Государственное бюджетное профессиональное образовательное учреждение Департамента здравоохранения города Москвы

«Медицинский колледж № 1»

Филиал №3

Выпускная квалификационная работа

Сравнение биохимических методов исследований при заболеваниях печени

Специальность «Лабораторная диагностика»

Работу выполнила

Ф.И.О. Басич Е. С.

Курс 3 группа 31тл11

Руководитель

Ф.И.О. Кусков Д. В.

Рецензент

Ф.И.О._____

Москва, 2016 год

СОДЕРЖНИЕ

ВВЕДЕНИЕ……...

I ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ…….....

1.1 Строение печени…….

1.2 Функции печени…….

1.3 Роль печени в обмене углеводов……

1.3.1 Пути утилизации глюкозы……..

1.3.2 Пути образования глюкозы……

1.4 Роль печени в обмене липидов……..

1.4.1 Метаболизм жирных кислот в печени……..

1.4.2 Синтез кетоновых тел……

1.4.3 Образование и пути не пользования фосфатидной кислоты……..

1.4.4 Образование холестерола……..

1.4.5 Образование липопротенов……..

1.5 Роль печени в обмене белков…….

1.5.1 Пути использования аминокислот в печени……..

1.5.2 Биосинтез белков……..

1.6 Обезвреживание токсичных метаболитов и чужеродных соединений в печени……..

1.7 Желчеобразовательная функция печени……...

1.7.1 Желчные кислоты…….

1.7.2 Холестерол……

1.7.3 Желчные пигменты……..

1.7.4 Ферменты……

1.8 Билирубин……

1.8.1 Причины изменения концентрации билирубина в крови……

1.9 Альбумин……

1.9.1 Причины изменения концентрации альбумина в крови……

1.10 Гамма-глутамилтраспептидаза, аланинаминотрансфераза и щелочная фосфата-за……

II ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ……..
2.1 Определение активности АСТ……..
2.2 Определение активности АСТ……..
ЗАКЛЮЧЕНИЕ…….
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ……
Приложение 1……...
Приложение 2……..

ВВЕДЕНИЕ

Одним из актуальных вопросов современной медицины является определение активности и характера эволюции патологического процесса при заболеваниях печени. Печень является уникальным органом человеческого организма. Её называют центральной биохимической лабораторией человека. Печень выполняет множество важнейших функций в организме: участвует во всех видах обмена (белковом, жировом, углеводном), синтезирует факторы свёртывания крови, синтезирует и выводит желчь, активирует и разрушает ряд гормонов (альдостерон, ГКС, эстрогены, тиреоидные и др.), обезвреживает ксенобиотики (цитохром Р450) и аммиак, является депо железа и витаминов (В12, жирорастворимых А, D, Е, К) и др.

Клинические и биохимические изменения организма только косвенно отражают активность патологического процесса и соответствующие молекулярно-клеточные нарушения в печени. Клиническая ценность ферментных исследований и правильность интерпретации результатов лабораторных исследований по-прежнему зависит во многом от объема и качества клинических и инструментальных обследований больных. Диагностическое значение лабораторно-биохимических тестов существенно возрастает при затруднениях клинического разграничения заболеваний печени и ограниченной возможности использования ряда дополнительных методов обследования вследствие, например, высоких показателей уровня билирубина, холемии и частого присоединения холангиогенного гепатита.

В повседневной практике используются общепринятые клинические и биохимические тесты первой необходимости, такие как содержание билирубина, активность аминотрансфераз, щелочной фосфатазы и др. Традиционно эти тесты объединяются в так называемые клинико-биохимические синдромы (цитолиза, холестаза, печёночно-клеточной недостаточности, мезенхимального воспаления). Важная роль при биохимических исследованиях болезней печени принадлежит лабораторному медицинскому технику.

Цель.

Изучить биохимических методов исследований при заболеваниях печени.

Задачи:

1. Изучить литературные источники по методам биохимического исследования при заболеваниях печени;
2. Определить активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови;
3. Определить активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) в сыворотке крови;
4. Интерпретировать полученные результаты биохимических исследований с позиции «норма-патология».

Объект: действия медицинского лабораторного техника по проведению биохимических методов исследований при заболеваниях печени.

Предмет: биохимические методы исследования при заболеваниях печени.

I ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1.1Строение печени

Печень (hepar) – самая крупная железа пищеварительного тракта; располагается в основном в правом верхнем отделе брюшной полости поддиафрагмально; является сложной разветвленной трубчатой железой (рис.1.1)

Печень участвует в процессах обмена веществ и кроветворения.

Печень имеет неправильную форму: верхнюю – выпуклую – и нижнюю – вогнутую – части; окружена со всех сторон брюшиной.

Верхняя часть печени называется диафрагмальной (facies diaphragmatica), а нижняя – висцеральной (facies visceralis).

Диафрагмальная поверхность печени соответствует по форме куполу диафрагмы. К этой поверхности от диафрагмы и передней брюшной стенки идет поддерживающая (серповидная) связка печени (lig. falcifor-mis). Она делит поверхность печени на две доли: правую (lobus hepatis dexter) и левую (lobus hepatis sinister), соединяясь сзади с венечной связкой (lig. coronarium), которая представляет собой дупликатуру брюшины.

На висцеральной поверхности печени проходят три борозды, делящие ее на четыре части. Средний участок между правой и левой сагиттальными бороздами делится поперечной бороздой на два участка. Передний называется квадратной долей (lobus quadratus), задний – хвостатой долей (lobus caudatus).

На своем протяжении печень имеет две щели: в передней части – для круглой связки (fissura ligamenti teretis), в задней – для венозной связки (fissura liga-menti venosi).

В ворота печени входят воротная вена, нервы, печеночная артерия, а выходят лимфатические сосуды и общий печеночный проток. На висцеральной поверхности печени имеются четыре основных вдавления: почечное (impressio renalis), надпочеч-

ни-ковое (impressio suprarenalis), ободочно-кишечное (impressio colica) и двенадца-типерстно-кишечное (im-pressio duodenalis).

Квадратная доля печени имеет небольшое углубление, образованное двенадца-типерстной кишкой (im-pressio duodenalis).

Хвостатая доля печени на своей передней поверхности образует сосочковый отросток (processus papil-laris), справа – хвостатый отросток (processus cauda-tus).

Левая доля печени имеет на висцеральной поверхности небольшое возвыше-ние – сальниковый бугор, обращенный к малому сальнику. Снаружи печень покрыта серозной оболочкой (tunica serosa), которая лежит на подсерозной основе. Под ней лежит фиброзная оболочка (tunica fibrosa).

Внутри печени имеется соединительнотканный каркас, в ячейках которого располагаются структурно-функциональные единицы печени – печеночные дольки (lobulus hepatis).

Печеночные дольки состоят из гепатоцитов. В центре дольки проходит цен-тральная вена, по периферии дольки проходят междольковые артерии и вены, из ко-торых начинаются междольковые капилляры, переходящие в синусоидные сосуды.

