

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования  
СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Н.В.КАНСКАЯ, Т.В.ЖАВОРОНОК, Н.В.РЯЗАНЦЕВА, Г.И.ЦЫРОВ,  
Т.Н.БОДРОВА, Ф.Ф.ТЕТЕНЕВ, В.Ю.СЕРЕБРОВ, Г.Э.ЧЕРНОГОРЮК,  
А.Н.БАЙКОВ

**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**  
**ОСНОВНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ**  
**В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ**

(Клинико-лабораторные  
показатели крови и мочи в норме и патологии)

"Рекомендуется учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся по специальностям 040800 – Медицинская биохимия, 040900 – Медицинская биофизика, 041000 – Медицинская кибернетика"

УДК 616.12-07 (035)

ББК 52.81

В 32

Н.В.Канская, Т.В.Жаворонок, Н.В.Рязанцева, Г.И.Цыров, Т.Н.Бодрова, Ф.Ф.Тетенев, В.Ю.Серебров, Г.Э.Черногорюк, А.Н.Байков. Интерпретация результатов основных лабораторных методов исследования в клинической практике / Учебное пособие по клинической биохимии для студентов медицинских вузов. – Томск, 2004. – 143с.

В учебное пособие включены используемые в клинической практике методы лабораторных исследований с указанием границ нормы, дана краткая интерпретация изменений приведенных показателей крови и мочи при различных патологических процессах.

Учебное пособие предназначено для студентов медицинских специальностей, а также может быть использовано при обучении аспирантов, интернов медицинских вузов. Учебное пособие исправлено и дополнено в 2010 году.

*Рецензенты:*

Директор Института Биохимии СО РАМН, Член президиума СО РАМН, академик РАМН Л.Е. Панин

Главный ученый секретарь Президиума СО РАМН, академик РАМН Г.С. Якобсон

*Утверждено и рекомендовано к печати:*

учебно-методической комиссией медико-биологического факультета (протокол N 4 от 13 апреля 2004 г.),

центральным методическим советом СибГМУ

(протокол N 7 от 14 мая 2004 г.). Учебное пособие исправлено и дополнено в 2010 году.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ.....	5
ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ.....	7
Клинический анализ крови.....	7
Исследование эритроцитарного роста.....	8
Диагностика анемии и эритремии.....	18
Исследование тромбоцитов.....	25
Исследование лейкоцитов.....	26
Лейкоцитозы и лейкопении.....	31
Лейкемоидные реакции.....	39
ИССЛЕДОВАНИЕ МОЧИ.....	43
Общеклинический анализ мочи.....	44
Химический состав мочи.....	51
ОСНОВНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И МОЧИ, ИХ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ.....	66
СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ.....	111
АВТОМАТИЗАЦИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ХИМИИ.....	111
Уровни автоматизации.....	112
Классификация биохимических автоанализаторов.....	113
Анализаторы «жидкой химии».....	113
Анализаторы «сухой химии».....	117
ЛАЗЕРНАЯ НЕФЕЛОМЕТРИЯ.....	119
Варианты турбидиметрического анализа.....	121
ФЛЮОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД.....	121
ИММУНОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКЕ.....	125
Иммуноферментный метод исследования.....	126
Радиоиммунологический анализ.....	128
БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ДНК- И ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОЙ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ.....	132
ЕДИНИЦЫ СИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ.....	141
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	143

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АКТГ	– адренкортикотропный гормон
АлАТ	– аланинаминотрансфераза
АсАТ	– аспаратаминотрансфераза
ВМК	– ванилилминдальная кислота
ГГТ	– гаммаглутамилтрансфераза
ГЛП	– гиперлипопротеинемия
ДЛП	– дислипопротеинемия
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
КНТ	– коэффициент насыщения железа трансферрином
КТ	– кетоновые тела
КТК	– клиренс-тест креатинина
КК	– креатинфосфокиназа
ЛАП	– лейцинаминопептидаза
$\alpha$ -ЛП	– $\alpha$ -липопротеины (ЛПВП)
$\beta$ -ЛП	– $\beta$ -липопротеины (ЛПНП)
ЛПВП	– липопротеины высокой плотности
ЛПНП	– липопротеины низкой плотности
ЛПОНП	– липопротеины очень низкой плотности
МДА	– малоновый диальдегид
НЖСС	– ненасыщенная железосвязывающая способность сыворотки
ОЖСС	– общая железосвязывающая способность сыворотки
11-ОКС	– 11-оксикортикостероиды
17-ОКС	– 17-оксикортикостероиды
РЭС	– ретикулоэндотелиальная система
СКВ	– системная красная волчанка
СОЭ	– скорость оседания эритроцитов
СРП	– С-реактивный протеин
ТАГ	– триацилглицерины
ТБК	– тиобарбитуровая кислота
ФАЛ	– фагоцитарная активность лейкоцитов
ФПК	– фенилпировиноградная кислота
ХМ	– хиломикроны
ХС	– холестерин
$\alpha$ -ХС	– холестерин липопротеинов высокой плотности
$\beta$ -ХС	– холестерин липопротеинов низкой плотности
пре- $\beta$ -ХС	– холестерин липопротеинов очень низкой плотности
ХЭ	– холинэстераза
ЦИК	– циркулирующие иммунные комплексы
ЩФ	– щелочная фосфатаза

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Данное издание представляет собой информационное и учебно-практическое пособие, предназначенное для студентов медицинских институтов и может представлять интерес для широкого круга специалистов в области клинической лабораторной диагностики: врачей-лаборантов, лаборантов с высшим образованием, фельдшеров-лаборантов, а также врачей-клиницистов, научных работников, курсантов институтов усовершенствования врачей, студентов учебных заведений медико-биологического профиля.

В книге отражена современная методология выполнения клинико-биохимических исследований, описаны современные методы лабораторной диагностики, дана трактовка основных лабораторных показателей, полученных с использованием указанных выше биохимических технологий.

Рекомендуемое читателю учебно-методическое пособие способствует ускоренному внедрению в клинико-лабораторную практику передовых технологий выполнения биохимических, гематологических, иммунологических, генетических и других исследований. В нем изложена стройная система представлений о методологии выполнения клинико-лабораторного анализа, принципах практической реализации полученных при обследовании пациента лабораторных данных и правильной трактовки результатов проводимого лечения, а также оценки эффективности проводимых мероприятий по первичной и вторичной профилактике заболеваний.

В настоящем издании обозначена размерность показателей лабораторных тестов, даются сведения о нормативах лабораторных показателей, возможных отклонениях от нормы и их причинах. Указываются патохимические механизмы изменений лабораторных показателей, что помогает проводить дифференциальную диагностику заболеваний.

Большое внимание уделяется оптическим методам количественного анализа – абсорбционной фотометрии, флюориметрии, а также иммуноферментному, иммунофлюоресцентному, радиоиммунологическому анализу, ионометрическому определению содержания электролитов плазмы, анализу, основанному на использовании методов «сухой» химии, полимеразной цепной реакции, фракционированию компонентов биологических жидкостей и тканей методом электрофореза и хроматографии. В пособие включены методы, в которых используются широко применяемые способы оценки результатов фотометрического исследования: по конечной точке, методом постоянного (фиксированного) времени, по калибровочной кривой.

Особое место отведено используемым в настоящее время технологиям автоматизированных клинико-биохимических исследований – биохимическим полуавтоматическим и автоанализаторам, а также устройствам для выполнения в автоматическом режиме иммуноферментных и гематологических исследований.

В книге представлены рекомендуемые к применению способы исследования белково-азотистого, углеводного, липидного, пигментного, водно-минерального обмена, активности ферментов сыворотки крови и эритроцитов, выполняемые с помощью современных диагностических методов.

В книге отражены достижения клинико-лабораторной практики последних лет, на основании которых оцениваются конкретные аспекты метаболизма, изменения биохимических показателей в организме человека в условиях нормы и патологии. Интерпретация получаемых при использовании биохимических методов результатов исследований касается сдвигов, определяемых у больных как терапевтического, так и хирургического профиля.

В пособии уделено внимание анализу различных методологий и технологий клинико-лабораторного исследования, а также характеристике лабораторно-диагностических тест-систем широко известных отечественных и иностранных фирм-производителей. Это позволяет специалистам клинической лабораторной диагностики творчески подходить к выбору необходимых методик исследования, отдавая предпочтение тем из них, которые в наибольшей мере соответствуют имеющимся в лаборатории измерительным приборам и анализаторам, и в конечном итоге максимально служат интересам больного. Таким образом, в настоящем издании достаточно глубоко и полно отображены современные перспективные методы клинико-лабораторного исследования, соответствующие требованиям доказательной медицины.

В книге нашел отражение накопленный за многие годы преподавательской работы на кафедре биохимии и молекулярной биологии с курсом усовершенствования подготовки врачей-лаборантов, а также кафедрах фундаментальных основ клинической медицины и пропедевтики внутренних болезней, опыт авторов, связанный с трактовкой результатов лабораторных исследований при различных патологических процессах.

Все изложенное позволяет надеяться, что пособие окажется весьма полезным не только при обучении студентов медицинского профиля, но и в практической деятельности врачей многих клинических и параклинических специальностей и, прежде всего, в области клинической лабораторной диагностики.

## ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ

**Кровь** (Haema)– это сложная, многокомпонентная жидкая ткань организма, осуществляющая транспорт химических веществ к органам и тканям. Кровь выполняет различные функции, в том числе защитную, регуляторную, трофическую, терморегулирующую и другие. Объем крови в норме составляет 3,9-5,9 л. Удельная масса крови в среднем - 1,06; осмотическое давление – 8,1 атм; вязкость в 5-6 раз выше вязкости воды.

Кровь состоит из плазмы и взвешенных в ней форменных элементов. На долю плазмы приходится 55% от всего объема крови, на долю форменных элементов красной крови – 44%, на долю других клеток – 1%. Плазма, лишенная компонентов свертывающей системы крови, называется сывороткой.

В крови человека постоянно находится ряд углеводов, регулирующих жизнедеятельность организма, важнейшим из которых является глюкоза. Кровь содержит спектр разнообразных белковых молекул, выполняющих транспортную, гормональную, каталитическую, защитную и другие функции. Открыто и описано более 100 различных белковых компонентов крови. Содержание общего белка в сыворотке крови варьирует в пределах 64-90 г/л и несколько снижается с возрастом. Липидный компонент крови представлен в основном различными липопротеинами, холестерином и триглицеридами, общее количество липидов – 4-8 г/л. Кроме трех основных классов веществ кровь содержит витамины, пигменты, нуклеиновые кислоты, небелковые азотистые соединения, микро- и макроэлементы, электролиты и другие вещества.

Состав крови и функциональный статус форменных элементов крови являются чувствительными индикаторами состояния организма в целом и обычно меняются с возникновением патологического процесса. Общий анализ крови и исследование отдельных ее компонентов широко используются при диагностике и мониторинге генерализованных процессов различной этиологии, поражении органов и систем, патологии отдельных типов клеток, наследственных или приобретенных дефектах разных видов молекул.

### **Клинический анализ крови.**

*Для изучения используют цельную кровь, плазму, сыворотку или клетки крови.* Выбор материала зависит от целей исследования и определяемого показателя. Капиллярную кровь отбирают путем прокола мякоти концевой фаланги IV пальца индивидуальным (разовым) стерильным копьём. При взятии крови из артериального или венозного катетера предварительно удаляют остатки лекарственного раствора из системы путем отсасывания шприцом небольшого количества крови, затем отбирают кровь вторым шприцом. Венозную кровь берут утром натощак путем пункции локтевой вены сухой короткой иглой с широким просветом непосредственно в пробирку по стенке. При необходимости исследовать плазму крови или показатели метаболизма

клеток крови используют различные антикоагулянты. Сыворотку крови получают без антикоагулянтов.

**Клинический (общий) анализ крови включает в себя определение количества гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов, подсчет лейкоцитарной формулы, определение скорости оседания эритроцитов.** Не рекомендуется брать кровь для анализа после физической и умственной нагрузок, после приема медикаментов, особенно при их внутримышечном и внутривенном введении, после воздействия рентгеновских лучей и физиотерапевтических процедур. Для общего анализа используют капиллярную кровь.

## Исследование эритроцитарного роста

**Эритроциты (RBC)** - безъядерные форменные элементы крови, содержащие гемоглобин, представляющие собой двояковогнутые диски в диаметре 7-8 мкм (нормоциты). Продолжительность их жизни составляет 110-120 суток. **Определение количества эритроцитов** осуществляется в счетной камере Горяева либо фотометрическим методом. **В норме количество эритроцитов в крови** зависит от пола и возраста, составляя в среднем у **взрослых: мужчин -  $(4,0-5,1) \times 10^{12}/л$ ; женщин -  $(3,7-4,7) \times 10^{12}/л$ .**

**Снижение количества эритроцитов (эритропения)** характерно для:

- анемий (железодефицитной, гемолитической, гипопластической, В<sub>12</sub>-дефицитной); при гемолитических или пернициозных анемиях рекомендуется считать эритроциты тотчас же после взятия крови, так как при длительном хранении они могут частично разрушиться;
- острой кровопотери;
- поздних сроков беременности;
- хронических воспалительных процессов;
- гипергидратации.

**Увеличение количества эритроцитов (эритроцитоз, полицитемии)** наблюдается при:

- абсолютном первичном эритроцитозе;
- реактивных эритроцитозах, вызванных гипоксией (вентиляционная недостаточность при бронхолегочной патологии, врожденные и приобретенные пороки сердца, пребывание на значительных высотах);
- вторичных эритроцитозах, вызванных повышенной продукцией эритропоэтинов (гидронефроз и поликистоз почек, новообразования почек и печени, семейный доброкачественный эритроцитоз);
- эритроцитозах, связанных с избытком стероидов в организме (болезнь и синдром Кушинга, феохромоцитома, гиперальдостеронизм, лечение стероидами);
- относительных эритроцитозах при дегидратации (профузные поносы, рвота, диабет, чрезмерное потоотделение);
- острых отравлениях;
- ацидозе.



