маркерів, наприклад, визначення міоглобіну, тропоніну-Т, тропоніну-1, легких ланцюгів міозину, які з'являються в крові;
- 5) врахування інших причин зростання активності ферментів, які визначають у сироватці крові.

Обидві амінотрансферази — АсАТ (цитоплазматична та мітохондріальна) і АлАТ (цитоплазматична) — в нормі містяться в плазмі крові людини,

спинномозковій рідині та слині, однак їх не виявляють в сечі. АЛАТ і АсАТ досліджують в сироватці крові без наявності гемолізу, оскільки активність АсАТ і АЛАТ в еритроцитах вища.

Нормальні значення активності АсАТ і АЛАТ у сироватці можуть коливатися залежно від методу визначення (температура, рН, наявність у реакцій-ному середовищі піридоксальфосфату тощо). Під час голодування ці величини можуть бути дещо нижчими. Нижчими вони є також у жінок порівняно з чоловіками. Активність АсАТ у сироватці крові може бути підвищеною:

- фізіологічно (у новонароджених рівень активності в 1,5-2 рази вищий, ніж у дорослих);

- внаслідок артефакту — помилки в долабораторній підготовці зразка (гемоліз *in vivo* та *in vitro*);

- у 2-5 разів — при цирозі печінки, пухлинній інфільтрації, панкреатиті, гіпофункції щитоподібної залози;

- у 5-10 разів — при інфаркті міокарда, після хірургічного втручання, наприклад на серці, при захворюваннях скелетних м'язів, холестазі, запущеному гепатиті;

- більше ніж у 10 разів — при гострому вірусному гепатиті, множинних розчавленнях, тяжкій тканинній гіпоксемії.

При інфаркті міокарда активність АсАТ у сироватці зростає через 8-12 год від початку болю; максимальної активності досягає через 24-36 год, а повертається до рівня норми — на 4-6-ту добу.

В 95 % пацієнтів з інфарктом міокарда активність АсАТ у сироватці крові В 2-10 разів перевищує верхню межу норми. При інфаркті міокарда виявляють також зростання активності АЛАТ в сироватці, але значно меншою мірою, ніж зростання активності АсАТ, співвідношення активності АсАТ/АЛАТ здебільшого перевищує 2 (співвідношення менше за 1 переважно свідчить про ураження печінки).

Активність ЛДГ виявляють в усіх клітинах людського організму, причому цей фермент міститься в цитозолі клітин. ЛДГ визначають у сироватці крові або гепаринізованій плазмі. Гемолізовану сироватку не можна використовувати, оскільки еритроцити мають в 300 разів вищу активність ЛДГ порівняно з сироваткою.

Нормальні значення активності ізоферментів ЛДГ у сироватці крові на підставі їх електрофоретичного фракціонування становить (% загальної активності ЛДГ): ЛДГ1, — 15-25, ЛДГ2— 30-40, ЛДГ3— 20-25, ЛДГ4 — 10-15, ЛДГ5 — 5-15.

Активність ЛДГ у сироватці крові може бути підвищеною:

фізіологічно (у новонароджених активність ЛДГ у 3-4 рази вища порівняно з дорослими);

внаслідок артефакту (гемоліз крові);

в 2-5 разів (вірусний гепатит, злоякісні новоутворення, захворювання скелетних м'язів, легенева емболія, інфекційний мононуклеоз, гіпотиреозидизм);

більш ніж у 5 разів (інфаркт міокарда, недостатність кровообігу з шоком і гіпоксією, деякі гематологічні захворювання, інфаркт нирки).

При інфаркті міокарда ЛДГ починає зростати в плазмі крові через 18-24 год. після появи болю, досягаючи максимального значення через 48-72 год. (у 90-95 % пацієнтів з інфарктом міокарда її рівень в 2-10 разів перевищує верхню межу норми).

Підвищена активність ЛДГ в плазмі крові утримується впродовж 7-12 діб. Паралельно зростанню загальної активності ЛДГ зростає активність ЛДГ1. Цей ізофермент є дуже важливим маркером інфаркту міокарда завдяки його властивостям, зокрема тривалій наявності в плазмі крові. Чутливість ЛДГ1 у підтвердженні діагнозу інфаркту міокарда становить 90 %, а діагностична специфічність — 90-99 %. Чутливість можна підвищити визначенням співвідношення активності ЛДГ1/ЛДГ2. Співвідношення, яке перевищує 1, виявляють у близько 75 % хворих на інфаркт міокарда. Для цих хворих діагностична

чутливість і специфічність наближаються до 100 % (за умови забору крові для дослідження між 24-ю і 96-ю годинами після появи болю).

Креатинкіназа (КФК) каталізує зворотне фосфорилювання креатину за участі АТФ. Найвищу активність цього ферменту виявляють у скелетних м'язах, мозку та серцевому м'язі (відповідно близько 2500, 550 і 470 ОД/г). КФК є димерною молекулою, що складається з двох субодиниць — М (м'язовий тип) і В (мозковий тип), кожна з яких має молекулярну масу 40 000 Да і є продуктом окремого гена.

Причини підвищеної активності КК у сироватці крові такі:

фізіологічне підвищення (активність ферменту зростає у 2-3 рази у новонароджених, у юнаків у період статевого дозрівання, у жінок після менопаузи, а також після фізичного навантаження);

помірне підвищення (до 5 разів) спостерігають при ушкодженні м'яза, після операції, після внутрішньом'язових ін'єкцій, при гіпотиреозі, алкохолізмі, конвульсіях, злоякісних новоутвореннях);

значне підвищення (більш ніж у 5 разів) характерне для інфаркту міокарда, міокардиту, шоку та недостатності кровообігу, м'язової дистрофії та лізису рабдоміоми (розпад скелетних м'язів).

При інфаркті міокарда загальна активність КФК у плазмі швидко зростає через 6-8 год після появи болю і досягає максимального значення через 18-30 год. Підвищений рівень активності КК може утримуватися впродовж 3-5 діб.

Рівень активності ізоферменту КФК-МВ перед інфарктом міокарда переважно становить менш як 6 % загальної активності КФК. При інфаркті міокарда ця ізоферментна фракція зростає на 30 % . При вмісті КФК-МВ, що перевищує 20 % загальної КФК, слід виключити інші причини підвищення активності КФК-МВ. Це підвищення може залежати від: методу, який використовували для визначення активності КФК-МВ і загальної КФК; масштабів ушкодження серцевого м'яза; місця ушкодження серцевого м'яза.

Діагностична чутливість для КФК становить 93-98 %, а для ізоферменту КФК-МВ — близько 100 %, тоді як діагностична специфічність становить відповідно 75-85 % і 100 %.

Вважають, що найкращим ферментативним тестом для підтвердження чи виключення діагнозу гострого інфаркту міокарда є КФК-МВ, особливо за умов використання імунохімічних методів визначення цього ізоферменту.

Не виявлено чіткої залежності рівня КФК від локалізації інфаркту міокарда та гемодинамічного стану пацієнта. У багатьох випадках одноразове визначення активності ізоферменту КК-ММ чи КК-МВ та їх ізоформ упродовж перших 48 год після виникнення болю дає змогу досить точно визначити момент виникнення інфаркту міокарда. З іншого боку, відсутність підвищеної активності КК-МВ упродовж 24 год у хворого, який не відчував болю, може виключити інфаркт.

Дезінтеграція клітинної мембрани міоцита під час його некрозу сприяє вивільненню в позаклітинний простір багатьох білків із різною молекулярною масою, структурою та фізіологічними функціями. Поруч із білками-ферментами (у зв'язку з розвитком аналітичних імунохімічних методів) неферментні білки, специфічні для серцевого міоцита, знаходять усе більше практичне застосування в діагностиці інфаркту міокарда. Неферментними білковими маркерами для інфаркту міокарда є: міоглобін, тропонін-Т та І, серцевий легкий ланцюг міозину (LC2).

Міоглобін міститься в скелетних м'язах в відносно невеликих кількостях — у серцевому м'язі (близько 400 мг/100 г тканини) людини. Кисень, зв'язаний з міоглобіном чи фізично розчинений у тканині, може підтримувати роботу серця впродовж 8 сек. (8 скорочень) за повної блокади коронарного кровообігу. Енергія, необхідна для скоротливої активності серцевого м'яза, утворюється під час розщеплення АТФ. АТФаза, що бере участь у м'язовому скороченні, локалізована у голівці міозинового волокна.

Рівень міоглобіну в сироватці крові при імунологічному дослідженні є дуже низьким (до 80 мкг/л) і залежить від статі та віку. Його зростання в

сироватці спостерігають вже через 2-3 год після появи болю, що на 3-4 год раніше, ніж зростання активності КК чи КК-МВ. Максимальну концентрацію міоглобіну в сироватці виявляють між 6 і 8 годинами (у 10-25 разів перевищує норму) від початку больових відчуттів. Цей максимум на 15-20 год випереджає появу макси-мальної активності КК чи КК-МВ. Повернення рівня міоглобіну до нормальної величини настає через 24-36 год після появи болю в ділянці грудної клітки.

У 60 % пацієнтів з інфарктом підвищення рівня міоглобіну в плазмі спостере-рігають вже через 2 год. після появи болю і в 100 % пацієнтів — через 3-5 год.

Механічна активність серцевого м'яза можлива завдяки скоротливим білковим компонентам, які організовані в окремі морфофункціональні одиниці — саркомери. Вони складаються з двох видів білкових міофіламентів. Товсті міофіламенти побудовані з міозину, тонкі — з актину та 2 регуляторних білків — тропоміозину й тропоніну. Тропонін — це білковий комплекс, що складається з трьох субодиниць:

1) тропонін Т (Тн-Т) (молекулярна маса — 37 000 Да) зв'язує тропонін із тропоміозином;

2) тропонін С (Тн-С) (молекулярна маса — 18 000 Да) слугує рецепторним білком для Кальцію і має 4 центри для його зв'язування;

3) тропонін І (Тн-І) (молекулярна маса — 24 000 Да) є фосфопротеїном, який регулює спорідненість Тн-С до Кальцію.

В цитоплазмі є невеликий запас вільного Тн-Т, який може слугувати поперед-ником для синтезу тропонінового комплексу. Імунохімічним методом у сироватці крові визначають специфічний Тн-Т, який походить з ушко-женого серцевого м'яза. Цей метод не дає змоги виявляти Тн-Т у сироватці крові здорових осіб.

Зміна рівня Тн-Т у сироватці крові під час інфаркту міокарда значно відрізняється від зміни рівня ферментів і міоглобіну, які розглядалися вище. Кінетика вивільнення Тн-Т з міоцитів у кровоплин має двофазний характер.

Перша фаза подібна до вивільнення цитозольних білків (наприклад, міогло-бін чи креатинкіназа), друга фаза характеризує вивільнення структурно зв'язаних білків (легкі ланцюги міозину серця, Тн-Т, Тн-І). У перший день після виникнення болю спостерігають швидке й інтенсивне вивільнення Тн-Т (початок зростання фіксують вже через 3 год), що залежить від об'єму крові, яка проходить через ділянку міокарда у ранній фазі. Цю залежність можна умовно визначити як відношення максимального рівня Тн-Т у сироватці крові у першій фазі інфаркту (15-20 год) до рівня Тн-Т у сироватці на кінцевій фазі виходу крові з ділянки інфаркту. Цей параметр не залежить від масштабів інфаркту і дає можливість виявити пацієнтів з реканалізацією тромба вже через 6 год після появи болю, як і пацієнтів з успішною репер-фузією. Співвідношення рівня Тн-Т, яке перевищує 1, свідчить про ранню реканалізацію obtурованих коронарних артерій. Тому Тн-Т може бути важливим показником після фібринолітичної терапії. Друга стадія зростання — вивільнення Тн-Т (на 4 добу) не залежить від об'єму крові, яка проходить через ділянку інфаркту, і забезпечується протеолітичним розщепленням скоротливих білків. Це свідчить про незворотний некроз м'яза в зоні інфаркту міокарда. Очевидно, цей максимальний рівень Тн-Т можна використати в клінічних дослідженнях для визначення розмірів інфаркту міокарда. Хоча Тн-Т серця є специфічним білком серцевого м'яза, незначне підвищення рівня Тн-Т спостерігають і в 15 % пацієнтів із клінічними проявами захворювання скелетних м'язів.

Артеріальна гіпертензія – це стан пацієнта, при якому спостерігають тривале підвищення гідростатичного тиску в артеріях великого кола кровообігу. В основі розвитку есенціальної артеріальної гіпертензії лежить ослаблення видільної функції нирок, що призводить до затримки Na^+ і води, а отже, до збільшення об'єму циркулюючої плазми та хвилинного об'єму серця. Підвищення АТ необхідне для забезпечення адекватного натрійурезу та діурезу, тобто має компенсаторний характер.

Зміни об'єму внутрішньоклітинної рідини й АТ в результаті “діурезу тиску” призводить до ще більшої затримки нирками Na^+ і води, що за механізмом позитивного зворотного зв'язку ускладнює початкове збільшення циркулюючого об'єму плазми.

Важлива роль у виникненні гіпертензії належить порушенню транспортування Ca^{2+} через клітинну мембрану внаслідок зниження активності Na^+, K^+ -АТФази сарколеми, всередині клітини підвищується вміст K^+ . За обмінним механізмом $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ підвищується концентрація внутрішньоклітинного Ca^{2+} ; внаслідок цього зростає тонус непосмугованих м'язів артеріол і венул. Порушення функції $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -насоса може бути генетично детерміноване і, ймовірно, пов'язане з циркуляцією в крові інгібітора, який поки що не виявлено. Підвищення секреції передсердного натрійдіуретичного фактора у разі порушення виділення нирками Na^+ є важливим механізмом, спрямованим на нормалізацію об'єму позаклітинної рідини.

Велике значення в патогенезі гіпертензії має і ренін-ангіотензин-альдостеронова система, що підтверджується вираженням гіпотензивним ефектом інгібіторів АПФ (ангіотензинперетворювальний фермент).

Підвищений судинний тонус спричинює гіпертрофію медії артеріоли, а значить, змінюється відповідність товщини стінки артеріоли до її внутрішнього радіуса, що спричинює значно більший судинний опір порівняно з нормою. Під час аналізу сечі хворих на злоякісну гіпертензію виявляють значну протеїнурію й гематурію. У крові спостерігають гіперліпопротеїнемію.

З метою корекції застосовують тіазидні діуретики, гіпотензивний ефект яких пов'язаний зі зменшенням об'єму циркулюючої плазми внаслідок блокади насоса Na^+, K^+ -АТФази в кортикальному сегменті висхідного відділу петлі Генле; β -адреноблокатори (аденолол, надолол), які знижують хвилинний об'єм серця; інгібітори АПФ (капотен, лізиноприл), що зумовлюють (аналогічно до блокаторів Ca^{2+} -каналів – верапаміл) периферійну вазодилатацію.

Корекція біохімічних змін під час лікування фармпрепаратами. Для корекції біохімічних змін при інфаркті міокарда застосовують препарати, дія

яких спрямована на ліквідацію тромболітичної оклюзії (стрептокіназа, урокіназа) й антикоагулянти (гепарин), ефект яких зумовлений активацією в плазмі інгібітору протеаз антитромбіну III. Інший напрям корекції спрямований на зменшення потреб міокарда в кисні — це нітрати, β -адреноблокатори (анаприлін), а також блокатори кальцієвих каналів (ізоптин, цинаризин). Велике значення мають препарати, що розширюють коронарні судини (курантил), які, інгібуючи аденозіндезаміназу, сприяють утворенню вазодилататора аденозину.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

- 1) Особливості обміну речовин у серцевому м'язі при атеросклерозі коронарних артерій
- 2) Механізм ішемічного ураження міокарда
- 3) Біохімічна діагностика інфаркту міокарда:
 - Кінетика вивільнення тканинних ферментів під час гострого інфаркту міокарда (КФК, ЛДГ, АсАТ)
 - Діагностичне значення визначення специфічних протеїнів (тропоніни I та T, міоглобін)
- 4) Біохімічні фактори розвитку патохімічних змін при артеріальній гіпертензії
- 5) Корекція біохімічних змін під час лікування фармпрепаратами

ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

ПРОТОКОЛ № 1

Дата

1. Визначення тропоніну I імунохроматографічним методом

Принцип методу: Тест працює за принципом імунохроматографічного аналізу з візуальним обліком результатів тестування. У місці внесення на мембрану тесту зразок крові реагує з фарбованим кон'югатом. Тропонін I, який

присутній у зразку, зв'язує-ться з кон'югатом, утворюючи імунний комплекс. Останній під дією капілярної сили просовується вздовж мембрани і вступає в реакцію з імібілізованими антитілами до тропоніну I, які були заздалегідь нанесені на тестову ділянку мембрани, в результаті чого утворюється червона лінія. Наявність червоної лінії на тестовій ділянці вказує на позитивний результат, в той час, як відсутність її вказує на негативний результат тестування. Червона лінія, яка буде з'являтися на контрольній ділянці, є процедурним індикатором роботи тесту, тим самим вказуючи, що достатня кількість зразку була використана і заповнення капілярів мембрани відбулося.

Чутливість та специфічність методу становлять 99,9%. Поріг чутливості становить 0,5 нг/мл.

Обладнання і реагенти:

- 1) Сироватка крові, цільна кров
- 2) Секундомір
- 3) Діагностична касета

Проведення аналізу

Сироватка або плазма крові

1. Довести тест-касету до кімнатної температури
2. Відкрити запаяний пакет, дістати тест-касету та піпетку
3. Тримавши піпетку вертикально, внести 2 краплі сироватки або плазми в лунку (S) на касеті та почати відлік часу
4. Облік результатів тестування проводять через 10 хвилин після внесення зразка в лунку.

Цільна венозна або капілярна кров

1. Довести тест-касету до кімнатної температури
2. Відкрити запаяний пакет, дістати тест-касету та піпетку
3. Тримавши піпетку вертикально, внести 3 краплі крові в лунку (S) на касеті, потім додати 1 краплю буферу та почати відлік часу
4. Облік результатів тестування проводять через 10 хвилин після внесення зразка в лунку.

Не підлягає обліку результат тестування по завершенні 20 хвилин !

Облік результату

Позитивним вважається результат при появі **двох чітких ліній** червоного кольору.

Одна лінія повинна з'явитися на контрольній ділянці (С), а друга лінія – на тестовій ділянці (Т) тесту. Інтенсивність червоної лінії на тестовій ділянці (Т) може змінюватись в залежності від концентрації тропоніну І у зразку, що досліджується. Поява червоної лінії будь-якої інтенсивності у ділянці Т повинна розглядатися як позитивний результат тестування.

Негативним вважається результат при появі однієї чіткої червоної лінії на контрольній ділянці (С) тесту. Лінія червоного або рожевого кольору на тестовій ділянці Т відсутня.



Недійсним вважається результат при відсутності лінії червоного кольору на контрольній ділянці С. Причиною недійсного результату тестування може бути недостатня кількість зразку, що досліджується, недотримання процедури тестування, недотримання термінів придатності та умов зберігання швидких тестів. При отриманні недійсного результату тестування необхідно повторити дослідження з використанням іншої тест-касети.

Висновок:

2. Визначення тропоніну І імуноферментним методом

Принцип методу: Метод є твердофазним ферментно-зв'язаним імуносорбентним аналізом. В аналізі використовується 4 види антитіл. Тропонін І, що наявний у зразку, зв'язується з антитілами, що зафіксовані на дні лунок планшету, та з антитілами, які зв'язані з ензимним кон'югатом. В результаті інкубації утворюються імунні комплекси, кількість яких визначається додаванням тетраметилбензидину. Інтенсивність забарвлення, що розвивається, прямопропорційна кількості тропоніну І у досліджуваному зразку.

Лінійність методу: до 10000 нг/мл

Нормальні значення: сироватка, плазма – до 1,0 нг/мл

Обладнання і реагенти:

- 1) Спектрофотометр вертикального сканування (ридер) з довжиною хвилі 450 нм
- 2) Шейкер-термостат
- 3) Автоматичні піпетки на 0,1 і 5 мл
- 4) Сироватка крові
- 5) Дистильована вода
- 6) Набір реагентів для визначення вмісту тропоніну І імуноферментним методом

Проведення аналізу

1. Всі реагенти перед проведенням аналізу повинні бути доведені до кімнатної температури.
2. Внести по 0,1 мл калібрувальних та досліджуваних зразків у відповідні, відібрані для аналізу лунки

3. Додати у всі лунки по 0,1 мл кон'югату
4. Інкубувати стрип протягом 60 хвилин при кімнатній температурі
5. Після закінчення інкубації видалити вміст лунок, промити їх дистильованою водою 5 разів
6. Внести у всі лунки по 0,1 мл розчину ТМБ
7. Інкубувати при кімнатній температурі 20 хв у темному місці
8. Додати у всі лунки по 0,1 мл розчину соляної кислоти (стоп-реагент)
9. Виміряти оптичну щільність у кожній лунці на ридері при довжині хвилі 450 нм

Розрахунок

Визначення вмісту тропоніну І у кожній з дослідних проб проводиться за калібрувальним графіком з використанням програми імуноферментного ридеру

3. Визначення активності МВ-фракції КФК кінетичним методом

Принцип методу: Креатинфосфокіназа (КФК) каталізує перенесення залишку фос-форної кислоти з фосфокреатину на АДФ з утворенням АТФ, який вступає в реакцію з глюкозою з утворенням глюкозо-6-фосфату. Додавання НАДФ до реакційної суміші призводить до утворення 6-фосфоглюконату та відновленню НАДФ до НАДФН. Швидкість утворення НАДФН пропорційна активності КФК у досліджуваному зразку. У реакційну суміш введені специфічні антитіла проти М-субодиниці КФК, які повністю інгібують її активність. Таким чином, антитіла блокують активність КФК-ММ ізоферменту та половину активності КФК-МВ. Вказаним методом визначається лише половина активності МВ фракції КФК.

Лінійність методу: 10 – 160 Од/л

Нормальні значення: сироватка, плазма – до 25 Од/л (t^0 реакції 37°C)
до 16 Од/л (t^0 реакції 30°C)
до 10 Од/л (t^0 реакції 25°C)

Активність ферменту стабільна протягом 8 год. при $+2$ — $+8^{\circ}\text{C}$, за умови, що сироватка чи плазма відібрані не пізніше 30 хвилин після забору крові.

Обладнання і реанти:

- 1) Сироватка крові
- 2) Секундомір
- 3) Скляні або автоматичні піпетки об'ємом 0,1 та 2,0 мл
- 4) Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) з довжиною хвилі 340 нм та довжиною оптичного шляху 5 мм
- 5) Набір реагентів для визначення активності МВ-фракції КФК кінетичним імунологічним методом

Приготування робочих розчинів

Приготування робочого реагенту. У флакон з реагентом №2 внести 10 мл реагенту

№1. для отримання оптимальних результатів рекомендується витримати робочий реагент після повного розчинення ліофілізату при кімнатній температурі 10 хвилин. Робочий реагент стабільний 5 днів при температурі від плюс 2°C до плюс 8°C у темному місці.

Проведення аналізу

Відміряти у пробірку 2 мл робочого реагенту та 0,08 мл досліджуваного зразка. Ретельно перемішати вміст, витримати 5 хвилин, визначити оптичну щільність інкубаційної суміші через 1, 2, 3, 4 і 5 хвилин проти дистильованої води. Обчислити швидкість зміни оптичної щільності реакційного розчину за 1 хвилину — $\Delta E/\text{хв}$.

Розрахунок

Для одержання активності ферменту необхідно помножити /хв. на коефіцієнт:

в Од/л — 8254

в нмоль/(с*л) — (Од/л)*16,67

Заповнити таблицю

№ п/п	Е	Δ Е	Се- реднє ΔE	Абсолютне значення	
				О д/л	нмоль/ (с*л)
E ₁					
E ₂					
E ₃					
E ₄					
E ₅					
E ₆					

Висновок:

4. Визначення активності фракції лактатдегідрогенази ЛДГ-1 у сироватці крові кінетичним методом

Принцип методу: УФ-метод, що базується на перетворенні 2-оксибутирату в 2-гідроксибутират з одночасним окислюванням НАДН. Швидкість зменшення абсорбції при 340 нм, зв'язана з окислюванням НАДН, прямо пропорційна активності ЛДГ-1 (α -гідроксибутиратдегідрогенази) у дослідній пробі.

Лінійність методу: 0 – 1200 Мод/л

Нормальні значення: 72 – 182 Мод/л

Активність ферменту стабільна протягом 8 годин при температурі +2 - +8° С, за умови, що сироватка чи плазма відібрані не пізніше 30 хв. після забору крові.

Обладнання і реagentи:

- 1) Спектрофотометр (фотоелектроколориметр) з довжиною хвилі 340 нм та довжиною оптичного шляху 10 мм
- 2) Автоматичні або скляні піпетки на 0,1 і 5 мл
- 3) Сироватка крові
- 4) Буферний розчин ЛДГ-1
- 5) Стабілізуючий розчин
- 6) Субстрат НАДН

Приготування робочих розчинів

Розчин субстрату Р2. Вміст мікропробірки з НАД-Н перенести у флакон із стабілізуючим розчином і розчинити. Розчин стійкий не менше 1 місяця за умови збереження у темному місці при температурі від плюс 2°С до плюс 8°С

Монореагент. Змішати 4 частини Р3 із 1 частиною Р2. Стабільність монореактиву 3 тижні при температурі від плюс 2°С до плюс 8°С у темному місці.