Между гепатоцитами проходят желчные канальцы (ductulus bilifer), впадаю-щие в желчные протоки, которые соединяются в междольковые желчные протоки.

1.2 Функции печени

Печень является органом, занимающим уникальное место в обмене веществ. В каждой печёночной клетке содержится несколько тысяч ферментов, катализирую-щих реакции многочисленных метаболических путей. Поэтому печень выполняет в организме целый ряд метаболических функций. Важнейшими из них являются:

- биосинтез веществ, которые функционируют или используются в других органах. К этим веществам относятся белки плазмы крови, глюкоза, липиды, кетоновые тела и многие другие соединения;

- биосинтез конечного продукта азотистого обмена в организме – мочевины; участие в процессах пищеварения – синтез желчных кислот, образование и экскреция желчи;
- биотрансформация (модификация и конъюгация) эндогенных метаболитов, лекарственных препаратов и ядов;
- выделение некоторых продуктов метаболизма (желчные пигменты, холестерола, продукты обезвреживания).

1.3 Роль печени в обмене углеводов

Основная роль печени в обмене углеводов заключается в поддержании постоянного уровня глюкозы в крови. Это осуществляется путём регуляции соотношения процессов образования и утилизации глюкозы в печени.

В клетках печени содержится фермент **глюкокиназа**, катализирующий реакцию фосфорилирования глюкозы с образованием глюкозо-6-фосфата. Глюкозо-6-фосфат является ключевым метаболитом углеводного обмена (рис.1)

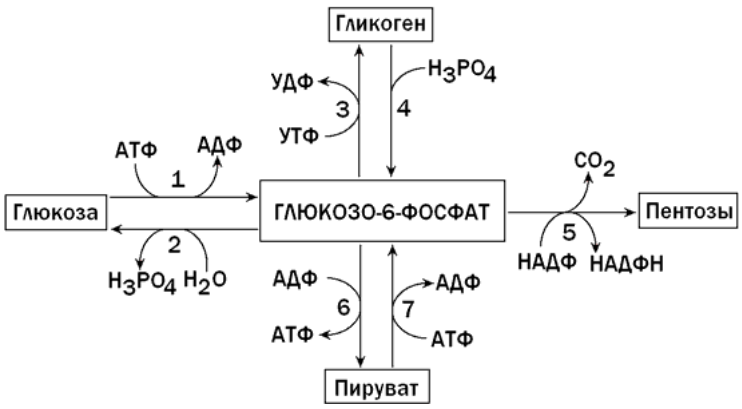


Рис. 1. Главные пути превращения глюкозо-6-фосфата в печени. Цифрами обозначены: 1 - фосфорилирование глюкозы; 2 - гидролиз глюкозо-6-фосфата; 3 - синтез гликогена; 4 - мобилизация гликогена; 5 - пентозофосфатный путь; 6 - гликолиз; 7 - глюконеогенез.

1.3.1. Пути утилизации глюкозы

После приёма пищи большое количество глюкозы поступает в печень по воротной вене. Эта глюкоза используется прежде всего для синтеза гликогена (рис. 2). Содержание гликогена в печени здоровых людей обычно составляет от 2 до 8% массы этого органа.

Гликолиз и пентозофосфатный путь окисления глюкозы в печени служат в первую очередь поставщиками метаболитов-предшественников для биосинтеза аминокислот, жирных кислот, глицерола и нуклеотидов. В меньшей степени окислительные пути превращения глюкозы в печени являются источниками энергии для обеспечения биосинтетических процессов.

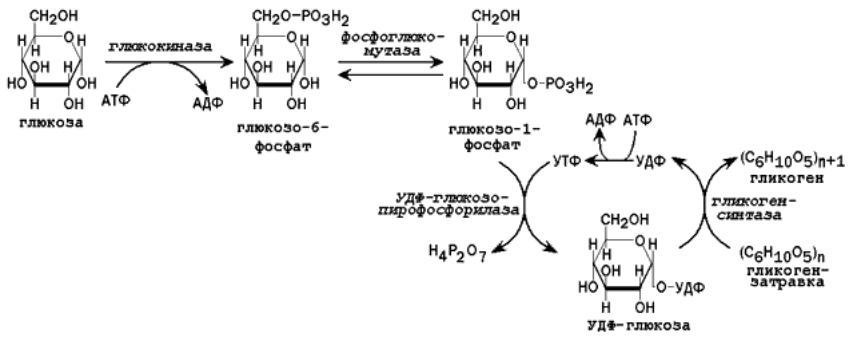


Рис. 2. Схема реакций синтеза гликогена в печени.

1.3.2. Пути образования глюкозы

В некоторых условиях (при голодании низкоуглеводной диете, длительной физической нагрузке) потребность организма в углеводах превышает то количество, которое всасывается из желудочно-кишечного тракта.

В таком случае образование глюкозы осуществляется с помощью **глюкозо-6-фосфатазы**, катализирующей гидролиз глюкозо-6-фосфата в клетках печени. Непосредственным источником глюкозо-6-фосфата служит гликоген. Схема мобилизации гликогена (рис. 3).

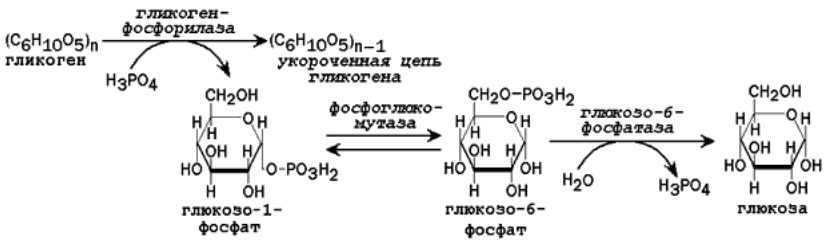


Рисунок 3. Схема реакций мобилизации гликогена в печени.

Мобилизация гликогена обеспечивает потребности организма человека в глюкозе на протяжении первых 12 - 24 часов голодания. В более поздние сроки основным источником глюкозы становится глюконеогенез - биосинтез из неуглеводных источников.

Основными субстратами для глюконеогенеза служат лактат, глицерол и аминокислоты (за исключением лейцина). Эти соединения сначала превращаются в пируват или оксалоацетат - ключевые метаболиты глюконеогенеза.

Глюконеогенез - процесс, обратный гликолизу. При этом барьеры, создаваемые необратимыми реакциями гликолиза, преодолеваются при помощи специальных ферментов, катализирующих обходные реакции (рис. 4).

Из других путей обмена углеводов в печени следует отметить превращение в глюкозу других пищевых моносахаридов - фруктозы и галактозы.

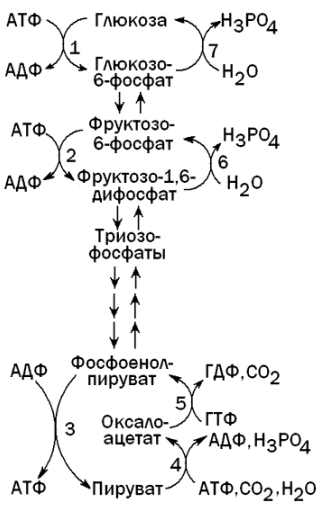


Рисунок 4. Гликолиз и глюконеогенез в печени.