Состояние, при котором имеется явное различие в размерах отдельных эритроцитов, называется **анизоцитозом** и встречается почти при всех видах анемий как самый ранний признак. Эритроциты с диаметром меньше 6,5 мкм называются микроцитами, более 8 мкм – макроцитами, более 12 мкм – мегацитами. Для определения диаметра эритроцита используется окулярномикрометрия с измерением двух его диаметров.

При выраженных анемиях встречается **пойкилоцитоз** – изменение формы эритроцитов. При этом в мазке крови выявляются эритроциты каплевидной, овальной, серповидной и других форм или определяются фрагменты отдельных эритроцитов (шизоцитоз). **Анизохромия** – изменение в окраске эритроцитов (менее интенсивная у гипохромных, более интенсивная у гиперхромных эритроцитов) – является неблагоприятным признаком острой или обострения течения хронической анемии.

**Ретикулоциты** - молодые формы эритроцитов, содержащие зернистые сетевидные включения, выявляемые с помощью специальных прижизненных методов окраски. **В норме содержание ретикулоцитов в крови составляет 0,5-1,2% или (30-70)  $\times 10^9$ /л.**

**Ретикулоцитоз - рост количества ретикулоцитов**, наблюдается при:

- стимуляции эритропоэза (кровопотеря, гемолиз, ретикулоцитарный криз при успешном лечении  $V_{12}$ -дефицитной анемии, острый недостаток кислорода);
- анемиях; полицитемии;
- малярии.

**Снижение количества ретикулоцитов или их отсутствие является плохим прогностическим признаком при анемиях, указывая на утраченную регенеративную способность костного мозга в отношении эритроцитов**, наблюдается при:

- апластической и гипопластической анемиях;
- нелеченной  $V_{12}$ -дефицитной анемии;
- метастазах рака в кости.

**Скорость оседания эритроцитов (СОЭ)** - одно из важных и наиболее распространенных лабораторных исследований крови. **В норме СОЭ у взрослых: мужчин - 1-10 мм/час, женщин - 2-15 мм/час**, увеличивается с возрастом.

При клинической оценке СОЭ необходимо принимать во внимание значительную стабильность данного показателя. Так, например, при остром воспалительном процессе СОЭ ускоряется медленно (на 2-4 сутки заболевания), а по его разрешении также медленно (в течение месяца и более) возвращается к норме.

**Ускоренная СОЭ** отмечается при:

- острых и хронических инфекционных заболеваниях;
- воспалении и некрозе тканей;
- заболеваниях соединительной ткани;

- злокачественных опухолях;
- болезнях почек, сопровождающихся протеинурией;
- шоке, травмах, операционных вмешательствах;
- интоксикациях, отравлениях химическими соединениями;
- злокачественных новообразованиях;
- гипертиреозе, гипотиреозе;
- парапротеинемиях (миелома, макроглобулинемия, атипичные лейкозы);
- заболеваниях печени;
- анемиях (кроме микросфероцитарной и дрепаноцитной);
- беременности, послеродовом периоде, менструации;
- в результате действия лекарственных препаратов (морфин, метилдофа, витамин А, пероральные контрацептивы).

**Замедление СОЭ** с приближением к нижней границе нормы бывает при:

- хронической недостаточности кровообращения;
- эритроцитозах;
- анафилактическом шоке.

**Гемоглобин (Hb).** Гемоглобин относится к группе хромопротеинов, состоит из ферросоединения протопорфирина IX (так называемого "гема") и белкового компонента (так называемого "глобина"). В состав гема входят атомы двухвалентного железа. Главной ролью гемоглобина является перенос кислорода из легких в органы и ткани организма, что обеспечивает нормальное течение метаболических процессов.

Определение количества гемоглобина (с помощью гемометра Сали) является важным методом лабораторного исследования. **В норме содержание гемоглобина** в крови варьирует в зависимости от возраста и пола, составляя в среднем у **взрослых: мужчин - 130-160 г/л, женщин - 120-140 г/л.** Соотношение количества эритроцитов и гемоглобина является важнейшим лабораторным показателем для оценки анемических состояний.

**Повышенное содержание общего гемоглобина** встречается при:

- первичном и вторичных эритроцитозах (см. выше);
- относительном эритроцитозе при дегидратации (см. выше);
- эмпиеме плевры.

**Уменьшение содержания общего гемоглобина в крови** обусловлено:

- анемией (железодефицитная, гемолитическая, гипопластическая, В<sub>12</sub>-дефицитная);
- острой кровопотерей (в первые сутки кровопотери из-за сгущения крови, обусловленного большой потерей жидкости, концентрация гемоглобина может быть несколько повышена);
- скрытыми кровотечениями;
- заболеваниями, сопровождающимися выраженной эндогенной интоксикацией (злокачественные опухоли и их метастазы);
- поражениями костного мозга, почек и некоторых других органов;

- гемодилюцией (ложная анемия).

Известно несколько разновидностей гемоглобина, которые присутствуют в небольших количествах в крови здорового человека.

**Карбоксигемоглобин** представляет собой стойкое соединение гема и оксида углерода. *В норме* его количество составляет 0,5-10% общего гемоглобина. *Повышение содержания в крови встречается при:*

- гемолизе эритроцитов;
- переизбытке CO<sub>2</sub> в атмосфере.

**Метгемоглобин** содержит окисленную трехвалентную форму железа гема. *В норме* его количество составляет 0,4-1,5% общего гемоглобина. *Содержание в крови повышается при:*

- повышении в окружающей среде концентрации метгемоглобинообразователей;
- кишечных интоксикациях;
- синдроме длительного раздавливания.

**Гликозилированный гемоглобин (A1C)** представляет собой соединение гемоглобина с глюкозой. Концентрация его в крови *повышается* при:

- сахарном диабете.

Гемоглобин – основной белок эритроцитов, придающий им характерную окраску. Содержание его варьирует в разных видах эритроцитов. *Нормохромные* эритроциты содержат до 95% гемоглобина. *Гиперхромия* – усиление окраски – чаще отмечается у микросфероцитов или мегалоцитов, которые типичны для В<sub>12</sub>- и фолиево-дефицитных анемий. При этом могут встречаться и полихроматофильные эритроциты, являющиеся молодыми формами этих клеток (аналогичны ретикулоцитам). Их появление в крови свидетельствует об усиленном компенсаторном эритропоэзе. *Гипохромия* – снижение окраски – признак снижения количества гемоглобина в эритроците. Гипохромные эритроциты (анулоциты) напоминают кольца с хорошо выраженным центральным просветом, типичны для железодефицитных анемий.

**Цветной показатель** является показателем степени насыщения эритроцитов гемоглобином и отражает соотношение между количеством эритроцитов и гемоглобина в крови. Его рассчитывают по формуле, исходя из соотношения: количество гемоглобина, содержащегося в крови, так относится к его содержанию в норме, как число эритроцитов, содержащихся в крови, относится к числу эритроцитов, содержащихся в норме:

$$\text{ЦП} = \frac{\text{выявленный уровень Hb}}{\text{уровень Hb в норме}} \cdot \frac{\text{выявленное количество Эр}}{\text{количество Эр в норме}}$$

*В норме цветной показатель равен 0,85-1,05 (0,80-1,15).*

В зависимости от цветного показателя анемии делятся на:

- *гипохромные* - цветной показатель < 0,85;
- *нормохромные* - цветной показатель = 0,85-1,15;
- *гиперхромные* - цветной показатель > 1,15.

**Повышение** цветного показателя отмечается при:

- В<sub>12</sub>-, фолиево-дефицитных анемиях;
- гиперхромных анемиях.

**Снижение** цветного показателя отмечается при:

- хронических железо-дефицитных анемиях;
- гипохромных анемиях.

**Гематокрит (Ht)**– относительная величина, которая указывает на соотношение объемов эритроцитов и плазмы. Это индекс сравнения объемов эритроцитов и цельной крови. Показатель гематокрита обозначают – Ht.

**В норме гематокрит** составляет у мужчин – 0,407-0,503; у женщин – 0,361-0,443. Изменение гематокрита зависит от количества эритроцитов в объемном кровотоке.

**Повышение** гематокрита отмечается при:

- макроцитарных анемиях;
- эритроцитозах (полицитемии, врожденных пороках сердца);
- гипоксии различного генеза;
- эндогенной интоксикации, сопровождающейся диареей и рвотой;
- острой кишечной непроходимости; перитоните (в начальных стадиях болезни);
- шоке;
- гипертермии;
- беременности.

**Снижение** показателя имеет место при:

- тиреотоксикозе;
- сердечной и почечной недостаточности;
- массивных травматических повреждениях;
- хронических инфекциях;
- сепсисе;
- острой и хронической кровопотере;
- длительном голодании;
- опухолях внутренних органов;
- в пожилом и старческом возрасте.

**Таблица 1. Показатели крови при разных степенях кровопотери**

Степень кровопотери	Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %	Дефицит ОЦК, %
Легкая	До 3,0	До 100	До 35	До 20
Средняя	До 2,5	До 80	До 25	До 30
Тяжелая	До 2,0	До 50	До 20	До 40
Крайне тяжелая	Менее 2,0	Менее 50	Менее 20	Более 40

В первые часы острой кровопотери степень анемии, из-за большой потери жидкости, не является показателем количества потерянной крови. В связи с этим степень кровопотери (Д) клинически можно определить по формуле Burri (в %):

$$Д = К + \lg \text{ШИ},$$

где: К - коэффициент (при кровотечениях из желудочно-кишечного тракта К=27, при полостных кровотечениях К=33, при ранениях конечностей К=24, грудной клетки К=22); ШИ - «шоковый индекс» - отношение частоты пульса (Ps) к высоте систолического артериального давления (АД) в мм рт.ст.:

$$\text{ШИ} = \text{Ps} / \text{АД}$$

В особых случаях кроме основных показателей крови исследуется течение биохимических процессов в эритроцитах: определяется содержание различных метаболитов, активность ферментов.

**Таблица 2. Анализ биохимических процессов в эритроцитах**

Название анализа	Норма	Некоторые типичные отклонения при заболеваниях.
Нуклеотиды: суммарно, АТФ, АДФ, АМФ	2-6 ммоль/л, 0,6-1,4 ммоль/л, 0,25-0,8 ммоль/л, 2,8-5,4 мкмоль/л	<u>Увеличение</u> – при повторном донорстве. <u>Уменьшение</u> – при анемиях, отравлении свинцом. Оптимальное соотношение АТФ/АДФ - 2,0.
Ацетилхолинэстераза (КФ 3.1.1.7)	33-40 Е/г <sup>Нв</sup> ; 960-1200 Е/10 <sup>12</sup> эритроцитов	<u>Уменьшение</u> активности фермента – отравление фосфоорганическими ядами, пароксизмальная гемоглобинурия, мегалобластическая анемия, хроническая почечная недостаточность.
Гексокиназа (КФ 2.7.1.1.)	1,0-1,5 Е/г <sup>Нв</sup> ; 32-42 Е/10 <sup>12</sup> эритроцитов	<u>Уменьшение</u> активности фермента в эритроцитах – врожденная несфероцитарная гемолитическая анемия. Появление гексокиназы в сыворотке крови (у здоровых людей отсутствует) возможно при гепатитах, опухолях – доброкачественных и злокачественных.
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (КФ 1.1.1.49)	6-10 Е/г <sup>Нв</sup> ; 0,44-0,64 МЕ/моль Нв 200-290 Е/10 <sup>12</sup> эритроцитов	<u>Уменьшение</u> активности фермента – гемолитическая анемия, прием сульфаниламидных препаратов, больших доз аскорбиновой кислоты, противомаларийных, противотуберкулезных препаратов. <u>Возрастает</u> активность фермента при тиреотоксикозе, введении тиреоидных гормонов. Рост активности в сыворотке крови наблюдается после инфаркта

		миокарда (пик активности выражен в более поздние сроки, чем для АсАТ и ЛДГ), инфаркта легкого.
Глюкозо-фосфат-изомеразы (КФ 5.3.1.9)	48-72 Е/г <sup>Hb</sup> ; 1450-2060 Е/10 <sup>12</sup> эритроцитов	<u>Уменьшение</u> активности фермента – врожденная несфероцитарная гемолитическая анемия. У гетерозигот с незначительным снижением активности фермента (40-60% от нормы) клинических проявлений не наблюдается. У гомозигот с активностью фермента до 10% в детском возрасте развивается тяжелая гемолитическая анемия.
Глутатион	2-3 ммоль/л	Глутатион восстановленный составляет 95-97% от общего уровня глутатиона. <u>Уменьшается</u> содержание глутатиона при инфекциях, стрессе, анемиях, гипоксии.
Глутатионпероксидаза (КФ 1.11.1.9)	25-35 Е/г <sup>Hb</sup> ; 750-1020 Е/10 <sup>12</sup> эритроцитов	<u>Увеличение</u> активности фермента отмечается при дефиците глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, $\alpha$ -талассемии, активации свободнорадикальных процессов (в стадии компенсации) люмбоишиалгии, дискогенном радикулите. <u>Уменьшение</u> активности фермента – железодефицитная анемия, алиментарная недостаточность селена, высокие концентрации окиси азота во вдыхаемом воздухе.
Глутатионредуктаза (КФ 1.11.1.12)	56-62 ммоль глут SH/ мл эритроцитов	<u>Повышение</u> активности фермента – недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. <u>Снижение</u> активности фермента (до 25% от нормы) – дефицит витамина рибофлавина. Повышение активности в сыворотке крови – гепатит, подпеченочная желтуха (механическая), мегалобластная и серповидноклеточная анемия. Комплексная активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы отражает не только антиоксидантный статус эритроцитов, но и общую неспецифическую антиокислительную резистентность организма.
Каталаза (КФ 1.11.1.6)	18,4-25,0 мкЕД/ эритроцит  22,0-23,2 мКАТ/л сыворотки	Эритроциты содержат максимальное количество каталазы. <u>Повышение</u> активности – $\beta$ -талассемия, некоторые опухоли, усиление процессов перекисного окисления (в стадии компенсации) – гипоксии, реперфузия, интоксикации, воспаление. <u>Снижение</u> активности фермента – проявления наследственной акаталаземии, железодефицитные анемии, усиление процессов перекисного окисления (в стадии декомпенсации). Один из основных показателей антиоксидантной защиты организма.