Проведення аналізу

Аналіз проводиться згідно таблиці.

Відміряти у пробірку, мл:	Дослідна проба
Монореактив	5,0
Сироватка	0,1

Ретельно перемішати вміст пробірок, визначити оптичну щільність інкубаційної суміші через 1, 2 і 3 хвилини проти дистильованої води. Обчислити швидкість зміни оптичної щільності реакційного розчину за 1 хвилину – $\Delta E/\text{хв}$.

Розрахунок

Для одержання активності ферменту необхідно помножити $\Delta E/\text{хв}$ на коефіцієнт:

в Од/л – 8095

в мккат/л – 134,92

Заповнити таблицю

№ п/п	E	Δ E	Середнє ΔE	Абсолютне значення	
				О д/л	мккат/ л
E ₁					
E ₂					
E ₃					
E ₄					

Висновок:

РОБОТА НА БІОХІМІЧНИХ АНАЛІЗАТОРАХ

Крім виконання описаних робіт, з безпосередньою участю студентів проводиться визначення відповідних маркерів ураження міокарду проводиться на біохімічних аналізаторах «Prestige 24i», «Accent-200» та імуноферментному аналізаторі «Immunochem-2110».

МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Гострий початок захворювання. Біль в нижній третині груднини іррадіює по всьому животі, у шию, кінцівки. На ЕКГ патологічних відхилень немає. Лабораторні дослідження: лейкоформула і ШОЕ в нормі. Активність КФК-МВ 28 Од/л, тропонін І 3,3 нг/мл. Діагноз:

- A. Стенокардія
- B. Інфекційний гепатит
- C. Гострий панкреатит
- D. Інфаркт міокарда
- E. Загострення хронічного гепатиту

2. На яку добу настає нормалізація ЛДГ у сироватці крові хворих при сприятливому протіканні інфаркту міокарда?

- A. Через 27 діб
- B. Через 10 - 15 діб
- C. Через 8 - 10 діб
- D. Через 18 днів
- E. Через 3 – 5 днів

3. Про що свідчить значно підвищена активність ЛДГ у сироватці крові хворих інфарктом міокарда протягом 20 - 27 діб?

- A. Про глибокі зміни в серцевому м'язі
- B. Про наявність великого, нерідко трансмурального інфаркту міокарда
- C. Про уповільнення процесів репарації і можливого несприятливого прогнозу захворювання
- D. Про «повзучий» інфаркт
- E. Всі відповіді правильні

4. Підберіть правильну відповідь динаміки змін активності ферментів при стенокардії

- A. КК, АсАТ - підвищується активність

- В. ЛДГ, альдолаза - підвищується активність
- С. АсАТ, АлАТ - знижується активність
- Д. КК, АсАТ – знижується активність
- Е. Активність перелічених вище ферментів у межах норми

5. Який лабораторний показник є найбільш достовірним для діагностики інфаркту міокарда

- А. АсАТ
- В. КФК
- С. Тропонін I або T
- Д. Міоглобін
- Е. АлАТ

6. Який лабораторний показник є маркером серцевої недостатності?

- А. Тропонін I
- В. Тропонін С
- С. Предсердний натрійуретичний пептид - ANP
- Д. Попередник мозкового натрійуретичного пептиду - pro-BNP
- Е. Мозковий натрійуретичний пептид - BNP

7. Які зміни енергетичного обміну характерні для гіпоксії?

- А. Накопичення великої кількості молекул АТФ
- В. Інактивація гліколізу та прискорення β -окислення жирних кислот
- С. Зменшення кількості катехоламінів
- Д. Прискорення регенерації НАД
- Е. Всі відповіді правильні

8. Які особливості молекули міоглобіну обмежують його діагностичну значимість при діагностиці інфаркту міокарда?

- А. Низька специфічність вказаного показника
- В. Відсутність достовірних лабораторних методів його визначення
- С. Швидке виведення молекули міоглобіну нирками внаслідок її малої

молекулярної маси

- D. Пізнє підвищення концентрації міоглобіну після больового приступу
- E. Всі відповіді правильні
9. Показаннями для визначення тропоніну Т у сироватці крові є:
- A. Гострий інфаркт міокарду
- B. Підгострий інфаркт міокарду
- C. Діагностика мікроінфаркту
- D. Моніторинг результатів тромболітичної терапії
- E. Всі відповіді правильні
10. До незворотніх біохімічних змін при ішемії міокарду відносять:
- A. Ушкодження мембран мітохондрій та саркоплазматичного ретику-
лума
- B. Підвищення рівня кальцію у клітині
- C. Активація протеаз
- D. Роз'єднання процесів окислення та фосфорилування
- E. Всі відповіді правильні

ТЕМА № 2

ТЕМА: Загальна характеристика системи регуляції агрегатного стану крові. Система гемостазу – її функціонування в нормі та при патології.

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ:

Система регуляції агрегатного стану крові – надзвичайно важлива для організму система. Порушення функціонування будь-якої з її ланок призводить до виникнення важких наслідків – тромбозів або геморагій. Важливе місце в її функціонуванні в цілому займає стан однієї з її складових частин – системи гемостазу.

МЕТА ЗАНЯТТЯ:

На основі знань про гемостаз визначити основні механізми функціонування даної системи, а також види та причини їх порушень.

ТЕОРЕТИЧНИЙ МАТЕРІАЛ З ТЕМИ

Історично склалося так, що ще з глибокої давнини вчені-натуралісти та лікарі звернули увагу на унікальну здатність крові згортатися. При цьому її рідкий стан чомусь уявлявся цілком очевидним, природним, а його певні зміни, наприклад, желатинізація (внаслідок підвищення концентрації білків плазми або з інших причин) довгий час просто не помічалися. Внаслідок цього, для характеристики агрегатного стану крові стали застосовувати терміни «коагуляція», «гемостаз», «згортання» (відповідно й наукові дисципліни, які вивчають ці процеси, отримали назви «гемокоагулологія», «гемостазіологія» та ін.). З позицій сучасної науки ці терміни охоплюють лише частину проблеми вивчення агрегатного стану крові в цілому і механізмів його регуляції. Тому на сьогодні фахівці цієї галузі вважають більш доцільним термін «гемоагрегатологія», представляючи систему гемостазу лише як одну з підсистем (структурних елементів) єдиної функціональної системи більш високого рівня – **системи регуляції агрегатного стану крові (РАСК)** в цілому. Головні завдання гемоагрегатології:

- вивчення стану різних морфо-функціональних структур універсальної системи РАСК в нормі і при різних патологічних процесах
- дослідження ієрархії трьох протеолітичних підсистем РАСК – коагуляції, антикоагуляції і фібринолізу – та особливостей їх взаємодії
- з'ясування об'єктивних закономірностей функціонування всіх вище зазначених підсистем з метою розробки на цій основі методів ефективного регулювання і корекції їх порушень.

Головну (інтегральну) властивість крові зберігати рідкий стан в нормі та, за необхідності, згортатися в певних, найчастіше екстремальних, ситуаціях називають **гемостатичним потенціалом**. Дана властивість складається з безлічі взаємопов'язаних та взаємозалежних компонентів, одні з яких забезпечують рі-

дкий агрегатний стан крові, її плинність, оптимальний рівень в'язкості, здатність проникати в найдрібніші артеріоли, капіляри, венули та здійснювати в них обмінні процеси, а інші забезпечують необхідні умови для утворення нерозчинного фібрину і тромбів, що перешкоджають кровотечі з пошкоджених судин. Гемостатичний потенціал в нормі має антитромботичну спрямованість, обумовлену властивостями неушкодженого ендотелію, активністю тканинного тромбопластину, активаторів плазміногену, антитромбіну та інших чинників.

Забезпечення рідкого стану крові в фізіологічних умовах гарантується постійною наявністю цілого ряду чинників, до яких відносяться:

- безперервний рух крові, який знижує локальну концентрацію факторів гемостазу і механічно ускладнює процеси згортання;
- продукція ендотелієм ендотеліального релаксуючого фактору (NO);
- постійна наявність в крові активних фізіологічних антикоагулянтів на відміну від факторів згортання, які активуються в ній лише в міру необхідності в результаті цілого ряду ферментативних реакцій;
- адсорбція факторів згортання клітинами стінок судин;
- продукція ендотелієм тканинного активатора фібрінолізу;
- створення антикоагулянтного потенціалу на межі «кров-тканина» шляхом фіксації на ендотелії комплексу гепарин-антитромбін III;
- переважне утворення в ендотелії в нормі потужного інгібітору агрегації тромбоцитів – простацикліну та інших антитромбогенних речовин, що визначають тромборезистентність кровоносних судин. При цьому, принципово важливо, що всі ці речовини, обмежуючи процес тромбоутворення в фізіологічних умовах, не перешкоджають гемостазу при пошкодженні судин (!). Саме в цьому й полягає сенс і значення тромборезистентності.

Гемостатичний потенціал (як загальний – на рівні цілісного організму, так і локальний – тканинний) може бути **позитивним** (переважання підсистеми гемостазу – підвищена небезпека тромбозів), **негативним** (переважання протизгортальної підсистеми – підвищена небезпека кровотеч) або **нейтральним** (їх функціональна рівновага).

Будь-які відхилення гемостатичного потенціалу від необхідного оптимального рівня автоматично приводять в дію регулюючі чинники, які через ряд процесів забезпечують зменшення відхилень (негативний зворотний зв'язок), тобто відбувається включення механізмів компенсації і відновлення, які знову повертають систему в цілому до оптимального рівня.

Система гемостазу – це біологічна система, що здійснює за необхідності швидке й ефективне попередження та зупинку кровотечі, зберігаючи в кровоносному руслі достатній об'єм циркулюючої крові і забезпечуючи тим самим нормальне кровопостачання органів. Зупинка кровотечі (гемостаз) є результатом фізіологічних процесів, що реалізуються шляхом взаємодії різних функціонально-структурних компонентів. Основні учасники цього процесу:

- структурні компоненти стінок судин (в першу чергу, ендотелій);
- клітини крові (перш за все, тромбоцити);
- ферментні системи плазми: згортальна, протизгортальна, плазмінова (фібрінолітична), калікреїн-кінінова і ін.

Функціонування системи гемостазу залежить від багатьох компонентів (кількості і функціонального стану тромбоцитів, достатнього рівня факторів згортання, іонів кальцію, вітаміну К і т.п.) і забезпечується нормальною функцією печінки, селезінки, кісткового мозку та інших органів і систем організму.

Система гемостазу підпорядкована складній нейро-гуморальній регуляції, в якій чітко взаємодіють механізми позитивних та негативних зворотніх зв'язків. В результаті цього гемостаз спочатку піддається самоактивації, а потім, за рахунок наростання антизгортального потенціалу крові, самозагальмовуванню. Причому процес коагуляції крові регулюється настільки точно, що активується лише невелика частина факторів згортання. Така регуляція надзвичайно важлива, якщо врахувати, що коагуляційний потенціал всього одного мілілітру крові достатній для згортання протягом 10-15 сек. всього наявного в організмі фібриногену (!). Наявність зазначених механізмів створює умови для самообмеження процесу згортання крові, завдяки чому тромб не поширюється за межі області

пошкодження судини, і локальне тромбоутворення в нормі не трансформується в загальний процес – дисемінованого внутрішньосудинного згортання.

В складному багатоступеневому процесі зупинки кровотечі умовно виділяють два етапи:

1. **Первинний (тимчасовий) або судинно-тромбоцитарний гемостаз**, який обумовлений спазмом судин і їх механічною закупоркою агрегатами тромбоцитів з утворенням так званого білого тромбоцитарного (первинного) тромбу.

2. **Вторинний (остаточний) або коагуляційний гемостаз**, що реалізується за допомогою активації численних факторів згортання крові, утворення щільного фібрінового тромбу (червоного кров'яного згустку), котрий забезпечує надійну закупорку пошкоджених судин.

Судинно-тромбоцитарний (первинний, тимчасовий) гемостаз

Роль судинно-тромбоцитарного гемостазу в організмі полягає в тимчасовій зупинці кровотечі за рахунок короткочасного скорочення (спазму) пошкодженої судини і утворення в зоні пошкодження первинного тромбу – тромбоцитарного агрегату («первинної гемостатичної пробки»). Цей процес починається в перші секунди після пошкодження і призводить до зупинки кровотечі з капілярів, дрібних артеріол чи венул (у здорової людини кровотеча при пошкодженні дрібних судин зупиняється приблизно за 2-4 хвилини). У великих судинах ці механізми неефективні, і крововтрата з артерій та вен припиняється лише частково. Це обумовлено тим, що в них рухається значніша маса крові під досить високим тиском, і тому пухка структура тромбоцитарного агрегату не може бути непроникною перепорою для її витікання (його проникність прямопропорційна тиску в судині). Тому для повної зупинки кровотечі необхідно підключення системи ферментативного гомеостазу за участю чинників згортання, іонів кальцію, вітаміну К і ін. Таким чином, первинний гемостаз є лише першим етапом в зупинці кровотечі.

В забезпеченні первинного гемостазу беруть участь, тісно взаємодіючи між собою, кровоносні судини (перш за все, їх внутрішня оболонка – ендотелій) і тромбоцити.

Роль ендотелію судин. Ендотелій, перебуваючи в постійному контакті з кров'ю, безперервно отримує інформацію про стан кровотоку, тканинного обміну, зміни умов життєдіяльності клітин, трансформуючи її в відповідні зворотні сигнали. В останні роки сформувалося поняття про так звану *дисфункцію ендотелію*, що включає структурні і функціональні його зміни. В широкому сенсі, це поняття може бути визначено як неадекватне ситуації (збільшене або зменшене) утворення в ендотелії різноманітних біологічно активних речовин.

Повноцінність ендотелію і особливості будови субендотеліального шару визначають його здатність перешкоджати виходу еритроцитів через механічно непошкоджену стінку, попереджаючи виникнення геморагій. Ендотелій відіграє важливу роль в підтримці рідкого стану крові в фізіологічних умовах, перш за все, завдяки його високій тромборезистентності, яка забезпечується:

- контактною інертністю внутрішньої поверхні ендотелію
- здатністю ендотелію синтезувати і виділяти інгібітор агрегації тромбоцитів – простагландин (Pg I₂) та ендотеліальний релаксуючий фактор (NO)
- наявністю в ендотелії тромбомодуліну, здатного до зв'язування тромбіну
- фіксацією на ендотелії комплексу гепарин-антитромбін III
- здатністю тромбоцитів синтезувати тканинний активатор плазміногену
- здатністю ендотелію і тромбоцитів стимулювати фібрinolіз через систему протеїнів C і S.

Роль тромбоцитів. Для нормального функціонування первинної ланки гемостазу має значення як кількість тромбоцитів, так і їх якісний (функціональний) стан. Участь тромбоцитів в гемостазі забезпечується їх здатністю:

- підтримувати нормальну структуру і функцію мікросудин, їх стійкість до дії пошкоджуючих чинників та перешкоджати діapedезу еритроцитів (ангіотрофічна та ангіопротекторна функція)

- викликати спазм пошкоджених судин шляхом секреції вазоактивних речовин – адреналіну, норадреналіну, серотоніну та інших амінів
- депонувати і транспортувати речовини, що стимулюють адгезію (прилипання) і агрегацію (склеювання) тромбоцитів
- закупорювати пошкоджені судини шляхом утворення первинної тромбоцитарної пробки за рахунок адгезії тромбоцитів до ендотелію і агрегації їх між собою
- безпосередньо брати участь в процесах гемокоагуляції.

Виділяють три найважливіші етапи судинно-тромбоцитарного гемостазу, які забезпечуються кров'яними пластинками:

1. Адгезія тромбоцитів (platelet adhesion) – це прилипання тромбоцитів до компонентів субендотелію (зокрема, до колагену) або до чужорідної поверхні (наприклад, до скла чи бісеру). Адгезія тромбоцитів до субендотелію пошкоджених кровоносних судин забезпечується взаємодією декількох компонентів:

- специфічних мембранних рецепторів тромбоцитів
- субендотеліального колагену
- фактору фон Віллебранда
- деяких білків адгезії (тромбоспондин, фібрoneктин).

Адгезія тромбоцитів і їх взаємодія з білками плазми крові та позаклітинним матриксом здійснюється за допомогою специфічних мембранних рецепторів цих клітин, більшість з яких належить до сімейства гетеродимерних білків-інтегринів, що складаються з однієї альфа- (130-200 кДа) і однієї бета-субодиниці (90-130 кДа). Тромбоцити містять, принаймні, 5 різних інтегринів. Зокрема, адгезія тромбоцитів до субендотеліальних волокон колагену відбувається в перші секунди після ушкодження ендотелію, завдяки наявності на їх мембранах інтегринових рецепторів до колагену – глікопротеїнів Іа/ІІа.

Ще один специфічний мембранний рецептор сімейства інтегринів (глікопротеїн ІІb/ІІІа) взаємодіє, в першу чергу, з фібриногеном, забезпечуючи основний шлях агрегації тромбоцитів один з одним через «фібринові містки». Ключова особливість цього глікопротеїну – це його здатність виконувати роль ре-

цептора тільки на поверхні активованих тромбоцитів. Його афінність на поверхні неактивованих клітин дуже низька, а антигенна характеристика відрізняється від такої у активованих тромбоцитів. Активовані тромбоцити за допомогою глікопротеїну ІІb/ІІІa можуть зв'язувати на своїй поверхні більш 40000 молекул фібриногену. Наявність в глікопротеїні ІІb/ІІІa відповідних місць розпізнавання пояснює його здатність з'єднуватися з фактором Віллебранда, фібронектином, вітронектином. Показано, що його зв'язок з фактором Віллебранда важлива для ефективної агрегації тромбоцитів при високих швидкостях кровотоку. При вродженому дефіциті цього рецептора (тромб-астенія Гланцмана) різко порушена або відсутня агрегація тромбоцитів з більшістю індукторів агрегації, в тому числі колагеном, тромбіном, АДФ.

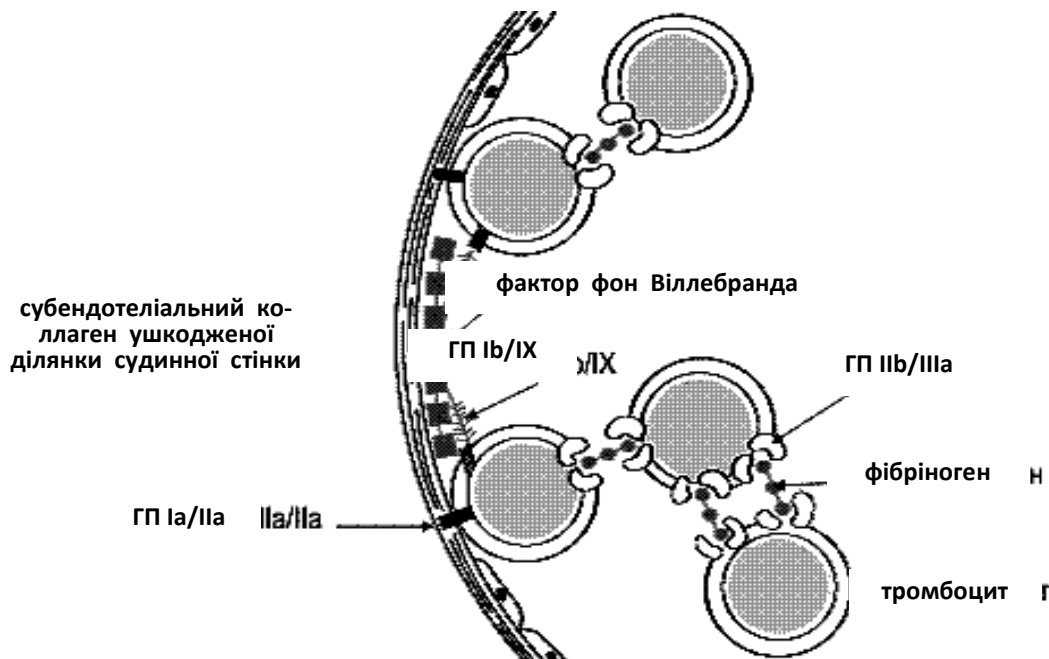
Крім того, на їх поверхні розташовані неінтегринові рецептори, такі як глікопротеїн Іb/ІХ (рецептор для фактору фон Віллебранда) і глікопротеїн ІV (він же ІІІb) – рецептор для тромбоспондину, що відіграє важливу роль в забезпеченні незворотної агрегації.

Стабілізація адгезованих на колагені тромбоцитів фактором фон Віллебранда через глікопротеїни Іb/ІХ не дозволяє току крові розмивати адгезовані клітини. Дефіцит або аномалія глікопротеїну Іb/ІХ (тромбоцитодистрофія Бернара-Сульє) різко знижує ступінь вираженості та міцність їх адгезії. Хвороба успадковується аутосомно-рецесивно, характеризується вираженим порушенням гемостазу з важкими рецидивуючими кровотечами з слизових.

На малюнку на наступній сторінці схематично показана функціональна роль найважливіших із зазначених мембранних рецепторів тромбоцитів.

2. Активація тромбоцитів (platelet activation) і їх дегрануляція (platelet release reaction – реакція звільнення). Активація тромбоцитів призводить до зміни звичайної дисковидної форми тромбоцитів на сферичну, утворення у них відростків (псевдоподій) та їх адгезії до структур субендотелію, зокрема, до колагену. Активація тромбоцитів супроводжується стимуляцією в них ряду процесів:

- утворення вторинних посередників, які викликають фосфорилування білків
- активація тромбоцитарних глікопротеїнів і фосфоліпаз



- експресія фібріногенових рецепторів і перерозподіл концентрації катіонів Ca^{2+}
- активація метаболізму арахідонової кислоти
- активація Na^+/H^+ обміну
- активація обміну фосфоліпідів.

Різний якісний фосфоліпідний склад зовнішньої та внутрішньої поверхонь — надзвичайно важлива особливість мембрани інтактних тромбоцитів. Взагалі всі основні фосфоліпіди тромбоцитів можна розділити на 2 групи:

- фосфоліпіди без прокоагулянтної активності (фосфатиділхолін, сфінгомієлін)
- фосфоліпіди з прокоагулянтними властивостями (фосфатиділсерін, фосфатиділетаноламін, фосфатиділінозитол).

Фосфоліпіди першої групи відносно рівномірно розподілені на обох поверхнях мембрани неактивованих тромбоцитів, а фосфоліпіди другої групи локалізовані переважно на внутрішній поверхні мембрани. При активації тромбо-

цита концентрація їх на зовнішній стороні мембрани значно зростає, внаслідок чого утворюється прокоагулянтна поверхня, необхідна для фіксації, активації і взаємодії плазмових білків гемостазу. Власне ці фосфоліпіди й називають фактором 3 тромбоцитів. Крім того, перерозподіл фосфоліпідів змінює в'язкість мембрани, що також важливо для протікання гемостатичних реакцій.

В процесі первинної активації кров'яних пластинок в місці пошкодження та їх початкової агрегації відбувається вивільнення ними цілого ряду біологічно активних речовин (як заздалегідь запасених в їх гранулах, так і тих, які утворюються безпосередньо при активації) – потужних стимуляторів подальшої агрегації циркулюючих в крові тромбоцитів (АДФ, серотоніну, адреналіну, тромбоцит-активуючого фактору 3, нестабільних простагландинів, тромбоксану А2 і ін.).

3. Агрегація тромбоцитів (platelet aggregation) – їх склеювання (злипання) між собою під дією специфічних стимуляторів. Розрізняють зворотню і незворотню агрегацію.

Зворотня агрегація (початкове скупчення тромбоцитів в місцях пошкодження і склеювання їх між собою) починається практично одночасно з адгезією і обумовлена виділенням пошкодженою стінкою судини, тромбоцитами і еритроцитами біологічно активних речовин (передусім АДФ). В результаті цього утворюється пухка тромбоцитарна пробка, яка проникна для плазми крові.

Незворотня агрегація (агрегація кров'яних пластинок, при якій вони втрачають свою структурність і зливаються в однорідну масу, утворюючи непроникну для плазми крові пробку) відбувається під дією тромбіну, який руйнує мембрани тромбоцитів, що призводить до масового викиду численних біологічно активних речовин, котрі сприяють вторинному спазму судин. Крім того, звільнення тромбоцитарного фактору 3 дає початок утворенню тромбоцитарної протромбінази, тобто включенню механізму коагуляційного гемостазу. На агрегатах тромбоцитів утворюється невелика кількість ниток фібрину, на яких затримуються формені елементи крові.

Порушення будь-якого з цих етапів призводять до підвищеної кровоточивості.

Коагуляційний (вторинний, остаточний) гемостаз.

Гемокоагуляція – це складний багатоетапний ферментативний процес, в якому фактично беруть участь всі три підсистеми:

- згортальна (прокоагулянти)
- протизгортальна (антикоагулянти)
- плазмінова або фібрінолітична (забезпечує розчинення фібринового згустку).

Фактори згортання. На сьогодні відомо 15 факторів згортання, що містяться в плазмі. За своєю природою вісім факторів відносяться до білків-ферментів, а решта є неферментними протеїнами. Причому сім з восьми ферментів (фактори II, VII, IX-XII, XIV) – це серинові протеази, що активують інші чинники, розщеплюючи в їх молекулах зв'язок Арг-Глі, а один (фібринстабілізуючий фактор XIII) – це глутамінтрансфераза.