Ферменты, катализирующие необратимые реакции гликолиза: 1 - глюкокиназа; 2 - фосфофруктокиназа; 3 - пируваткиназа.

Ферменты, катализирующие обходные реакции глюконеогенеза: 4 -пируват-карбоксилаза; 5 - фосфоенолпируваткарбоксикиназа; 6 -фруктозо-1,6-дифосфата-за; 7 - глюкозо-6-фосфатаза.

1.4. Роль печени в обмене липидов

В гепатоцитах содержатся практически все ферменты, участвующие в метаболизме липидов. Поэтому паренхиматозные клетки печени в значительной степени контролируют соотношение между потреблением и синтезом липидов в организме. Катаболизм липидов в клетках печени протекает главным образом в митохондриях и лизосомах, биосинтез - в цитозоле и эндоплазматическом ретикулуме. Ключевым метаболитом липидного обмена в печени является **ацетил-КоА,** главные пути образования и использования (рис.5).



Рисунок 5. Образование и использование ацетил-КоА в печени.

1.4.1. Метаболизм жирных кислот в печени

Пищевые жиры в виде хиломикронов поступают в печень через систему печёночной артерии. Под действием **липопротеинлипазы,** находящейся в эндотелии капилляров, они расщепляются до жирных кислот и глицерола. Жирные кислоты, проникающие в гепатоциты, могут подвергаться окислению, модификации (укорочению или удлинению углеродной цепи, образованию двойных связей) и использоваться для синтеза эндогенных триацилглицеролов и фосфолипидов.

1.4.2. Синтез кетоновых тел

При β-окислении жирных кислот в митохондриях печени образуется ацетил-КоА, подвергающийся дальнейшему окислению в цикле Кребса. Если в клетках печени имеется дефицит оксалоацетата (например, при голодании, сахарном диабете), то происходит конденсация ацетильных групп с образованием кетоновых тел **(ацетоацетат, β-гидроксибутират, ацетон).** Эти вещества могут служить энергетическими субстратами в других тканях организма (скелетные мышцы, миокард, почки, при длительном голодании - головной мозг). Печень не утилизирует кетоновые тела. При избытке кетоновых тел в крови развивается метаболический ацидоз. Схема образования кетоновых тел (рис. 6).

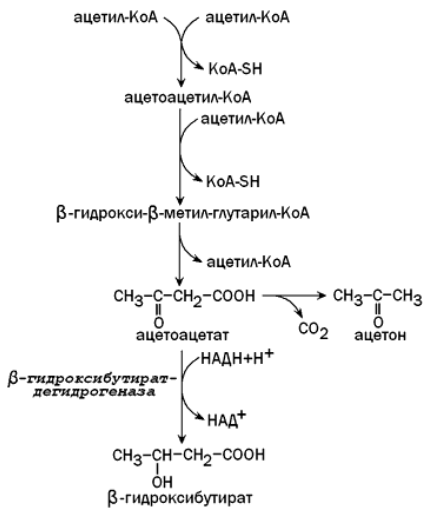


Рисунок 6. Синтез кетоновых тел в митохондриях печени.

1.4.3. Образование и пути использования фосфатидной кислоты

Общим предшественником триацилглицеролов и фосфолипидов в печени является фосфатидная кислота. Она синтезируется из глицерол-3-фосфата и двух ацил-КоА - активных форм жирных кислот (рис. 7). Глицерол-3-фосфат может образоваться либо из диоксиацетонфосфата (метаболит гликолиза), либо из свободного глицерола (продукт липолиза).

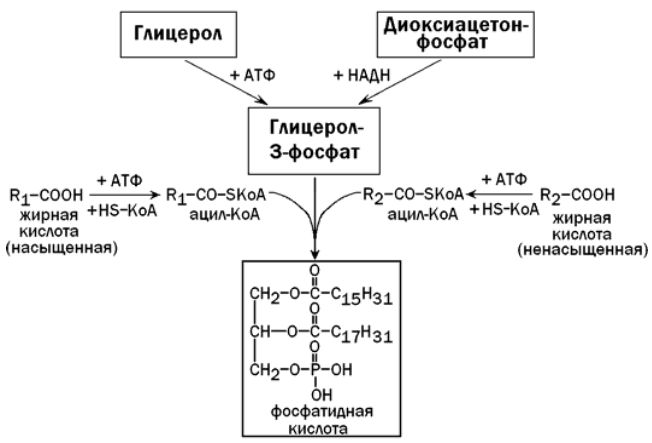


Рисунок 7. Образование фосфатидной кислоты (схема).

Для синтеза фосфолипидов (фосфатидилхолина) из фосфатидной кислоты необходимо поступление с пищей достаточного количества **липотропных факторов** (веществ, препятствующих развитию жировой дистрофии печени). К этим факторам относятся **холин, метионин, витамин В12, фолиевая кислота** и некоторые другие вещества. Фосфолипиды включаются в состав липопротеиновых комплексов и принимают участие в транспорте липидов, синтезированных в гепатоцитах, в другие ткани и органы. Недостаток липотропных факторов (при злоупотреблении жирной пищей, хроническом алкоголизме, сахарном диабете) способствует тому, что фосфатидная кислота используется для синтеза триацилглицеролов (нерастворимых в воде). Нарушение образования липопротеинов приводит к тому, что избыток ТАГ накапливается в клетках печени (жировая дистрофия) и функция этого органа нарушается.

Пути использования фосфатидной кислоты в гепатоцитах и роль липотропных факторов (рис 8.)

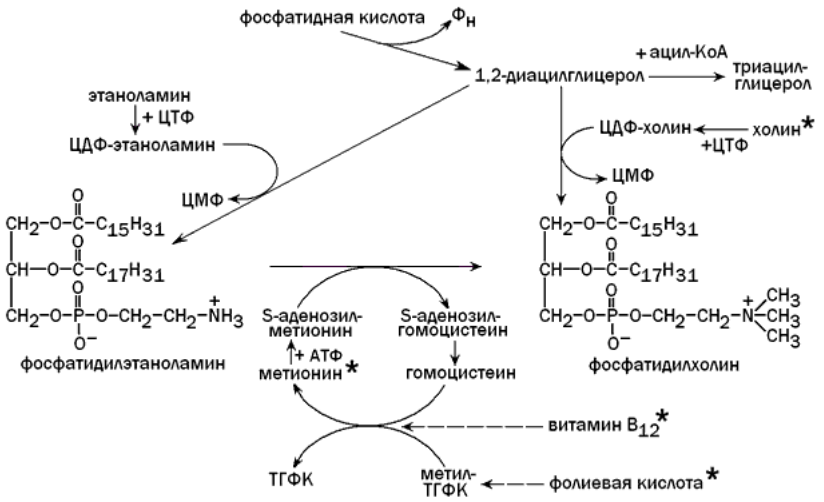


*Рисунок 8. Использование фосфатидной кислоты для синтеза триацилглицеролов и фосфолипидов. Липотропные факторы обозначены знаком *.*

1.4.4. Образование холестерола

Печень является основным местом синтеза эндогенного холестерола. Это соединение необходимо для построения клеточных мембран, является предшественником желчных кислот, стероидных гормонов, витамина Д3. Первые две реакции синтеза холестерола напоминают синтез кетоновых тел, но протекают в цитоплазме гепатоцита. Ключевой фермент синтеза холестерола - **β-гидрокси-β-метилглутарил-КоА-редуктаза(ГМГ-КоА-редуктаза)** ингибируется избытком холестерола и желчными кислотами по принципу отрицательной обратной связи (рис. 9).