Пируваткиназа (КФ 2.7.1.40)	13-17 Е/г <sup>Нв</sup> ; 380-500 Е/10 <sup>12</sup> эритроцитов	<u>Уменьшение</u> активности фермента – острый лейкоз, анемии, особенно несфероцитарная гемолитическая анемия, цитопения, лимфосаркома, пароксизмальная ночная гемоглобинурия. При гемолитической анемии меняется электрофоретическая подвижность эритроцитарного изофермента.
Фосфоглицераткиназа (КФ 2.7.2.3)	290-360 Е/г <sup>Нв</sup> ; 8240-10300 Е/10 <sup>12</sup> эритроцитов	<u>Уменьшение</u> активности фермента – при неврологических нарушениях.
Фосфофруктокиназа (КФ 2.7.1.11)	7-11 Е/г <sup>Нв</sup> ; 210-320 Е/10 <sup>12</sup> эритроцитов	<u>Уменьшение</u> активности фермента – несфероцитарная гемолитическая анемия, мышечная дистрофия.
Пентозы эритроцитов	0,97-1,0 ммоль/л	<u>Увеличение</u> – бронхиальная астма, туберкулез легких, гепатит, нейродермит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, фибромиома матки. <u>Уменьшение</u> – сахарный диабет, остеоартроз.

Из **наследственных энзимопатий эритроцитов** в нашей стране чаще всего встречается недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Носительство дефицита глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы может быть выявлено с помощью экспресс-диагностики флюоресцентным методом.

В меньшей степени представлен дефицит пируваткиназы. Третье место среди врожденных эритроцитарных энзимопатий занимает недостаточность глюкозофосфатизомеразы.

Появление **автоматических анализаторов крови** позволило решить не только проблему автоматизации счета форменных элементов, повышения точности результатов, но и получить новые диагностические параметры, дающие дополнительную информацию. Анализаторы ни в коей мере не заменяют квалифицированного врача-лаборанта, но позволяют уже на первом «скрининговом» этапе получить достаточно обширные данные о состоянии периферической крови и, следовательно, всего организма.

**Возможность работы анализатора в круглосуточном режиме особенно удобна в дежурных экспресс-лабораториях и лабораториях реанимационных отделений больниц.** В качестве примера приведены возможности одного из таких анализаторов.

**Гематологический анализатор ADVIA 60 (Байер США) - это автомат, позволяющий определить следующие параметры крови:**

WBC: количество лейкоцитов,

RBC: количество эритроцитов,

HGB: гемоглобин,  
 HCT: гематокрит,  
 PLT: количество тромбоцитов,  
 PCT: тромбокрит (объем тромбоцитов в литре крови),  
 MCV: средний объем эритроцитов,  
 MCH: абсолютное содержание гемоглобина в одном эритроците,  
 MCHC: средняя концентрация гемоглобина в эритроците,  
 RDW: степень анизоцитоза эритроцитов по объему,  
 MPV: средний объем тромбоцитов,  
 LYM%: процент лимфоцитов,  
 LYM#: число лимфоцитов,  
 MON%: процент моноцитов,  
 MON#: число моноцитов,  
 GRA%: процент гранулоцитов (палочки, сегменты, эозинофилы, базофилы),  
 GRA#: число гранулоцитов.

Подсчет эритроцитов в счетной камере в опытных руках достаточно точен, но весьма трудоемок. Более удобным, дающим значительную экономию времени является фотометрический способ. Он удобен для серийной работы, однако недостатком его является зависимость результата не только от количества эритроцитов, но и от их размера, а также от концентрации гемоглобина. В связи с этим, в случае существенных отклонений данных показателей от нормы, при использовании фотометрического метода возникает значительная ошибка (+30-40%). Подсчет эритроцитов на анализаторе лишен этих недостатков при ошибке +1-2%.

*Эритроцитарные индексы, такие как MCV, MCH, MCHC, предложенные в 1929 году М. Wintrobe, до сегодняшнего дня не утратили своего диагностического значения, так как они характеризуют сами клетки, а не их количество:*

- **MCV** (mean corpuscular volume) – *показатель, характеризующий размер эритроцита*, измеряется по амплитуде импульсов, возникающих при прохождении клетки через апертуру. Измерение MCV проводится одновременно с подсчетом эритроцитов, осуществляемым со скоростью в несколько тысяч эритроцитов в секунду. Средний объем эритроцита определяется по уровню показателя гематокрита и содержания эритроцитов (Эр) по формуле:

$$MCV = (\text{гематокрит} \times \text{Эр}) : 1000$$

Значения показателя выражаются в кубических микрометрах. **Нормальные величины MCV:** 80-95 мкм<sup>3</sup>. Объем эритроцита менее 80 мкм<sup>3</sup> свидетельствует о микроцитозе, более 96 мкм<sup>3</sup> – о макроцитозе. Этот показатель является более чувствительным, чем визуальная оценка диаметра эритроцитов, зависящего от формы клетки. Так, микросфероцит имеет диаметр меньше нормы, в то время как средний объем его чаще остается в пределах нормы. Следовательно, независимой характеристикой эритроцита может быть только его объем, а для по-



пуляции клеток - MCV. В то же время при выраженном анизоцитозе эритроцитов, когда в крови присутствуют микро- и макроциты, MCV, являясь средним показателем объема всей популяции клеток, имеет значения в пределах нормы. Поэтому данный показатель *должен учитываться в комплексе с RDW и эритроцитарной гистограммой.*

- **MCH** (mean corpuscular hemoglobin) – показатель, который *отражает абсолютное содержание гемоглобина в одном эритроците в пикограммах.* Этот индекс, объективно и точно отражающий среднее содержание гемоглобина в 1 эритроците рассчитывается по формуле:

$$\text{MCH} = \text{Гемоглобин (г/л)} : \text{Эр (млн/мкл)}$$

**Нормальные величины** – 12-34 пг. Клиническое значение: *снижение* отражает гипохромию и наблюдается при железодефицитных анемиях, *повышение* имеет место при макроцитарных и особенно мегалоцитарных анемиях.

- **MCHC** (mean corpuscular hemoglobin concentration) - показатель, который *отражает степень насыщения эритроцита гемоглобином.* Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах рассчитывается по формуле:

$$\text{MCHC} = \text{Гемоглобин(г/л)} : \text{гематокрит}$$

MCHC рассчитывается в процентах или значениях концентрации гемоглобина и гематокрита (г/100 мл). **Нормальные величины:** 30-36%. Клиническое значение: *снижение* показателя отражает абсолютную гипохромию и является характерным для железодефицитных анемий. Чувствительность данного индекса эритроцитов при таких анемиях составляет 85%. Снижение показателя выявлено также при макроцитарных и особенно при мегалоцитарных анемиях, когда объем эритроцитов увеличен непропорционально более значительно по сравнению с увеличением насыщения эритроцитов гемоглобином.

- **RDW** - рассчитывается, как *коэффициент*

$$\text{MCV:RDW} = \text{SD/MCV} - 100\%,$$

Где: SD - стандартное среднеквадратическое отклонение объема эритроцитов от среднего значения (норма 11,5-14, 5).

Анизоцитоз характеризует колебания объема эритроцитов и улавливается прибором значительно быстрее, чем при визуальной оценке мазка крови. Оценка степени анизоцитоза под микроскопом сопровождается целым рядом ошибок. При высыхании эритроцитов в мазке их диаметр уменьшается на 10-20%; в толстых мазках он меньше, чем в тонких. Полностью избавиться от артефактов позволяет только автоматизированный подсчет с использованием кондуктометрического метода, где сохраняются стабильность клеток и воспроизводимость результатов.

**Для правильного толкования общего анализа крови, а именно красной крови, требуется комплексная оценка всех ее показателей, но не каждого в отдельности.**

Точность и высокая воспроизводимость измерений параметров красной крови, выполняемых на гематологических анализаторах и включающих:

- подсчет количества эритроцитов,
- определение концентрации гемоглобина,
- расчет эритроцитарных индексов (МСН, МСНС, MCV, RDW),

**позволяют проводить первичную дифференцировку анемических состояний** (железодефицитной, гемолитической, гипопластической анемий и анемии почечной этиологии).

Использование анализатора ADVIA 60 помимо выше перечисленных параметров позволяет получить данные о

- распределении клеток по объему.

### Диагностика анемии и эритремии.

**Анемия** - состояние, характеризующееся уменьшением содержания гемоглобина и (или) числа эритроцитов в единице объема крови.

По степени снижения **уровня гемоглобина** различают:

- анемии легкой степени (Hb – 90-110 г/л),
- анемии средней степени тяжести (Hb – 70-90 г/л),
- тяжелые анемии (Hb менее 70 г/л).

По **уровню цветного показателя** анемии подразделяют:

- нормохромные (ЦП в пределах нормальных величин),
- гиперхромные (ЦП более 1,1),
- гипохромные (ЦП менее 0,8).

Важным звеном в дифференциальной диагностике анемий является морфологическая характеристика, проводимая на основании количественных показателей красной крови и качественных особенностей эритроцитов в окрашенных мазках крови и костного мозга.

**Таблица 3. Морфологическая характеристика анемии**

Морфологический признак	Тип анемии
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, %	
30-36	Нормохромная
больше 36	Гиперхромная
меньше 30	Гипохромная
Средний объем эритроцитов, мкм	
80-94	Нормоцитарная
больше 94	Макроцитарная
меньше 80	Микроцитарная

При **макроцитарных анемиях** основные гематологические индексы эритроцитов составляют: MCV – больше 150 мкм<sup>3</sup>, МСН – до 50 пг, МСНС – норма или незначительное снижение.

При *микроцитарных анемиях* основные гематологические индексы эритроцитов составляют: MCV – меньше 50 мкм<sup>3</sup>, MCH – меньше 18 пг, MCHC – меньше 22 г/дл.

В клинической практике часто используют классификацию анемий, согласно которой анемии делятся в основном на две большие категории:

- *анемии, вызванные нарушением гемоглинообразования* или продукции эритроцитов,
- *анемии, обусловленные повышенной деструкцией эритроцитов (гемолитические).*

Отдельное место занимает анемия вследствие острой потери крови (*острая постгеморрагическая*).

**Таблица 4. Морфологические признаки основных видов анемий**

Тип анемии	Морфологические признаки				
	MCV	MCH	Диаметр эритроцитов	ЦП	
Железодефицитная	Менее 80 мкм <sup>3</sup>	Менее 27 пг	Менее 6,5 мкм	Менее 0,8	Гипохромная Микроцитарная
B <sub>12</sub> -, фолиево-дефицитная	Более 98 мкм <sup>3</sup>	Более 33 пг	Более 8 мкм	Более 1,1	Гиперхромная Макроцитарная
Гемолитическая	Менее 80 мкм <sup>3</sup> или норма				Нормохромная Нормоцитарная
Апластическая					Нормохромная Нормоцитарная
Острая постгеморрагическая					Нормохромная Нормоцитарная

**Гипохромную микроцитарную анемию, одним из представителей которой является желездефицитная анемия,** у больного позволяют заподозрить низкие цифры гемоглобина, сочетающиеся с нормальными показателями количества эритроцитов, при сниженных значениях MCV, MCH, MCHC.

В начальной стадии желездефицитной анемии эритроцитарная гистограмма имеет обычную форму и лишь смещается влево. Это сопровождается незначительным уменьшением MCV при нормальной RDW, что свидетельствует о преобладании однородных клеток с малым объемом.

По мере дальнейшего нарушения процессов гемоглинообразования происходит еще большее снижение MCH, MCHC, MCV, увеличивается RDW.

Эритроцитарная гистограмма имеет одиночный пик, значительно сдвинутый влево, а на тромбоцитарной гистограмме появляется второй пик в области 30-38 мкм, соответствующий микроэритроцитам. Снижение МСНС при железодефицитной анемии отражает абсолютную гипохромию. Чувствительность этого индекса эритроцитов для железодефицитной анемии составляет 85%.

При длительном течении железодефицитной анемии происходит дальнейшее снижение МСН, МСНС, в то время как MCV может увеличиваться, являясь усредненным показателем объема эритроцитов, а RDW резко повышается, что коррелирует с наличием смешанного анизоцитоза в мазках периферической крови. Эритроцитарная гистограмма характеризуется двумя пиками, отражающими присутствие двух популяций клеток - микро- и макроцитов.

На фоне лечения такой анемии препаратами железа происходит нормализация НЬ, МСН, МСНС, однако RDW остается увеличенным, а эритроцитарная гистограмма характеризуется широким основанием за счет разнородности эритроцитов по объему. Изменения гематологических показателей коррелируют со снижением сывороточного железа, насыщением трансферрина сыворотки, повышением общей железосвязывающей способности и сниженным сывороточным ферритином.