Коротка характеристика плазмових факторів згортання

№ п/п	Назва	Природа	Функція
I	фібриноген	глікопротеїн	прекурсор фібрину
II	протромбін	$\alpha 1$ -глобулін	профермент тромбіну
III	тканинний тромбопластин	фосфоліпопротеїн	активний в зовнішньому механізмі згортання
IV	іони кальцію	катіони	необхідні для активації більшості факторів згортання
V	проакцелерин, плазмовий глобулін, лабільний фактор	β -глобулін	кофактор – компонент активатора протромбіну; зв'язується з мембраною тромбоцитів, активується ф. Па і Ca^{2+}
VII	проконвертин, стабільний фактор	$\alpha 1$ -глобулін	профермент (протеаза); VIIa разом з ф. III і Ca^{2+} активує ф. X (зовнішній механізм)
VIII I	антигемофільний глобулін А	$\beta 2$ -глобулін	VIIIa (в комплексі з фактором Віллебранда) – кофактор активації фактора X (внутрішній механізм); активується ф. Па і Ca^{2+}
IX	антигемофільний глобулін В (Крістмаса), плазмовий тромбопластиновий компонент	$\alpha 1$ -глобулін	контакт-чутливий профермент (протеаза); IXa разом з ф. VIIIa, Ca^{2+} і фактором тромбоцитів 3 активує ф. X (внутрішній механізм)
X	препротромбіназа, фактор Стюарта-Прауэр	$\alpha 1$ -глобулін	профермент (протеаза); Xa – компонент активатора протромбіну (спільний механізм)
XI	плазмовий попередник тромбопластину (Розенталя)	γ -глобулін	контакт-чутливий профермент (протеаза); XIa разом з Ca^{2+} активує ф. IX (внутрішній механізм)
XII	контактний фактор Хагемана	β -глобулін	контакт-чутливий профермент (протеаза); активується калікреїном, колагеном і ін.; активує ПК, ВМК, фактор XI (внутрішній механізм)
XIII I	фібрин-стабілізуючий фактор Лаки-Лоранда, трансглютаміназа	β -глобулін	профермент (трансамінідаза); XIIIa визиває переплетіння ниток фібрину
XIV V	калікреїноген (плазмовий прекалікреїн – ПК), фактор Флетчера	β -глобулін	профермент (протеаза); під дією фактору XIIa, перетворюється в калікреїн, який сприяє активації факторів XII і XI та активує фактори VII і IX, зв'язуючи внутрішній та зовнішній шляхи активації фактору X.
XV	високомолекулярний кініноген – ВМК, фактор Фітцджеральда-Фложак-Вільсона	$\alpha 1$ -глобулін	профермент (протеаза); під дією фактору XIVa перетворюється в кінін та сприяє контактній активації факторів XII і XI (внутрішній механізм)

В складі чотирьох чинників (II, VII, IX, X) є Ca^{2+} -зв'язуючі ділянки, що забезпечує їх здатність прикріплюватися до фосфоліпідів тромбоцитів і клітин пошкоджених тканин, які мають негативний заряд. Ділянки, що зв'язують Ca^{2+} , містять велику кількість залишків γ -карбоксиглутамінової кислоти, для синтезу якої необхідний вітамін К (кофермент глутаматкарбоксилази). Аліментарна недостатність вітаміну К, порушення його всмоктування, прийом ліків-антагоністів (кумарин) – причина набутих К-залежних коагулопатій.

Загальна характеристика факторів згортання дана в таблиці, наведеній на наступній сторінці.

Крім плазмових факторів в процесі згортання крові беруть участь також тканинні і клітинні, зокрема, тромбоцитарні та еритроцитарні фактори. Крім цього, невід'ємними учасниками процесу згортання є катіони кальцію.

Процес гемокоагуляції умовно можна розділити на три фази:

1) **утворення протромбінази**

2) **активація тромбіну** (з неактивного протромбіну під впливом протромбінази)

3) **утворення фібрину** (з фібриногену під впливом тромбіну).

Перша фаза – утворення протромбінази – це багатоступінчастий процес, в результаті якого в крові накопичується функціонально активний комплекс – протромбіназа, здатний перетворити протромбін в тромбін. Ця фаза триває 5-7 хвилин. Умовно виділяють «**зовнішній**» (має захисний характер при пошкодженні судини) і «**внутрішній**» (причиною активації якого можуть бути будь-які патологічні стани) **шляхи** утворення протромбінази.

Пусковим моментом для утворення тканинної протромбінази (ф.Ха) за **зовнішнім механізмом**, є пошкодження клітин і вивільнення тканинного тромбoplastину (ф.ІІІ). Реалізація зовнішнього механізму відбувається значно швидше (5-10 сек.), ніж внутрішнього (5-8 хвилин). Крім тромбoplastину в ній беруть участь конвертин (ф. VIIa) і катіони кальцію. Всі ці компоненти утворюють єдиний функціональний комплекс, взаємодіючи з фосфоліпідами клітинних

мембран. Завдяки цьому перші порції тромбіну, який переводить фібриноген в фібрин, утворюються вже через 5 секунд після травми.

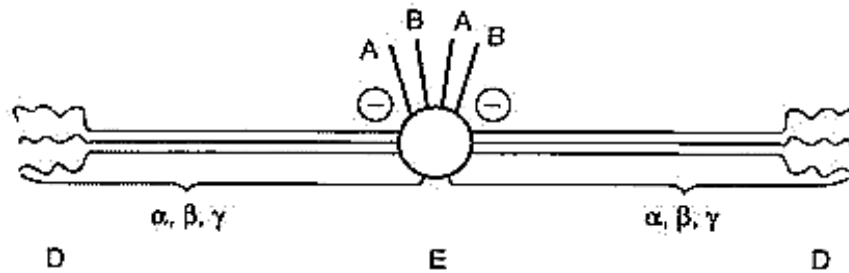
Активація системи згортання за внутрішнім механізмом – утворення кров'яної протромбінази – відбувається без участі тканинного тромбопластину (ф.ІІІ) за рахунок внутрішніх ресурсів крові або плазми. Протромбіназа плазми крові утворюється повільніше, ніж тканинна. Сигналом для активації служить пошкодження судинної стінки. Причому тромбоцит, на рецепторах якого адсорбуються прокоагулянти, спрямовується до місця пошкодження, де відбувається його активація, і він стає постачальником плазмових факторів (насамперед, фактора ХІІ Хагемана). Контакт фактора Хагемана з колагеном пошкодженої судинної стінки призводить до його активації, що служить сигналом для запуску послідовної активації ХІ, ІХ, VІІІ факторів за участю іонів кальцію (ф.ІV). Утворений комплекс активує Х фактор, що призводить до утворення необхідної кількості протромбінази. Процес утворення кров'яної протромбінази триває від 5 до 8-10 хвилин.

Друга фаза – це утворення тромбіну. Як відомо, готового тромбіну в плазмі крові немає, але є його неактивний попередник – протромбін (ф.ІІ), який в присутності іонів кальцію під дією протромбінази (ф.Ха) шляхом обмеженого протеолізу перетворюється в тромбін (ф.Іа). Фаза триває 2-5 секунд.

Третя фаза – утворення фібрину. Тромбін видаляє з молекули фібриногену два коротких гідрофільних пептиди і, таким чином, переводить фібриноген (ф.І) в фібрин (ф.Іа).

Молекула фібриногену утворена трьома парами пов'язаних дисульфідними зв'язками поліпептидних ланцюгів - α -А (63,5 кДа), β -В (56 кДа) і γ (47 кДа) з приєднаними до них через аспарагін олігосахаридами. Структурно в молекулі фібриногену є три розділених лінійними ділянками глобулярних домени: два (D) на кінцях молекули і один (E) – в її центрі. З центрального домену E виступають N-кінцеві частини А (16 АК) і В (14 АК) фрагментів α - і β -ланцюгів. Вони містять велику кількість залишків аспартату та глутамату, що створює силь-

ний негативний заряд на N-кінцях молекул фібриногену і перешкоджає їх агрегації (!).



Під дією тромбіну олігопептиди А і В відщеплюються. Спочатку утворюється фібрин-мономер (Im), потім розчинний фібрин-полімер (Is). Фактор XIII (фібрин-стабілізуєчий) утворює поперечні зв'язки в фібрин-полімерах і переводить розчинний фібрин в нерозчинний (Ii). Однак на цій стадії тривимірна мережа волокон фібрину, яка містить еритроцити, тромбоцити і інші клітини крові все ще відносно пухка. Свою остаточну форму вона приймає після ретракції згустку, яка забезпечується скорочувальним білком тромбоцитів (тромбастеніном) і іонами кальцію при активному скороченні волокон фібрину і витисненні сироватки. Завдяки ретракції згусток стає більш щільним, формується повноцінний тромб, який забезпечує остаточну зупинку кровотечі.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Загальна характеристика системи регуляції агрегатного стану крові. Гемостатичний потенціал
2. Судинно-тромбоцитарний гемостаз та його порушення
3. Коагуляційний гемостаз та його порушення

5.2. ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол № 2

Дата:

1. Визначення протромбінового часу та проценту протромбіну за Квіком з використанням напівавтоматичного коагулометра «Coag Chrom-3003».

Принцип методу:

При додаванні до цитратної плазми надлишку тканинного тромбопластину та іонів кальцію час утворення згустку фібрину залежить лише від активності факторів зовнішнього та загального шляху коагуляції – I, II, V, VII та X.

Нормальні значення: протромбіновий час – **14-18 сек.**

протромбіновий індекс за Квіком – **70-130%**

міжнародне нормалізоване відношення – **0,8-1,2**

Отримання плазми для аналізу

Венозну кров взяти у пластикову пробірку на 3,8% цитрат натрію у співвідношенні 9:1, центрифугувати 7 хвилин при 1000 об/хв. Плазму перенести в іншу пробірку на повторно центрифугувати 15 хвилин при 3000 об/хв. Після центрифугування негайно перенести отриману плазму у пластикову пробірку, зберігати при кімнатній температурі не більше 4 годин. Зберігання зразків при плюс 2⁰С–плюс 8⁰С не допускається через холодову активацію VII фактору. Для отримання плазми, бідної на тромбоцити, однократне центрифугування крові 15 хвилин при 3000 об/хв.

Клініко-діагностичне значення. Протромбіновий час – скринінговий тест, що широко використовується для оцінки зовнішнього каскаду згортання плазми. Скорочення протромбінового часу спостерігається при активації зовнішнього механізму згортання, на останніх тижнях вагітності, прийомі пероральних контрацептивів, лікуванні концентратами факторів протромбінового комплексу.

Протромбіновий час подовжується при дефіциті або аномалії факторів протромбінового комплексу, хворобі печінки та жовчовивідної системи, у випадку використання антикоагулянтів непрямої дії, лікуванні не фракціонованим гепарином, ДВС-синдромі.

Протромбіновий індекс дозволяє визначити активність протромбінового комплексу плазми крові пацієнта у порівнянні з визначеним протромбіновим часом контрольної плазми.

Заповнити таблицю

№ п/п	№ зразка	Протромбіновий час, сек	Протромбіновий ін- декс, %

Висновок:

МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Які групи факторів згортання крові виділені відповідно до міжнародної класифікації компонентів гемостазу?

- A. Тромбоцитарні, еритроцитарні
- B. Лейкоцитарні
- C. Фактори плазми крові
- D. Тканинні
- E. Всі відповіді вірні

2. В якому органі, переважно, здійснюється синтез факторів згортання плазми крові?

- A. Кістковий мозок
- B. Печінка
- C. Нирки
- D. Селезінка
- E. Всі відповіді вірні

3. Які фактори згортання крові, що містяться в плазмі крові, відносяться до кінінової системи?

- A. Фібриноген, тромбостенін
- B. Тромбін
- C. Тромбопластин
- D. Прекалікреїн, кініноген
- E. Всі відповіді правильні

4. Який механізм є пусковим у процесі згортання крові?

- A. Активація фактора Флетчера
- B. Активація фактора Хагемана (контакту)
- C. Активація антигемофільного глобуліну А
- D. Активація проакцелерину
- E. Активація проконвертину

5. Які компоненти гемостазу є вітамін-К залежними факторами?

- A. Тромбопластин
- B. Проконвертин, протромбін, фактор Стюарта-Прауера
- C. Прекалікреїн
- D. Кініноген
- E. Всі відповіді правильні

6. Який із перелічених лабораторних показників указує на наявність запального процесу?

- A. Збільшення вмісту фібриногену
- B. Зниження вмісту фібриногену
- C. Збільшення концентрації іонів кальцію
- D. Зниження концентрації іонів кальцію
- E. Збільшення концентрації фібринази

7. Що таке протромбіназа?

- A. Комплекс проконвертину та кальцію
- B. Комплекс акцелерину і тромбопластину

- C. Комплекс акцелерину, тромбопластину, кальцію, фактора Стюарта-Прауера
- D. Тромбопластин
- E. Всі відповіді вірні

8. Які компоненти гемостазу необхідні для здійснення ретракції кров'яного згустка?

- A. Протромбін, гепарин
- B. Протромбіназа, тромбін
- C. Калликреїн, кініноген
- D. Тромбостенін, кальцій
- E. Гепарин

9. Під час якої фази згортання крові здійснюється контактна калікреїн-каскадна активація?

- A. Утворення протромбінази
- B. Утворення тромбіну
- C. Утворення фібрину
- D. Посткоагуляційна фаза
- E. Всі відповіді вірні

10. Що є джерелом фосфоліпиду при формуванні протромбінази по внутрішньому механізмі?

- A. Судинна стінка
- B. Плазма
- C. Формені елементи крові
- D. Білки плазми
- E. Фібриноген

ТЕСТИ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-Б»

1. Порушення системи згортання крові призводять до розвитку численних геморагічних діатезів. Які лабораторні показники характеризують хворобу Віллебранда?

- A. Збільшення кількості тромбоцитів
- B. Зменшення кількості тромбоцитів
- C. Підвищення адгезивності тромбоцитів, збільшення їх кількості
- D. Збільшення часу кровотечі, дефіцит фактора VIII, зниження адгезивності тромбоцитів
- E. Збільшення часу кровотечі, підвищення кількості тромбоцитів

ТЕМА № 3

ТЕМА: Протизгортальна система та фібринолітична системи. Їх функціонування в нормі та при патології. Дослідження системи РАСК (семінар).

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ:

Протизгортальна система та система фібринолізу дві підсистеми єдиної системи регуляції агрегатного стану крові, котрі за дією протилежні підсистемі гемостазу. Їх функціональна рівновага надзвичайно важлива для організму. Порушення функціонування будь-якої з ланок РАСК призводить до виникнення важких наслідків – тромбозів або геморрагій. Важливе місце в визначенні характеру порушень займають методи лабораторної діагностики стану відповідних ланок системи регуляції агрегатного стану крові.

МЕТА ЗАНЯТТЯ:

На основі знань про протизгортальну та плазмінову системи визначити основні види порушень та лабораторні методи дослідження згортальної та протизгортальної ланок системи регуляції агрегатного стану крові.

ТЕОРЕТИЧНИЙ МАТЕРІАЛ З ТЕМИ

Протизгортальна (антикоагулянтна) система

Фізіологічна роль протизгортальної системи полягає в збереженні крові в рідкому стані і обмеженні процесу тромбоутворення. Такий агрегатний стан крові підтримується внаслідок її безперервного руху (за рахунок чого знижується концентрація реагентів агрегації), адсорбції факторів згортання ендотелієм і, нарешті, завдяки наявності природних (фізіологічних) антикоагулянтів – системи постійно циркулюючих «пасток», орієнтованих на селективне зв'язування тромбіну.

Якщо головний активатор згортання з'являється в крові тільки за необхідності в результаті каскаду ферментативних перетворень, то один з головних антикоагулянтів – антитромбін III – завжди знаходиться в кровотоці.

Розрізняють *антикоагулянти первинні* (синтезуються в організмі незалежно від активності системи згортання в даний момент і постійно містяться в крові) та *вторинні* (утворюються лише при активації згортальної та плазмінової систем).

Первинні фізіологічні антикоагулянти:

- **антитромбін III** (α_2 -глобулін) є плазмовим кофактором гепарину (при взаємодії з гепарином і гепариноподібними молекулами на поверхні ендотелію його активність різко збільшується), інгібітором тромбіну і всіх активних форм інших плазмових факторів (Xa, IXa, XIa, VIIa, XIIa), за винятком фактору VII

- **гепарин** (гетерополісахарид – представник глікозаміногліканів) – інгібітор полівалентної дії, що обмежує всі фази гемокоагуляції. Він утворює комплекс з антитромбіном III, трансформуючи його в антикоагулянт негайної дії, а також активує неферментний фібрinolіз

- **протеїн C** – вітамін K-залежний фізіологічний антикоагулянт, інактивуючий фактори VIII і V за участю двох інших кофакторів (протеїну S і тромбомодуліну). Активованій протеїн C руйнує фактор Va і фактор VIIa шляхом часткового протеолізу, сповільнюючи дві ключові реакції згортання. Крім того,

протеїн С стимулює виділення ендотеліальними клітинами тканинного активатора плазміногену

- **протеїн S** – кофактор протеїну С
- **інгібітор протеїназ-1** (за старою номенклатурою – $\alpha 1$ -антитрипсин) – інгібітор тромбіну, факторів IXa, XIa, XIIa, плазміну, калікреїну і ін.
- **$\alpha 2$ -макроглобулін** – інгібітор тромбіну, плазміну, калікреїну.

З них, антитромбін III і гепарин – основні фізіологічні антикоагулянти, а всі інші – додаткові.

Встановлено, що антитромбін III інгібує тільки ферментативні фактори зсідання, а два неферментативних фактори – фактор V та фактор VIII зазнають протеолітичного розщеплення протеїном С, до складу якого входить протеїн С, його кофактор – протеїн S та мембранний білок тромбомодулін. Під дією комплексу тромбін–тромбомодулін на поверхні ендотеліальних клітин відбувається активація протеїну С (оскільки він циркулює в плазмі в неактивному стані), за рахунок чого блокується дія факторів V та VIII. Важливим антикоагулянтом зовнішнього шляху зсідання є інгібітор шляху тканинного фактору. Він обмежує синтез тромбіну, блокуючи його одразу після утворення, а також сприяючи його поглинанню та деградації

Слід пам'ятати, що крім абсолютного зниження рівня антитромбіну III, протеїну С і протеїну S до підвищення згортальності крові (небезпеки тромбоутворення) ведуть і їх структурні аномалії.

Вторинні антикоагулянти за своєю суттю є «відпрацьованими» факторами згортання крові та продуктами їх протеолізу. До них відносять:

- **антитромбін I**, який представляє собою фібрин, котрий адсорбує і інактивує практично весь утворений в процесі згортання крові тромбін, тобто функціонує і як фізіологічний антикоагулянт
- **продукти деградації фібриногену/фібрину**, що з'являються внаслідок дії плазміну, та інгібують як агрегацію тромбоцитів, так і кінцевий етап згортання – процес полімеризації фібрин-мономерів
- **мета-фактори активних плазмових факторів і т.д.**

Активація протизгортальної системи відбувається паралельно запуску системи згортання, безпосередньо з моменту появи перших порцій активного XII чинника.

Отже, самогальмування системи гемостазу спостерігається вже на початковому етапі активації даної системи. Об'єктами впливу антикоагулянтів є всі активні форми плазмових факторів крові. Однак слід зазначити, що фізіологічні антикоагулянти закінчуються дуже швидко, темпи їх вироблення при патології «не встигають» за темпами їх споживання, що зумовлює необхідність поповнення дефіциту антикоагулянтів в цих умовах.

Система фібринолізу

Обмеження росту фібринового згустку та його руйнування відбувається за допомогою плазмінової системи (система фібринолізу).

Фібриноліз – це процес ферментативного розщеплення фібрину кров'яного згустку, що супроводжується руйнуванням тромбу. Завдяки функціонуванню фібринолітичної системи відбувається постійне розчинення внутрішньосудинних тромбів, що можуть утворюватися на стінках кровоносних судин внаслідок дії факторів, які активують згортальну систему крові. Фібринолітична система багатокомпонентна та складається з активаторів, інгібіторів та кінцевого ферменту – плазміну, який утворюється з плазміногену. Активація плазміногену проходить по зовнішньому та внутрішньому шляхах. Зовнішній забезпечується тканинним активатором плазміногену, внутрішній – урокіназою, стрептокіназою. Процес фізіологічної активації плазміногену відбувається тільки за наявності фібринового згустку, до якого приєднується плазміноген та його активатори (XIIa-фактор, прокалікреїн та ін). Цим забезпечується локальний характер дії плазміну, який не поширюється по всьому судинному руслу.

Активація плазміногену може також ініціюватися протеїназами різного походження, наприклад, лізосомальними протеїназами тканинних клітин. При порушенні проникності клітинних мембран, наприклад, при запальних процесах, тканинні протеїнази посилено виділяються в кровоток, що підсилює фібриноліз і нерідко закінчується спонтанними кровотечами. Інфікування ор-

ганізму бактеріями також супроводжується масивним надходженням в кров бактеріальних протеїназ (стрептокіназа та ін.).

Фібріноліз складається з трьох послідовних етапів:

I етап – утворення компонентів кров'яного активатора плазміногену (протеїназ) з проактиваторів

II етап – перетворення неактивного проферменту **плазміногену (про-фібринолізину)** в активний фермент – протеїназу **плазмін (фібринолізин)**, яка власне й розщеплює фібрин.

Плазміноген – це глікопротеїн із класу β -глобулінів (М.м. біля 80 кД), який складається з одного поліпептидного ланцюга.

Активація плазміногену з утворенням активного плазміну здійснюється за рахунок розщеплення протеїназами внутрішнього пептидного зв'язку Arg₅₆₀–Val₅₆₁. Фізіологічними активаторами цього глікопротеїну є фактор XII_a, численні тканинні та судинні активатори плазміногену. Важливим активатором плазміногену є **урокиназа**, що синтезується в нирках. Здатність активувати глікопротеїн без розщеплення внутрішньомолекулярного пептидного зв'язку має **стрептокіназа** – білок, який міститься, зокрема, в β -гемолітичних стрептококах.

Плазмін – це фермент, що за механізмом ферментативної дії є сериною протеїназою трипсиноподібної дії. Він є глікопротеїном з М.м. 80 кД, складається з двох поліпептидних ланцюгів: важкого (А) та легкого (В). Фізіологічним субстратом плазміну є фібрин, проте фермент в умовах *in vitro* має широку субстратну специфічність, розщеплюючи різні білкові субстрати: фібриноген, білкові фактори комплементу, казеїн.

III етап – власне розщеплення фібрину, що є основою фібринового згустку, до пептидних продуктів протеолізу. Процес каталізується активним плазміном, що утворився на II етапі фібринолізу.

Розчинні продукти деградації фібрину екскретуються із сечею. Підвищення вмісту в сечі продуктів розщеплення фібрину свідчить про надмірне посилення внутрішньосудинного згортання крові.

Утворення плазміну з плазміногену, що постійно відбувається в крові, є фізіологічним механізмом, який протидіє внутрішньосудинному тромбоутворенню. З іншого боку, надмірному посиленню фібринолізу перешкоджає природний антагоніст плазміну – білковий інгібітор глікопротеїн α_2 -антиплазмін. Спадкове зниження концентрації α_2 -антиплазміну в крові супроводжується підвищеною

Плазмін здатний до протеолітичної деградації як фібрину, так і фібриногену. В результаті розпаду фібрину формуються D-димери, а при протеолізі фібриногену – фрагменти X, Y, D, E. Обмеження процесу фібринолізу здійснюється за рахунок його інгібіторів (інгібітор активатора плазміногену I типу, інгібітору фібринолізу, який активується тромбіном, альфа-2-антиплазміну, альфа-2-макроглобуліну та альфа-1-антитрипсину).

Основні лабораторні показники, що характеризують стан відповідних ланок системи регуляції агрегатного стану крові

I. Оцінка першої фази плазмового (коагуляційного) гемостазу:

1. Час згортання крові.
2. Активований частковий тромбопластиновий час.
3. Активність XII фактора.
4. Активність XI фактора.
5. Активність IX фактора.
6. Активність VIII фактора.
7. Активність X фактора.

II. Оцінка другої фази плазмового гемостазу:

1. Протромбіновий час.
2. Активність V фактора.
3. Активність VII фактора.
4. Активність II фактора.

III. Оцінка третьої фази плазмового гемостазу:

1. Концентрація фібриногену в плазмі.
2. Активність XIII фактора в плазмі.

3. Тромбіновий час.

IV. Стан антикоагулянтної системи:

1. Антитромбін III.

2. Гепарин.

3. Активований час згортання крові.

4. Протеїн С.