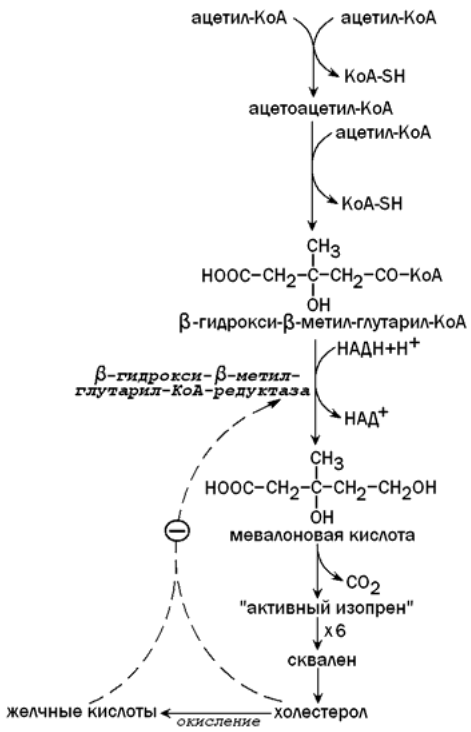


Рисунок 9. Синтез холестерола в печени и его регуляция.

1.4.5. Образование липопротеинов

Липопротеины - белково-липидные комплексы, в состав которых входят фосфолипиды, триацилглицеролы, холестерол и его эфиры, а также белки (апопротеины). Липопротеины транспортируют нерастворимые в воде липиды к тканям. В гепатоцитах образуются два класса липопротеинов - липопротеины высокой плотности (ЛПВП) и липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП).

1.5. Роль печени в обмене белков

Печень является органом, регулирующим поступление азотистых веществ в организм и их выведение. В периферических тканях постоянно протекают реакции биосинтеза с использованием свободных аминокислот, либо выделение их в кровь при распаде тканевых белков. Несмотря на это, уровень белков и свободных аминокислот в плазме крови остаётся постоянным. Это происходит благодаря тому, что в клетках печени имеется уникальный набор ферментов, катализирующих специфиче-

ские реакции обмена белков.

1.5.1. Пути использования аминокислот в печени

После приёма белковой пищи в клетки печени по воротной вене поступает большое количество аминокислот. Эти соединения могут претерпевать в печени ряд превращений, прежде чем поступить в общий кровоток. К этим реакциям относятся (рис. 10):

а) использование аминокислот для синтеза белков;

б) трансаминирование - путь синтеза заменимых аминокислот; осуществляет также взаимосвязь обмена аминокислот с глюконеогенезом и общим путём катаболизма;

в) дезаминирование - образование α-кетокислот и аммиака;

г) синтез мочевины - путь обезвреживания аммиака (схему см. в разделе "Обмен белков");

д) синтез небелковых азотсодержащих веществ (холина, креатина, никотинамида, нуклеотидов и т.д.).



Рисунок 10. Обмен аминокислот в печени.

1.5.2. Биосинтез белков

В клетках печени синтезируются многие белки плазмы крови: **альбумины** (около 12 г в сутки), большинство **α-** и **β-глобулинов,** в том числе транспортные белки **(ферритин, церулоплазмин, транскортин, ретинолсвязывающий белок**). Многие факторы свёртывания крови **(фибриноген, протромбин, проконвертин, проакцелерин** и др.) также синтезируются в печени.

1.6. Обезвреживание токсичных метаболитов и чужеродных соединений в печени

Токсические вещества для организма: ксенобиотики (чужеродные вещества), продукты гниения белков в толстом кишечнике (фенол, крезол, скатол, индол), а также биогенные амины (серотонин, гистамин, путресцин, кадаверин, катехоламины), продукты распада гема превращаются в печени в менее токсичные или совсем индифферентные соединения, как правило, в две фазы.

В первой фазе детоксикации гидрофобные вещества подвергаются микросомальному окислению.

Основными компонентами микросомальной цепи ферментов окисления являются специфический флавопротеин, включающий ФАД, железосодержащий белок (железо - негеминовое); цитохром $Р_{450}$.

При этом используются НАДФН + $Н^+$ и молекулярный кислород.

Реакцию микросомального окисления можно представить так:

$RH + O_2 + НАДФН + Н^+ \rightarrow R – OH + H_2O + НАДФ^+$.

Функции цитохрома $Р_{450}$ следующие:

Адсорбирует и удерживает гидрофобный субстрат (RH);

Катализирует реакцию гидроксилирования субстрата (RH).

Вторая фаза - реакции конъюгации, в ходе которых гидрофильные соединения взаимодействуют с одним из веществ: УДФ-ГК, ФАФС,

S-аденозилметионином, Ацетил-КоА и глицином. Образуются нетоксичные конъюгтрованные производные, которые выводятся из организма почками с мочой.

Значение реакций микросомального окисления и реакций конъюгации состоит в том, что в результате их протекания токсические вещества обезвреживаются, становятся более растворимыми и выводятся из организма.

1.7. Желчеобразовательная функция печени

Желчь - жидкий секрет желтовато-коричневого цвета, выделяемый печёночными клетками (500-700 мл в сутки). В состав желчи входят: желчные кислоты, холестерол и его эфиры, желчные пигменты, фосфолипиды, белки, минеральные вещества (Na^+, K^+, Ca^{2+}, Cl^-) и вода.

1.7.1. Желчные кислоты

Являются продуктами метаболизма холестерола, образуются в гепатоцитах. Различают первичные (холевая, хенодезоксихолевая) и вторичные (дезоксихолевая, литохолевая) желчные кислоты. В желчи присутствуют главным образом желчные кислоты, конъюгированные с глицином или таурином (например, гликохолевая, кислота, таурохолевая кислота и т.д.).

Желчные кислоты принимают непосредственное участие в переваривании жиров в кишечнике:

- оказывают на пищевые жиры эмульгирующее действие;
- активируют панкреатическую липазу;
- способствуют всасыванию жирных кислот и жирорастворимых витаминов;
- стимулируют перистальтику кишечника.

При нарушении оттока желчи желчные кислоты проникают в кровь и мочу.

1.7.2 Холестерол

С желчью выводится из организма избыток холестерола. Холестерол и его эфиры присутствуют в желчи в виде комплексов с желчными кислотами (холеиновые комплексы). При этом отношение содержания желчных кислот к содержанию холестерола (холатный коэффициент) должно быть не ниже 15. В противном случае

нерастворимый в воде холестерол выпадает в осадок и откладывается в виде камней желчного пузыря (желчно-каменная болезнь).