**Для выявления латентного дефицита железа (сидеропении) наиболее информативен ферритиновый тест.** Практическое значение определения сывороточного ферритина состоит в доступности метода и получении информации о содержании железа в организме. Установлено, что 1 мкг/л ферритина сыворотки соответствует в норме 8 мг депонированного железа. Кроме того, определить степень истощения резерва железа в костном мозге можно по числу сидеробластов и сидероцитов. О дефиците железа в организме свидетельствует повышение резорбции радиоактивного железа в кишечнике.

Для успеха лечения необходимо уточнение патогенеза железодефицитного состояния: источники кровопотери, нарушение всасывания.

Если уровень железа нормальный или даже повышен, необходимо исключить свинцовую интоксикацию или талассемию, а также сидеробластную анемию.

По увеличению количества порфиринов в эритроцитах можно судить о нарушении синтеза гема, которое наблюдается при нарушении синтеза порфиринов эритроцитов, в том числе при снижении активности фермента гемсинтетазы (феррогематазы), катализирующего включение железа в гем. Дефицит фермента возможен при отравлении тяжелыми металлами. Дополнительными тестами, используемыми для дифференциальной диагностики свинцовых отравлений будут: определение базофильной пунктуации эритроцитов, определение в моче повышенного содержания  $\delta$ -аминолевулиновой кислоты, профессиональные вредности.

Снижение МСН, МСНС, MCV, смещение эритроцитарной гистограммы в левую сторону, появление второго пика в области микроэритроцитов на тромбоцитарной гистограмме не являются признаками исключительно железодефицитной анемии. Подобные изменения гемограммы могут наблюдаться и

при других гипохромных анемиях, связанных с нарушением синтеза гемоглобина (например, при талассемии). Дифференциальная диагностика этих состояний требует проведения дополнительных исследований.

**Диагностика гемоглинопатий** основывается на гематологических и биохимических исследованиях в сочетании с семейно-генетическим анализом. В комплекс исследований входят определение количества ретикулоцитов и показателя гематокрита.

Для **дифференциальной диагностики с гемолитическими анемиями** необходимы: определение осмотической резистентности эритроцитов, исследование морфологии эритроцитов (при талассемии определяются мишеневидные эритроциты, базофильная пунктуация эритроцитов), выявление эритроцитарных включений при суправитальной окраске, электрофорез гемоглобина.

Необходимо обратить внимание на то, что при гемолитических анемиях показатель МСНС, указывающий на среднюю концентрацию гемоглобина в одном эритроците, остается в пределах нормы.

В диагностике гемолитических анемий большое значение имеют показатели обмена гемоглобина и желчных пигментов - повышение содержания непрямого билирубина.

При **рефрактерной сидеробластной анемии** в окрашенных мазках наблюдается выраженный смешанный анизоцитоз за счет присутствия микроцитов, макроцитов, мегалоцитов, овалоцитов, мишеневидных эритроцитов. Это отражается на гистограмме в виде двугорбости эритроцитарной гистограммы. Диагноз подтверждается исследованием пунктата костного мозга с цитохимической окраской на сидеробласты (кольцевые сидеробласты).

Помимо этих анемий, эритроцитарная гистограмма с двумя пиками эритроцитов между 50 и 140 fl, указывающими на присутствие гетерогенной популяции клеток, может наблюдаться после гемотрансфузии.

**Нормоцитарные анемии.** При нормохромных нормоцитарных анемиях отмечается снижение количества эритроцитов, концентрации гемоглобина при нормальных значениях МСН, МСНС, MCV. При этом эритроцитарная гистограмма располагается в зоне нормальных значений. Показатель RDW в зависимости от состояния эритропоэза может оставаться в пределах нормы или превышать ее.

Если RDW в пределах нормы, то можно думать об угнетении пролиферации клеток. Повышение RDW характерно для дефицитных анемий и гемолиза.

К нормоцитарным анемиям относятся следующие патологии:

- гемоглинопатии,
- наследственные гемолитические анемии,
- дефицитные анемии смешанного характера,
- анемии при заболевании почек,
- анемии при коллагенозах,
- анемии при остром миелолейкозе,
- анемии при приобретенных гипопластических состояниях,

- анемии после острых кровопотерь.

**Анемия серповидно клеточная.** Критерии диагноза: наличие серповидных эритроцитов в мазках периферической крови, исследование крови на Hb S, гипербилирубинемия. Осмотическая резистентность повышена.

**Анемия Минковского-Шоффара.** Критерии диагноза: кривая Прайс-Джонса и объемная гистограмма не совпадают, сдвиг кривой Прайс-Джонса влево при MCV в норме. Морфологическая характеристика эритроцитов - количество микросфероцитов больше 10%, овалциты, стоматоциты. При такой анемии понижена осмотическая резистентность эритроцитов, проба Кумбса – отрицательная.

**Анемии почечной патологии** - особенностью является то, что содержание железа в норме. ОЖСС снижена, терапия железом малоэффективна, так как причина анемии - падение синтеза эритропоэтинов. Подобные изменения могут наблюдаться при острых кровопотерях, на фоне химиотерапии.

**Макроцитарные и мегалобластные анемии.** Если MCV больше 90,6, но меньше 100, то такие анемии называют макроцитарными. Если MCV больше 100, то это мегалобластные анемии. Это наблюдается при:

- дефиците витамина B<sub>12</sub> и фолиевой кислоты,
- миелодиспластическом синдроме,
- врожденных апластических анемиях,
- анемии при заболеваниях печени.

Анализ крови больных с мегалобластными и аутоиммунными гемолитическими анемиями характеризуется резким снижением числа эритроцитов и концентрации гемоглобина при высоких значениях MCH и MCV. Эритроцитарная гистограмма растянута, смещена вправо в зону макроцитов, чему соответствует повышение RDW и MCV при низких показателях HCT, HGB, RBC.

При макроцитарных и особенно мегалоцитарных анемиях происходит снижение MCHC. Это свидетельствует о непропорционально более значительном увеличении объема эритроцитов по сравнению с увеличением насыщения эритроцитов гемоглобином.

Диагноз **B<sub>12</sub>-дефицитной анемии** подтверждается исследованием миелограммы и определением в сыворотке крови концентрации витамина B<sub>12</sub> или фолиевой кислоты. Имеет значение исследование периферической крови (макроцитоз, гиперхромная анемия, тельца Жоли, базофильная пунктация эритроцитов, гиперсегментация нейтрофилов).

Для подтверждения иммунного генеза **аутоиммунных гемолитических анемий**, в развитии которых патогенетическую роль играют циркулирующие иммунные комплексы, используются методы выявления таких комплексов. Наиболее информативным и перспективным является иммуноферментный анализ. Дополнительным исследованием, подтверждающим наличие иммунного конфликта при гемолитической анемии, является аутолимфоцитотоксический тест.

Таблица 5 Схема обследования больных анемией

Патогенетические группы, клиничко-морфологическая форма анемии	Исследования, используемые в дифференциальной диагностике	
	общие	дополнительные
<p><b>Анемии вследствие кровопотерь (постгеморрагические):</b></p> <p>острые</p> <p>хронические</p>	<p>Гемограмма, тромбоциты, ретикулоциты</p> <p>То же</p>	<p>Объем циркулирующей крови, гематокрит, вязкость крови</p> <p>Сывороточное железо, общая железосвязывающая способность (ОЖСС), трансферрин, ферритин</p>
<p><b>Анемии вследствие нарушенного кровообразования: дефицит гемопоэтических факторов:</b></p> <p>железодефицитная анемия</p> <p>железонасыщенные (сидероахристические анемии)</p> <p>В<sub>12</sub>-фолиеводефицитные анемии</p>	<p>То же</p> <p>То же</p> <p>То же</p>	<p>Сывороточное железо, ОЖСС, трансферрин, ферритин</p> <p>Протопорфирин, базофильная пунктация эритроцитов, сидеробласты, сидероциты</p> <p>Морфология эритроцитов, миелограмма, витамин В<sub>12</sub></p>
<p><b>Анемии вследствие органических поражений кроветворения:</b></p> <p>гипоапластические анемии</p> <p>метапластические анемии (при лейкозах, миелометастазах)</p>	<p>То же</p> <p>То же</p>	<p>Миелограмма</p> <p>Миелограмма, общий белок, белковые фракции, иммуноглобулины, кальций, фосфор.</p>
<p>Анемии вследствие повышенного кроворазрушения (гемолитические):</p> <p><b>анемии, обусловленные внеэритроцитарными факторами:</b></p> <p>токсические</p> <p>инфекционные</p> <p>паразитарные</p>	<p>То же</p>	<p>Мазок и толстая капля на диагностику малярии, групповые и антирезус антитела (полные и неполные - проба Кумбса), аутолимфоцитотоксический тест, свободный ге-</p>

<p>посттрансфузионные иммунные и аутоиммунные</p> <p><i>анемии, обусловленные эритроцитарными факторами:</i> эритроцитопатии</p> <p>энзимопении эритроцитов</p> <p>гемоглобинопатии эритроцитов</p>	<p>То же</p> <p>То же</p> <p>То же</p>	<p>моглобин крови, гемоглобин и гемосидерин мочи, циркулирующие иммунные комплексы.</p> <p>Миелограмма, резистентность эритроцитов, средний диаметр и объем эритроцитов, морфология эритроцитов, билирубин и его фракции, уробилин (стеркобилин) мочи, проба Хема, сахарная проба Хартмана.</p> <p>Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, пируваткиназа, глутатионредуктаза эритроцитов, средний диаметр и объем эритроцитов, свободный гемоглобин крови, гемоглобин и гемосидерин мочи.</p> <p>Электрофорез гемоглобина, проба на серповидность эритроцитов, тельца Гейнца, билирубин и его фракции, уробилин (стеркобилин) мочи.</p>
---	--	--

**Эритремии.** При эритремии на фоне повышенного содержания эритроцитов, гемоглобина и увеличения гематокрита отмечаются изменения со стороны эритроцитарных индексов, сходные с железодефицитной анемией. Это происходит вследствие того, что основным методом лечения больных эритремией в настоящее время является кровопускание. В связи с этим, актуальной является ранняя диагностика развития данного состояния.

Многokратные потери крови приводят к развитию дефицита железа в организме, что находит свое отражение в изменении гемограммы: происходит снижение MCH, MCHC, MCV и увеличивается RDW. Эритроцитарная гистограмма значительно сдвинута влево и имеет одиночный пик. Тромбоцитарная гистограмма характеризуется выраженным вторым пиком в области микроцитов.

При визуальном исследовании крови больных эритремией с начальными признаками железодефицита выявить морфологические изменения эритроцитов не представляется возможным, так как вследствие высоких эритроцитозов и вязкости крови препараты всегда получаются достаточно толстыми, со сжатыми клетками.



## Исследование тромбоцитов

**Тромбоциты (PLT)** – кровяные пластинки округлой или овальной формы, диаметром 2-4 мкм, представляющие собой безъядерные фрагменты мегакариоцитов. Их основной функцией является участие в процессах свертывания крови.

Различают 4 основные формы тромбоцитов:

1. зрелые, имеющие округлую форму;
2. юные (или незрелые), имеющие диаметр больше среднего зрелого тромбоцита и базофильно окрашивающуюся цитоплазму;
3. старые, имеющие круглую или овальную форму и хорошо вакуолизированную цитоплазму;
4. формы раздражения, имеющие большой размер и неравномерно расположенные включения.

**В норме** абсолютное количество тромбоцитов составляет  $500 \times 10^9/\text{л}$ . Повышение абсолютного числа тромбоцитов относительно этого значения называется **тромбоцитоз**, выше  $800 \times 10^9/\text{л}$  – **тромбоцитемией**.

**Повышение** количества тромбоцитов наблюдается при:

- кровопотерях в восстановительном периоде,
- миелопролиферативных заболеваниях,
- паранеопластических реакциях на опухолевый процесс,
- гемолизе,
- острых инфекционных заболеваниях,
- хронических специфических инфекциях,
- переломах крупных костей,
- после спленэктомии.

Снижение абсолютного числа тромбоцитов – **тромбоцитопения**. Снижение уровня тромбоцитов ниже  $3 \times 10^9/\text{л}$  указывает на тяжелую степень тромбоцитопении и высокую вероятность геморрагических осложнений.

**Понижается** абсолютное число тромбоцитов при:

- болезни Верльгофа (идиопатической аутоиммунной тромбоцитопенической пурпуре),
- ДВС-синдроме,
- В<sub>12</sub>-, фолиево-дефицитной, апластической анемиях,
- коллагенозах,
- спленомегалии, гиперспленизме,
- циррозах печени,
- гемангиомах,
- острых и хронических лейкозах, лимфомах,
- метастазах опухолей,
- сепсисе,
- наличии искусственных клапанов сердца,
- массивном переливании крови или кровезаменителей.

Точность *подсчета тромбоцитов* является проблемой для многих лабораторий. Существенным преимуществом гематологического анализатора ADVIA 60 является возможность подсчета тромбоцитов в широких пределах без дополнительной подготовки проб. Кроме количества тромбоцитов исследуется их морфология (размер и характер распределения по клеточному объему, степень их вариабельности).