5. Протеїн S

V. Стан системи фібринолізу:

1. Плазміноген

2. Тканинний активатор плазміногену та інгібітор активатора

3. D-димери

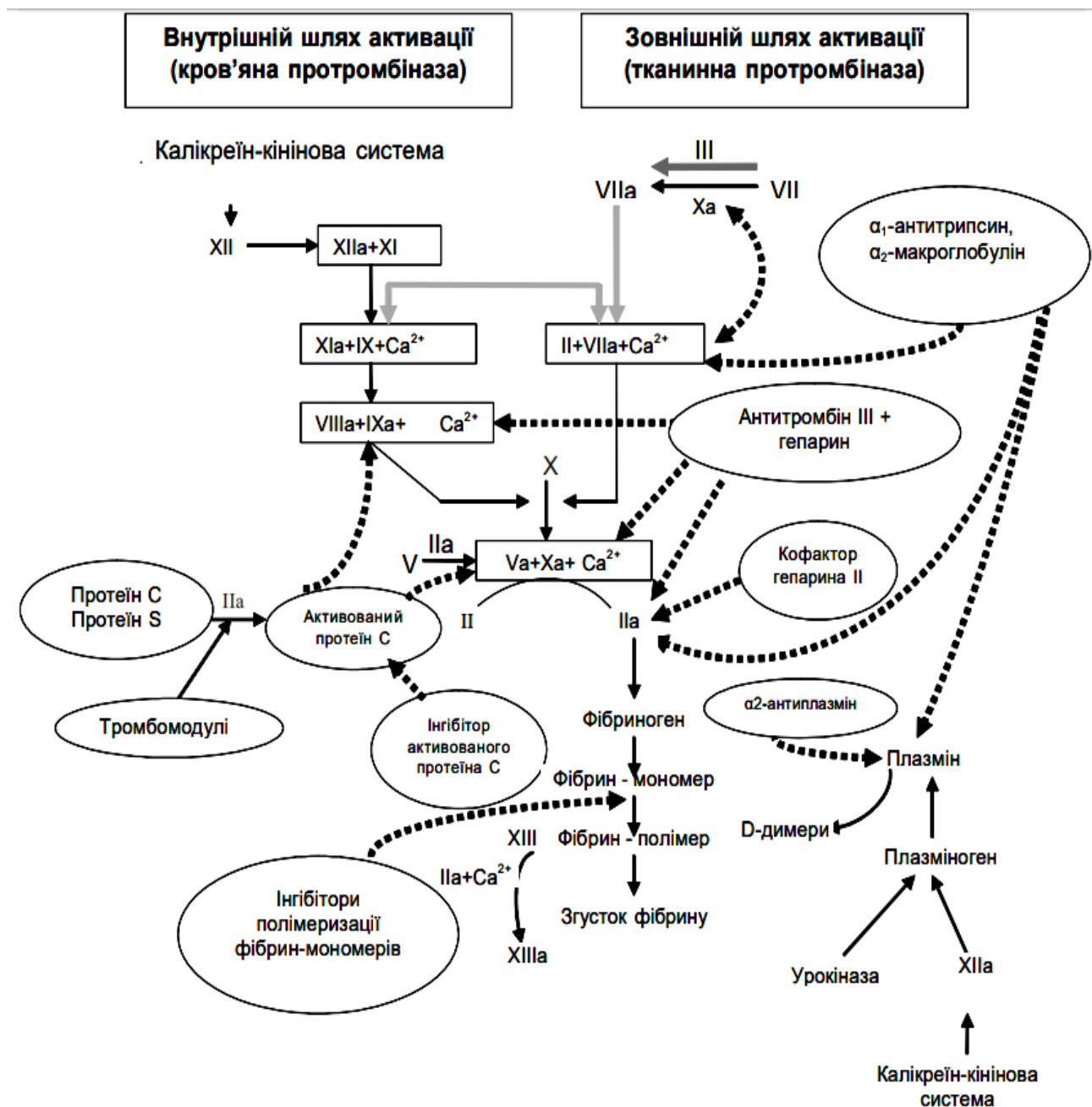
4. Розчинні фібрин-мономерні комплекси.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Протизгортальна система та її порушення
2. Система фібринолізу та її порушення
3. Основні лабораторні тести, що характеризують стан відповідних ланок системи регуляції агрегатного стану крові.

Загальна схема функціонування всіх ланок системи РАСК



МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. До протизгортальної системи відносяться всі зазначені компоненти, крім:

- A. Гепарін
B. Антитромбін І
C. Протеїн С
D. Протеїн S

Е. Всі відповіді вірні

2. До системи фібринолізу відносяться всі зазначені компоненти, крім:

А. Плазміноген

В. Фібринолізін

С. інгібітор плазміногену

Д. Антитромбін І

Е. Всі відповіді вірні

3. Які фактори згортання крові, що містяться в плазмі крові, відносяться до кінінової системи?

А. Фібриноген, тромбостенін

В. Тромбін

С. Тромбопластин

Д. Прекалікреїн, кініноген

Е. Всі відповіді правильні

4. Які компоненти гемостазу є вітамін-К залежними факторами?

А. Тромбопластин

В. Проконвертин, протромбін, фактор Стюарта-Прауера

С. Прекалікреїн

Д. Кініноген

Е. Всі відповіді правильні

5. Який із перелічених лабораторних показників указує на наявність запального процесу?

А. Збільшення вмісту фібриногену

В. Зниження вмісту фібриногену

С. Збільшення концентрації іонів кальцію

Д. Зниження концентрації іонів кальцію

Е. Збільшення концентрації фібринази

6. Що таке стрептокіназа?

А. протеїназа – активатор плазміногену

В. активатор плазміногену без протеїназної дії

- C. протейназа – активатор плазміну
- D. протейназа – інгібітор плазміну
- E. інгібітор плазміногену без протейназної дії

7. Який показник використовується для оцінки стану III фази коагуляційного гемостазу

- A. Протромбіновий час
- B. Активність XII фактора
- C. АПТЧ
- D. Тромбіновий час
- E. МНО

8. Один з лабораторних показників оцінки стану плазмінової системи – D-димери – є продуктом деградації:

- A. фібриногену
- B. фібрінолізіну
- C. фібрину
- D. плазміногену
- E. плазміну

9. Два неферментативні плазмові фактори згортання – фактор V і фактор VIII – зазнають протеолітичного розщеплення:

- A. протейном C
- B. гепарином
- C. антитромбіном III
- D. антитромбіном I
- E. протромбіназою

10. Під час якої фази згортання крові здійснюється контактна калікреїн-каскадна активація?

- A. Утворення протромбінази
- B. Утворення тромбіну
- C. Утворення фібрину
- D. Посткоагуляційна фаза

Е. Всі відповіді вірні

ТЕСТИ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-Б»

1. Порушення гемокоагуляції є небезпечними для організму. Вкажіть тест для оцінювання зовнішнього шляху згортання крові, при якому використовується тканинний тромбопластин та іони Ca^{2+} :

- А. Протромбіновий час (ПЧ)
- В. Тривалість кровотечі
- С. Тромбіновий час (ТЧ)
- Д. Час згортання
- Е. Активованій парціальний тромбіновий час (АПТЧ)

2. Біохімічні констеляції захворювань серцево-судинної системи в більшості випадків містять стандартний набір біохімічних тестів. При якій з вказаних патологій доцільно додатково зробити коагулограму?

- А. Міокардіодистрофія
- В. Гіпертонічна хвороба
- С. Міокардит
- Д. Ревмокардит
- Е. Перикардит

ТЕМА №

ТЕМА: Біохімічні функції печінки в нормі. Лабораторна діагностика порушень функцій печінки

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ

Печінка – життєво важливий орган, який відіграє головну роль в метаболізмі білків, вуглеводів, ліпідів, вітамінів, мінеральних речовин, у знешкодженні токсичних речовин як екзогенного, так і ендогенного походження. Значна

варіабельність хімічного складу печінки залежить від характеру харчування, стану обміну речовин та особливостей нейрогуморальної регуляції біохімічних процесів. Оцінка функціонального стану печінки, яка необхідна для діагностики захворювань, правильного вибору та моніторингу медикаментозного лікування, перш за все ґрунтується на результатах лабораторних досліджень.

МЕТА ЗАНЯТТЯ:

Вивчити теоретичний матеріал з біохімії функцій печінки в організмі та її роль в пігментному обміні, обміні білків, вуглеводів та ліпідів в нормі та при патології. Вміти виконати та інтерпретувати результати лабораторних досліджень функцій печінки.

ТЕОРЕТИЧНИЙ МАТЕРІАЛ З ТЕМИ

Головні функції печінки:

1. Травна – забезпечення емульгування жирів, активація ферментів їх гідролізу
2. Розподільна – розподіл нутрієнтів, які всмоктались
3. Бар'єрна – виведення з жовчю продуктів метаболізму
4. Антиоксидантна, детоксикаційна – знешкодження вільних радикалів, токсинів, азотистих продуктів розщеплення білків, алкоголю
5. Метаболічна – провідна роль в метаболізмі: вуглеводів, білків, жирів, холестерину.

Порушення вуглеводного обміну при ураженні печінки полягає в зміні таких процесів:

- 1) розщеплення і синтезу глікогену
- 2) окиснення глюкози
- 3) гліконеогенезу
- 4) перетворення галактози і фруктози в глюкозу
- 5) утворення глюкуронової кислоти.

Ці порушення можуть мати набутий і спадковий характер.

Основним механізмом виникнення цих порушень є зниження активності ферментів, що каталізують різні ланки вуглеводного обміну, внаслідок зменшення синтезу їх при білковому голодуванні, дефіциті енергії у зв'язку з гіпоксією, ушкодженні мітохондрій гепатоцитів, спадкових ферментопатіях, розладі нейрогуморальної регуляції вуглеводного обміну.

Порушення вуглеводного обміну проявляється розвитком *гепатогенної гіпоглікемії*, спадковими захворюваннями – *глікогенозами, галактоземією, фруктоземією чи фруктозурією*. Гіпоглікемія зумовлена зменшенням вмісту глікогену в печінці, зниженням глікогенолізу (наприклад, при глікогенозах Гірке і Герса) та гліконеогенезу (при аддісоновій хворобі, коли падає секреція глікокортикоїдів). Зниження вмісту глікогену в печінці спричинює ослаблення її знешкоджувальної функції внаслідок порушення перетворення глікогену в глюкуронову кислоту.

Характерними ознаками *порушення ліпідного обміну* при захворюваннях печінки є:

- 1) дефекти розщеплення і всмоктування жирів їжі в кишках (у разі патології жовчотворення і жовчовиділення у зв'язку з дефіцитом жовчних кислот)
- 2) порушення синтезу й окиснення тригліцеридів, фосфоліпідів, ліпопротеїдів, холестерину
- 3) збільшене утворення кетонових тіл.

Розлад жирового обміну в печінці спричинює розвиток *жирового гепатозу* (жирова дистрофія, жирова інфільтрація печінки), під час якого в гепатоцитах накопичується жир і відбувається дифузне або осередкове ожиріння печінки. Причинами виникнення жирового гепатозу є аліментарні фактори (голодування, особливо білкове, нестача в їжі ліпотропних речовин – холіну, метіоніну, надлишок вуглеводів і жирів); токсичні речовини (алкоголь, гепатотропні отрути – інсектициди, тетрациклін у великих дозах); ендокринні й метаболічні порушення (цукровий діабет, ожиріння); гіпоксія (при недостатності серця, дихання).

Патологічні процеси в печінці (гепатит, цироз) нерідко супроводжуються зменшенням утворення естерифікованого холестерину або зниженням загальної кількості його в крові, порушенням синтезу й окиснення холестерину, перетворення його в жовчні кислоти і виведення з жовчю.

Порушення білкового обміну при патології печінки проявляється розладом таких процесів:

- 1) синтезу білків (у тому числі білків плазми крові)
- 2) розщеплення білків (до амінокислот, пуринових і піримідинових основ)
- 3) дезамінування, трансамінування та декарбоксилювання амінокислот
- 4) утворення сечовини, сечової кислоти, аміаку, глутаміну (транспортної форми аміаку в крові), креатину – кінцевих продуктів білкового обміну.

Розрізняють такі механізми порушення білкового обміну в печінці:

- ушкодження внаслідок патологічного процесу (гепатит, гепатоз, цироз, пухлина, ішемія) печінкових клітин як структурного субстрату анаболізму і катаболізму білків;
- порушення генетичної регуляції синтезу білків внаслідок ушкодження структурних генів, рибосом цитоплазми і гранулярної
- ендоплазматичної сітки гепатоцитів, дефіциту РНК, що спричинює зміну кількості синтезованих білків, утворення аномальних за своєю структурою білків (наприклад, при амілоїдозі печінки, спадковій афібриногенемії);
- дефіцит амінокислот (при білковому голодуванні, порушенні перетравлювання і всмоктування білків у кишках);
- дефіцит енергії (в разі гіповітамінозу, особливо дефіциту піридоксину, рибофлавіну; при гіпоксії);
- порушення нейрогуморальної регуляції білкового обміну (наприклад, при дефіциті інсуліну, зміні секреції соматотропіну аденогіпофізом).

Наслідком порушення білкового обміну в печінці є:

- 1) гіпопротеїнемія
- 2) гіпер- γ -глобулінемія
- 3) диспротеїнемія

- 4)геморагічний синдром
- 5) підвищення рівня вільних амінокислот у крові (аміноацидемія) та сечі (аміноацидурія)
- 6) збільшення в крові залишкового азоту
- 7) підвищення вмісту в крові деяких ферментів (аміотрансфераз, γ -глутамілтранспептидази та ін.).

Порушення обміну вітамінів. Різні патологічні процеси в печінці можуть супроводжуватись розвитком гіповітамінозів, що може бути зумовлено:

- 1) зменшенням всмоктування жиророзчинних вітамінів (ретинолу, ерго-кальциферолу, токоферолів, філохінонів) внаслідок порушення жовчовидільної функції печінки (відсутність або недостатнє надходження жовчних кислот у кишки)
- 2) порушенням синтезу вітамінів і утворення їхніх біологічно активних форм (ретинолу з каротину, піридоксальфосфату – активної форми вітаміну В₆ та ін.)
- 3) порушенням депонування вітамінів (ціанокобаламіну, фолієвої кислоти, нікотинової кислоти тощо) та виведення їх з організму.

Порушення обміну гормонів і біологічно активних речовин. При патології печінки в організмі можуть виникати зміни, зумовлені наступними чинниками:

- 1) порушенням синтезу гормонів (в гепатоцитах з фенілаланіну утворюється тирозин – попередник тироксину, трийодтироніну, катехоламінів) і транспортуючих гормони білків ів (транскортину, що зв'язує 90 % глікокортикоїдів)
- 2) порушенням інактивації гормонів (кон'югації стероїдних гормонів з глюкуроною і сірчаною кислотами, ферментативного окиснення катехоламінів під впливом амінооксидаз, розщеплення інсуліну інсуліназою)
- 3) зниженням інактивації біологічно активних речовин (окисного дезамінування серотоніну і гістаміну).

Порушення інактивації таких гормонів, як тироксин, інсулін, кортикостероїди, андрогени, естрогени, призводить до зміни вмісту їх у крові і розвитку

ендокринної патології. Зниження дезамінування біологічно активних речовин при патології печінки може посилити клінічні прояви алергії.

Порушення обміну мікроелементів при захворюваннях печінки пов'язано із зміною:

- 1) депонування в печінці заліза (в формі феритину і гемосидерину), міді, цинку, кобальту, молібдену, марганцю тощо
- 2) синтезу транспортних білків мікроелементів (трансферину, церулоплазміну)
- 3) екскреції їх із жовчю.

Зниження антитоксичної функції печінки пов'язане з порушенням її метаболічної функції – синтезу сечовини, в процесі якого відбувається знешкодження аміаку, реакцій окиснення (знешкодження ароматичних вуглеводнів), відновлення (нейтралізація нітробензолу перетворенням його в параамінофенол), ацетилювання (знешкодження сульфаніламідних препаратів), гідролізу (розщеплення алкалоїдів, серцевих глікозидів), кон'югації (утворення парних сполук з глюкуроновою кислотою, гліцином, цистеїном, таурином і зв'язування таким чином непрямого білірубіну, скатолу, фенолу, індолу тощо).

Виключення антитоксичної функції печінки спричинює розвиток печінкової енцефалопатії, яка характеризується порушеннями психіки, свідомості, руховими розладами (тремтіння, атаксія, ригідність м'язів) і за важкого перебігу може перейти в печінкову кому.

Порушення жовчоутворювальної функції печінки виявляється у збільшенні чи зменшенні секреції жовчі, як правило, з одночасною зміною її складу.

Етіологія. Порушення жовчоутворення можуть спричинити:

- 1) зміна нейрогуморальної регуляції
- 2) аліментарні фактори (жири, яєчний жовток, білкове голодування) деякі лікарські рослини і препарати (настій кукурудзяних приймочок, сорбіт тощо)
- 3) екзогенні та ендогенні фактори, що порушують енергетичний обмін в організмі (гіпоксія, перегрівання, гіпотермія, отруєння ціанідами)
- 4) ураження печінки і жовчних шляхів.

Патогенез. До механізмів, що зумовлюють якісні й кількісні порушення жовчоутворювання, належать:

- 1) зміна секреторної активності гепатоцитів
- 2) порушення реабсорбції компонентів жовчі у жовчних шляхах і кишках (печінково-кишковий кругообіг)
- 3) зміни транс- та інтерцелюлярної фільтрації деяких речовин з крові в капіляри печінки.

Порушення жовчовиділення

Етіологія. Причинами порушення надходження жовчі в дванадцятипалу кишку можуть бути:

- 1) механічна перешкода відтоку жовчі - здавлення жовчних шляхів іззовні (пухлиною головки підшлункової залози, запаленою тканиною, рубцем) або закупорка її (каменем, гельмінтами, густою жовчю)
- 2) порушення іннервації жовчних шляхів – гіпер- або гіпокінетична дискінезія (наприклад, зменшення жовчовиділення при спазмі сфінктера шийки жовчного міхура)
- 3) зміна гуморальної регуляції жовчовиділення.

Патофізіологічні синдроми, зумовлені порушенням жовчоутворення і жовчовиділення супроводжуються жовтяницею.

Жовтяниця (icterus) – синдром, що виникає при збільшенні в крові білірубіну і характеризується жовтим забарвленням шкіри, слизової оболонки, склери внаслідок відкладення в них жовчних пігментів.

Класифікація. Залежно від первинної локалізації патологічного процесу і механізму виникнення виділяють такі види жовтяниці:

1) ***надпечінкову***, спричинену підвищеною продукцією білірубіну, здебільшого у зв'язку з посиленням розпаду еритроцитів (***гемолітична жовтяниця***), та рідше – з порушенням плазмового транспорту білірубіну

2) ***печінкову (паренхіматозну)***, зумовлену порушенням захоплення, кон'югації та екскреції білірубіну гепатоцитами внаслідок ушкодження їх під час різних патологічних процесів, а також спадкових дефектів структури гепа-

тоцитів і ферментів, що беруть участь у метаболізмі і транспорті білірубіну в клітинах печінки

3) *підпечінкову (механічну, обтураційну)*, що виникає при затрудненні відтоку жовчі поза печінковими жовчними шляхами.

Надпечінкова жовтяниця

Етіологія. Причини виникнення гемолітичної жовтяниці ті самі, що викликають гемоліз еритроцитів і розвиток гемолітичної анемії.

Патогенез. Внаслідок посиленого гемолізу еритроцитів у зірчастих ретикулоєндотеліоцитах, макрофагах селезінки, кісткового мозку утворюється така велика кількість непрямого білірубіну, що гепатоцити печінки не здатні повністю вилучити його з крові і зв'язати з уридиндифосфоглюкуроною кислотою (відносна недостатність печінки). У крові збільшується вміст непрямого білірубіну (непряма гіпербілірубінемія), який не виводиться з сечею, оскільки зв'язаний з альбуміном плазми. При гемолітичній жовтяниці в печінці, жовчних шляхах та кишках синтезується надлишкова кількість глюкуронідів білірубіну.

Печінкова жовтяниця

Етіологія. Причиною виникнення печінкової жовтяниці є, передусім, вплив факторів, що зумовлюють ушкодження гепатоцитів (інфекція, токсичні, в тому числі лікарські речовини, внутрішньо печінковий холестаз).

Патогенез. Значно частіше зменшене виділення білірубіну поєднується з порушенням його захвату, внутрішньоклітинного транспорту і кон'югації. Такий механізм виникнення жовтяниці в разі ушкодження клітин печінки (гепатоцелюлярна жовтяниця) і внутрішньопечінкового холестаза (холестатична жовтяниця). При гепатоцелюлярній і холестатичній печінковій жовтяниці різко знижується секреція прямого білірубіну в жовч, і він надходить з патологічно змінених гепатоцитів у кров, виникає пряма гіпербілірубінемія. Водночас у крові підвищується рівень непрямого білірубіну - непряма гіпербілірубінемія, що пов'язано зі зниженням його захвату, внутрішньоклітинного транспорту й утворення глюкуронідів білірубіну. Потрапляння в кров жовчних кислот зумовлює розвиток холемічного синдрому. Зменшення або припинення надходжен-

ня жовчі у кишки (гіпохолія, ахолія) призводить до зниження утворення метаболітів білірубіну та виділення їх з калом і сечею (сліди стеркобіліну), а також появи ахолічного синдрому.

Підпечінкова жовтяниця

Етіологія пов'язана з порушенням жовчовиділення.

Патогенез. Механізм перешкоджання відтоку жовчі спричиняє застій (по-запечінковий холестаз) і підвищення тиску жовчі понад 2,7 кПа (270 мм вод.ст.), розширення і розриву жовчних капілярів та надходження жовчі прямо в кров або через лімфатичні шляхи. Поява жовчі в крові зумовлює пряму гіпербілірубінемію, гіперхолестеринемію, розвиток холемічного синдрому, білірубін-емію (звідси темно-жовте забарвлення сечі – «колір пива») і наявність жовчних кислот і сечі.

Холемічний синдром, що спостерігається при механічній і печінковій (гепатоцелюлярній та холестатичній) жовтяниці, виникає внаслідок проникнення жовчних кислот у кров. Він характеризується брадикардією, зниженням артеріального тиску, що пояснюється дією жовчних кислот на рецептори і центр блукаючого нерва, пазушний вузол серця і кровоносні судини. Токсична дія жовчних кислот на центральну нервову систему виявляється загальною астеноїєю, дратівливістю, яка змінюється депресією, сонливістю вдень і безсонням уночі, головним болем, підвищеною втомлюваністю. Подразнення чутливих нервових закінчень шкіри жовчними кислотами зумовлює свербіння шкіри. Збільшення вмісту жовчних кислот у крові може призвести до гемолізу, лейкоцитолізу, згущення зсідання крові, підвищення проникності мембран і розвитку запального процесу на місці контакту їх з тканинами (некроз печінки, перитоніт, гострий панкреатит).

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Біохімічні функції печінки в організмі.

2. Роль печінки в обміні вуглеводів.
3. Роль печінки в обміні ліпідів.
4. Роль печінки в обміні білків.
5. Роль печінки в пігментному обміні.
6. Жовчоутворювальна функція печінки. Хімічний склад жовчі.
7. Роль кон'югуючих систем печінки в знешкодженні токсичних речовин.
8. Порушення функцій печінки при патологіях. Синдроми ураження печінки. Печінкові проби.

ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

Протокол 4№

Дата:

Визначення основних діагностичних маркерів ураження печінки на біохімічних аналізаторах «Prestige 24i» та «Accent-200».

1. Визначення активності аланінамінотрансферази уніфікованим динітрофенілгідразиновим методом Райтмана-Френкеля

Принцип методу: Внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією аланін амінотрансферази, утворюється L-глутамінова та піровиноградна кислоти. Визначення базується на вимірюванні оптичної щільності 2,4-динітрофенілгідрозонів 2-оксоглутарової та піровиноградної кислот в лужному середовищі. Внаслідок більш високого коефіцієнту молярної екстинції гідразону піровиноградної кислоти виявляється прямопорційна залежність оптичної щільності реакційного розчину від активності ферменту.

Лінійність методу: 0,1 – 2,5 мкмоль/год*мл (0,028 – 0,7 мккат/л)

Нормальні значення: 0,1 – 0,68 мкмоль/год*мл (0,06 – 0,14 мккат/л)

Активність ферменту стабільна протягом 5 год. при температурі +2 - +8⁰ С, якщо сироватка чи плазма відібрані не пізніше 30 хв. після забору крові.

2. Визначення вмісту загального та прямого білірубіну у сироватці крові за методом Ендрашика

Принцип методу: В присутності кофеїнового реактиву діазотована сульфані-

лова кислота утворює з прямим та зв'язаним (непрямим) білірубінном азо-білірубін рожево-фіолетового кольору. Інтенсивність забарвлення дослідного розчину прямопропорційна концентрації загального білірубіну у пробі. За відсутності кофеїнового реактиву до реакції вступає лише прямий білірубін. По різниці між загальним і прямим білірубінном визначають вміст непрямого білірубіну.

Лінійність методу: 3,4 – 240 мкмоль/л

Нормальні значення: загальний білірубін – 8,6 – 25,5 мкмоль/л

прямий білірубін – 0,9 – 4,3 мкмоль/л

Концентрація білірубіну стабільна протягом 24 годин при температурі +2 - +8° С у темному місці, за умови, що сироватка чи плазма відібрані не пізніше 30 хвилин після забору крові.

3. Тимолова проба.

Принцип методу:

β-глобуліни та ліпопротеїни осаджуються із сироватки крові при рН=7,55 буферним розчином з великим вмістом тимолу. Вимірюють інтенсивність помутніння, яка залежить від вмісту білкових фракцій і їх кількісного співвідношення.

Хід роботи:

До 3 мл тимолового реагенту додають 0,05 мл негемолізованої сироватки, вміст пробірки перемішують, залишають на 30 хв. при кімнатній температурі (25°С), а потім фотометрують при довжині хвилі 660 нм (червоний світло-фільтр) у кюветах 10 мм проти контрольної проби (3 мл тимолового реагенту).

Розрахунок проводять за калібрувальною кривою. В нормі показник тимолової проби у здорових людей становить 0-4 одиниць S-H.