1.7.3. Желчные пигменты

Из пигментов в желчи преобладает конъюгированный билирубин (моно- и диглюкуронид билирубина). Он образуется в клетках печени в результате взаимодействия свободного билирубина с УДФ-глюкуроновой кислотой. При этом снижается токсичность билирубина и увеличивается его растворимость в воде; далее конъюгированный билирубин секретируется в желчь. При нарушении оттока желчи (механическая желтуха) в крови значительно увеличивается содержание прямого билирубина, в моче обнаруживается билирубин, в кале и моче снижено содержание стеркобилина.

1.7.4. Ферменты

Из ферментов, обнаруженных в желчи, следует в первую очередь отметить щелочную фосфатазу. Это экскреторный фермент, синтезируемый в печени. При нарушении оттока желчи активность щелочной фосфатазы в крови возрастает.

1.8 Билирубин

Пациенты с заболеваниями печени часто имеют характерные симптомы и признаки. Наиболее типична для многих пациентов жёлтая окраска кожи, склер и слизистых оболочек. Раньше всего она заметна на конъюнктиве глаз. Этот клинический признак называется желтухой. Желтуха наблюдается не только при заболеваниях печени, но и других заболеваниях (например, при гемолитической анемии). Она возникает из-за высокой концентрации в крови желтого пигмента билирубина.

Билирубин образуется главным образом из кровного пигмента эритроцитов гемоглобина. Другим источником билирубина являются миоглобин (белок мышечных клеток), цитохромы и гемсодержащие ферменты (рис. 1.2).

Эритроциты, выполнив свои функции, в конце своего 120-дневного срока жизни удаляются из крови селезенкой и другими клетками ретикулоэндотелиальной системы. При физиологических условиях в организме взрослого человека за 1 ч разрушается $1\text{-}2*10^{8}$ эритроцитов. Высвободившийся при этом гемоглобин разрушается на белковую часть – глобин и часть, содержащую железо, - гем. Железо гема включается в общий обмен железа и снова используется. Свободная от железа порфиритовая часть гема подвергаетс катаболизму. В основном это происходит в ретикулоэндотелиальных клетках печени (клетках Купфера), селезенки и костного мозга.

Дальнейший метаболизм билирубина в основном происходит в печени. Однако билирубин плохо растворим в плазме и воде, поэтому, чтобы поступить в печень, он специфически связывается с альбумином. В соединении с альбумином билирубин доставляется в печень. В дальнейшем метаболизм билирубина складывается их трех процессов:

- Поглощения билирубина паренхиматозными клетками печени (гепатоцитами);
- конъюгации (связывания) билирубина с глюкуроновой кислотой в гепатоцитах;
- в секреции билирубина из гепатоцитов в желчь.

В гепатоцитах к билирубину присоединяется глюкуроновая кислота, и он приходит в водорастворимую форму. Процесс, обеспечивающий переход билирубина из водонерастворимой в водорастворимую форму, называется конъюгацией. Сначала происходит образование билирубинмоноглюкуронида, а затем – диглюкуронида билирубина. Билирубин секретируется в желчь преимущественно в виде билирубиндиглюкуронида.

В составе желчи конъюгтрованный (свыше 97%) и неконъюгированный билирубины поступают в тонкую кишку. После того, как билирубин достигает области подвздошной и толстой кишки, глюкурониды гидролизируются специфическими

бактериальными ферментами. Далее кишечная микрофлора восстанавливает пигмент с последовательным образованием мезобилирубина и мезобилиногена (уробилиногена). В подвздошной и толстой кишке часть образовавшегося мезобилиногена (уробилиногена) всасывается через кишечную стенку, попадает в v. Portae и поступает в печень, где полностью расщепляется, поэтому в норме в общий круг кровообращения и мочу мезобилиноген (уробилиноген) не попадает. При повреждении паренхимы печени процесс расщепления мезобилиногена (уробилиногена) нарушается, и уробилиноген переходит в кровь, оттуда в мочу, где может определяться лабораторными методами. В норме большая часть бесцветных мезобилиногенов, образующихся в толстой кишке, окисляется в стеркобилиноген, который в нижних отделах толстой кишки (в основном в прямой кишке) окисляется до стеркобилина и выделяется с калом. Лишь небольшая часть стеркобилиногена (уробилина) всасывается в нижних участках толстой кишки в систему нижней полой вены и в дальнейшем выводится почками с мочой. Следовательно, в норме моча человека содержит следы уробилина, но не уробилиногена. Обнаружение в моче уробилиногена свидетельствует о нарушении функции печени.

1.8.1 Причины изменения концентрации билирубина в крови

Содержание общего билирубина в сыворотке крови в норме составляет 3,4-17,1мкмоль/л. Возрастание уровня билирубина в сыворотке крови выше 17,1 мкмоль/л называется гипербилирубинемией. Она может быть следствием трех основных групп заболеваний:

- болезней, связанных с повышенным образованием билирубина (в большем количестве, чем то, которое нормальная печень может экскретировать), при этом печень и желчные пути обычно не вовлечены в патологический процесс; наиболее частым заболеванием этой группы является гемолитическая анемия, для которой характерно усиленное разрушение эритроцитов;

- болезней, связанных с повреждением клеток печени, аследовательно, с нарушением их способности конъюгировать билирубин (болезни печени);
- болезней, связанных с нарушением оттока желчи (следовательно, снижением экскреции билирубина) вследствие закупорки желчевыводящих протоков печени (болезни желчевыводящих путей).

1.9 Альбумин

Альбумин, находящийся в плазме крови, синтезируется в печени из аминокислот (примерно 12-15г/сут). Содержание альбумина в сыворотке крови составляет около 60% общего белка. Референтные величины концентрации альбумина в сыворотке крови равны 35-50 г/л (3,5-5,0 г/дл). В плазме крови альбумин выполняет следующие основные функции: транспортную, регулятора онкотического давления плазмы крови, белкового резерва организма.

Альбумин транспортирует различные нерастворимые в воде вещества, в частности, тиреодные гормоны, билирубин, свободные жирные кислоты и многие лекарственные препараты. Примерно половина кальция, находящегося в плазме крови, связана с альбумином и переносится им в физиологически неактивной форме.

Альбумин вносит основной вклад в поддержание объема циркулирующей крови. Поддержание постоянства объема циркулирующей крови зависит от удержания в сосудистом русле воды. При этом артериальное давление способствует перемещению жидкости во внесосудистое (межклеточное) пространство. В отсутствие эффективного противодействия этому процессу произошла бы быстрая потеря воды из сосудистого русла. В отличие от клеточных мембран, стенки капилляров проницаемы для небольших молекул, поэтому натрий почти не оказывает осмотического влияния в кровеносных капиллярах. Наименьшей из молекул, концентрация которых значительна в кровотоке, но вне кровеносных сосудов низкая, является молекула альбумина. В норме стенка капилляров для него малопроницаема, поэтому концентрация альбумина в крови является наиболее важным фактором, противостоящим общему

артериальному (гидростатическому) давлению. Альбумин присутствует в плазме в больших количествах и вносит самый значительный вклад в поддержание ее онкотического давления. Онкотическое давление препятствует вытеканию жидкости из капилляров в окружающее интерстициальное (межклеточное) пространство под действием давления внутри сосудов. На 65-80% онкотическое давление плазмы обусловлено альбумином.