**MPV - средний объем тромбоцита.** В норме - 6-8 fl, тромбоциты, объем которых превышает 13 fl, называют мегатромбоцитами. Их количество у здоровых людей не превышает 10%. Превышение этого порога характеризует появление молодых форм и форм раздражения, и, следовательно активность мегакариоцитов костного мозга. Доказано, что *MPV и количество тромбоцитов находятся в обратной зависимости*. Таким образом, при сохранности функции мегакариоцитов костного мозга, снижение MPV при тромбоцитозе и увеличение при тромбоцитопении - нормальное явление. Но, если изменение количества тромбоцитов при исследовании в динамике не сопровождается адекватным изменением MPV, можно предполагать нарушение кроветворения на уровне костного мозга или врожденную патологию тромбоцитов.

**PDW является показателем степени анизоцитоза тромбоцитов.** Повышение этого показателя больше 16% характерно как для внутрисосудистой активации тромбоцитов, так и для состояний, связанных с нарушением морфологии и функции тромбоцитов (тромбоцитопатии).

## Исследование лейкоцитов

**Лейкоциты** - высокоспециализированные белые клетки крови, образующиеся в костном мозге и в лимфатических узлах. Лейкоциты обладают комплексом защитных свойств, их основной функцией является защита организма от чуждых для него различных агентов. Благодаря их фагоцитарной активности, участию в клеточном и гуморальном иммунитете, в обмене гистамина, гепарина реализуются антимикробные, антитоксические, антителообразующие и другие важнейшие компоненты иммунологических реакций.

*В крови практически здорового человека содержится (4,0-9,0)×10<sup>9</sup>/л лейкоцитов. При нормальных условиях в периферической крови находится пять видов лейкоцитов: нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты и лимфоциты.*

Хотя совокупность всех лейкоцитов образует систему, каждый вид из них самостоятелен и выполняет свою специфическую функцию. Лейкоциты различаются по форме и структуре ядра, характеру цитоплазмы, ее грануляции, ядерно-цитоплазматическому соотношению, тинкториальным свойствам.

Лейкоциты классифицируют:

**а) агранулоциты (незернистые):**

- *лимфоциты* – (*лимфоциты В* - образуют циркулирующие антитела (иммуноглобулины) и осуществляют механизмы гуморального им-

мунитета; **лимфоциты T** – распознают антиген и участвуют в клеточном иммунитете);

- **моноциты** – (это фагоциты крови, уничтожают чужеродные клетки и их остатки);

**б) гранулоциты (зернистые):**

- **нейтрофильные** (включают в себя: миелоциты, юные, палочкоядерные, и сегментоядерные формы; благодаря фагоцитарной и энзимной активности они выполняют следующие функции: бактерицидную (вирусоцидную) и дезинтоксикационную);
- **эозинофильные** (в их гранулах содержатся вещества антигистаминного действия; ферменты, инактивирующие вещества, возникающие при анафилаксии, обуславливая их участие в аллергических реакциях);
- **базофильные** (содержат в своих гранулах гепарин и гистамин, вследствие чего активно участвуют в процессах воспаления и аллергии).

Помимо перечисленных форм лейкоцитов клиническое значение имеет выявление следующих форм:

- **ЛЕ-клетки** (клетки красной волчанки, клетки Харгрейвса) - зрелые гранулоциты, ядра которых отнесены к периферии фагоцитированным ядерным веществом другой клетки; имеют место при системной красной волчанке (80% больных), ревматоидном артрите, остром гепатите, склеродермии, лекарственных волчаночноподобных синдромах (прием противосудорожных препаратов, прокаинамида, метилдофы);
- **плазмоциты** клетки лимфоидной ткани, продуцирующие иммуноглобулины; у здорового человека плазмоциты присутствуют в костном мозге и лимфатических тканях. В периферической крови в норме плазматические клетки отсутствуют. Они появляются в незначительном количестве (0,5-3%) при любом инфекционном и воспалительном процессе, вирусных инфекциях (краснухе, скарлатине, кори, коклюше, вирусном гепатите, аденовирусах, инфекционном мононуклеозе) опухолях, сывороточной болезни, плазматоме, коллагенозах, после облучения, после ревакцинации. Количество плазматических клеток резко возрастает при лейкозах или заболеваниях с лейкомоидным типом реакции.
- **промиелоцит** - клетка-предшественник миелоцита, образующаяся из миелобласта;
- **миелоцит** - клетка-предшественник метамиелоцита, образующаяся из промиелоцита;
- **метамиелоцит** - клетка-предшественник гранулоцита, возникающая из миелоцита;
- **пролимфоцит** - клетка-предшественник лимфоцита, образующаяся из лимфобласта.

Количество отдельных типов лейкоцитов в норме составляет:

- *миелоциты, нейтрофилы юные – отсутствуют;*
- *нейтрофилы палочкоядерные – (0,04-0,30) x 10<sup>9</sup>/л;*
- *нейтрофилы сегментоядерные – (2,0-5,50) x 10<sup>9</sup>/л;*
- *эозинофилы – (0,02-0,30) x 10<sup>9</sup>/л;*
- *базофилы – (0-0,065) x 10<sup>9</sup>/л;*
- *лимфоциты – (1,2-3,0) x 10<sup>9</sup>/л;*
- *моноциты – (0,09-0,60) x 10<sup>9</sup>/л.*

Общее содержание лейкоцитов и лейкоцитарная формула имеют определенные возрастные особенности.

**Таблица 6** Содержание лейкоцитов и лейкоцитарная формула

Показатели	Пределы колебаний значений у людей согласно возрасту			
	1 - 6 лет	7 – 12 лет	13 – 15 лет	Старше 15 лет (взрослые)
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	5,0-12,0	4,5-10,0	4,3-9,5	4,0-8,8(до 9,0)
Нейтрофилы палочкоядерные, %	0,5-5,0	0,5-5,0	0,5-6,0	1,0-6,0
Нейтрофилы сегментоядерные, %	25,0-60,0	35,0-65,0	40,0-65,0	45,0-72,0
Эозинофилы, %	0,5-7,0	0,5-7,0	0,5-6,0	0,5-5,0
Базофилы, %	0-1,0	0-1,0	0-1,0	0-1,0
Лимфоциты, %	25,0-60,0	24,0-54,0	22,0-50,0	18,0-40,0
Моноциты, %	2,0-10,0	2,0-10,0	2,0-10,0	2,0-11,0

Частичная (3-х членная) *дифференцировка лейкоцитов в анализаторе ADVIA 60*, как и в других анализаторах подобного класса, базируется на разделении данных клеток по объему методом кондуктометрии (метод Культера) после действия разбавляющего и лизирующего агента. Подобная дифференцировка имеет существенные ограничения, так как лейкоциты являются морфологически полиморфными клетками, и разделение их по одному параметру является достаточно сложной задачей. При этом в анализаторе предусмотрена программа флажирования.

Однако данный вид дифференцировки может быть использован для динамического наблюдения за состоянием лейкоцитарной формулы больного, при условии, что первичный анализ крови дал сопоставимые результаты автоматизированного и визуального анализа дифференциального счета лейкоцитов.

Кроме того, исследование лейкоцитарной формулы на данном гематологическом анализаторе возможно при условии наблюдения за рисунком гистограммы при обследовании практически здоровых людей.

При наличии выраженной патологии со стороны лейкопоза лейкоцитарная гистограмма меняется. При этом анализатор может не давать измененных числовых значений. Дифференциальное исследование лейкоцитов по 3-м параметрам не всегда отражает истинное изменение лейкопоза. Необходимо следить не только за рисунком гистограммы и количеством лейкоцитов, но и учитывать наличие клинических заболеваний. Микроскопическое исследование мазков крови при этом обязательно.

*Анализ лейкоцитов следует делать натощак и после короткого отдыха пациента*, потому что после физического напряжения, еды, при беременности и при стрессе наблюдается физиологический рост их количества.

*Основные функции лейкоцитов осуществляются в тканях, куда лейкоциты переходят из мест их выработки или депонирования.* Таким образом, изменения в крови концентраций всех типов лейкоцитов могут являться результатом следующих событий:

- приток клеток в кровь,
- отток клеток из крови,
- распределение клеток внутри сосудистой системы,
- комбинация вышеперечисленного.

Эти изменения могут носить либо временный характер, что затрудняет их выявление, либо могут сохраняться в течение нескольких дней и недель.

Количественная оценка изменений распределения притока и оттока лейкоцитов стала возможна только в последние годы. Получаемые при различных заболеваниях данные, способствуют пониманию патофизиологического значения изменений количества лейкоцитов.

*Лейкоцитарные ответы*, сопровождающие различные заболевания, *оценивают с использованием экспериментальных моделей воспаления:* опыты Мечникова ("кожные окна"), способы тканевого пропитывания. При помощи этих моделей наблюдают за миграцией клеток в места имплантации чужеродных тканей, изучают перитонеальные экссудаты, реакции гиперчувствительности, инфекции, паразитарные инвазии. Несмотря на видимое сходство, эти реакции не являются по всем параметрам идентичными, они отличаются по интенсивности, продолжительности и по типу повреждения.

При незначительных поражениях первичная проходящая вазодилатация посткапиллярных венул сопровождается увеличением сосудистой проницаемости. Это продолжается не более 10 минут и считается результатом локального высвобождения гистамина, других низкомолекулярных медиаторов или лизосомальных ферментов. Увеличение притока крови в данную область и вторичное увеличение сосудистой проницаемости происходит в промежутке между 2 и 10 часами после повреждения. Данная стадия сопровождается прилипанием лейкоцитов к стенкам сосудов, что особенно выражено в местах повреждения, а также высвобождением кининов, цитокинов, составляющих комплемента и других молекул.

Диapedез клеток белой крови через стенки сосудов происходит следующим образом: первыми обычно проходят нейтрофилы, за ними следуют эози-

нофилы, базофилы и лимфоциты. Их количество зависит от природы повреждения. В большинстве случаев бактериальных инфекций нейтрофилы фагоцитируют и уничтожают патогенные микроорганизмы, и вскоре после этого сами погибают. Макрофаги фагоцитируют и устраняют поврежденные клетки тканей, эритроциты и нейтрофилы - очищают область повреждения. Возможно, они запускают процессы образования фибрина и регенерации тканей. Макрофаги обычно не разрушаются, выполнив свои функции. Более того, после стимуляции они могут делиться в месте воспаления, образуя новые клетки. Вероятно, благодаря этим свойствам моноциты и образованные из них макрофаги появляются в местах воспаления позже, чем нейтрофилы и в меньшем количестве.

В некоторых случаях нейтрофилы не способны убивать и переваривать некоторые чужеродные агенты, такие как бруцеллы, микобактерии, токсоплазмы, грибы. В этих случаях в процесс фагоцитоза вовлекаются макрофаги в большем количестве, чем обычно требуется для защиты организма. В большинстве поврежденных участков выявляется небольшое количество эозинофилов и базофилов. Лимфоциты появляются позже, при длительном (хроническом повреждении).

В случае инфекции или травмы воспалительный процесс возникает в качестве защитной реакции организма. Иногда воспалительного процесса может и не быть. Тогда высвобождение ферментов из лейкоцитов может происходить в результате иммунных реакций нескольких типов, или же в результате активации системы комплемента. В этих случаях изменение функциональной активности лейкоцитов может усугублять течение основного заболевания.

Воспалительные реакции, имеющие место в тканях, могут привести к изменению концентрации лейкоцитов в крови, что является характеристикой, указывающей на природу заболевания и ответ организма на него.

*Для оценки степени интоксикации при гнойно-септических процессах и эффективности проводимой антибактериальной терапии* используется ряд индексов, рассчитываемых по соответствующим формулам. Все показатели в формулах выражают в процентах. Условные обозначения в формулах соответствуют:

*Мл* – миелоциты; *Ю* – метамиелоциты; *П* – палочкоядерные;  
*С* – сегментоядерные; *Пл* – плазматические клетки; *М* – моноциты;  
*Л* – лимфоциты; *Э* – эозинофилы; *Б* – базофилы; *Н* – нейтрофилы.

Наиболее широко известен **лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ)** по Я.Я.Кальф-Калифу, который определяется по формуле:

$$\text{ЛИИ} = \frac{(4 \text{ Мл} + 3 \text{ Ю} + 2 \text{ П} + \text{ С}) \times (\text{Пл} + 1)}{(\text{М} + \text{Л}) \times (\text{Э} + 1)}$$

**В норме ЛИИ = 0,3-1,5.** Если ЛИИ больше 1,5 – это свидетельствует об интоксикации организма, а свыше 4,0-5,0 – о выраженном бактериальном компоненте в эндогенной интоксикации.

**Лейкоинтоксикационный индекс (ЛИИН)** вычисляется по формуле:

$$\text{ЛИИН} = \frac{Mл + Ю + Пл + П + С}{Э + Б + Л + М}$$

**В норме ЛИИН** меньше 1. Значения интегрального показателя в пределах 1-2 указывают на легкую степень интоксикации, 2,1-7 – на среднюю, 7,1-12 – на тяжелую. Увеличение индекса выше 12,1 предполагает терминальное состояние.

**Лейкоцитарный индекс интоксикации по Островскому (ЛИИост)** вычисляется соответственно формуле:

$$\text{ЛИИост} = \frac{Н + Пл}{М + Л + Э}$$

**В норме** значение ЛИИост – 1,6.

**Индекс сдвига лейкоцитов по Н.И.Ябучинскому (ИСЛ)** представлен в виде следующей формулы:

$$\text{ИСЛ} = \frac{Э + Б + П + С}{Л + М}$$

В норме значение ИСЛ – 1,94. Чем выше значение показателя, тем тяжелее степень интоксикации.

Существуют и другие формулы, например, для расчета индекса ядерного сдвига (ИядС), лейкоцитарного индекса резистентности по Химичу (ЛИР) и т.д.