Результат:

Висновки:

Клініко-діагностичне значення:

Підвищення показників тимолової проби є важливим доказом наявності запального ураження печінки. Проба позитивна в 90-100% випадків токсичного, інфекційного (вірусного) гепатиту (хвороби Боткіна), причому ще в преджовтяничній стадії захворювання, а також у хворих на малярію, вірусні інфекції та колагенові захворювання. При механічній жовтяниці ця проба негативна приблизно в 75% випадків. На цьому ґрунтується застосування тесту для диференційної діагностики жовтяниць.

МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. В нормі у здорової людини в печінці відбувається перетворення прямого білірубіну в прямий. Вкажіть механізм цього процесу:

- A. Окислення за рахунок ФАД
- B. Гідроксилювання
- C. Метилування
- D. Взаємодія з УДФ-ГК
- E. Сполучення з гліцином

2. Визначте, з якою метою в клінічній практиці застосовується проба Квіка:

- A. Для з'ясування процесу жовчоутворення
- B. Для з'ясування процесу утворення ліпопротеїнів плазми крові

- С. Для з'ясування детоксикаційної функції печінки
- Д. Для з'ясування білоксинтезуючої функції печінки
- Е. Для з'ясування вільно-радикальних процесів

3. В знешкодженні чужорідних сполук у клітинах печінки бере участь ряд ферментів. Вкажіть один з них:

- А. Піруватдегідрогеназа
- В. Кисла фосфатаза
- С. Лужна фосфатаза
- Д. УДФ-глюкуронілтрансфераза
- Е. Аспартатамінотрансфераза

4. В печінці хворого порушено детоксикацію природних метаболітів та ксенобіотиків. Назвіть цитохром, активність котрого може бути знижена.

- А. Цитохром с1
- В. Цитохромоксидаза
- С. Гемоглобін
- Д. Цитохром b
- Е. Цитохром Р450

5. У доношеного новонародженого спостерігається жовте забарвлення шкіри та слизових оболонок. Вірогідно, причиною такого стану може бути тимчасовий дефіцит ферменту:

- А. УДФ-глюкуронілтрансферази
- В. Уридинтрансферази
- С. Гемсинтетази
- Д. Гемоксигенази
- Е. Білівердинредуктази

6. У пацієнта, що звернувся до лікаря, спостерігається жовте забарвлення шкіри, сеча темна, кал темно-жовтого кольору. Підвищення концентрації якої сполуки буде спостерігатися в сироватці крові?

- А. Кон'югованого білірубіну

- В. Вільного білірубіну
- С. Мезобілірубіну
- Д. Вердоглобіну
- Е. Білівердину

7. У жінки, 46 років, що страждає від жовчнокам'яної хвороби, розвинулась жовтяниця. При цьому сеча стала темно-жовтою, а послід знебарвленим. Концентрація якої речовини в сироватці крові підвищена найбільше?

- А. Вільного білірубіну
- В. Кон'югованого білірубіну
- С. Білівердину
- Д. Мезобілірубіну
- Е. Уробіліногену

8. У хворого спостерігається підвищення в плазмі крові вмісту кон'югованого (прямого) білірубіну на тлі одночасного підвищення рівня некон'югованого (непрямого) білірубіну та різкого зниження в посліді та сечі вмісту стеркобіліногену. Про який різновид жовтяниці йдеться?

- А. Гемолітична
- В. Паренхіматозна (печіночна)
- С. Обтураційна
- Д. Жовтяниця новонароджених
- Е. Хвороба Жильбера

9. У пацієнта цироз печінки. Визначення якої речовини, що екскретується з сечею, може характеризувати стан антитоксичної функції печінки?

- А. Гіпурової кислоти
- В. Солей амонію
- С. Креатиніну
- Д. Сечової кислоти
- Е. Амінокислот

10. У хворого після переливання крові спостерігається пожовтіння шкіри та слизових оболонок, в крові – підвищений вміст загального та непрямого білірубіну, в сечі – уробіліну, в посліді – стеркобіліну. Про який різновид жовтяниці йдеться?

- A. Жовтяниця новонароджених
- B. Спадкова
- C. Обтураційна
- D. Паренхіматозна
- E. Гемолітична

ТЕСТИ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-Б»

1. У хворого, який проходить курс лікувального голодуванням, нормальний рівень глюкози підтримується за рахунок глюконеогенезу. З якої амі-

нокислоти в печінці людини найбільш активно синтезується глюкоза?

- A. Лізин
- B. Аланін
- C. Глутамінова кислота
- D. Лейцин
- E. Валін

2. У працівника хімчистки виявлено жирову дистрофію печінки. Недостатність якої речовини може призвести до цієї патології?

- A. Холевої кислоти
- B. Фосфатидилхоліну
- C. Тристеарину
- D. Фосфатидної кислоти
- E. Сечовини

3. В крові хворого концентрація альбуміну складає 28 г/л, підвищена концентрація ЛДГ₅. Про захворювання якого органу це свідчить?

- A. Легеня
- B. Селезінка
- C. Серце
- D. Нирка
- E. Печінка

4. В клініку поступила дитина 4-х років з ознаками тривалого білкового голодування: затримка росту, анемія, набряки, розумова відсталість.

Причиною розвитку набряків у цієї дитини є зниження синтезу:

- A. Ліпопротеїнів
- B. Альбуміну
- C. Глобулінів
- D. Гемоглобіну
- E. Глікопротеїнів

5. В крові пацієнта спостерігається зростання активності АлАТ, АсАТ, ЛДГ5, фруктозо-1-фосфатальдолази, орнітинкарбомойлтрансфери.

Про розвиток якого печінкового синдрому свідчать ці зміни:

- A. Цитолітичного
- B. Холестатичного
- C. Мезенхімального
- D. Синтетичної недостатності
- E. Пухлинного росту

6. У хворого з жовтяницею встановлене підвищення в плазмі крові вмісту загального білірубіну за рахунок непрямого (вільного), в калі та сечі – високий вміст стеркобіліну, рівень прямого (зв'язаного) білірубіну в плазмі крові в межах норми. Який вид жовтяниці можна передбачити?

- A. Фізіологічна
- B. Гемолітична
- C. Паренхіматозна
- D. Обтураційна
- E. Хвороба Жильбера

7. Жінка середніх років госпіталізована з жовтяницею, сонливістю і клінічними ознаками хронічного захворювання печінки. Єдиним значно вираженим біохімічним відхиленням від норми є висока активність гамма-глутамілтрансептидази (245 од/л). Який синдром в цьому випадку характеризує цей показник?

- A. Холестатичний
- B. Мезенхімальний
- C. Синтетичної недостатності печінки
- D. Цитолітичний
- E. Пухлинного росту

8. Хворий у віці 56 років з діагнозом злоякісна гепатома скаржиться на слабкість, нудоту, за останні 2 місяці втратив 12 кг. Спостерігається жовтушність шкіри і слизових оболонок. Основним маркером в діагностиці злоякісних захворювань печінки є:

- A. α -фетопротейн
- B. β 2-макроглобулін
- C. СА-125
- D. СА 19-9
- E. СА 72-4

9. Ензимодіагностика є важливою складовою в постановці діагнозу. Активність якого ферменту обов'язково визначають для ранньої діагностики гострого гепатиту?

- A. Креатинкінази (КК).
- B. Лужної фосфатази (ЛФ)
- C. Лактатдегідрогенази (ЛДГ)
- D. Аланінамінотрансфери (АлАТ)
- E. Аспартатамінотрансфери (АсАТ)

10. Для діагностики холестазу широко використовується визначення активності ферментів. Активність якого ферменту зростає в десятки разів при стазі жовчі в позапечінкових жовчних протоках?

- A. Аспартатамінотрансфери (АсАТ)
- B. Аланінамінотрансфери (АлАТ)
- C. Лужної фосфатази (ЛФ)
- D. Кислої фосфатази (КФ)
- E. Лактатдегідрогенази-5 (ЛДГ-5)

11. У 20-річного студента з'явилися симптоми грипу, які супроводжувалися втратою апетиту і болем в правому підребер'ї. При пальпації печінка збільшена і болюча. Біохімічні дані при госпіталізації: загальний білірубін 38 мкмоль/л, АлАТ – 450 од/л, лужна фосфатаза – 70 од/л. Попередній діагноз – гепатит. Який синдром є найбільш вираженим у цьому періоді захворювання?

- A Цитолітичний
- B Холестатичний
- C Мезенхімально-запальний
- D Пухлинного росту
- E Синтетичної недостатності

12. В крові пацієнта виявлено підвищення активності лужної фосфатази, гама-глутамілтранспептидази, 5-нуклеотидази, лейцинаминопептидази. Ці зміни свідчать про:

- A. Холестаз
- B. Порушення цілісності гепатоцитів
- C. Злоякісну пухлину
- D. Вірусну інфекцію
- E. Запальний процес

13. Жовтяниці супроводжують різні патологічні стани. Який тип жовтяниці характеризується істотним зростанням прямого білірубіну (кон'юго-ваного білірубіну) та появою жовчних пігментів в сечі?

- A. Механічна жовтяниця (обтураційна)
- B. Жовтяниця новонароджених
- C. Паренхіматозна жовтяниця

D. Гемолітична жовтяниця

E. Наслідки травми печінки

14. Для діагностики стану печінки застосовуються функціональні проби. Яка з перелічених проб застосовується для аналізу знешкоджувальної функції?

A. Бромсульфалеїнова проба

B. Кофеїнова проба

C. Визначення активності трансаміназ

D. Визначення активності лужної фосфатази

E. Кефалін-холестеринова реакція флокуляції

15. Цитолітичний синдром виникає внаслідок порушення структурної цілісності клітин печінки, передусім гепатоцитів. Висока активність якого ферменту в сироватці крові свідчить про некротичні процеси, деструкцію субклітинних структур гепатоцитів?

A. Лактаза

B. Амілаза

C. Гексокіназа

D. Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа

E. Глутаматдегідрогеназа

16. Хворому поставлено діагноз – цироз печінки. Які зміни у протеїновому спектрі сироватки крові є найхарактернішими за цієї хвороби?

A. Гіпоальбумінемія, гіперглобулінемія (бета-фракція)

B. Анальбумінемія, гіперглобулінемія (альфа-фракція)

C. Гіперальбумінемія, гіпоглобулінемія (бета-фракція)

D. Гіпоальбумінемія, гіпоглобулінемія (бета-фракція)

E. Гіперальбумінемія, гіперглобулінемія (гама-фракція)

ТЕМА № 5

ТЕМА: Мікросомальне окислення. Біотрансформація ксенобіотиків (семінар)

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ:

Мікросомальне окислення, як головний механізм біотрансформації екзо- та ендogenous ксенобіотиків, відіграє важливу роль в реакціях знешкодження цілого ряду токсичних речовин, лікарських препаратів та продуктів їх перетворення. Утворені при цьому речовини стають краще розчинними в воді та менш токсичними. На сьогодні ксенобіотики є об'єктом детального дослідження окремого напрямку біологічної хімії – ксенобіохімії, яка вивчає закономірності перетворення ксенобіотиків в організмі та молекулярні механізми фізіологічних ефектів зазначених сполук (ксенобіокінетику, ксенобіодинаміку і т.п.).

МЕТА ЗАНЯТТЯ:

Вивчити теоретичний матеріал стосовно головних шляхів біотрансформації ксенобіотиків в нормі та при патології. Вміти інтерпретувати результати лабораторних досліджень відповідних показників детоксикаційної функції печінки та використовувати отримані знання в практичній роботі. Сформувані уявлення про етапи дослідження, алгоритм трактування їх результатів та значення важливості врахування всіх факторів, що впливають на його результати.

ТЕОРЕТИЧНИЙ МАТЕРІАЛ З ТЕМИ

До сполук, які можуть спричиняють токсичні ефекти на окремі клітини, тканини, органи і організм в цілому, належать:

чужорідні хімічні сполуки (екзогенні ксенобіотики – від грецьк. «xenos» – чужий; «bios» – життя), що потрапляють в організм в процесі життєдіяльності – фармацевтичні препарати, засоби побутової хімії, косметичні засоби, харчові добавки (антиоксиданти, консерванти, барвники), пестициди, промислові отрути тощо.

кінцеві продукти метаболізму (ендогенні ксенобіотики), що мають потенційно токсичні властивості (жовчні пігменти та продукти їх перетворення в

кишечнику; продукти окислення стероїдних гормонів та катехоламінів, які підлягають в печінці процесам кон'югації як заключного етапу детоксикації, що передують їх екскреції).

продукти мікробної деградації (гниття) білків (амінокислот) в товстій кишці (заміщені феноли, імідазоли, індоли, поліаміни і ін.).

Мікросомальне окислення – це каскад реакцій, які складають першу фазу біотрансформації (знешкодження) ксенобіотиків. Суть процесу полягає в різних варіантах ферментативного окислення вихідних речовин за допомогою кисню – включенню одного (гідроксилування) чи обох атомів кисню в молекулу ксенобіотика. Завдяки цьому змінюється структура початкової речовини та її фізико-хімічні властивості. На мікросомальне окислення припадає 5-10% кисню, що потрапляє в організм.

Ферментативні системи, які забезпечують даний процес, локалізовані, головним чином, в гладенькому ендоплазматичному ретикулумі печінки, а також в мітохондріях наднирників та інших тканин. При гомогенізації та ультрацентрифугуванні клітин ліпопротеїдна кальцієва сітка ендоплазматичного ретикулуму розпадається на окремі, дрібні, замкнуті везикули, які отримали назву мікросом, тому й процес знешкодження ксенобіотиків назвали «мікросомальне окислення».

На відміну від мітохондріального окислення, де важливу роль відіграють реакції дегідрування, в яких молекулярний кисень в дихальному ланцюгу є кінцевим акцептором електронів і протонів з утворенням води, а виділена енергія акумулюється в АТФ (так звана біоенергетична функція кисню), в реакціях мікросомального окислення активний кисень безпосередньо включається в речовину, тобто використовується як пластична речовина (біосинтетична та детоксикаційна функції кисню). Молекули АТФ в цьому процесі не утворюються.

Існують два типи мікросомального окислення речовин.

1. Окислення за оксидазним типом. Ферменти – оксидази. За будовою вони є **металофлавопротеїнами**, тобто складними ензимами, до складу яких в якості простетичних груп входять одна з двох біологічно активних форм вітамі-

ну В₂ – **ФМН** (*флавінмононуклеотид*) чи **ФАД** (*флавінаденін-динуклеотид*) та катіони металів зі змінною валентністю (залізо, мідь, молібден). Знаходяться оксидази в пероксисомах – особливих утвореннях ендоплазматичного ретикулюму, а також в зовнішній мембрані мітохондрій. Вони відщеплюють водень від субстрату і передають його на кисень з утворенням перекису водню.

Оксидаз в клітинах небагато, оскільки й субстратів для них досить мало.
Це:

моноаміноксидази (МАО) – окислюють катехоламіни та деякі інші біогенні аміни.

діаміноксидази (ДАО) – окислюють гістамін та інші діаміни та поліаміни

оксидази L-амінокислот

оксидази D-амінокислот

ксантиноксидаза – окислює пуринові азотисті основи (аденін та гуанін) за участю води.

Більшість з цих ферментів мають широку субстратну специфічність і порівняно невисоку активність.

Біологічне значення окиснення за оксидазним типом:

окислюються важкоокислювані циклічні речовини

швидка інактивація біологічно активних речовин

утворюється Н₂О₂, що має бактерицидну дію – руйнує клітинні мембрани фагоцитованих бактеріальних клітин.

2. Окислення оксигеназного типу. Ферменти – оксигенази. Вони працюють в складі мультиферментних комплексів, вбудованих в мембрани ендоплазматичного ретикулюму та у внутрішню мембрану мітохондрій. Оксигенази активують молекулу кисню, а потім включають один або два атоми кисню безпосередньо в молекулу речовини, що окислюється. Оксигенази, що включають в речовину два атоми кисню, називаються диоксигеназами ($S + O_2 \rightarrow S-O_2$). Таким шляхом окислюються циклічні важкоокислювані структури, реакції йдуть з розривом циклу. Оксигенази, які включають один атом, називаються монооксигеназами (гідроксилазами). Монооксигенази калізують реакції, в яких в моле-

кулу органічного субстрату включається один з двох атомів кисню, а другий використовується для утворення води (джерелом атомів водню при цьому служить НАДФ-Н₂, рідше НАД-Н₂). Внаслідок даної реакції в молекулі вихідної речовини з'являється гідроксильна група (окислювальне гідроксилування), тому подібні ферменти часто йменують «гідроксилазами».



Дана реакція є основною в метаболізмі гідрофобних сполук в мембранах ендоплазматичного ретикулуму гепатоцитів. Оскільки в розглянутому процесі атоми кисню одночасно включаються в різні речовини (один в молекулу води, а другий – в молекулу субстрату, що окислюється), ферменти, які каталізують ці реакції, отримали назву «мікросомальних оксигеназ змішаної функції».

Мультиферментний комплекс складається з трьох компонентів.

1. Флавінові дегідрогенази (містять ФАД). Їх – НАДФ-Н.
2. Залізо-сірчаний білок (містить негемінове залізо).
3. Цитохром Р450 (його будова відрізняється від будови цитохромів ланцюга мітохондріального окислення).

Мультиферментний комплекс формує ланцюг переносу електронів та протонів, наприкінці його відбувається активація кисню. Активований кисень приєднується до активного центру цитохрому Р450, і на нього переносяться електрони, а потім цей кисень включається в молекулу субстрату.

Цитохром Р450 взаємодіє з молекулярним киснем і включає один атом кисню в молекулу субстрату, сприяючи появі (посиленню) у неї гідрофільності, а інший – в молекулу води. Основними його реакціями є:

- окисне деалкілювання, що супроводжується окисленням алкільної групи (метил, етил) при атомах N, O або S до альдегідної та її відщепленням,
- окислення (гідроксилування) неполярних сполук з аліфатичними ланцюгами або ароматичними кільцями,
- окиснення спиртів до відповідних альдегідів.

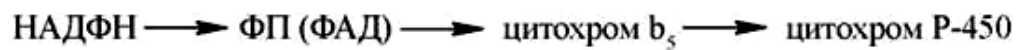
Робота цитохрому Р450 забезпечується двома ферментами:

- НАДФ-Н-цитохром-Р450-оксидоредуктазою (містить ФМН і ФАД)

- НАД-Н-цитохром-b5-оксидоредуктазою (містить ФАД)

Обидві оксидоредуктази одержують електрони від відповідних відновлених еквівалентів (НАД-Н чи НАДФ-Н) та передають їх на цитохром Р450 (безпосередньо чи через цитохром b₅).

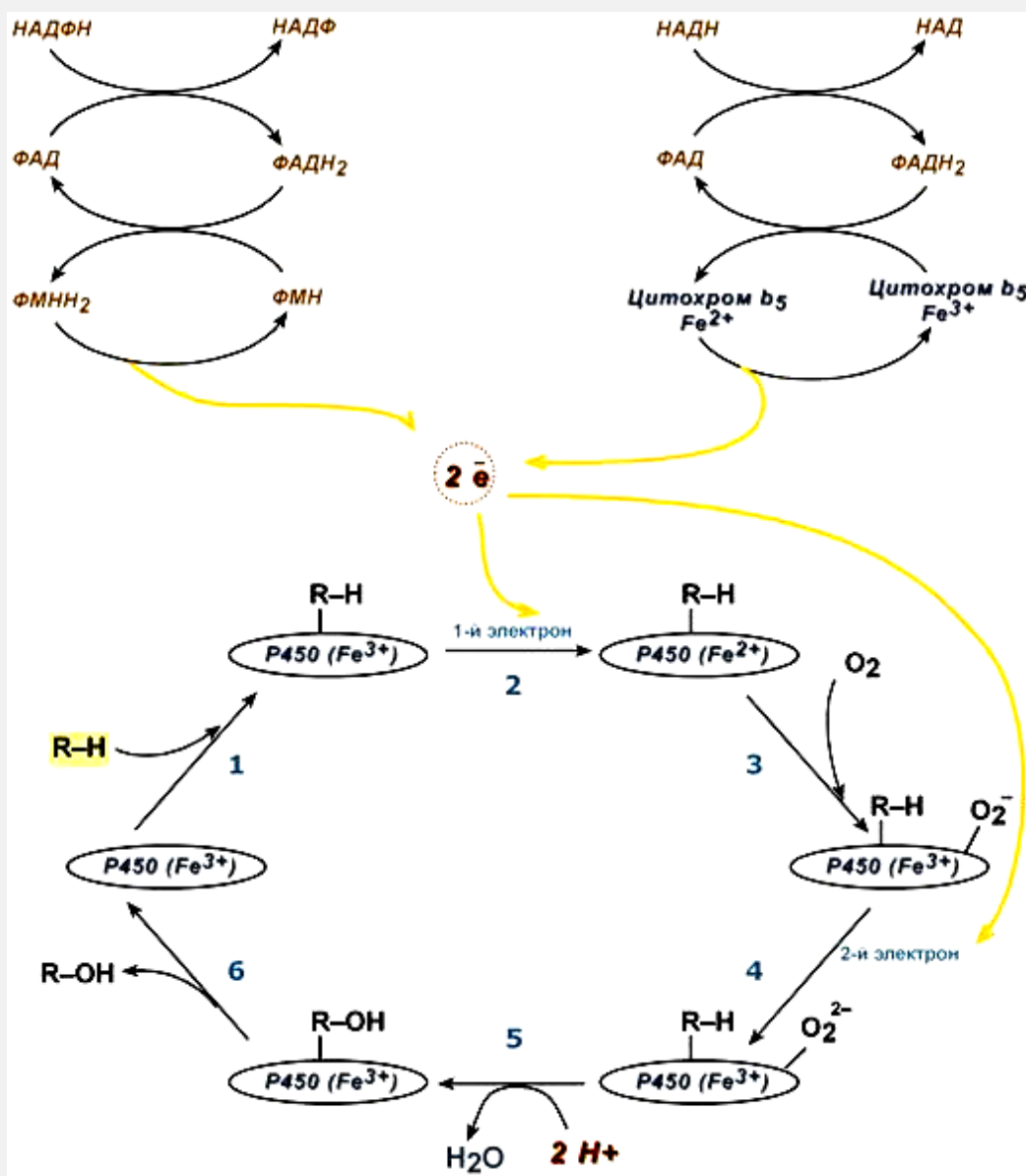
Ферментні системи, що каталізують реакції мікросомального окислення гідрофобних субстратів, є електронотранспортними ланцюгами, локалізованими в мембранах ендоплазматичного ретикулулу гепатоцитів (та клітин деяких інших органів, що також беруть участь в реакціях детоксикації). Мікросомальний ланцюг коротший за мітохондріальний (дихальний). Він містить НАДФ-Н, флавопротеїн з кофактором ФАД, білок з негемовим залізом (адренотоксин), цитохром b₅ і гемопротеїн, що позначається як цитохром Р450.



Цей білок, попередньо приєднавши молекулу відновленого субстрату, зв'язується з молекулою кисню. Отримавши ще один електрон, цитохром Р450 здійснює включення до складу гідрофобного субстрату одного атома кисню (окислення-гідроксилювання субстрату). Одночасно відбувається відновлення другого атома кисню до води.

Цитохром Р450 здатний приєднувати оксид вуглецю (II), при цьому він має максимум поглинання при 450 нм (звідси й назва). Цитохром Р450 являє собою протогемсульфідпротеїновий комплекс, який в своєму складі має йони міді. Вважають, що цитохром виконує подвійну функцію: він зв'язується із субстратом гідроксилювання, і на ньому відбувається активування молекулярного кисню. В основі активування кисню на цитохромі Р450 лежать радикальні механізми, причому безпосередня роль цитохрому Р450 зводиться до зв'язування й стабілізації утворюваних радикалів (ОН•, O₂H) і участі в реакціях відновлення кисню. Відомо багато форм (ізоферментів) цитохрому Р450, які відрізняються за субстратною специфічністю. Кожна з них окислює широке коло субстратів різноманітних за будовою, але, як правило, гідрофобних. Тобто в даному випадку специфічність ферменту проявляється в відношенні не до структури, а до фізико-хімічних властивостей субстрату (до гідрофобності). Цитохром Р450

каталізує не тільки гідроксилювання, але й реакції інших типів: дезалкілювання, дезамінування, дегалогенування, епоксидування, відновлення нітро-груп і т.ін.



Істотною особливістю мікросомального окислення є здатність до індукції чи інгібування, тобто до зміни потужності процесу.

Індукторами є речовини, що активують синтез цитохрому Р450 і транскрипцію відповідних м-РНК. Вони бувають:

широкого спектру дії, які мають здатність стимулювати синтез цитохрому Р450, НАДФ-Н-цитохром-Р450-оксидоредуктази та глюкуронілтрансферази. Класичним представником їх є похідні барбітурової кислоти – барбітурати, також до цієї групи входять діазепам, карбамазепін, рифампіцин та ін.

вузького спектру дії (стимулюють одну із форм цитохрому Р450) – це ароматичні поліциклічні вуглеводні (метилхолантрен, спіронолактон), етанол.

Окрім всього зазначеного, мікросомальні системи забезпечують цілий ряд важливих процесів біосинтезу. Так наприклад, високоспецифічні гідроксилази, що включають ОН-групу в молекулу холестерину, беруть участь в утворенні стероїдних гормонів (статевих, кори надниркових залоз). Ці реакції йдуть у внутрішній мембрані мітохондрій.