При патологии динамическое равновесие и обмен жидкости между внутри- и внесосудистыми пространствами нарушаются. При уменьшении содержания альбумина в крови (острая кровопотеря, высокий уровень катаболизма, печёночная недостаточность, потери белка с мочой и др.) онкотическое давление плазмы снижается, жидкость усиленно покидает сосудистое русло, в связи с чем происходят сгущение крови, замедление кровотока, а в межклеточном пространстве образуется избыток жидкости и развивается отек. Отек, который внешне выглядит как припухлость, - клинический симптом накопления жидкости в интерстициальном пространстве.

Своевременное внутривенное введение раствора альбумина позволяет восстановить объем плазмы крови у пациентов с обширной травмой, ожогами или шоком различного происхождения.

1.9.1 Причины изменения концентрации альбумина в крови

При лабораторных исследованиях обнаруживают в основном количественные нарушения содержания альбуминов в плазме крови. Они проявляются гипер- (концентрация в сыворотке крови выше 50г/л) и гипоальбуминемией (концентрация ниже 35 г/л).

Гипоальбуминемии бывают первичные (у новорожденных в результате незрелости печеночных клеток) и вторичные, обусловленные различными патологическими состояниями. Так как альбумин синтезируется в печени, можно ожидать, что заболевания печени всегда связаны со снижением уровня этого белка в плазме крови. В действительности это не совсем так. Уровень альбумина снижается только при хронических заболеваниях печени (цирроз печени) и печеночной недостаточности,

но обычно остается нормальным, если заболевание протекает остро и быстро разрешается (острый гепатит).

Уровень альбумина может быть низким при заболеваниях и состояниях, не относящихся к патологии печени. Они практически аналогичны тем, которые вызывают гипопротеинемию.

В понижении концентрации альбуминов может также играть роль гемодилюция (разведение крови), например, при беременности. Снижение содержания альбуминов ниже 22-24 г/л сопровождается отеком легких.

Гиперальбуминемия наблюдается при дегидратации при тяжелых травмах, обширных ожогах, холере.

1.11 Гамма-глутамилтраспептидаза, аланинаминотрансфераза и щелочная фосфатаза

Огромное разнообразие процессов, происходящих в печени, связано с присутствием многочисленных ферментов в отдельных структурных элементах гепатоцитов. Выраженность повреждения этих структурных единиц печеночной клетки определяет сущность обменных нарушений при различных заболеваниях. Различные этиологические факторы повреждают одни и те же структурные элементы печени и проявляются похожими отклонениями результатов биохимических тестов. Поэтому биохимические анализы не позволяют определить этиологию конкретного заболевания печени, но они представляют информацию для установления степени тяжести повреждения печени.

ГГТП, АЛТ и щелочная фосфатаза – ферменты, находящихся в клетках печени (гепатоцитах) и желчевыводящих путей (билиарый тракт), где каждый из них обеспечивает протекание определенных метаболических процессов.

ГГТП (γ-глутамилтранспептидаза) катализирует перенос γ-глутамила на аминокислоту или пептид. ГГТП является мембранно-связанным ферментом. Он расположен преимущественно в мембранах билиарного полюса гепатоцита, а также в клетках желчных протоков. В значительных концентрациях ГГТП обнаружена в пе-

чени, поджелудочной железе, почках и предстательной железе (поэтому у мужчин активность ГГТП в сыворотке крови приблизительно на 50% выше, чем у женщин). В других клетках тканей ГГТП содержится в небольших количествах. В основном активность ГГТП присутствует на мембранах клеток, обладающих высокой секреторной или поглотительной способностью, таких как эпителиальные клетки желчевыводящих путей, клетки проксимальных канальцев почки, сценарная ткань поджелудочной железы и ее протоки, щеточная каемка клеток кишечника.

Референтные величины активности ГГТП в сыворотке крови у мужчин 10,4-33,8 МЕ/л, у женщин 8-22,0 МЕ/л.

Аланинаминотрансфераза катализирует перенос аминогруппы с аланина (аминокислота) на α-кетоглутаровую кислоту. АЛТ содержится в скелетной мускулатуре, печени, сердце. В меньших количествах АЛТ обнаружена также в поджелудочной железе, селезенке, легких. В самых больших концентраций АЛТ содержится в печени. Референтные величины активности АЛТ в сыворотке 7-40 МЕ/л.

Щелочная фосфатаза широко распространена в тканях человека, особенно в слизистой оболочке кишечника, клетках кости (остеобластах), стенках желчных протоков печени, плаценте и лактирующей молочной железе. Она катализирует отщепление фосфорной кислоты от ее органических соединений. Свое название фермент получил в связи с тем, что оптимум pH щелочной фосфатазы лежит в щелочной среде (pH 8,6-10,1). Фермент расположен на клеточной мембране и принимает участие в транспорте фосфора. Референтные величины активности щелочной фосфатазы(табл. 1.1).

При гибели печеночных клеток (некроз) или нарушении целостности их мембран, что наблюдается при заболеваниях печени, внутриклеточные ферменты ГГТП,АЛТ и щелочная фосфатаза попадают в кровь. Они не выполняют в крови своих функций, но их повышенное количество в плазме служит индикатором повреждения печеночных клеток. Однако повышение уровня ферментов в крови не всегда отражает повреждение печеночных клеток. Возможны и другие причины, такие, как усиленная клеточная пролиферация при злокачественных опухолях, нарушение оттока желчи.

Необходимо понимать условность сложившегося общего названия «печеночные ферменты» в отношении ГГТП, АЛТ и щелочной фосфатазы. Печень не является единственным источником этих ферментов, и повышение их уровня в крови не всегда указывает на повреждение печени. ГГТП, АЛТ и щелочная фосфатаза присутствуют в клетках других тканей, и повреждение этих тканей (или наличие заболевания, затрагивающего их) тоже может сопровождаться высокой концентрацией ГГТП, АЛТ и щелочной фосфатазы в сыворотке крови.

II ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

2.1 Определение активности АЛТ

Аланинаминотрансфераза (АЛАТ/АЛТ), ранее называвшаяся Глутамат-пируваттрансаминазой (GPT) и Аспартатаминотрансфераза (АСАТ/АСТ), ранее называвшаяся Глутаматоксалоацетаттрансаминаза (GOT) – наиболее вашные представители аминотрансфераз или трансаминаз (группы ферментов, катализирующих превращение α-кетокислот в аминокислоты путем переноса аминогрупп).