## **Лейкоцитозы и лейкопении.**

**Картину белой крови при различных заболеваниях определяет совокупность следующих признаков:**

1. **Общее число лейкоцитов.**
2. **Процентное отношение отдельных лейкоцитов.**
3. **Наличие ядерного сдвига нейтрофилов** - изменение нормального процентного соотношения между клетками нейтрофильного ряда.
4. **Наличие или отсутствие дегенеративных изменений лейкоцитов.**

**Лейкопения** - **уменьшение общего числа лейкоцитов в крови** наблюдается при:

- некоторых инфекционных заболеваниях (брюшной тиф, малярия, бруцеллез, затяжной септический эндокардит, грипп, корь, вирусный гепатит);
- коллагенозах (СКВ - системная красная волчанка);
- тяжелом течении воспалительных и гнойно-септических заболеваний (лейкоцитоз сменяется лейкопенией);
- воспалительных и гнойно-септических заболеваниях у стариков и истощенных лиц;
- остром лейкозе (в 50% случаев);
- аплазии и гипоплазии костного мозга;
- хронической интоксикации бензолом;

- ионизирующем облучении и лучевой болезни;
- лекарственных воздействиях (амидопирин, сульфаниламиды, барбитураты, производные тиоурацила, цитостатики, противосудорожные и антититиреоидные препараты и др.);
- гастритах, колитах, холецистоангиохолитах, эндометритах;
- эндокринных заболеваниях (акромегалии, болезни Аддисона, реже - тиреотоксикозе);
- анафилактическом шоке;
- гиперспленизме;
- функциональных заболеваниях ЦНС (центральной нервной системы).

**Лейкоцитоз** – *увеличение общего количества лейкоцитов в периферической крови более 9 г/л*. Он развивается в норме и при патологии, являясь одним из примеров ответа организма на различные воспаления, бактериальные инфекции, интоксикации, острые кровопотери, аллергические заболевания, опухолевые процессы.

Острый лейкоцитоз зависит от выхода зрелых запасов лейкоцитов из костного мозга, селезенки, более длительный – от повышенной функции кроветворных органов.

**Лейкоцитоз физиологический.** Его развитие обусловлено рядом физиологических моментов, в связи с чем выделяют лейкоцитозы:

- пищеварительный - развивается через 2-3 часа после приеме пищи,
- миогенный - появляется после тяжелых физических напряжений,
- психологический - возникает после больших психических нагрузок;
- предменструальный,
- лейкоцитоз беременных (до 12-15 г/л) - развивается к моменту родов, начиная с 5-6 месяца беременности;
- лактационный - наблюдается в период грудного вскармливания;
- лейкоцитоз новорожденных (до 15-20 г/л).

**Лейкоцитоз патологический.** Развивается при ряде заболеваний. Различают лейкоцитозы:

- инфекционный (большой частью нейтрофильный, особенно при острых бактериальных инфекциях);
- воспалительный (особенно при гнойно-септических процессах и некрозе тканей, большей частью нейтрофильный);
- аллергический;
- интоксикационный (при отравлениях – пищевом, мышьяковистым водородом, хинином, угарным газом, нитробензолом и т.д.);
- после обильных кровопотерь, при гемолитических кризах (обуславливается повышением лейкопоэтической фракции костного мозга);
- при злокачественных новообразованиях, в том числе заболеваниях системы кроветворения (лейкозы, лимфогранулематоз);
- при коматозных состояниях (уремической, диабетической и печеночной комах), эпилепсии;
- при инфаркте миокарда;



- лекарственный (при введении некоторых лекарственных средств – камфара, адреналин, инсулин, кортикостероиды, гистамин, ацетилхолин, яд насекомых, эндотоксины, препараты наперстянки).

**Лейкоцитоз нейтрофильный.** Это увеличение в крови количества нейтрофилов: процентного содержания – до 80-95%, количества – до 10-40 г/л. Наблюдается при развитии:

- острых инфекционных заболеваний,
- воспалительных процессов (особенно гнойных),
- инфаркта миокарда,
- злокачественных новообразований,
- почечной недостаточности (уремии);
- при укусах ядовитых насекомых,
- после кровопотери.

Отношение суммы всех несегментированных форм нейтрофилов к сегментированным называется «**индексом сдвига**» нейтрофилов и определяется по следующей формуле:

$$\text{Индекс сдвига (ИС)} = \frac{M + Ю + П}{С}$$

где: *М* – миелоциты, *Ю* – юные, *П* – палочкоядерные, *С* – сегментоядерные нейтрофилы.

***В норме индекс сдвига равен 0,05-0,08.***

Тяжесть степени заболевания по индексу сдвига:

- тяжелая степень – ИС от 1,0 и выше;
- средняя степень – ИС 0,3-1,0;
- легкая степень – ИС не более 0,3.

С учетом индекса сдвига нейтрофильный лейкоцитоз бывает нескольких видов.

***Лейкоцитоз нейтрофильный без ядерного сдвига – простое увеличение количества зрелых нейтрофилов на фоне лейкоцитоза.*** Обычно возникает в результате:

- приема пищи,
- мышечной работы,
- кровопотерь;
- при легком течении инфекций.

**Ядерный сдвиг нейтрофилов влево** – характеризуется появлением в гемограмме молодых и дегенеративных форм нейтрофилов (юных, миелоцитов, промиелоцитов), отражает тяжесть патологического процесса и наблюдается при:

- инфекционных заболеваниях;
- воспалительных процессах;
- злокачественных новообразованиях;
- интоксикациях;
- хирургических вмешательствах;

- гематологических заболеваний;
- после кровотечений.

***По характеру ядерного сдвига нейтрофилов различают:***

1). **Регенеративный сдвиг** – при котором увеличивается количество палочкоядерных и юных нейтрофилов на фоне лейкоцитоза, что является показателем повышенной деятельности костного мозга; наблюдается при воспалительных и гнойно-септических процессах.

**Лейкоцитоз нейтрофильный с простым или гипорегенеративным ядерным сдвигом** – ***увеличение процента палочкоядерных лейкоцитов (свыше 5%) на фоне нейтрофильного лейкоцитоза.*** Наблюдается при легком течении ряда инфекций и воспалений:

- ангина,
- малярия,
- катаральный аппендицит,
- туберкулез лимфатических узлов и серозных оболочек.

**Лейкоцитоз нейтрофильный с регенеративным ядерным сдвигом** – ***на фоне нейтрофильного лейкоцитоза увеличивается процент палочкоядерных лейкоцитов и появляются молодые клетки (метамиелоциты).*** Количество лейкоцитов может увеличиваться до 12-25 г/л. Наблюдается при:

- пневмонии,
- сыпном тифе,
- скарлатине,
- дифтерии,
- роже,
- септических заболеваниях.

**Лейкоцитоз нейтрофильный с гиперрегенеративным ядерным сдвигом** – ***в периферической крови увеличивается количество палочкоядерных и юных форм нейтрофильных лейкоцитов, появляются единичные миелоциты. Как правило, в препаратах отсутствуют эозинофилы.*** Общее количество лейкоцитов может быть увеличено от 10 г/л до 30 г/л. Гемограмма может иметь следующий вид: миелоцитов – 5%, юных нейтрофилов – 18%, палочкоядерных нейтрофилов – 29%, сегментоядерных нейтрофилов – 28%, лимфоцитов – 18%, моноцитов – 2%. ***Появление подобного сдвига является прогностически неблагоприятным,*** он отмечается при:

- тяжелом течении инфекционных процессов,
- при агонии.

2). **Дегенеративный сдвиг** – отмечается увеличение количества только палочкоядерных форм и появление дегенеративных изменений в клетках. Это является показателем функционального угнетения костного мозга. Может протекать как с лейкоцитозом, так и с лейкопенией.

**Лейкоцитоз нейтрофильный с дегенеративным ядерным сдвигом** – ***увеличение процентного содержания палочкоядерных нейтрофилов с измененными пикнотическими ядрами, появление гиперсегментированных форм нейтрофилов.***

Дегенеративные изменения лейкоцитов проявляются в виде:

- токсической зернистости нейтрофилов;
- дегенеративных нарушений в ядре (гиперсегментированное ядро, кардиолизис – разрушение ядра).

Дегенеративные изменения лейкоцитов в большей степени характерны для:

- воспалительных заболеваний (сепсиса, заболеваний легких, гангренозного аппендицита и др.);
- лучевой болезни;
- лейкомоидных реакций.

**Дегенеративный сдвиг на фоне лейкоцитоза** характерен для:

- тяжелого течения туберкулеза;
- сальмонеллеза;
- токсической дизентерии;
- острого перитонита;
- уремической и диабетической комы.

**Дегенеративный сдвиг на фоне лейкопении** характерен для:

- вирусных инфекций;
- тифопаратифозных заболеваний.

**Ядерный сдвиг нейтрофилов вправо** – это появление гиперсегментированных нейтрофилов, среди них преобладают зрелые формы с 5-6 сегментами вместо обычных трех. Подобное явление может наблюдаться на фоне лейкопенических состояний.

Ядерный сдвиг нейтрофилов вправо встречается:

- в норме у 20% практически здоровых людей;
- при анемии Адиссона-Бирмера;
- мегалобластических анемиях;
- болезнях печени и почек;
- при лучевой болезни.

**Ядерный сдвиг нейтрофилов вправо при инфекционных и воспалительных заболеваниях указывает на благоприятное течение, ИС – менее 0,04.**

**Лейкоцитоз эозинофильный** (эозинофилия) – это увеличение количества эозинофилов в крови от 5% и выше (в абсолютных числах выше 0,2 г/л). Увеличение количества эозинофилов является своеобразной реакцией организма на поступление чужеродного белка и гистамина. Эозинофилы выполняют антигистаминную, антитоксическую и фагоцитарную функции. Эозинофилия отмечается при:

- паразитарных заболеваниях (лямблиозе, глистных инвазиях – эхинококкозе, аскаридозе, описторхозе, стронгилоидозе, трихинозе и др.);
- аллергиях (бронхиальной астме, сенной лихорадке, аллергическом дерматите, отеке Квинке, крапивнице);
- коллагенозах (ревматизме, узелковом периартериите, дерматомиозите);

- непереносимости лекарств (антибиотиков, сульфаниламидов, препаратов йода, аспирина, хлорпропамида, метотрексата, противосудорожных препаратов);
- болезнях крови (остром лейкозе, хроническом миелолейкозе, истинной полицитемии, лимфогранулематозе);
- злокачественных новообразованиях всех типов, особенно при метастазировании и некрозе опухоли;
- облучении;
- ожоговой болезни, отморожениях;
- некоторых эндокринных заболеваниях (гипотиреозе, церебрально-гипофизарной кахексии);
- инфекционных заболеваниях (скарлатине, туберкулезе, сифилисе);
- кожных заболеваниях (экземе, псориазе, пемфигусе, чешуйчатом лишае);
- других болезнях (неспецифическом язвенном колите, эндокардите Леффлера, узелковом периартериите, хорее, наследственных аномалиях).

Часто уровень эозинофилов увеличивается в период выздоровления после инфекционных заболеваний. Увеличение количества эозинофилов может достигать 20-30%, даже 50-70%.

**Эозинопения и анэозинофилия** – уменьшение количества или полное отсутствие эозинофилов в крови, встречается при:

- родах, физическом напряжении;
- острых инфекциях (брюшном тифе, дизентерии, сепсисе);
- травмах, хирургических вмешательствах,
- эклампсии;
- шоке, ожогах;
- атональном состоянии;
- действии кортикостероидов, адреналина, никотиновой кислоты.

**Базофильный лейкоцитоз** (базофилия) – *это увеличение в крови количества базофильных лейкоцитов выше нормальных значений*. Базофилы содержат в своих гранулах важнейшие медиаторы тканевого обмена (гепарин, гистамин), участвуют в аллергических, анафилактических реакциях, а также в процессе свертывания крови, поэтому количество их возрастает при:

- беременности;
- болезнях крови (остром лейкозе, хроническом миелолейкозе, истинной полицитемии, эритремии, лимфогранулематозе);
- острой иммунотромбоцитопении и гемолитической анемии;
- хронических воспалительных состояниях желудочно-кишечного тракта, язвенном колите;
- хроническом синусите;
- оспе и ветряной оспе;
- гипотиреозе;

- аллергических реакциях (на введение чужеродного белка, гиперчувствительность на пищу);
- болезни Ходжкина;
- как результат действия эстрогенов, антитиреоидных препаратов.

**Базопения** – *уменьшение количества базофилов в периферической крови* встречается при:

- острых инфекциях;
- гипертиреозе;
- овуляции, беременности;
- стрессе;
- действии кортикостероидов;
- синдроме Кушинга.

**Лимфоцитоз** – *это увеличение количества лимфоцитов выше 40%, или более 2,5-3 г/л. Физиологический лимфоцитоз* характерен для:

- детей первых 10 лет жизни (40-50%) - возрастная норма;
- жителей некоторых областей Средней Азии и высокогорья;
- растительной диеты - потребление пищи, богатой углеводами;
- периода менструации;
- физических нагрузок.

**Патологический лимфоцитоз** наблюдается при:

- вирусных инфекциях (гриппе, аденовирусах, инфекционном мононуклеозе, остром вирусном гепатите, остром инфекционном лимфоцитозе, коклюше, ветряной оспе, кори, краснухе);
- невирусных инфекциях (туберкулезе, сифилисе, малярии, брюшном тифе, бруцеллезе, лейшманиозе, дифтерии);
- выздоровлении после острой инфекции (постинфекционный лимфоцитоз);
- длительном лечении фтивазидом, анальгетиками, гризеофульвином, галоперидолом и др.;
- лейкомоидной реакции лимфоидного типа;
- болезнях крови (остром и хроническом лимфолейкозе, макроглобулинемии Вальденстрема, лимфосаркоме);
- сывороточной болезни;
- бронхиальной астме;
- алиментарной дистрофии;
- эндокринных расстройствах (микседема, базедова болезнь, акромегалия, евнухоидизм, тимико-лимфатическая аномалия конституции).