Малоспецифічні гідроксилази. Найчастіше окислюють циклічні гідрофобні речовини, чужорідні для організму - ксенобіотики (лікарські препарати; компоненти рослин; речовини, якими забруднена навколишнє середовище). Біологічний сенс цих реакцій: гідроксилування ксенобіотика робить його більш розчинним, прискорюється його виведення з організму – багато з цих реакцій протікають в печінці (детоксикація).

Процеси біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних токсичних сполук складаються з двох фаз:

I фаза – окисно-відновні та гідролітичні реакції. В результаті таких реакцій в складі субстратів біотрансформації з'являються певні функціональні групи -ОН, -COОН, -SH, -NH₂ і т.п. Дані реакції (їх часто називають реакціями функціоналізації або прекоњугації) призводять до збільшення полярності (гідрофільності) молекули ксенобіотика або ендогенного субстрату. Головна роль серед реакцій першої фази біотрансформації ксенобіотиків та ендогенних сполук належить ферментним системам мембран ендоплазматичного ретикулума, що функціонують за участю цитохрому Р-450.

II фаза – реакції кон'югації, що ґрунтуються на приєднанні до молекулярних продуктів I фази (або вихідних субстратів, що вже мали в своєму складі полярні групи) залишків глюкуронової, сірчаної кислот, гліцину, глутаміну, глутатіону, метильного або ацетильного радикалів.

В деяких випадках детоксикація хімічних речовин включає тільки одну із зазначених фаз біотрансформації.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Мікросомальне окислення. Локалізація, біологічна роль
2. Оксигеназні та оксидазні варіанти мікросомального окислення
3. Система цитохрому Р450: локалізація, механізм функціонування, значення
4. Загальна характеристика процесів біотрансформації ксенобіотиків. Фази та молекулярні механізми
5. Значення біотрансформації лікарських засобів.

МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ:

1. Універсальною біологічною системою окислення неполярних сполук (багато лікарських засобів, токсичних сполук), стероїдних гормонів, холестерину являється мікросомальне окислення. Який цитохром входить до складу оксигеназного ланцюгу мікросом?
 - A. Цитохром Р 450
 - B. Цитохром а3
 - C. Цитохром в
 - D. Цитохром с
 - E. Цитохром а.
2. В результаті лабораторного дослідження в сечі хворого ідентифіковано метаболіт прометазиу – сульфоксид. Вкажіть тип реакції метаболізму, що призвела до його утворення:
 - A. окиснення
 - B. відновлення
 - C. ацетилювання
 - D. глюкуронування
 - E. дезамінування

3. Аскорбінова кислота відома своїми антиоксидантними властивостями.

В організмі людини вона піддається окисненню з утворенням:

- А. дигідроаскорбінової кислоти
- В. тетрагідроаскорбінової кислоти
- С. дегідроаскорбінової кислоти
- Д. ацетилсаліцилової кислоти
- Е. бензойної кислоти

4. В процесі біотрансформації в організмі нікотинамід утворює продукт взаємодії з гліцином. До якого типу реакцій належить ця взаємодія?

- А. окиснення
- В. відновлення
- С. кон'югації
- Д. гідролізу
- Е. дезалкілювання

5. Піридоксин в організмі людини під впливом специфічного ензиму піридоксалькінази утворює коферментну форму, яка й бере участь в обміні речовин. Яка реакція лежить в основі цього перетворення?

- А. кон'югація
- В. гідроліз
- С. відновлення
- Д. окиснення
- Е. фосфорилування

6. Біотрансформація ксенобіотиків відбувається за рахунок мікросомального окиснення, найважливішим ферментом якого є гемопротеїн цитохром Р-450. Який метал є обов'язковою складовою цього ферменту?

- А. магній
- В. кальцій
- С. залізо
- Д. мідь
- Е. цинк

7. Різке підвищення утворення активних форм кисню (супероксид аніон-радикала, пероксиду водню, гідроксильного радикала) спостерігається в нейтрофілах під час фагоцитозу. Крім цього, в них за участю ферменту мієлопероксидази утворюється ще одна речовина з високою бактерицидною дією. Такою речовиною є:

- A. Пероксинітрит.
- B. Гідропероксидний радикал.
- C. Гіпохлорит аніон
- D. Радикали насичених жирних кислот.
- E. Радикали ненасичених жирних кислот

8. Відомо, що монооксигенази ендоплазматичного ретикула гепатоцитів окислюють чужорідні речовини. Назвіть цей процес.

- A. Мітохондріальне окиснення.
- D. Мікросомальне окиснення.
- B. Індукований синтез.
- E. Дегідрування.
- C. Репресія.

9. При дослідженні перетворення харчового барвника було встановлено, що знешкодження цього ксенобіотика відбувається тільки в одну фазу – мікросомального окиснення. Назвіть компонент цієї фази.

- A. Цитохром а
- B. Цитохром с
- C. Цитохром b
- D. Цитохром Р-450
- E. Цитохромоксидаза.

10. Одним з напрямків біотрансформації ніфедипіну є гідроліз. За рахунок якої функціональної групи відбувається це перетворення:

- A. пептидної групи
- B. нітрогрупи
- C. альдегідної групи

D. карбоксильної групи

E. естерної групи

ТЕМА № 6

ТЕМА: Біохімія нирок. Роль нирок в регуляції водно-сольового обміну. Обмін води та основи КЛС. Водний баланс в нормі та при патології. Мінеральний обмін та його регуляція в нормі та при патології.

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ:

Вивчення водно-електролітного обміну та молекулярних механізмів його порушень – патологічних станів, які характеризуються надмірним накопиченням в організмі води (гіпергідратація) або її дефіцитом (дегідратація, ексікоз), що супроводжуються електролітним дисбалансом або без нього – відіграє важливу роль для їх корекції. Особливе значення в цьому відіграють лабораторні методи діагностики.

МЕТА ЗАНЯТТЯ:

Сформулювати чіткі уявлення у студентів про обмін води та електролітів, його значення, регуляцію обміну, патобіохімію порушень та методику їх діагностики.

ТЕОРЕТИЧНИЙ МАТЕРІАЛ З ТЕМИ

Біологічна роль води. Організм людини на 65% складається з води, яка відіграє надзвичайно важливу роль в забезпеченні його життєдіяльності.

Вода є універсальним розчинником: в ній розчиняються органічні та неорганічні речовини, які (завдяки інертності води) зберігають свої хімічні та біологічні властивості. Дипольна структура молекул води сприяє дисоціації розчинених у ній речовин. Більша частина молекул води в рідкому стані має структуру подібну до льоду, тобто в ній молекули координовані між собою у

вигляді кристалогідратів, що має важливе значення для підтримання відповідної просторової структури різних біополімерів.

Вода відіграє важливу роль у підтриманні унікальної структури та функцій клітинних органел. Наприклад, при нормальному перебігу процесів тканинного дихання та спряженого з ним фосфорилювання мітохондрії зв'язують певну кількість води.

Вода – обов'язковий компонент біохімічних процесів. Обмін ліпідів, вуглеводів, білків пов'язаний з їх гідролізом, зокрема, при травленні. Реакції гідратації та дегідрування амінокислот, жирних кислот, вуглеводів та їх похідних зумовлюють важливі ланки метаболізму.

Вода має велике значення в регуляції осмотичного тиску, адже білки та їх гідрофільність зумовлюють онкотичний тиск.

Вода є важливим фактором терморегуляції. При випаровуванні води в процесі дихання втрачається близько 25% усього тепла, що віддає організм, тоді як зниження температури навколишнього середовища супроводжується зменшенням потовиділення та, відповідно, збереженню тепла.

Таким чином, за безпосередньою участю води підтримується динамічна постійність осмотичного тиску, іонного складу, гідратації і температури тіла – найважливіших гомеостатичних параметрів організму людини та тварин. Тому організм людини і вищих тварин дуже чутливий до зміни кількості води. Без їжі людина може прожити приблизно два місяці, а без води загине через 12-15 днів (втрата організмом 20-25% води призводить до смерті).

Дитячий організм витрачає більше води, оскільки в ньому інтенсивно перебігає обмін речовин і вища гідрофільність колоїдів. Якщо дорослій людині потрібно на добу біля 30-50 г води на 1 кг маси тіла, то дитині – приблизно 100-150 г.

Розподіл води в організмі. Вміст води в організмі значно перевищує кількість органічних речовин: шестимісячний ембріон людини складається з 86-95% води, у новонародженої дитини вода становить 70-75%, а в дорослої людини – 63-65% (40-45 л при масі тіла 70 кг). В похилому віці, коли різко послаб-

люється гідрофільність тканинних колоїдів (особливо білків), кількість води може значно зменшуватися. Вміст води в організмі також залежить від кількості жиру: чим більше жиру, тим менше води. Наприклад, у людей з ожирінням її кількість може значно зменшуватися – до 38-40%.

Вода, яка міститься в клітинах, називається **внутрішньоклітинною** або **інтрацелюлярною** водою. Її частка складає близько 70% всієї води організму. **Позаклітинна (екстрацелюлярна)** вода включає **міжклітинну воду** (20% від усієї її кількості), що знаходиться в міжклітинній рідині, та **воду у вільному стані** (10% від всієї води), що входить до складу біологічних рідин: плазми, лімфи, ліквору, рідин суглобів, міжплеврального простору і т.п.

Внутрішньоклітинний та позаклітинний водні сектори організму розділені напівпроникною мембраною – клітинною оболонкою. На відміну від іонів, вода легко проникає крізь неї (внаслідок наявності в мембранах спеціальних білків **аквапоринів**), переміщуючись згідно з законом осмосу з розчину з низькою концентрацією у більш концентрований розчин для вирівнювання концентрацій. Розподіл води між клітинами та позаклітинним простором залежить від різниці осмотичного тиску рідини в клітині та поза нею. Осмотичний тиск, що залежить від загальної кількості іонів і молекул у розчині, виражається як **осмолярність** – їх кількість (в ммоль) в 1 л розчину або як **осмоляльність** – їх кількість в 1 кг розчинника (води). Вони вимірюються одиницями – міліосмолями на літр (**мосмоль/л**). В нормі осмолярність плазми, міжклітинної та внутрішньоклітинної рідини однакова (**закон ізоосмолярності біологічних рідин**) і становить **285-310 мосмоль/л**.

Осмолярність плазми можна обчислити за формулою:

$$\text{Осм} = 1,86 \times [\text{Na}] + C_{\text{глюкози}} + C_{\text{сечовини}} + 10,$$

де Осм – осмолярність плазми, мосмоль/л;

[Na] – вміст іонів натрію в плазмі (ммоль/л);

$C_{\text{глюкози}}$ – вміст глюкози (ммоль/л);

$C_{\text{сечовини}}$ – вміст сечовини в плазмі (ммоль/л).

Найважливіші електроліти, які через механізм осмотичного тиску регулюють водний баланс в організмі, – це іони натрію, калію та хлору. Судячи із наведеної формули, головною речовиною, що визначає осмолярність плазми та впливає на розподіл води в організмі, є натрій. В нормі концентрація натрію плазми становить 136-144 ммоль/л.

Осмолярність є однією з найважливіших констант організму. Адже її зміна в одному з секторів неминує призводити до перерозподілу води – виникає надлишок води (гіпергідратація) в секторі з вищою осмолярністю та одночасно зневоднення іншого. Якщо клітина перебуває в ізотонічному розчині (0,9% хлорид натрію або 5% глюкози), вона не втрачає і не набуває води. В гіперотонічному розчині, тобто в середовищі з більшою осмолярністю, клітина зморщується внаслідок зневоднення, а в гіпотонічному – навпаки набухає (якщо надходження води не припинити, це призведе до розривання клітини – осмотичний лізис).

При травмуванні тканин деякі клітини ушкоджуються. При цьому зростає концентрація осмотично активних часточок, тому сюди дифундує вода, що й спричинює набряк тканин. Інший приклад: надмірна втрата електролітів плазми супроводжується зниженням її осмолярності. Осмолярність же клітин залишається на попередньому рівні (в нормі). Тому вода поступає з судинного русла в міжклітинний простір, а звідти в клітини, викликаючи їх набряк.

Осмотичними властивостями розчинів, очевидно, зумовлені еволюційно набуті форми запасання речовин живими клітинами. Оскільки на осмос впливає лише кількість частинок розчиненої речовини, а не їх маса, то 1 молекула глікогену збільшуватиме осмолярність цитоплазми такою ж мірою, як і 1 молекула вільної глюкози. Тому клітини зберігають вуглеводи у вигляді полісахаридів (крохмалю та глікогену), а не у вигляді моно- чи олігосахаридів.

Вода в тканинах і органах розподілена неоднаково. Так, найбільше води зосереджено в м'язах (50,8%), найменше – в нирках (0,6%). Різні органи і тканини відрізняються між собою за вмістом води. Так, наприклад, вода складає 22% вмісту кісток, 55% хрящів, 79% легень та понад 83% кори головного мозку.

В органах, тканинах і клітинах організму вода знаходиться у вигляді вільної, гідратної та іммобільної.

Вільна вода є основою всіх біологічних рідин (кров, лімфа, ліквор і ін.). Вона бере участь в доставці поживних речовин і видаленні продуктів обміну з органів, тканин і клітин.

Невелика кількість води (приблизно 4%) міцно пов'язана з тканинними колоїдами, переважно з білками і субклітинними структурами, зокрема, з біологічними мембранами. Заряджені білкові частинки здатні притягувати дипольні молекули води, утворюючи гідратні оболонки навколо своїх молекул. Тому така вода називається **гідратною**. Вона структурно змінена і втратила властивості розчинника. Втрата колоїдною частинкою гідратаційної води призводить до **синерезису** («старіння» колоїду).

Всередині клітин міститься вода, яка не входить до складу гідратних оболонок, – **іммобільна вода**. Її молекули розміщуються між мембранами клітини, волоконними молекулами і структурами. Іммобільна вода замерзає при температурі нижче 0°C, розчиняє багато речовин, легко бере участь у реакціях обміну речовин.

Між різними формами води існує динамічний зв'язок, і одна форма води може переходити в іншу. Зокрема, поповнення вмісту гідратної води відбувається за рахунок вільної та міжклітинної рідини. Наприклад, вміст води збільшується в м'язах за рахунок вільної і міжклітинної води при короткотривалій роботі (10-15 хвилин), тоді як тривала м'язова праця (30-60 хвилин) супроводжується підвищенням вмісту води в м'язах за рахунок внутрішньо-клітинної води, що пов'язано з підвищенням гідратації білків м'язів.

Потреба організму дорослої людини у воді становить в середньому 2,5-3,0 літри на добу. Однак ця кількість може змінюватися в залежності від віку, характеру роботи, температури навколишнього середовища та дієти.

Вода, що поступає з питтям і їжею (**екзогенна вода**), складає приблизно 85% від всієї кількості води в організмі. Основна її маса всмоктується в кишках, переважно в товстій кишці. Після всмоктування в кров вода швидко транспор-

тується в інші тканини й органи (печінку, м'язи, шкіру), в результаті чого її вміст в крові відносно постійний.

Крім цього, приблизно 10-15% води утворюється в процесі обміну речовин (**ендогенна або метаболічна вода**): при окисленні до кінцевих продуктів (CO_2 і H_2O) 100 г жирів вивільняється 107,1 мл води, 100 г вуглеводів – 55,6 мл, а такої ж кількості білків – 41,3 мл. Таким чином, за добу в організмі людини може утворитися 350-400 мл ендогенної води.

Гідробаланс. Регуляція водного обміну. Співвідношення між кількістю спожитої і виділеної води називають **гідробалансом**. Постійна динамічна рівновага між кількістю води, що надходить в організм і виділяється з нього, є необхідною умовою життя. Якщо води виділяється менше, ніж надійшло в організм, то це характеризується як **позитивний баланс**. Якщо води виділяється більше, ніж поступило в організм, виникає **від'ємний баланс**.

Надходження води в організм регулюється почуттям спраги, яка виникає в результаті рефлекторного порушення певних ділянок кори головного мозку при зміні осмотичного тиску плазми крові.

Найбільша кількість води (до 60%) виділяється з сечею – 1,2-1,5 л на добу. Через легені виводиться біля 300-500 мл води, з калом – 250-300 мл. Значна її частина виділяється з потом, проте тут, в залежності від конкретних умов та ситуації, можливі значні коливання (300-2500 мл).

Дуже велика кількість води надходить у травний тракт з секретами травних залоз – 4-8 л за добу (1500 мл слини, 250 мл шлункового і 700 мл панкреатичного соків, 500 мл жовчі, 300 мл кишкового соку і т.д.), тобто в 2-3 рази більше, ніж вживається води. Однак, за рахунок досконалих механізмів її зворотного всмоктування (реабсорбції) в травному каналі втрата води становить лише 2% (100-200 мл). Стан організму різко погіршується при гострих кишкових інфекціях, які супроводжуються проносами (наприклад, при дизентерії, холері). При цьому різко послаблюється зворотне всмоктування води, в результаті чого з випорожненнями людина може втратити 8-12 л рідини за добу. Таким

хворим вводять розчини солей (хлориду натрію) і альбумінів для попередження дегідратації, яка може викликати смерть хворого.

Обмін води в організмі є частиною загального обміну речовин і тісно пов'язаний з обміном нуклеїнових кислот, білків, ліпідів і вуглеводів. У водному обміні беруть участь нирки, легені, шкіра і травний канал.

Обмін води в організмі регулюється центральною нервовою системою і гормонами залоз внутрішньої секреції. В основі регуляції водного обміну лежить підтримання сталості осмотичного тиску, а основною регуляторною системою обміну води є система «гормони – нирки».

В разі нестачі води в організмі підвищується осмотичний тиск тканинної рідини, що спричиняє подразнення в тканинах осморецепторів. Збудження від них передається в **гіпоталамус**, де знаходиться центр регуляції водно-сольового обміну. Центр регуляції водно-сольового обміну контролює споживання води, всмоктування з травного каналу, перерозподіл її в організмі, виділення води з організму. Цей центр знаходиться під контролем кори великих півкуль головного мозку.

Підвищення осмоляльності позаклітинної рідини (крові) супроводжується виділенням в **супраоптичних і паравентрикулярних ядрах** переднього гіпоталамусу гормону **вазопресину**, який накопичується в нейрогіпофізі, а потім секретується в кров. Насамперед, вазопресин викликає звуження ниркових судин, в результаті чого зменшується діурез (сечовиділення), а отже, й виділення води з організму. Тому його також називають **антидіуретичним гормоном**. Вазопресин діє на всі можливі шляхи виведення води з організму. Так, він значно посилює реабсорбцію води в каналцях нефрону (дистальних і збірних трубках). Його дія реалізується через аквапорини, кількість яких різко збільшується в клітинних мембранах. Такий самий механізм посилення всмоктування води в товстому кишечнику, в слинних і потових залозах. Як наслідок, ниркові і позаниркові втрати води обмежуються, зменшується діурез, потовиділення, виведення з калом.

Крім вазопресину, серед гормонів, що беруть участь в регуляції обміну води, насамперед, варто виділити гормон кори надниркових залоз **альдостерон**. Дія на водний обмін альдостерону пов'язана з рівнем натрію в плазмі крові. Зниження рівня натрію викликає підвищену секрецію альдостерону, що посилює процеси зворотного всмоктування натрію в нирках і тим самим затримує його в організмі. Разом з натрієм посилено реабсорбується вода. Підвищення рівня натрію в плазмі гальмує секрецію цього альдостерону.

Таким чином, різні механізми дії цих двох гормонів залежать від осмотичного тиску плазми, зниження якого зумовлює підвищену секрецію альдостерону і гальмування виділення вазопресину. При підвищенні осмотичного тиску спостерігаються зворотні процеси.

Серед інших гормонів, що беруть участь в регуляції обміну води, необхідно відзначити **тироксин, паратирин, натрій-уретичні пептиди, андрогени і естрогени**. Всі вони стимулюють виділення води нирками.

Загальна схема регуляції водно-електролітного балансу представлена на наступній сторінці.

Важливу роль в гідратації тканин виконують мінеральні речовини: іони натрію збільшують гідратацію і затримують воду в організмі, а іони калію і кальцію дегідратують тканини і сприяють виведенню води з організму.

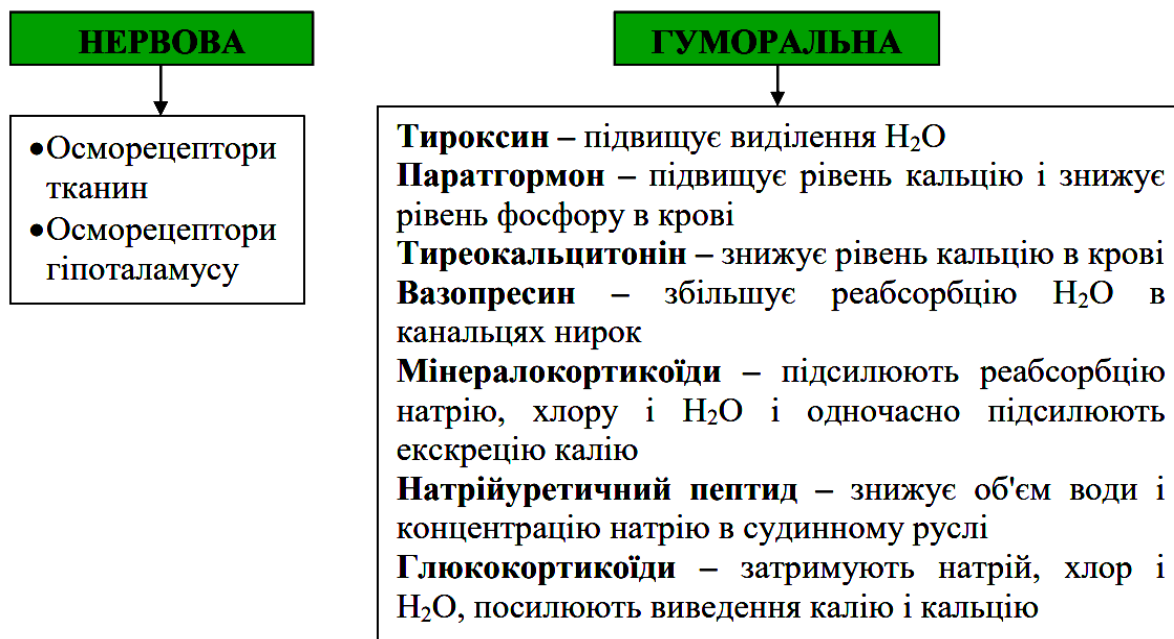
Порушення гідробалансу. Порушення водного обміну розвиваються при пошкодженні осморегулюючої системи: її центральної ланки, гормональної регуляції, органів всмоктування або виведення води.

Слід зазначити, що не дивлячись на досить ефективну систему регуляції водного обміну, спостерігаються різноманітні його порушення, які називаються **дисгідріями**.

Існують дисгідрії, при яких зменшується або збільшується загальний вміст води в організмі (відповідно, **загальна гіпогідратація** та **загальна гіпергідратація**). Частіше спостерігається загальна гіпогідратація, викликана обмеженням пиття (депривацією) або збільшеними втратами води: поліурія, блювота, пронос, посилене потовиділення, гіпервентиляція. Головним її наслідком є

зменшення об'єму крові з подальшим зниженням серцевого викиду і виникненням недостатності кровообігу. Загальна гіпергідратація зустрічається рідко. Основне порушення, яке при цьому виникає, полягає в деякому перевантаженні роботи серця.

СХЕМА РЕГУЛЯЦІЇ ВОДНО-ЕЛЕКТРОЛІТНОГО ОБМІНУ



Зустрічаються розлади водного обміну, головною ознакою яких є порушення розподілу води між водними секторами без зміни загального об'єму рідини в організмі. Серед них найчастіше спостерігаються порушення, при яких відбувається перерозподіл води в позаклітинному секторі – зменшення об'єму в судинах внаслідок виходу в позасудинний простір. Такі порушення іменуються **набряками**. Розрізняють місцеві й загальні набряки. До останніх відносяться ниркові, печінкові, серцеві, голодні, гормональні.

Клітинна гіпогідратація (ексикоз), яка виникає внаслідок переходу частини води з клітин в позаклітинну рідину із-за підвищення її осмоляльності (гіпернатріємія, гіперглікемія при цукровому діабеті та ін.) порушує функції будь-яких клітин (в першу чергу, клітин головного мозку). Втрата ними води приводить до функціональних розладів головного мозку та навіть до коматозного стану. Навпаки при гіпонатріємії (прийом діуретиків, введення розчинів, що не

містять натрій, та ін.) осмоляльність позаклітинної рідини знижується, і вода за градієнтом концентрації переходить з позаклітинного сектору в клітини з розвитком клітинного набряку. Особливо небезпечним є набряк головного мозку.

Таким чином, порушення водно-сольового балансу може бути зумовлено зовнішніми втратами води та/або солей, їх недостатнім чи надмірним надходженням в організм або патологічним розподілом між водними секторами. Як зазначалось вище, всі види порушень водного обміну можна розділити на дві групи – дегідратація та гіпергідратація. В кожній групі (в залежності від наявності супутніх електролітних порушень та їх характеру) розрізняють три варіанти: **гіпотонічні** (порушення зі зниженням осмотичного тиску), **ізотонічні** (без зміни тиску) та **гіпертонічні** (з підвищенням тиску).