Значительное повышение АЛТ происходит только при болезнях печени, так как это специфичный фермент. Однако, повешение уровня АСТ может происходить в связи с повреждением сердечной или скелетных мышц, также как и при повреждении паренхимы печени. Следовательно, параллельное измерение АСТ и АЛТ применяется для дифференциации повреждения печени от повреждения сердечной или скелетных мышц. Соотношение АСТ к АЛТ используется для дифференциальной диагностики болезней печени. Соотношение <1 указывает на слабое повреждение печени, тогда как соотношение >1 говорит о множественных. часто хронических заболеваниях печени.

Метод

Оптимизированный УФ тест в соответствии с рекомендациями IFCC (Международная Федерация Клинической Химии и Лабораторной Медицины).

Принцип определения

L-Аланин + 2-Оксоглутарат ⟷ L-Глутамат+Пируват

Пируват + НАДН + Н+ D-Лактат + НАД+

Стабильность и хранение

Реагенты стабильны до конца месяца, указан- ного в сроке годности, при хранении при 2–8°С, в защищенном от света месте. Не допускать за- грязнения. Не замораживать реагенты!

Меры предосторожности

1. В качестве консерванта реагенты содержат азид натрия (0.95 г/л). Не глотать! Избегать контакта реактивов с кожей и слизистыми.

2. Обычные меры предосторожности, принимаемые при работе с лабораторными реактивами.

Обезвреживание отходов

В соответствии с местными правилами.

Подготовка реагентов

Реагенты готовы к использованию.

Исследуемые образцы

• Сыворотка.

• Гепаринизированная или ЭДТА плазма.

Стабильность [4]:

3 дня при 15-25°С

7 дней при 4-8°С

7 дней при –20°С

Загрязненные образцы хранению не подлежат.

Процедура определения

Длина волны, нм 340,Hg 334, Hg 365

Длина опт. пути, см 1

Температура, °С 37

Измерение относительно воздуха

Контроли и калибраторы

Для калибровки автоматизированных фотомет- рических систем рекомендуется калибратор TruCal U фирмы DiaSys. Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольных сывороток TruLab N и P(табл.2.2).

Диапазон измерений

При использовании автоматических анализаторов тест позволяет определять активности АЛТ в диапазоне измерений до 600 Е/л. В ручном режиме измерений тест применяется для определения активности АЛТ, соответст- вующей изменению оптической плотности не более ΔА/мин = 0.16 при 340 и 334 нм или ΔА/мин = 0.08 при 365 нм. Если значение пре- восходит верхнюю границу диапазона, образец должен быть разведен 1 + 9 изотоническим раствором NaCl (9 г/л) и полученный результат должен быть умножен на 10.

Нормальные величины

- ***Женщины, Е/л <31***
- ***Мужчины, Е/л <41***

Определение активности АСТ

Аланинаминотрансфераза (АЛАТ/АЛТ), ранее называвшаяся Глутаматпируваттрансаминазой (GPT) и Аспартатаминотрансфераза (АСАТ/АСТ), ранее называвшаяся Глутамат- оксалоацетаттрансаминаза (GOT) – наиболее важные представители аминотрансфераз или трансаминаз (группы ферментов катализирующих превращение α-кетокислот в аминокислоты путем переноса аминогрупп). Значительное повышение АЛТ происходит только при болезнях печени, так как это специфичный фермент. Однако, повышение уровня АСТ может происходить в связи с повреждением сердечной или скелетных мышц, также как и при повреждении паренхимы печени. Следовательно, параллельное измерение АСТ и АЛТ применяется для дифференциации повреждения печени от повреждения сердечной или скелетных мышц. Соотношение АСТ к АЛТ используется для дифференциальной диагностики болезней печени. Соотношение 1 говорит о множественных, часто хронических заболеваниях печени.

Метод

Оптимизированный УФ тест в соответствии с ре- комендациями IFCC (Международная Федерация Клинической Химии и Лабораторной Медицины).

Принцип определения

L-Аспартат + 2-Оксоглутарат ↔ L-Глутамат + Оксалоацетат

Оксалоацетат + НАДН + H+ L-Малат + НАД

Стабильность и хранение

Реагенты стабильны до конца месяца, указанного в сроке годности, при хранении при 2–8°C, в защищенном от света месте. Не допускать загрязнения. Не замораживать реагенты!

Меры предосторожности

1. В качестве консерванта реагенты содержат азид натрия (0.95 г/л). Не глотать! Избегать контакта реактивов с кожей и слизистыми.

2. Обычные меры предосторожности, принимаемые при работе с лабораторными реактивами.

Обезвреживание отходов

В соответствии с местными правилами.

Подготовка реагента

Запуск реакции субстратом

Реагенты готовы к использованию.

Запуск реакции образцом

Смешать 4 части реагента 1 с одной частью реагента 2 (например, 20 мл R1 + 5 мл R2) = монореагент

Стабильность монореагента:

4 недели при 2 – 8°C

5 дней при 15–25°C

Монореагент хранить в темноте!

Исследуемые образцы

- Сыворотка
- Гепаринизированная или ЭДТА плазма.

Стабильность:

4 дня при 15–25°C

7 дней при 4–8°C

2 месяца при -20°C

Загрязненные образцы хранению не подлежат.

Процедура определения

Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно

Длина волны, нм 340,Hg 334, Hg 365

Длина опт. пути, см 1

Температура, °C 37

Измерение относительно воздуха

Калибраторы и контроли

Для калибровки автоматизированных фотометрических систем рекомендуется калибратор TruCal U фирмы DiaSys. Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольных сывороток TruLab N и P(табл.2.2).

Диапазон измерений

При использовании автоматических анализаторов тест позволяет определять активности АСТ в диапазоне измерений до 700 Е/л.

В ручном режиме измерений тест применяется для определения активности АСТ, соответствующей изменению оптической плотности не более ΔA/мин = 0.16 при 340 и 334 нм или ΔA/мин = 0.08 при 365 нм. Если значение превосходит верхнюю границу диапазона, образец должен быть разведен 1 + 9 изотоническим раствором NaCl (9 г/л) и полученный результат должен быть умножен на 10.

Нормальные величины

Женщины, Е/л <31

Мужчины, Е/л <35

С 00 марта 2016 по 00 мая 2016 проходила преддипломную практику в ГКБ № … в КДЛ по ПМ. 03 «Проведение лабораторных биохимических исследований». За время прохождения практики исследовала в сыворотке крови следующие биохимические показатели: АЛТ и АСТ у 20 пациентов.

Результат исследования АЛТ, АСТ и ЩФ приведены в таблице 2.1

Вывод:

1. Были изучены биохимические исследования при заболеваниях печени;
2. Определена активность АЛТ в сыворотке крови;
3. Определена активность АСТ в сыворотке крови;
4. Интерпретированы полученные результаты биохимических исследований с позиции «норма-позиции».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диагностика заболеваний печени является в настоящее время одной из наиболее сложных проблем. Рост числа больных и тяжёлыми поражениями печени требует получения надежной диагностической информации. Многообразие функций печени и разнообразный характер их нарушений при большом спектре болезней исключает возможность использования какого-либо единичного теста для адекватной характеристики функционального состояния органа. В каждой клинической ситуации необходимо выбрать оптимальный набор диагностических тестов и адекватно интерпретировать результаты биохимических исследований с позиции «норма-патологии».