**Относительный лимфоцитоз** может обнаруживаться при:

- анемиях (Аддисона-Бирмера, апластической),
- хронической лучевой болезни.

**Нейтропения с относительным лимфоцитозом** возникает при:

- алиментарно-токсической алейкии,
- агранулоцитозе,

- голодании,
- В<sub>12</sub>-дефицитной анемии,
- состоянии после спленомегалии.

**Лимфопения** – *снижение количества лимфоцитов в крови*, наблюдается при:

- тяжелом течении инфекционных, воспалительных и гнойно-септических заболеваний;
- панцитопении;
- действии кортикостероидов, иммунодепрессантов;
- злокачественных новообразованиях и лимфогранулематозе;
- иммунодефицитных состояниях;
- ионизирующем излучении и лучевой болезни;
- почечной недостаточности, хронических заболеваниях печени;
- недостаточности кровообращения.

**Моноцитоз** – *это увеличение количества моноцитов в периферической крови выше 8%, или более 0,6 г/л*. Моноцитоз рассматривается как симптом раздражения ретикуло-эндотелиальной системы в ответ на действие инфекционных или токсических агентов. Он наблюдается при:

- острых инфекционных заболеваниях (вирусных, грибковых, риккетсиозных, протозойных) и инфекционном мононуклеозе;
- гранулематозах (туберкулезе, сифилисе, бруцеллезе, саркоидозе и др);
- язвенном колите, региональном энтерите;
- болезнях крови (остром лейкозе, хроническом миелолейкозе, лимфогранулематозе миелопролиферативных заболеваниях, злокачественном гистеоцитозе);
- коллагенозах и затяжном септическом эндокардите;
- повышенной чувствительности к противотуберкулезным препаратам (ПАСК);
- хирургических вмешательствах.

**Моноцитопения** – *снижение количества моноцитов в крови*, отмечается при:

- тяжелых септических процессах;
- инфекциях с нейтропенией;
- апластической анемии;
- как результат действия глюкокортикостероидов.

**При патологических состояниях выделяют 5 типов гемограмм (по Л.И.Мазуру):**

- 1) **нейтрофильно-эозинопенический** – лейкоцитоз, нейтрофилия (сдвиг влево), лимфопения, моноцитопения, анэозинофилия (при сепсисе, перитоните, пневмонии, раке и др.);
- 2) **нейтрофильно-эозинофильный** – лейкоцитоз, нейтрофилия (сдвиг влево), лимфопения, моноцитопения, эозинофилия (при лимфогранулематозе, туберкулезе легких, скарлатине);

- 3) **нейтропенический** – лейкопения, нейтропения (дегенеративный сдвиг влево), лимфопения (при малярии, лейшманиозе);
- 4) **лимфатические и моноцитарные реакции** – лейкоцитоз, лимфоцитоз, моноцитоз (при инфекционных заболеваниях);
- 5) **протозойный** – лейкопения, нейтропения (сдвиг влево), лимфопения (при малярии, лейшманиозе).

### **Лейкемоидные реакции.**

Термином **“лейкемоидные реакции”** обозначают *изменения в крови и костном мозге, сходные с картиной, наблюдаемой при лейкозах*. Общее количество клеток белой крови может увеличиваться до 50-80 г/л, в более редких случаях – до 400-500 г/л. Кроме **выраженного лейкоцитоза** лейкемоидные реакции характеризуются **появлением большого числа молодых миелоидных форм** (миелоцитов, промиелоцитов и даже миелобластов), **незрелых форм моноцитарных и лимфатических клеток**.

**В отличие от лейкозов** с их первичным поражением кроветворной системы **лейкемоидные реакции по своей основе представляют симптоматические состояния**, так как их развитие обусловлено большей частью инфекционными и токсическими причинами. При наличии лейкемоидных реакций нет системной лейкемической гиперплазии и метаплазии. Лейкемоидные реакции никогда не переходят в лейкоз. Они характеризуются тенденцией к обратному развитию после купирования первичного процесса, их вызвавшего.

Наиболее часто лейкемоидные реакции имеют место при:

- инфекционных и паразитарных заболеваниях,
- злокачественных новообразованиях (рака желудка, молочной железы, толстой кишки),
- интоксикациях,
- туберкулезе,
- аутоагрессивных процессах,
- аллергических и других процессах.

Иногда отличить реактивные изменения в крови от истинно лейкозных бывает довольно трудно, и только длительное наблюдение за больным и всесторонние исследования позволяют конкретизировать диагноз.

Следует отметить, что **не встречается лейкемоидная реакция, при которой основную массу клеток в крови и костном мозге составляют бластные клетки**.

Могут наблюдаться так называемые **псевдобластные лейкемоидные реакции с наличием в миелограмме большого числа крупных клеток с гомогенным ядром**, которые нередко ошибочно принимают за бласты. Подобные изменения иногда встречаются при:

- иммунных агранулоцитозах, спровоцированных такими лекарствами-гаптенами, как пирамидон, бутадиион, сульфаниламиды;
- в ранней фазе восстановления гранулоцитопоэза.

Следует иметь в виду, что в последующие дни течения процесса в костном мозге может обнаруживаться большое количество промиелоцитов (промиелоцитарная лейкомоидная реакция). Это нередко является причиной ошибочного диагноза острого промиелоцитарного лейкоза. Однако отсутствие клеточного типизма, полиморфной зернистости, дающей положительную реакцию на кислые сульфатированные гликозаминогликаны, и таких признаков, как выраженный геморрагический синдром, тромбоцитопения и анемия, позволяют отвергнуть диагноз лейкоза.

***Различают несколько типов лейкомоидных реакций:***

***Лейкомоидные реакции миелоидного типа. Наиболее частый вид лейкомоидных реакций – это нейтрофильные реакции с омоложением состава крови до миелоцитов и метамиелоцитов. При этом картина периферической крови напоминает хронический миелолейкоз.***

**Таблица 7 Сравнительная оценка показателей периферической крови при лейкомоидной реакции миелоидного типа и хроническом миелолейкозе**

Показатели крови	Лейкомоидная реакция	Хронический миелолейкоз
Гемоглобин	Снижен, анемия развивается медленно	Низкий, анемия развивается быстро
Лейкоформула	Сдвиг влево менее выражен	Сдвиг до миелобластов более выражен, несоответствие созревания ядра и цитоплазмы
Базофильно-эозинофильная ассоциация	Отсутствует	Присутствует
Токсогенная зернистость нейтрофилов	Характерна	Не характерна
Тромбоциты	В норме	Тромбоцитоз, осколки ядер мегакариоцитов
Щелочная фосфатаза	Повышена	Резко снижена

Лейкомоидные реакции миелоидного типа развиваются при:

- туберкулезе,
- дизентерии,
- скарлатине,
- роже,
- дифтерии,
- крупозной пневмонии,



- острой дистрофии печени,
- лимфогранулематозе,
- злокачественных опухолях с метастазами в костный мозг,
- коллагенозах,
- лекарственных интоксикациях,
- сепсисе, гнойных и других процессах.

Особенно трудно дифференцировать лейкомоидную реакцию миелоидного типа от хронического миелолейкоза при реакции на злокачественные новообразования, так как разрушаются все три ростка костномозгового кроветворения. На поздних стадиях развиваются лейкоцитоз, анемия, тромбоцитоз, появляются нормобласты.

**Эозинофильный тип лейкомоидной реакции** (эозинофилия) – *повышенное содержание эозинофилов в крови* наиболее часто встречается при:

- анкилостомозе,
- аскаридозе,
- филяриозе,
- амебиазе,
- шистозомиазе,
- описторхозе.

Эозинофильной лейкомоидной реакцией также сопровождаются:

- различные аллергические заболевания,
- некоторые формы зудящих дерматозов (псориаз),
- чешуйчатый лишай,
- туберкулез,
- сифилис.

**Лейкемоидные реакции моноцитарного типа** (моноцитоз) – *увеличение количества моноцитов в периферической крови* – наблюдаются при:

- хронических инфекциях (туберкулез, пиелонефрит и др.),
- аутоиммунных заболеваниях.

Как правило, вторичный характер этого типа реакций при четко диагностированных заболеваниях не вызывает сомнения. В диагностически сложных ситуациях рекомендуется исследование биоптата костного мозга, в котором в случае хронического моноцитарного лейкоза обнаруживают гиперплазию кроветворных клеток с преобладанием элементов моноцитарного ряда на фоне уменьшенного объема жировой ткани. Кроме того, одним из дифференциально-диагностических критериев хронического моноцитарного лейкоза является увеличение (в десятки раз по сравнению с нормой) содержание лизоцима в сыворотке крови и моче.

**Лимфоцитарный тип лейкомоидных реакций** (лимфоцитоз) – *увеличение содержания лимфоцитов в крови* имеет место при:

- инфекционном лимфоцитозе,
- мононуклеозе,

- туберкулезе,
- злокачественных новообразованиях,
- некоторых вирусных инфекциях,
- аутоиммунных заболеваниях (хронический аутоагрессивный гепатит),
- коллагенозах.

В детской практике высокий лимфоцитоз иногда наблюдается при:

- коклюше,
- скарлатине,
- заболеваниях дыхательных путей туберкулезного характера.

Поскольку лимфатическая система является основным источником иммунокомпетентных клеток, иммунный ответ на различного типа антигены, наряду с лимфоцитозом, характеризуется реактивным генерализованным увеличением лимфатических узлов, печени, селезенки. Нередко в подобных случаях приходится проводить дифференциацию со злокачественными лимфопролиферативными заболеваниями (лимфомы, хронический лимфолейкоз, паранеопластические гемобластозы).

Имеются основания *рассматривать в плане лейкомоидных реакций цитопении, развивающиеся на фоне различных заболеваний*, поскольку, как известно, существует лейкопеническая фаза острых лейкозов.

В последние годы накопилось достаточно фактов, свидетельствующих о *развитии одно-, двух- и трехростковых цитопений* при:

- хроническом аутоагрессивном гепатите,
- коллагенозах.

*Нейтропенический тип цитопении* встречается при:

- брюшном тифе,
- вирусном гриппе,
- паратифе В,
- бруцеллезе,
- клещевом сыпном тифе,
- кори.

*Острые цитопении, как правило, гранулоцитопении*, в редких случаях могут явиться *результатом быстрого потребления клеток* (цитопении потребления) при тяжелых инфекциях (крупозная пневмония).

В заключение следует подчеркнуть, что хотя лейкомоидные реакции встречаются довольно редко, тем не менее, они часто создают значительные дифференциально-диагностические трудности, скрываясь под маской различных заболеваний системы крови. В этих случаях необходимы убедительные клиничко-морфологические подтверждения наличия какой-либо определенной нозологической формы болезни, так как неправильная интерпретация данных с последующим использованием необоснованной терапии может принести больному непоправимый вред.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МОЧИ

**Моча (Uron)** – биологическая жидкость, являющаяся конечным продуктом деятельности почек и выводимая из организма по системе мочевых путей. Почки являются одним из центральных органов регуляции гомеостаза, так как они участвуют в сохранении постоянства внутренней среды организма.

Моча служит для удаления конечных продуктов обмена веществ (шлаков), избытка воды и солей, содержит гормоны, витамины, аминокислоты (всего около 150 различных веществ). С мочой выводятся также посторонние вещества, в том числе и токсические, поступающие в живой организм извне или образующиеся в нем. **В сутки с мочой выделяется до 65 г различных веществ**, из них до 40 г органических соединений, из которых 10-18 г азотсодержащих соединений. Содержание белка в моче ничтожно мало – около 0,033 г/л (обычными методами исследования не определяется), то есть в сутки с мочой теряется до 20-80 мг белка.

Основным компонентом мочи является вода. У взрослого человека, находящегося на обычном пищевом режиме, **вода составляет 2/3 массы тела. Регуляция водного обмена осуществляется с помощью антидиуретического гормона и ренин-ангиотензин-альдостероновой системы.** Баланс воды в организме (поступление и выведение) составляет 1,5-3,0 л. Поступает вода с питьем – 0,5-1,7 л, с пищей – 0,8-1,0 л, некоторое количество воды образуется эндогенно в результате биохимических процессов. Выводится вода в основном почками, а также кишечником, легкими, через кожу.

**Суточный диурез колеблется в пределах нормы (500-1800 мл) и составляет 60-80% от количества поступившей жидкости.** Количественная величина компонентов мочи не является постоянной и значительно различается не только у разных людей, но и у одного человека в течение суток. На количество и цвет мочи влияет также время года. Летом моча становится темнее, а ее количество уменьшается, что обусловлено обильным потоотделением. Зимой выделяется больше мочи светлого цвета. Состав мочи может меняться в зависимости от диеты, физического и нервно-психического состояния.

**Образование мочи в настоящее время объясняется так называемой фильтрационно-реадсорбционно-секреторной теорией:**

- проходя под давлением через полупроницаемую мембрану клубочков, кровь фильтруется в пространство капсулы Шумлянско-Боумана, образуя так называемую «первичную мочу» (удельный вес – 1010 г/л; рН – 7,4);
- затем в канальцах первичная моча подвергается значительным реадсорбционным процессам, в результате которых возвращаются в кровь необходимые организму вещества (глюкоза, соли, вода и т.д.), а в мочу дополнительно поступают некоторые вещества (красящие и лекарственные вещества, кислоты, щелочи и т.д.);
- в результате секреторных и реадсорбционных процессов образуется «окончательная моча», которая выводится по системе мочевых путей.