Характеристика та причини виникнення різних варіантів порушень водного-електролітного обміну

	Дегідратація	Гіпергідратація
Гіпотонічна	Розвивається при втраті солей (передусім, катіонів натрію) без адекватної втрати води. Виникає при блюванні, діареї, введенні діуретиків, при гіпоальдостеронізмі тощо.	Зумовлена надмірним надходженням безсольових рідин, порушенням виведення води при нирковій недостатності, гіперсекреції антидіуретичного гормону (синдром Пархона) чи порушенням каналцевої реабсорбції іонів (синдроми Барттера-Шварца, Гітельмана). Вода накопичується в усіх водних сегментах рівномірно, виникають гіпонатріємія та гіпоосмолярність. Також це може виникнути у хворих з порушеною видільною функцією нирок при введенні їм значних об'ємів розчину глюкози.
Ізотонічна	Розвивається в разі аномально збільшеного виведення натрію (найчастіше з секретом залоз травного каналу). Причинами є повторне блювання, проноси, формування великих трансудатів (асцит), крово- та плазмовтрати при опіках, перитонітах, панкреатитах тощо. Нирки реагують зменшенням діурезу (олігурія, анурія), підвищується залишковий азот крові. Можуть розвинутися коматозний стан і колапс.	Це збільшення позаклітинного об'єму рідини без порушення осмотичного тиску. Може бути наслідком серцевої недостатності (збільшується об'єм крові без порушення осмолярності), гіпопротеїнемії при нефротичному синдромі, коли об'єм крові залишається сталим завдяки переміщенню рідкої частини в інтерстиціальний сегмент (з'являються набряки кінцівок, може розвинутися набряк легенів).

Гіпертонічна	Пов'язана з втратою води без втрати натрію. Виникає в людей, які не мають доступу до води; залишених без догляду хворих, що не реагують на відчуття спраги; після аномально великого виділення води без наступної компенсації; у хворих з нецукровим і цукровим діабетом; при центральних розладах осморегуляції (пухлини мозку, черепно-мозкова травма). Це також може викликати сольова інтоксикація (введення надлишку хлориду натрію аліментарного чи ятрогенного походження).	Збільшення об'єму рідини в позаклітинному просторі з одночасним зростанням осмотичного тиску та зневодненням клітин. Затримка натрію не супроводжується адекватним затриманням води, позаклітинна рідина стає гіпертонічною і вода виходить з клітин для досягнення стану осмотичної рівноваги. Причини порушення: пиття морської води, черепно-мозкова травма тощо. Якщо стан зберігається тривалий час, може настати смерть у зв'язку з ушкодженням клітин ЦНС.
---------------------	---	--

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Біологічна роль води. Розподіл води в організмі
2. Поняття про осмолярність (осмоляльність) розчинів. Референтні значення та способи обчислення осмолярності плазми
3. Регуляція водно-електролітного обміну
4. Характеристика та діагностика гіпоосмолярної гіпогідратації
5. Характеристика та діагностика ізоосмолярної гіпогідратації
6. Характеристика та діагностика гіперосмолярної гіпогідратації
7. Характеристика та діагностика гіпоосмолярної гіпергідратації
8. Характеристика та діагностика ізоосмолярної гіпергідратації
9. Характеристика та діагностика гіперосмолярної гіпергідратації.

МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ:

1. Вкажіть фактори, які обумовлюють розвиток набряків?
 - A. підвищення венозного тиску; підвищення онкотичного тиску крові
 - B. підвищення онкотичного тиску міжклітинної рідини; зниження венозного тиску
 - C. підвищення венозного тиску; зниження осмотичного тиску міжклітинної рідини
 - D. зниження онкотичного тиску крові; підвищення осмотичного тиску міжклітинної рідини

Е. підвищення онкотичного тиску крові; зниження осмотичного тиску міжклітинної рідини

2. Причинами тотальної гіперосмолярної гіпогідратації можуть є всі наведені, окрім:

- А. адипсія
- В. дефіцит АДГ
- С. гіпоальдостеронізм
- Д. тривалий профузний пронос
- Е. є всі наведені

3. Яким буде альбуміно-глобуліновий коефіцієнт, якщо виник гіпоонкотичний стан крові при нормальній концентрації загального білку в ній?

- А. зниженим
- В. підвищеним
- С. не зміненим
- Д. будь-яким з наведених
- Е. закономірностей змін не існує

4. Яке твердження вірне?

- А. Na^+ знижує гідрофільність білкових колоїдів, а K^+ та Ca^{+2} її підвищують
- В. Na^+ та K^+ підвищують гідрофільність білкових колоїдів, а Ca^{+2} її знижує
- С. K^+ знижує гідрофільність білкових колоїдів, а Na^+ та Ca^{+2} її підвищують
- Д. Ca^{+2} та K^+ знижують гідрофільність білкових колоїдів, а Na^+ її підвищує
- Е. Na^+ та Ca^{+2} підвищують гідрофільність білкових колоїдів, а K^+ її знижує

5. Вкажіть послідовність реалізації осмонормалізуючого механізму:

- 1) підвищення продукції АДГ
- 2) гіпернатріємія

- 3) посилення реабсорбції води в збірних трубочках нефронів
- 4) нормалізація $[Na^+]$ в плазмі
- 5) підвищення осмолярності плазми
- 6) збудження центральних і периферичних осморецепторів
- 7) збільшення ОЦК

- | | | |
|------------------|------------------|------------------|
| A. 2,7,5,6,1,3,4 | B. 2,3,5,6,1,7,4 | C. 2,5,6,1,3,7,4 |
| D. 2,5,6,3,7,1,4 | E. 2,3,5,6,7,1,4 | |

6. Набряки, в патогенезі яких провідна роль належить онкотичному фактору, виникають при всіх зазначених станах, крім:

- A. при запаленні
- B. при голодуванні
- C. при нефротичному синдромі
- D. при печінковій недостатності
- E. виникають при всіх

7. Вкажіть місця синтезу основних гормонів, які регулюють обмін води та електролітів:

- A. альдостерон – пучкова зона кори наднирників, вазопрессин – адено-гіпофіз
- B. альдостерон – клубочкова зона кори наднирників, вазопрессин – нейро-гіпофіз
- C. альдостерон – клубочкова зона кори наднирників, вазопрессин – гіпоталамус
- D. альдостерон – клубочкова зона кори наднирників, вазопрессин – адено-гіпофіз
- E. альдостерон – пучкова зона кори наднирників, вазопрессин – гіпоталамус

8. Функціональними антагоністами за впливом на обмін води та електролітів є:

- A. альдостерон та вазопресин
- B. альдостерон та натрій-уретичний пептид

- C. антидіуретичний гормон та натрій-уретичний пептид
- D. антидіуретичний гормон та вазопресин
- E. немає правильної відповіді

9. Секреція антидіуретичного гормону посилюється при:

- A. підвищенні осмолярності крові та зменшенні ОЦК
- B. підвищенні осмолярності крові та збільшенні ОЦК
- C. зниженні осмолярності крові та зменшенні ОЦК
- D. зниженні осмолярності крові та збільшенні ОЦК
- E. в усіх випадках

10. Найбільша кількість води в клітинах утворюється при окисненні до кінцевих продуктів:

- A. білків
- B. жирів
- C. вуглеводів
- D. утворюється однакова кількість для всіх
- E. при їх окисненні вода не утворюється

ТЕМА № 7

ТЕМА: Функціональна біохімія деяких тканин

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ:

В організмі людини за морфо-функціональними особливостями розрізняють більше 100 видів клітин, які формують тканини (нервову, епітеліальні, м'язові, сполучні). Прояви порушень метаболізму, які є об'єктивними діагностичними критеріями оцінки стану клітин та тканин, з'являються ще на доклінічних етапах розвитку відповідної патології. Ця обставина є надзвичайно важливою для ранньої діагностики та успішного лікування захворювань.

МЕТА ЗАНЯТТЯ:

Сформувати уявлення про алгоритми клініко-біохімічних досліджень стану відповідних тканин, об'єкти та методики їх виконання, біохімічні констеляції; засвоїти алгоритми трактування біохімічного аналізу та урахування факторів, що впливають на його результати.

ТЕОРЕТИЧНИЙ МАТЕРІАЛ З ТЕМИ

Біохімія сполучної тканини

Сполучна тканина надзвичайно поширена в організмі. Вона є в усіх органах і служить основою для їх утворення та виправлення пошкоджень. До сполучнотканинних утворень відносять шкіру, підшкірну жирову тканину, кістки, зуби, фасції, строму паренхіматозних внутрішніх органів, нейроглію, стінки великих кровоносних судин тощо. Всі різновиди сполучної тканини містять клітини, волокнисті структури і основну міжклітинну речовину. Волокна побудовані із фібрилярних білків колагену і еластину, а вуглеводно-білкові комплекси, протеоглікани, утворюють основну міжклітинну речовину.

Вуглеводними компонентами протеогліканів є гетерополісахариди глікозаміноглікани (стара назва мукополісахариди).

Основні низькомолекулярні компоненти сполучної тканини – вода й іони натрію.

Вміст волокнистих структур, основної речовини й води неоднаковий у різних видах сполучної тканини. В середньому частка основної міжклітинної речовини в організмі складає 20% маси тіла, а вся сполучна тканина – близько 50% маси тіла. З віком в сполучній тканині зменшується вміст води і глікозаміногліканів, а зростає вміст колагену; одночасно змінюються фізико-хімічні властивості волокон.

Макромолекули, із яких побудовані волокнисті структури, і основна речовина сполучної тканини, синтезуються в клітинах (фібробластах, хондробластах тощо). Після виходу із клітин в міжклітинний простір окремі макромолекули внаслідок міжмолекулярної взаємодії утворюють складніші структури

(комплекси протеогліканів, волокна, агрегати протеогліканів, глікопротеїнів і волокнистих елементів).

Розпад макромолекул відбувається під дією ферментів лізосом (протеїназ, глікозидаз, сульфатаз). Швидкість оновлення для глікозаміногліканів складає декілька днів чи тижнів, а для колагену – декілька місяців. В основі ряду спадкових захворювань (мукополісахаридозів) лежить відсутність чи недостатня активність різних ферментів, які розщеплюють окремі глікозаміноглікани; останні накопичуються в сполучній тканині.

Інші спадкові хвороби, досить рідкісні, зумовлені порушеннями утворення колагенових волокон, дефектами в їх структурі (синдром Марфана, Елерс-Данлоса, незавершений остеогенез).

При недостатності в організмі вітаміну С також порушується формування колагенових волокон, проявляються клінічні симптоми цинги. Та значно поширенішими є системні хвороби сполучної тканини (колагенози), які розвиваються внаслідок автоімунних порушень і характеризуються пошкодженнями як волокнистих структур, так і основної міжклітинної речовини, клітин і мікроциркуляторного русла.

Фібрилярний білок колаген – найпоширеніший білок в організмі людини. На його частку припадає 25-33% усього білка, тобто приблизно 6% маси тіла. Молекула колагену (іноді її називають тропоколагеном) має довжину близько 300 нм, товщину – 1,5 нм, молекулярну масу приблизно 300 000 дальтон, вона побудована з трьох поліпептидних ланцюгів, що мають форму лівозакрученої спіралі з трьома амінокислотними залишками на один виток, тобто відрізняється від альфа-спіралі глобулярних білків. Три лівоспіральних ланцюги разом закручуються в праву суперспіраль. Кожний ланцюг містить приблизно 1000 амінокислотних залишків, з яких 33% становить гліцин, близько 21% – пролін і оксипролін, 11% – аланін і тільки приблизно 35% – усі інші амінокислоти. Послідовність амінокислот у ланцюзі досить регулярно повторюється: майже у кожному третьому положенні знаходиться залишок гліцину, часто зустрічаються трипептидні фрагменти – гліцин-X-пролін, гліцин-X-оксипролін, гліцинпро-

лін-оксипролін, де X – інші амінокислоти. Оксипролін, за винятком колагену і еластину, дуже рідко зустрічається в інших білках. Надзвичайно високий вміст в колагені гліцину – амінокислоти, в якій відсутня бокова R-група, й імінокислот (проліну та оксипроліну), які утворюють вигини в поліпептидних ланцюгах зумовлює унікальну структуру молекули колагену – триланцюгову спіраль. Між ланцюгами за рахунок CO-і NH-груп пептидних зв'язків, а також OH-групи оксипроліну, виникають водневі зв'язки, які стабілізують спіраль. Колаген містить ще одну рідкісну амінокислоту – оксилізін.

Колаген – складний білок, глікопротеїн, в якому до частини залишків оксилізіну поліпептидного ланцюга О-глікозидним зв'язком приєднуються вуглеводи – моносахарид галактоза або дисахарид галактозилглюкоза. В організмі людини відкрито близько 20 типів колагенів, які відрізняються первинною структурою, набором ланцюгів у молекулі, вмістом вуглеводів, органною та тканинною локалізаціями. Перші 4 типи найбільш поширені, а інші знайдені в невеликих кількостях і ще мало вивчені.

Молекули колагену (тропоколагену) розташовуються регулярним чином в поздовжньому і поперечному напрямках і утворюють фібрили, з яких послідовно формуються пучки фібрил, волокна і пучки волокон. Молекули в паралельних ланцюжках фібрили зміщені одна відносно одної приблизно на 1/4 довжини (64 нм). Цим зумовлюється характерна для колагенових фібрил поперечна посмугованість з періодом повторюваності 64 нм. В колагенових фібрилах утворюються поперечні ковалентні зшиви. Спосіб їх виникнення такий. Спочатку мідь-вмісний фермент лізілоксидаза каталізує реакцію окиснювального дезамінування залишків лізіну й оксилізіну з утворенням альдегідних форм – аллізіну і оксиаллізіну. Останні взаємодіють між собою або з іншими залишками лізіну чи оксиаллізіну, утворюючи поперечні зшиви декількох типів. Поперечні зв'язки зшивають як поліпептидні ланцюги в молекулі тропоколагену, так і розміщені поряд у фібрилах молекули. При рідкісній спадковій хворобі (синдром Елерса-Данлоса, тип V) внаслідок відсутності чи зниженої активності

лізилоксидази в колагенових фібрилах зменшене число поперечних зв'язків і механічні властивості волокон погіршені.

Колагенові фібрили різними способами організовані у волокнах сполучної тканини, залежно від їх біологічної функції. Зокрема, в сухожиллях фібрили розміщені у вигляді поперечно-зв'язаних пучків колагену типу I, які надзвичайно міцні і практично не розтягуються. При кип'ятінні у воді нерозчинних колагенових волокон отримують розчин желатини. Деякі ковалентні зв'язки колагену гідролізуються, в результаті чого утворюється суміш розчинних поліпептидів, які можуть перетравлюватись протеолітичними ферментами шлунково-кишкового тракту.

Катаболізм тканинного колагену починається з дії специфічних колагеназ, які розщеплюють певні пептидні зв'язки в усіх трьох ланцюгах тропоколагену. Утворені поліпептиди розчинні у воді і гідролізуються тканинними протеїназами до амінокислот. Про інтенсивність розпаду колагену судять на основі вмісту вільного оксипроліну в крові і сечі. Підвищений розпад колагену при деяких ураженнях сполучної тканини, суглобів і кісток супроводжується збільшенням секреції оксипроліну.

Біохімія м'язової тканини: особливості хімічного складу та метаболізму.

На м'язи припадає 40-45% маси тіла. З початку XX століття м'язи почали досліджувати як біохімічний комплекс. Морфологічно м'язи у хребетних тварин поділяють на поперечносмугасті, або скелетні, та гладенькі. Поперечносмугасті м'язи скорочуються лише на 1/3 від вихідної величини, тоді як гладенькі м'язи, скорочуючись, можуть зменшувати свій поздовжній розмір навіть у декілька разів (наприклад, м'язи матки під час пологів). Відповідно гладенькі м'язи скорочуються повільніше – через декілька секунд, поперечносмугасті – через кілька мілісекунд. Під час скорочення скелетні м'язи можуть виконувати роботу, вкорочуючись при цьому на певну відстань. Таке скорочення називають ізотонічним. М'язи, які не можуть укорочуватись під час скорочення (не можуть виконувати фізичної роботи), розвивають тільки напруженість. Про такі м'язи

говорять, що вони скорочуються за ізометричним принципом. Прикладом такого скорочення може бути зміна напруженості коротких міжхребцевих м'язів при піднятті вантажів. Для всіх видів скорочення м'язів характерним є виділення певної кількості теплової енергії, спричиненої структурними перебудовами в міоцитах.

Функції і властивості м'язів зумовлені їх хімічною структурою. В м'язах розрізняють три види білків: білки саркоплазми, білки міофібрил і білки строми. В саркоплазмі м'язів містяться білки, що розчиняються у воді або сольових розчинах. Донедавна в цих білках розрізняли міогенну, альбумінову, глобулінову та міоглобінову фракції. Але ці фракції не однорідні. Так, міогенна фракція включає в себе ряд ферментів гліколізу. Неоднорідними є й інші білки саркоплазми. Зокрема тут виявлено білки-ферменти, що знаходяться в мітохондріях і відповідають за тканинне дихання. Міоальбумін саркоплазми за хімічними властивостями нагадує альбумін плазми крові. Міоглобін м'язів – типовий хромопротеїн, що, як і гемоглобін, з'єднується з киснем і забезпечує процес дихання м'язів. Червоний колір м'язів зумовлений великим вмістом у них міоглобіну. Міоглобін має в 5 разів більшу спорідненість з киснем, ніж гемоглобін. Це сприяє забезпеченню значного резерву кисню в м'язовій тканині при його нестачі.

Білки міофібрил. До складу міофібрил входять наступні білки: міозин (56-60%), актин (20-25%), тропоміозин (10-15%) і тропоніновий комплекс (4-6%).

Білки строми в поперечносмугастих м'язах представлені переважно колагеном, нейрокератином, еластином тощо. Ці білки входять до складу сполучнотканинних елементів стінок судин, нервів та сарколеми.

Ліпіди. В м'язах знаходяться нейтральні жири, стериди, фосфоліпіди. Нейтральні жири входять у простір між структурами м'язових волокон і відіграють роль резервного жиру. Їх вміст дуже непостійний. Холестерин і фосфоліпіди є обов'язковими складовими компонентами всіх м'язів і входять до

складу клітинних мембран. Вміст фосфоліпідів і холестерину в м'язах збільшується під час тренування.

Екстрактивні речовини м'язів. Скелетні м'язи містять ряд важливих екстрактивних речовин: нуклеотиди (АТФ, АДФ, АМФ, ТТФ, УТФ, ЦТФ, інозин-монофосфат), креатинфосфат, креатинін, карнозин, ансерин, карнітин тощо. Серед них креатин та креатинфосфат мають пряме відношення до скорочення м'язів. В їх синтезі беруть участь три амінокислоти: аргінін, гліцин, метіонін. Утворення їх починається в нирках, а завершується в печінці і м'язах. Карнозин і ансерин – це імідазольні дипептиди, які підвищують ефективність роботи іонних насосів м'язової тканини, сприяють збільшенню амплітуди м'язового скорочення, проявляють виражену антиоксидну дію. З амінокислот у м'язах найбільше глютамінової кислоти та глютаміну.

Безазотні екстрактивні речовини м'язів представлені переважно вуглеводами та продуктами їх обміну. Найбільше в м'язах глікогену. У людини вміст глікогену в м'язах знаходиться в межах 0,4-0,8%, але під впливом тренування може збільшуватися до 1,5-3%. Втомлені м'язи містять незначну кількість глікогену. Під час роботи глікоген м'язів розпадається на глюкозу, тріозофосфорні ефіри й інші проміжні продукти гліколізу, в тому числі молочну кислоту.

Мінеральні речовини. Загальний вміст мінеральних речовин в м'язах на сиру масу становить 1,0-1,5%. Із катіонів у м'язах переважають K^+ , Na^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , є також мідь, марганець, цинк; з аніонів – найбільше фосфатів та сульфатів. За рахунок іонів у м'язах підтримуються сталість рН і осмотична рівновага та здійснюється специфічний вплив на їх збудливість та скоротливість. Зниження концентрації солей у м'язах призводить до зменшення їх збудливості.

Молекулярні механізми скорочення м'язового волокна

Скорочення м'яза ініціюється потенціалом дії, який поширюється від нейром'язового синапсу в обох напрямках вздовж м'язового волокна. Через систему Т-трубочок нервовий сигнал передається на цистерни саркоплазматичної сітки і спричиняє зміни проникності мембран для іонів Ca^{2+} і їх вихід в саркоплазму. В стані спокою концентрація Ca^{2+} в саркоплазмі становить менше як 10^{-7} моль/л.

Внаслідок виходу іонів Ca^{2+} із цистерн концентрація їх в саркоплазмі швидко досягає 10^{-5} моль/л, тобто зростає в сотні раз. Іони Ca^{2+} приєднуються до кальцій-зв'язувальної субодиниці тропоніну тонких філаментів, що зумовлює зміну конформації білка. Це, в свою чергу, спричиняє переміщення молекули тропоміозину по жолобку тонкого філаменту, в результаті чого на молекулах глобулярного актину в складі F-актину відкриваються центри зв'язування з голівками міозину товстих ниток. Міозинові голівки із зв'язаними в АТФ-азному центрі молекулами АТФ приєднуються до найближчих молекул G-актину тонких ниток. Утворюються поперечні містки. Внаслідок взаємодії актину і міозину АТФ-азний центр міозинових голівок активується, гідролізує АТФ до АДФ і P_i , які вивільняються з каталітичного центру. Це супроводжується зміною конформації міозину, згинанням голівки молекули в ділянці шарніру. Оскільки міозинова голівка зв'язана з молекулою актину, її рух протягує тонкий філамент вздовж міозинового. Зв'язування в АТФ-азному центрі голівки міозину нової молекули АТФ викликає розрив поперечних містків і відновлення вихідної конформації молекули міозину. Зв'язування голівки з наступною молекулою актину тонких ниток починає новий цикл. Амплітуда кожного такого переміщення становить близько 11 нм, а частота – приблизно 50 разів на секунду. Одночасна, але не синхронна робота великої кількості міозинових голівок зумовлює за рахунок енергії гідролізу АТФ ковзання тонких і товстих ниток назустріч одні одним і як результат цього – скорочення м'язового волокна. Коли на волокно перестають надходити нервові імпульси, вихід Ca^{2+} із цистерн припиняється, а АТФ-аза мембран саркоплазматичної сітки, що функціонує як кальцієва помпа, переносить іони Ca^{2+} за рахунок енергії АТФ (проти градієнта концентрації) із саркоплазми назад в цистерни. Вміст цієї $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази в мембрані ретикулума становить 95% всіх білків мембрани. При зниженні концентрації Ca^{2+} в саркоплазмі до 10^{-7} моль/л комплекс Ca^{2+} –тропонін дисоціює, тропоміозин зсувається по жолобку тонкого філаменту на вихідне місце, блокуючи центри зв'язування на молекулах актину голівок міозину. Всі поперечні

містки розриваються, і волокно розслаблюється. Таким чином, АТФ необхідний і для скорочення м'язів, і для їх розслаблення.

При недостатчі АТФ містки між актином і міозином не розриваються і філаменти фіксуються в з'єднаному положенні (контрактура м'яза). Цим пояснюється трупне окоченіння після смерті.

Скорочення гладеньких м'язів. Клітини гладеньких м'язів (міоцити) містять тонкі актинові й товсті міозинові філаменти, але вони не утворюють упорядкованих міофібрил, як в поперечносмугастій м'язовій тканині. Тонкі філаменти містять тропоміозин, але в них немає тропоніну. Для скорочення гладеньких м'язів необхідним є підвищення концентрації іонів Ca^{2+} в цитоплазмі міоцитів. Це досягається надходженням позаклітинного Ca^{2+} через потенціал-залежні Ca^{2+} -канали. При концентрації 10^{-5} моль/л іони Ca^{2+} зв'язуються з білком кальмодуліном і їх комплекс активує фермент кіназу міозину. Остання каталізує реакцію фосфорилування легких ланцюгів міозину, після чого відбувається взаємодія голівок міозину з актиновими нитками, в результаті скорочуються міоцити. Швидкість скорочення гладенької м'язової тканини в 100-1000 разів менша, ніж у поперечносмугастих м'язів, що зумовлено повільним включенням механізму взаємодії міозину з актином. При зниженні концентрації Ca^{2+} в міоцитах комплекс Ca^{2+} –кальмодулін–кіназа дисоціює, а від міозину відщеплюються фосфорні залишки під дією фосфатази. Активність кінази міозину зменшується при включенні аденілатциклазної системи.

Енергетичний обмін в серцевому м'язі. Скоротливі клітини серцевого м'яза (міокарда) містять усі структури, характерні для волокон поперечносмугастого скелетного м'яза: ядра, міофібрили, побудовані з актинових і міозинових філаментів, мітохондрії, саркоплазматичну сітку. Але, порівняно зі скелетними м'язовими волокнами, міофібрил менше, а мітохондрій значно більше. Останні становлять близько 40% сухої маси серця. Для роботи серцевого м'яза характерне постійне ритмічне чергування процесів скорочення і розслаблення. Необхідний АТФ утворюється майже повністю за рахунок окисного фосфорилування, тобто аеробним шляхом.