Биохимическая диагностика функций печени включает в себя:

- Исследование пигментного обмена (выполняется для обнаружения в моче и крови билирубина и продуктов его преобразования);
- Определение белковых составляющих сыворотки крови (предназначены дл оценка синтезирующей белок почечной функции);
- Проверку активности ферментативного ряда (АЛТ АСТ при подозрении на повреждение гепатоцитов, γ-глутамилтрансферазы, при подозрение болезней, вызванных чрезмерным употреблением алкоголя и щелочной фосфатазы при подозрениях на холестаз);
- Оценку активности специфических ферментов печени (сорбитолдегидроеназы, фруктозо-1-фосфатальдолазы).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Гайворонский И.В. Анатомия и физиология человека: Учебник для студентов учреждений среднего профессионального образования / И.В. Гайворонский, Г.И. Ничипорук, А.И. Гайворонский. - М.: ИЦ Академия, 2013.

2. Камышников В.С. Карманный справочник врача по лабораторной диагностике / В.С.Камышников. – 8-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2014.

3. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014.

4. Бышевский А. Ш., Терсенов О. А. Биохимия для врача // Екатеринбург: Уральский рабочий, 2014.

5. Ленинджер А. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функций клетки // М.: Мир, 2012.

6. Пустовалова Л.М. Практикум по биохимии // Ростов-на Дону: Феникс, 2013.

7. Хмельницкий Р. А. Физическая и коллоидная химия // М.: Высш. шк., 2012.

8. Ньюсхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма. Под ред. Э.Г.Ларского. - М.: Мир, 12.

9. Мишнев О.Д., Щеголев А.И. Структурно-метаболическая характеристика ацинуса печени // Арх. патологии, гистологии и эмбриологии. 2014.

10. Парк Д.В. Биохимия чужеродных соединений. - М.: Медицина, 2012.

11. Чекман И.С., Гриневич А.И. Конъюгация ксенобиотиков // Фармакологи и токсикология, 2012.

12. Щербаков В.М., Тихонов А.В. Изоформы цитохрома Р-450 печени человека // М.: АО “Биохимические технологии”, 2013.

13. Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L, editor. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 2012. p. 55–65.

14. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3 rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 2012. p. 617–721.

15. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Fйrard G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 5: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2014; 40: 718– 724.

16. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2013; p. 14–15.

17.1 Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L, editor. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 2012. p. 55-65.

18. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 2012. p. 617-721.

19. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Fйrard G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 5: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2013; 40: 725- 733.

20. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2012; p. 18-9

Предложение 1

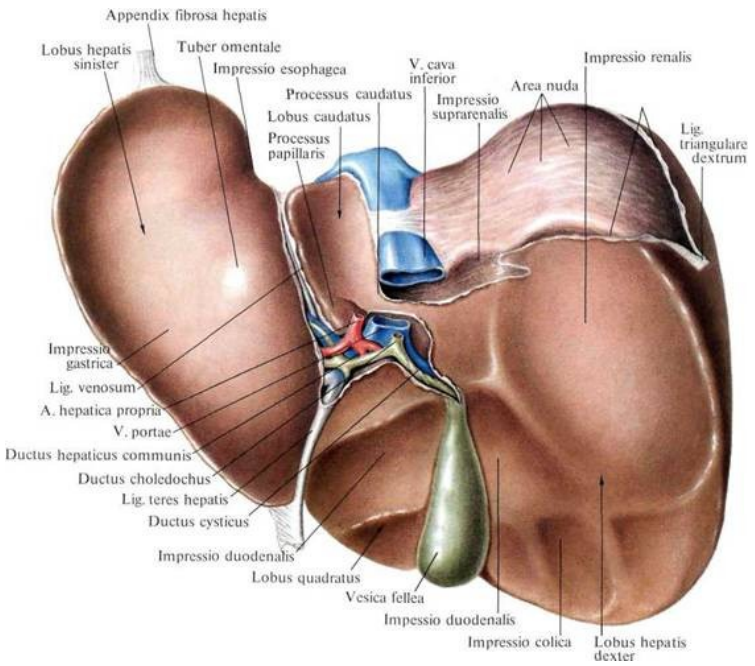


Рис. 1.1 Строение печень

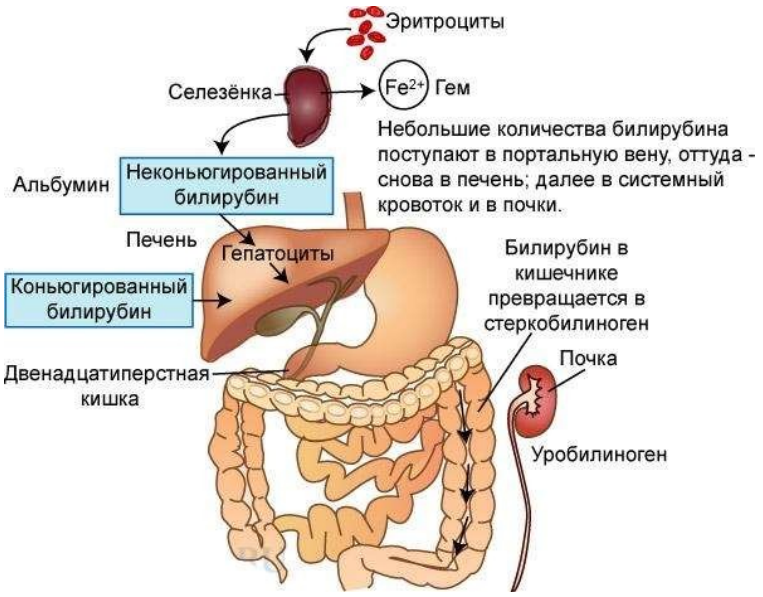


Рис. 1.2 Образование и выведение билирубина

Приложение 2

Возрастная группа	Общая, МЕ/л
новорожденные	35-106
1 мес	71-213
3 года	71-142
10 лет	106-213
До 31 года	39-92
Старше 31 года	39-117

Таблица 1.1 Референтные величины активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови

№	АЛТ (до 45 ед/л)	АСТ (до 50 ед/л)	ЩФ (30-120 ед/л)
1	42	23	62
2	35	18	48
3	28	42	82
4	9	21	37
5	41	31	52
6	153	59	129
7	42	25	32
8	123	67	127
9	25	35	62
10	176	63	124
11	32	12	42
12	50	22	110
13	34	43	83
14	21	12	56
15	45	31	72
16	23	41	45
17	15	38	35
18	10	28	51
19	43	32	110
20	37	16	115

Таблица 2.1 Результат исследования АЛТ, АСТ и ЩФ.

	Кат. №	Фасовка
TruCal U	5 9100 60 10 060	1*3 мл

TruLab N	5 9000 60 10 060	1*5 мл
TruLab P	5 9050 60 10 060	1*5мл

Таблица 2.2