В стані спокою серце споживає за 1 хвилину 8-10 мл O_2 на 100 г тканини, що приблизно в 15 разів більше від споживання кисню іншими тканинами. Субстратами окиснення в міокарді є широке коло сполук: вищі жирні кислоти, глюкоза, кетонів тіла, молочна і піровиноградна кислоти, які постачаються кров'ю. Але головним субстратом є жирні кислоти, особливо в стані спокою. На окиснення жирних кислот використовується 60-70% спожитого міокардом кисню. При фізичному навантаженні відносний внесок жирних кислот в енергетичний обмін міокарда знижується, але абсолютне їх споживання навіть зростає. Під час навантаження збільшується утилізація глюкози і молочної кислоти, яка надходить у венозну кров із скелетних м'язів. Так, при інтенсивній фізичній роботі частка лактату в енергетичному обміні міокарда може досягати 65-90%. Відповідний напрямок лактатдегідрогеназної реакції, тобто перехід молочної кислоти в піровиноградну, забезпечується наявним в серцевому м'язі ізоферментом ЛДГ-1, який використовує як субстрат лактат. Потім піруват зазнає окиснювального декарбоксилювання в мітохондріях. Утилізуючи молочну кислоту, серце не тільки отримує енергію, а й сприяє підтриманню постійної величини рН крові.

Серцевий і скелетні м'язи містять ферменти окиснення ацетоацетату і бета-гідроксибутирату (кетонів тіл), частка яких в продукції енергії становить до 5%. Креатинфосфат в серцевому м'язі відіграє подвійну роль: енергетичного резерву і переносить енергію з мітохондрій до міофібрил. Синтезований шляхом окисного фосфорилювання в мітохондріях АТФ переноситься транслоказою через внутрішню мембрану мітохондрій і під дією креатинкінази, яка зв'язана з внутрішньою стороною зовнішньої мембрани, передає макроергічний фосфатний залишок креатину з утворенням креатинфосфату. Останній дифундує в цитоплазму до міофібрил, де розчинна форма креатинкінази каталізує взаємодію креатинфосфату з АДФ, утвореним при скороченні.

Креатинкіназа складається з діох субодиниць (М і В) та існує в трьох ізоферментних формах: ММ, МВ і ВВ. В серцевому м'язі є всі три ізоферменти: в мітохондріях – ММ-форма, а в цитоплазмі – МВ-і ВВ-форми. Ізофермент МВ є в

серці й відсутній в усіх інших тканинах організму (ММ-форма – переважно в скелетних м'язах, а ВВ-форма здебільшого в мозку). При ураженні міокарда ізоферменти креатинкінази надходять у кров і їх визначення має діагностичне значення.

Біохімія нервової тканини: особливості хімічного складу та метаболізму. Нейромедіатори та нейропептиди: представники, біологічне значення.

Загальний хімічний склад: білки, значна кількість ліпідів, вуглеводи, інші низькомолекулярні біомолекули, неорганічні солі і води.

Особливості тканини:

високий вміст ліпідів різноманітної хімічної структури. Переважання складних полярних ліпідів (фосфогліцеридів, сфінголіпідів, гліколіпідів) і холестерину при незначній кількості нейтральних жирів (триацилгліцеролів). Вміст у білій речовині головного мозку значно вищий, ніж у сірій речовині,

білки з різними біохімічними й функціональними властивостями, зокрема білки-ферменти, регуляторні та структурні білки. Серед білків головного мозку виділяють нейроальбуміни, нейроглобуліни та нейросклеропротейни,

наявність високої концентрації вільних амінокислот, переважно аспартат, глутамат, глутамін.

Метаболізм

Залежність від постачання киснем, який використовується переважно на аеробне окислення глюкози. Основний споживач метаболічної енергії – це процес генерації нервового потенціалу на мембрані нейронів, який вимагає постійного функціонування мембранної Na^+/K^+ -АТФази. Особливість метаболізму: переважання рівня використання глюкози над іншими субстратами енергетичного обміну. Перехід клітин головного мозку на окислення ацетоацетату лише в умовах голодування та виснажливої фізичної роботи. В тканині головного мозку в реакції гідролітичного дезамінування АМФ утворюється вільний аміак, який знешкоджується шляхом взаємодії з глутаматом, утворюючи глутамін, що виходить у кров.

Нейромедіатори (нейротрансмітери) – біомолекули, які забезпечують передавання імпульсів у НС з одного нейрона на інший, а також з нейрона на ефекторний орган.

За хімічною природою: ацетилхолін, біогенні аміни (катехоламіни – нор-адреналін, дофамін, серотонін), амінокислоти та їх похідні (γ-аміномасляна кислота – ГАМК, гліцин, глутамат, аспартат), пептиди – нейропептиди (ендорфіни, енкефаліни, сполука Р).

Медіаторні функції також виконують пролін, таурин, β-аланін, аденозин, простагландини. Рецептори (іонотропні, метаботропні) нейромедіаторів – це мембранні білки, що локалізовані в постсинаптичних мембранах нейронів або плазматичних мембранах клітин ефекторних органів і здатні до зв'язування фізіологічних ефекторів і передавання зовнішньоклітинного хімічного сигналу всередину нейрону чи іншої клітини.

Ацетилхолін – похідне (ефір) аміноспирту холіну й оцтової кислоти, є найбільш поширеним нейромедіатором.

АХ реагує з:

– М-холінорецепторами (м-ХР)

Внутрішньоклітинні ефекти їх збудження реалізуються за рахунок підвищення цитозольної концентрації Ca^{2+} , який активує Ca^{2+} - залежну гуанілатциклазу, що призводить до генерації ц-ГМФ, яка опосередковує дію агоністів м-ХР на ц-ГМФ-залежні біохімічні системи відповідних мішеней

– Н-холінорецепторами (н-ХР) зростанням проникності клітинних мембран для іонів Ca^{2+} , Na^{+} та K^{+} .

Норадреналін відіграє трансмітерну роль в адренергічних синапсах центральної та периферичної нервової системи. Роль в підтриманні рівня активності нервовопсихічних реакцій, формуванням когнітивних та адаптивних процесів.

Взаємодія лігандів з β1- та β2-адренорецепторами сприяє активації аденілатциклази, збільшенню внутрішньоклітинної концентрації ц-АМФ і через

систему ц-АМФ-залежних протеїнкіназ забезпечує, наприклад, стимуляцію ад-реналіном глікогенолізу в печінці та м'язах і ліполізу в жировій тканині.

Стимуляція $\alpha 1$ -адренорецептрів підвищує цитозольну концентрацію іонів Ca^{2+} , що призводить до активації Ca^{2+} -залежних реакцій клітини;

Стимуляція $\alpha 2$ -адренорецепторів супроводжується гальмуванням активності аденілатциклази і перебудовою ц-АМФзалежних біохімічних процесів.

Дофамін бере участь в регуляції поведінки, рухової сфери, діяльності серцево-судинної системи, кишечника, нирок.

Активація D1-рецепторів супроводжується збільшенням активності дофамінчутливої аденілатциклази з наступним включенням ц-АМФ-залежного каскаду біохімічних реакцій. Активація D2-рецепторів призводить до зменшення активності аденілатциклази, внутрішньоклітинної концентрації кальцію та пригнічення відповідних ц-АМФ- і Ca^{2+} -залежних метаболічних і фізіологічних процесів.

Серотонін – це нейромедіатор гарного самопочуття. Механізм дії:

- збудження 5-НТ1-рецепторів призводить до активації серотонінчутливої аденілатциклази і зростання рівня ц-АМФ;
- збудження 5-НТ2-рецепторів спричиняє зростання в цитозолі концентрації іонів кальцію та активацію Ca^{2+} -залежних біохімічних процесів.

Фізіологічна роль пов'язана з регуляцією тривоги, неспокою, агресивності, імпульсивності потягів.

Амінокислотні нейромедіатори за ефектом розділяються на два класи:

- 1) збуджувальні кислі амінокислоти (L-глутамат і L-аспартат);

Надходження в постсинаптичний нейрон Ca^{2+} внаслідок збудження іонотропних (NMDA- або AMPA/каїнатних) рецепторів спричиняє довготривалу потенціацію міжнейронної передачі для процесів навчання, пам'яті, становлення індивідуальних форм поведінки.

- 2) гальмівні амінокислоти: ГАМК (γ -амінобутират; 4-амінобутират), гліцин, таурин, β -аланін.

ГАМК пригнічує міжнейронну передачу нервових імпульсів

Нейропептиди

Опіюючі пептиди (метіонін (мет-)-енкефалін, лейцин (лей-)-енкефалін, ендогенні морфіни (α -, β -, γ - та δ -ендорфіни), α - та β -неоендорфіни, динорфіни А та В мають виражену знеболювальну активність і специфічну дію на головний мозок людини, що проявляється розвитком складного психоемоційного стану ейфорії з покращанням настрою, відчуттям душевного комфорту, позитивним сприйняттям довкілля.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ.

ТЕОРЕТИЧНІ ПИТАННЯ ДО ЗАНЯТТЯ

1. Функціональна біохімія сполучної тканини.
2. Морфо-функціональна характеристика позаклітинного матриксу.
3. Функціональна біохімія м'язової тканини.
4. Функціональна біохімія нервової тканини.
5. Біохімічні констеляції та алгоритми діагностики тканинних порушень.

ПРАКТИЧНІ РОБОТИ, ЯКІ ВИКОНУЮТЬСЯ НА ЗАНЯТТІ

ПРОТОКОЛ № 7

Дата

1. Визначення сілових кислот колориметричним методом Гесса

Принцип методу. Для визначення концентрації сілових кислот в сироватці крові зазвичай використовується колориметричний метод Гесса. Він базується на кольоровій реакції, яка відбувається при нагріванні сілової (N-ацетилнейрамінової) кислоти з реактивом Гесса. Для цього безбілковий фільтрат сироватки крові піддають гідролізу, в результаті чого зі складу сіалоглікопротеїнів виділяються сілові кислоти, які взаємодіючи з оцтовою і сірчаною кислотами в умовах підвищеної температури, створюваної в киплячій водяній бані, дають забарвлені сполуки, які змінюють колір розчину в буро-рожевий

або червоно фіолетовий. При цьому інтенсивність фарбування залежить від концентрації сіалових кислот.

Хід роботи: до 1 мл сироватки крові в центрифужні пробірки додають 1 мл 10% розчину трихлороцтової кислоти. Струшують. Після цього пробірки ставлять в киплячу водяну баню на 5 хв. і охолоджують. Це призводить до вивільнення зв'язків N-ацетилнейрамінової кислоти з білковою частиною молекули глікопротеїнів. Після центрифугування (5 хвилин при 1000-2000 об/хв) до 0,4 мл надосадової рідини додають 5 мл реактиву Гесса і знову кип'ятять в киплячій водяній бані протягом 30 хв. При цьому з'являється бурувато-рожеве забарвлення. Після охолодження фотометрують на ФЕК в кюветі з товщиною шару 10 мм проти води при зеленому світлофільтрі (540 нм). Одержану величину екстинкції перемножують на 1000. Результат дослідження подають в умовних одиницях, виражених через екстинкцію. Результат виражають в умовних одиницях, для чого отриману величину екстинкції множать на 1000, або (за наявності стандартного розчину) в значеннях концентрації ацетилнейрамінової кислоти. В останньому випадку розрахунок ведуть за калібрувальним графіком.

Клініко-діагностичне значення. В нормі величина екстинкції коливається від 100 до 195 умовних одиниць, що відповідає вмісту сіалових кислот від 550 до 790 мг/л (0,7 г/л N-ацетилнейрамінової кислоти).

При інфекційних, алергічних станах та некробиотических процесах порушується тканинний метаболізм з деполімеризацією глікопротеїнових комплексів. В результаті цих змін в сироватці крові у великій кількості з'являються продукти розщеплення білково-вуглеводних комплексів і в зв'язку з цим різко наростає частка сіалових кислот.

Гіперсіалемія спостерігається при пухлинах головного мозку, інфаркті міокарда, ревматизмі, туберкульозі, раку, ендокардиті, лейкемії, лімфогранулематозі, нефротичному синдромі, остеомієліті та інших захворюваннях (переважно запального характеру, та тих, котрі супроводжуються розпадом сполучної тканини). Їх концентрація зростає також при захворюваннях, пов'язаних з ураженням паренхіми печінки і коллагенозах. Так наприклад, у хворих з активним

туберкульозом вміст нейрамінової кислот нерідко становить 5,74 ммоль/л, з запущеною раковою пухлиною – 4,58 ммоль/л, з підгострим бактеріальним ендокардитом – 3,3 ммоль/л.

Гіпосіалемія або зниження вмісту сіалових кислот в крові відзначається при перніціозній анемії, гемохроматозі, хворобі Вільсона-Коновалова та дегенеративних процесах в центральній нервовій системі, що, мабуть, пов'язано з порушенням біосинтезу глікопротеїнових комплексів.

РОБОТА НА БІОХІМІЧНИХ АНАЛІЗАТОРАХ

Крім виконання описаної роботи, з безпосередньою участю студентів проводиться визначення відповідних маркерів ураження сполучної та інших тканин проводиться на біохімічних аналізаторах «Prestige 24i», «Accent-200» та імуноферментному аналізаторі «Immunochem-2110».

МАТЕРІАЛИ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ:

1. В процесі старіння організму зменшується зв'язування води сполучної тканиною. Це пов'язано зі зменшенням концентрації:

А глюкозаміногліканів

В Колагену

С фосфоліпідів

Д Гіалуроновою кислоти

Е хондроїтинсірчаної кислоти

2. Після загоєння рани на її місці утворився рубець. Яка речовина є основним компонентом цього різновиду сполучної тканини?

А Колаген

В Еластин

С Гіалуронова кислота

Д Хондроїтин-сульфат

Е кератансульфатів

3. Після загоєння рани на її місці утворився рубець. Яка речовина є основним компонентом цього різновиду сполучної тканини?

- A Колаген
- B Еластин
- C кератансульфатів
- D Хондроїтин-сульфат
- E Гіалуронова кислота

4. У хворого з нирковою недостаточністю виявлено різке зниження вмісту натрію в сироватці крові. Відзначаються бліді пухкі набряки обличчя, що з'являються в ранковий час. Яка речовина, що входить в міжклітинний матрикс сполучної тканини, зв'язує іони натрію, що надходять з кровоносного русла?

- A Гіалуронова кислота
- B Колаген
- C Еластин
- D Проколаген
- E Фібронектин

Агрегати муцину затримують воду, Що забезпечує їх в'язкість та захисно дію. 5. Це можливо тому, що до структури муцину входять:

- A Глікозаміноглікані
- B Гомополісахариді
- C Дисахариди
- D Олігосахариді
- E Глюкоза

6. При деяких захворюваннях сполучної тканини в ній активується розпад колагену. Зростання екскреції з сечею який амінокислоти підтверджує цей процес?

- A оксипроліну
- B гліцину
- C проліну
- D Метіоніну

Е цистеїну

7. Гідроксипролін важлива амінокислотою у складі колагену. За участю якого вітаміну відбувається утворення цієї амінокислоти шляхом гідроксилування проліну?

А С

В D

С В1

Д В2

Е В6

8. Який глікозаміноглікан є найбільш типовим для кісткової тканини і відіграє провідну функцію в формування хрящової і кісткової тканини:

А хондроїтінсульфат

В гіалуронова кислота

С дерматансульфат

Д кератансульфатів

Е Гепарин

9. Лимонна кислота має високу комплексні властивість і бере участь в процесі мобілізації кальцію. В якій тканині з перерахованих вміст лимонної кислоти є найвищим?

А Кісткова

В Паренхіматозна

С Нервова

Д М'язова

Е Епітеліальна.

10. При пародонтозі відбувається деструкція білкових і полісахаридних компонентів сполучної тканини. Який з наведених білків входить до складу сполучної тканини

А Колаген

В Альбумін

С Трансферин

D Церулоплазмін

E антитрипсин

11. Відомо, що синовіальна рідина зменшує тертя суглобових поверхонь. При ревматизмі або артриті її в'язкість знижується внаслідок деполімеризації такої речовини:

A гіалуронової кислоти

B Глікогену

C Колагену

D Гепарин

E Альбумін

12. Гіповітаміноз C призводить до зменшення утворення органічного матриксу, порушення синтезу колагену, тому що цей вітамін бере участь в процесах:

A гідроксилювання проліну

B Карбоксилювання проліну

C Карбоксилювання лізину

D гідроксилювання аргініну

E гідроксилювання триптофану

13. Яка речовина в складі слини синтезується в слинних залозах і за нею і надає слині густий слизовий характер?

A Муцин

B Сульфати

C Фосфати

D Амілаза

E Мальтаза.

14. В слині міститься фермент, який має сильну бактерицидну дію завдяки здатності руйнувати глікозидні зв'язки пептидогліканів бактеріальної стінки. Вкажіть на цей фермент:

A Лізоцим (мурамідази)

B Альфа-амілаза

С Трипсин

D Фосфатаза

E рибонуклеаза

15. Муцин - один з основних компонентів слини, за хімічною природою є складним білком, а саме:

A Глікопротеїном

B Нуклеопртеїном

C Фосфопртеїном

D Ліпопротеїном

E Металопртеїном

ТЕМА № 8

ТЕМА. Контроль засвоєння розділу

МЕТА ЗАНЯТТЯ: Визначити рівень засвоєння студентами основних положень функціональної біохімії органів і тканин. Закріпити узагальнити їх знання.

ПЕРЕЛІК ТЕОРЕТИЧНИХ ПИТАНЬ ДЛЯ КОНТРОЛЮ ЗАСВОЄННЯ МАТЕРІАЛУ

1. Біологічна роль води. Розподіл води в організмі
2. Біохімічні функції печінки в організмі.
3. Роль печінки в обміні вуглеводів.
4. Роль печінки в обміні ліпідів.
5. Роль печінки в обміні білків.
6. Роль печінки в пігментному обміні.
7. Жовчоутворювальна функція печінки. Хімічний склад жовчі.
8. Роль кон'югуючих систем печінки в знешкодженні токсичних речовин.

9. Порушення функцій печінки при патологіях. Печінкові проби. Про-ба Квіка.
10. Типи кон'югації ксенобіотиків у гепатоцитах: біохімічні механізми, функціональне значення.
11. Біохімічні показники крові в діагностиці інфаркту міокарда та міо-патій.
12. Функціональна біохімія серцевого м'язу
13. Значення ензимодіагностики в клінічній кардіології
14. Роль ізоферментів креатинфосфокінази (КФК) і лактатдегідрогенази (ЛДГ) в діагностиці захворювань серцево-судинної системи
15. Біохімічні констеляції в діагностиці захворювань серцево-судинної системи (гіпертонія, міокардит, ревмокардит, інфаркт міокарду, стенокардія).
16. Лабораторні методи визначення активності КФК, ЛДГ та інших ла-бораторних показників в діагностиці захворювань серцево-судинної системи
17. Загальна характеристика системи регуляції агрегатного стану крові
18. Характеристика судинно-тромбоцитарного гемостазу
19. Коагуляційний гемостаз
20. Протизгортальна система
21. Система фібринолізу
22. Основні лабораторні тести, що характеризують систему гемостазу
23. Основні лабораторні тести, що характеризують протизгортальну систему
24. Основні лабораторні тести, що характеризують систему фібринолі-зу
25. Клінічна біохімія як розділ клінічної лабораторної діагностики. Предмет, задачі клініко-біохімічних досліджень.
26. Методи біохімічних досліджень, які використовуються у роботі діа-гностичних лабораторій. Уніфікація біохімічних методів. Міжнародна система одиниць.

27. Вплив різноманітних маніпуляцій і лікарських препаратів на результати біохімічних досліджень.

28. Біохімічні констеляції (наприклад, цукровий та нецукровий діабет, гепатит, гострий ревматизм, пневмонія, ниркова недостатність).

ТЕМА № 9

ТЕМА: Підсумкове заняття з частини 2.

МЕТА: Визначити рівень засвоєння студентами матеріалу всіх розділів (біохімії гормонів, водно-електролітного обміну, кислотно-основної рівноваги та функціональної біохімії органів і тканин). Закріпити та узагальнити їх знання.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ ПІД ЧАС ПІДГОТОВКИ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЗАНЯТТЯ:

Теоретичні питання до заняття

1. Біохімічні функції печінки в організмі.
2. Роль печінки в обміні вуглеводів.
3. Роль печінки в обміні ліпідів.
4. Роль печінки в обміні білків.
5. Роль печінки в пігментному обміні.
6. Жовчоутворювальна функція печінки. Хімічний склад жовчі.
7. Роль кон'югуючих систем печінки в знешкодженні токсичних речовин.
8. Порушення функцій печінки при патологіях. Печінкові проби.
9. Типи кон'югації ксенобіотиків у гепатоцитах: біохімічні механізми, функціональне значення.

10. Біохімічні показники крові в діагностиці інфаркту міокарда та міопатій.
11. Функціональна біохімія серцевого м'язу
12. Значення ензимодіагностики в клінічній кардіології
13. Роль ізоферментів креатинфосфокінази (КФК) і лактатдегідрогенази (ЛДГ) в діагностиці захворювань серцево-судинної системи
14. Біохімічні констеляції в діагностиці захворювань серцево-судинної системи (гіпертонія, міокардит, ревмокардит, інфаркт міокарду, стенокардія).
15. Лабораторні методи визначення активності КФК, ЛДГ та інших лабораторних показників в діагностиці захворювань серцево-судинної системи
16. Загальна характеристика системи регуляції агрегатного стану крові
17. Характеристика судинно-тромбоцитарного гемостазу
18. Коагуляційний гемостаз
19. Протизгортальна система
20. Система фібринолізу
21. Основні лабораторні тести, що характеризують систему гемостазу
22. Основні лабораторні тести, що характеризують протизгортальну систему
23. Основні лабораторні тести, що характеризують систему фібринолізу
24. Загальне поняття про кислотно-лужний стан
25. Буферні системи крові
26. Регуляція кислотно-лужної рівноваги
27. Порушення кислотно-лужного стану – алкалози та ацидоз
28. Метаболічний ацидоз
29. Респіраторний ацидоз
30. Метаболічний алкалоз
31. Респіраторний алкалоз
32. Лабораторні методи та особливості дослідження кислотно-лужного стану

33. Загальний вміст та розподіл катіонів натрію та калію в організмі
34. Біологічна роль та добова потреба натрію та калію в організмі
35. Методи визначення натрію та калію в біологічних рідинах
36. Порухення обміну катіонів натрію та калію (гіпер- та гіпонатріємія, гіпер- та гіпокаліємія)
37. Гормональна регуляція рівня натрію та калію в організмі людини
38. Загальний вміст та розподіл катіонів фосфору та кальцію в організмі
39. Біологічна роль та добова потреба фосфору та кальцію в організмі
40. Патології обміну катіонів фосфору та кальцію: гіпер- та гіпокальциємія, гіпер- та гіпофосфатемія
41. Гормональна регуляція рівня фосфору та кальцію в організмі (паратгормон, кальцитонін, кальцитріол)
42. Методи визначення кальцію в біологічних рідинах
43. Методи визначення фосфору в біологічних рідинах
44. Загальний вміст та розподіл іонів хлору та заліза в організмі
45. Біологічна роль та добова потреба хлору та заліза в організмі
46. Патології обміну іонів хлору та заліза (гіпер- та гіпохлорплезмія, гіпосидероз та гіперзаліземія)
47. Гормональна регуляція рівня хлору в організмі
48. Методи визначення хлору та заліза в біологічних рідинах
49. Клінічна біохімія як розділ клінічної лабораторної діагностики.

Предмет, задачі клініко-біохімічних досліджень.

50. Методи біохімічних досліджень, які використовуються у роботі діагностичних лабораторій. Уніфікація біохімічних методів. Міжнародна система одиниць.

51. Вплив різноманітних маніпуляцій і лікарських препаратів на результати біохімічних досліджень.

52. Біохімічні констеляції (наприклад, цукровий та нецукровий діабет, гепатит, гострий ревматизм, пневмонія, ниркова недостатність).

- 53. Біологічна роль води. Розподіл води в організмі
- 54. Поняття про осмолярність (осмоляльність) розчинів. Референтні значення та способи обчислення осмолярності плазми
- 55. Регуляція водно-електролітного обміну
- 56. Характеристика та діагностика гіпоосмолярної гіпогідратації
- 57. Характеристика та діагностика ізоосмолярної гіпогідратації
- 58. Характеристика та діагностика гіперосмолярної гіпогідратації
- 59. Характеристика та діагностика гіпоосмолярної гіпергідратації
- 60. Характеристика та діагностика ізоосмолярної гіпергідратації
- 61. Характеристика та діагностика гіперосмолярної гіпергідратації.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Губський Ю. І. Біологічна хімія : підруч. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації / Ю.І. Губський. - 2-е вид. - Вінниця : Нова книга, 2016. - 664 с.
2. Клінічна біохімія : підруч. для студ. вищ. навч. закл. / Д. П. Бойків, Т. І. Бондарчук, О. Л. Іванків [та ін.]; за ред. О.Я. Склярова. - Київ : Медицина, 2014. - 432 с.
3. Клінічна біохімія : навч. посіб. / за ред. О.П. Тимошенка. - 2-ге вид. - Київ : Професіонал, 2015. - 288 с.
4. Біологічна хімія : підручник для студентів / за ред. проф. Л. М. Вороніної. - Харків : Основа, 2010. - 608 с.

Допоміжна:

1. Скляров О. Я. Біологічна хімія : підруч. для студ. стомат. ф-тів вищ. мед. навч. закл. освіти III-IV рівнів акредитації / О. Я. Скляров, Н. В. Фартушок, Т. І. Бондарчук. - Тернопіль : Укрмедкнига, 2015. - 706 с.
2. Клінічні лабораторні методи дослідження : навч. посіб. / І. А. Зупанець, В. Ф. Москаленко, С. В. Місюрьова [та ін.] ; за ред. І. А. Зупанця, В. Ф. Москаленка. - 2-е вид., переробл. та доп. . - Х. : Вид-во НФАУ: Золоті сторінки, 2015. - 177 с.