Исследование мочи не только дает указания на то или иное состояние и функцию почек, но и позволяет судить о процессах обмена веществ в других органах и организме в целом. Это способствует выявлению фактов поражения различных органов и систем, выяснению характера патологического процесса, установлению патогенеза и прогноза заболевания, позволяет судить об эффективности проводимого лечения. Поэтому исследование мочи входит как важная составная часть в общее обследование каждого больного.

## **Общеклинический анализ мочи**

Для получения более достоверных результатов лабораторных исследований *большое значение имеют методика и время сбора мочи, предварительная подготовка больного.*

За сутки до сдачи анализа необходимо исключить из пищевого рациона продукты с яркой окраской, способные влиять на цвет мочи (свекла, морковь, апельсины и др.). У людей, злоупотребляющих сахаром, можно обнаружить его в моче (функциональная глюкозурия), хотя этот человек и не болен сахарным диабетом.

Значительно меняется состав мочи человека, если он болен и принимает лекарственные препараты. По возможности необходимо прекратить прием лекарственных препаратов, являющихся источником пигментов мочи (амидопирин и т.п.), а также влияющих на мочеотделение, и ограничить прием других лекарственных средств. Например, у людей, принимающих поливитамины, моча приобретает красноватый цвет. Необходимо помнить, что присутствие в моче некоторых веществ эндо- и экзогенного происхождения может искажать результаты отдельных видов анализов. Например, стильбены мешают определению стероидов мочи, а результаты исследования эстриола и 17-ОКС в моче больных сахарным диабетом в ряде случаев не отражают истинного содержания этих гормонов из-за влияния глюкозы.

Необходимо учитывать, что на состав мочи влияет нервно-эндокринное равновесие: во время возбуждающих стрессовых воздействий в организме повышена выработка гормонов (адреналина, кортикостероидов, гормонов щитовидной железы), выделение которых с мочой также увеличено.

Сбор мочи производится в чистую сухую посуду. Женщинам перед сбором мочи необходимо предварительно провести туалет наружных половых органов, а сбор мочи проводить в период между менструациями.

*Для анализа обычно используют свежую утреннюю*, как более концентрированную, *порцию мочи*, которую собирают сразу после сна. Для исследования содержания некоторых показателей берут *суточную мочу*. Сбор мочи для количественного определения гормонов проводят в течение заданных интервалов времени.

Для консервации мочи в нее добавляют бактериостатические агенты (хлороформ, тиомерсал, водный раствор мертиолатата и др.) из расчета на 100 мл мочи. Если моча не содержит стабилизаторов, она должна храниться до

анализа не более 10 дней в замороженном виде. Считают, что в таких условиях пробы могут сохраняться несколько недель.

При продолжительном стоянии моча подвергается щелочному (аммиачному) брожению, что проявляется снижением интенсивности окраски и помутнением, может покрываться пленкой, выпадает осадок. Реакция мочи становится щелочной (рН более 7,0), а запах – аммиачным.

**Таблица 8 Основные физические свойства мочи**

Показатели	Средняя норма у взрослых	При патологии
Количество	800-1500 (500-1800) мл/сут	Менее 500 и более 1800 мл/сут
Цвет	Соломенно-желтый, янтарно-желтый	Красный, зеленый, коричневый, цвета «мясных помоев» и т.д.
Запах	“Мясного бульона” (наличие аминокислот)	Аммиачный, ацетоновый и т.д.
Прозрачность	Прозрачная	Мутная
Плотность (удельный вес)	1012-1020 (1008-1026) г/л	Повышение (анурия) или понижение (полиурия)
Реакция (рН)	5,5-7,0 (4,3-8,4)	Резко кислая, либо резко щелочная (вегетарианство)

**Суточный диурез** – количество мочи, выделяемой человеком за сутки, **составляет в норме (нормурия):**

- у женщин – 500-1600мл/сут;
- у мужчин – 800-1800мл/сут.

Кроме **суточного** диуреза, различают: **дневной** (с 9.00 до 21.00), **ночной** (с 21.00 до 9.00), **часовой** и т.д. Отношение дневного диуреза к ночному равно 3:1. Количество мочи в утренней порции в норме 100-300 мл.

Количество суточной мочи у взрослого человека **менее 500 мл (олигурия) и более 1800 мл (полиурия)** считается патологией.

• **Полиурия** наблюдается при:

- употреблении большого количества жидкости (нервное возбуждение, заболевания гипоталамуса);
- осмотической полиурии (сахарный диабет, избыточное потребление солей натрия, аминокислот, глюкозы, мочевины, маннитола, парентеральном питании, хронической почечной недостаточности);
- несахарном диабете (центральный – заболевания гипофиза, нефрогенный – заболевания почек);
- в период рассасывания отеков, транссудатов и экссудатов (острый пиелонефрит, хроническая почечная недостаточность);
- нефропатии (после наркоза, вторая половина беременности, после менструации, первичный альдостеронизм, гиперпаратиреозидизм);

- приеме диуретиков;
- амилоидозе, саркоидозе, миеломной болезни;
- стенозе почечной артерии, пересадке почки, диуретической фазе острого канальцевого некроза;
- в период выздоровления после лихорадочных состояний;
- как результат действия некоторых препаратов (кофеина, препаратов наперстянки, этанола, ацетилсалициловой кислоты, лития, гипогликемизирующих препаратов).

• **Олигурия** наблюдается при:

- физиологических состояниях (ограничение питьевого режима, обильное потение в жаркую погоду);
- заболеваниях почек (нефрозы, нефриты, воспалительные процессы в почечной паренхиме);
- повышенной потере жидкости (понос, рвота, кровопотеря, обширные ожоги, образование отеков, травмы живота, кишечная непроходимость, лихорадочные состояния, токсикозах, шоковых состояниях и др.);
- в результате действия нефротоксических веществ (свинца, мышьяка, висмута, этиленгликоля, лекарственных препаратов);
- нарушениях оттока мочи (частичная обтурация мочевыводящих путей камнем, опухолью).

• **Анурия** (*полное прекращение выделения мочи*) бывает:

- *ложная – экскреторная* (наличие препятствия к мочеотделению – обтурация мочевыводящих путей камнем, опухолью);
- *истинная – секреторная* (нарушение мочевыделительной функции почек при острой почечной недостаточности, тяжелые формы острого гломеруло-нефрита).

Различают также следующие нарушения мочеиспускания:

• **Ишурия** – задержка выделения мочи, когда больной не в состоянии опорожнить мочевой пузырь, – встречается при поражениях спинного мозга у больных, находящихся в бессознательном состоянии.

• **Никтурия** – преобладание ночного диуреза над дневным, наблюдается при хронической почечной недостаточности и нарушении сердечной деятельности.

• **Поллакиурия** – учащение мочеиспускания (свыше 6 раз в сутки), обычно сочетается с полиурией и наблюдается при приеме большого количества жидкости, воспалении мочевыводящих путей, аденоме предстательной железы.

• **Долакиурия** – частое мочеиспускание, малыми порциями, – наблюдается при приеме недостаточного количества жидкости и нервно-рефлекторных нарушениях.

• **Дизурия** – общее название расстройств мочеиспускания; болезненное мочеиспускание при воспалении мочевыводящих путей.

**Цвет мочи** в норме зависит от содержания в ней пигментов (урохрома, уробилина, порфирина) и тесно связан с ее плотностью (обусловленной концентрацией растворенных в ней веществ и реакцией); колеблется в пределах от янтарно-желтого до соломенно-желтого. Более интенсивную окраску имеет концентрированная моча и с кислой реакцией.

Необычную окраску моча может приобрести при употреблении в пищу овощей и фруктов с яркой окраской (свекла, земляника, морковь и др.), лекарственных (амидопирин, рибофлавин, метиленовая синь) и других веществ.

• **Гиперхромурия** – *повышенная интенсивность окраски мочи*, наблюдается при уменьшении количества ее выделения за счет потери жидкости при поносах, рвоте, лихорадочных состояниях.

• **Гипохромурия** – *снижение интенсивности окраски мочи*, наблюдается при различных видах полиурии, особенно при сахарном и несахарном диабете, нефросклерозе.

Изменение цвета мочи:

- **Темно-желтый** – отмечается при большой концентрации красящих веществ (образование отеков, понос, рвота, кровопотеря, обширные ожоги, сердечная недостаточность).
- **Зеленовато-бурый** – *цвет «пива»* – отмечается при механической желтухе, вследствие билирубинурии.
- **Зеленовато-желтый** – встречается при паренхиматозной желтухе, вследствие билирубинурии, уробилиногенурии.
- **От зеленовато-желтого до грязно-коричневого** – отмечается при пиурии.
- **Цвет «мясных помоев»** – отмечается при гематурии и гемоглобинурии, обусловленных органическими заболеваниями почек (острый нефрит).
- **Розовато-красный** – отмечается при употреблении некоторых лекарственных препаратов (амидопирин, антипирин, сантонин, сульфонал), а также при отравлении карболовой кислотой, порфиринурии, скорбуте.
- **Красный** – макрогематурия (свежая кровь) - встречается при почечной колике, инфаркте почки, остром цистите и уретрите.
- **Красно-коричневый** – при метгемоглобинурии.
- **Красно-бурый** – при миоглобинурии и остром инфаркте миокарда.
- **Зеленый и синий** – обусловлен употреблением метиленовой синьки, больших доз индиго, гнилостными процессами в кишечнике.
- **Синий** – при индиканурии.
- **Молочно-белый** - встречается при липурии, хилурии, поражении канальцев почек.
- **Черно-бурый** – при алкаптонурии, меланозе, малярии.
- **Черный** – отмечается при выделении с мочой больших доз меланина (меланосаркома), гемоглобинурии при острой гемолитической почке.

**Запах мочи.** *Свежевыделенная моча имеет запах “мясного бульона”*, так как содержит аминокислоты. При патологии моча может приобретать запах ацетона, гнилостный, зловонный и другие запахи.

**Прозрачность мочи** – в норме свежесвиделенная моча всегда прозрачна.

**Помутнение** мочи практически всегда обусловлено большим количеством лейкоцитов, бактерий, эпителиальных клеток, слизи, выпадением в осадок солей, свидетельствуя о наличии воспалительного процесса в мочевыводящей системе.

**Удельный вес (относительная плотность) мочи** пропорциональна концентрации растворенных в ней веществ (органических соединений и электролитов) и **отражает концентрационную способность почек**. У здорового человека она зависит от многих условий, но в основном от суточного диуреза - чем выше диурез, тем ниже относительная плотность мочи, измеряемая с помощью урометра.

У здоровых людей сумма первых двух цифр суточного диуреза и последующих двух цифр относительной плотности мочи обычно составляет 30. Например, если суточный диурез 1100 мл, относительная плотность 1019 г/л, то  $11+19=30$ .

Удельный вес утренней порции мочи колеблется в зависимости от возраста, составляя **в норме у взрослых -1008-1026 г/л**.

**Гиперстенурия** – повышение удельного веса мочи (больше 1026 г/л) наблюдается при:

- ограничении потребления жидкости;
- нарастании отеков (острый гломерулонефрит, недостаточность кровообращения);
- большой экстраренальной потере жидкости (понос, рвота, кровопотеря, обширные ожоги, образование отеков, травмы живота, кишечная непроходимость и др.);
- появлении в моче большого количества глюкозы (сахарный диабет);
- появлении в моче большого количества белка (3,3% белка в моче повышает ее относительную плотность на 0,001 г/л), лекарств и их метаболитов;
- введении маннитола или декстрана, рентгеноконтрастных веществ;
- токсикозе беременных;
- олигурии.

**Гипостенурия** – понижение удельного веса мочи меньше 1015 г/л (около 1011-1016 г/л) – наблюдается при частичной утрате способности почек концентрировать и разводить мочу. Определяется при:

- обильном потреблении жидкости;
- остром поражении почечных канальцев;
- хронической почечной недостаточности;
- несахарном диабете;
- злокачественной гипертензии;
- голодании;
- полиурии.



**Изостенурия** – длительное выделение мочи с удельным весом, равным удельному весу «первичной мочи» (1010-1011 г/л - плотность безбелковой части плазмы крови), вне зависимости от объема выделяемой мочи, свидетельствует о полной потере концентрационной функции почек, наблюдается в тяжелых случаях поражения почек и является прогностически неблагоприятным признаком.

Для оценки способности почек к концентрации и разведению первичной мочи чаще используют пробу Зимницкого. Для проведения пробы необходимо:

1. Перед началом исследования выпустить ночную порцию мочи в 6 часов утра.
2. Затем собирать мочу каждые 3 часа (9.00, 12.00, 15.00, 18.00, 21.00, 24.00, 3.00 ночи и в 6.00 часов следующего утра) в отдельную пронумерованную посуду, для определения количества и удельного веса. При необходимости можно определять в указанных порциях мочи содержание белка, глюкозы.

**Таблица 9 Оценка пробы Зимницкого**

Показатели	Норма	Патология	Клиническая картина
Суточный диурез, мл	800-1500мл 65-75% выпитой за сутки жидкости	Полиурия Олигоурия	Уменьшение отеков Нарастание отеков
Отношение дневного диуреза (1-4 порции) к ночному (5-8 порции)	4:1 (3:1)	Никтурия (менее чем 1:1)	Начальная сердечная декомпенсация, нефросклероз, цистопиелит и др.
Колебание удельного веса в течение суток, г/л	От 1008 до 1026	Гиперстенурия (больше 1026) Гипостенурия (менее 1015) Изостенурия (1010-1011)	Сахарный диабет и др., нарастание отеков, потеря жидкости Безбелковая и бессолевая диета, прием мочегонных препаратов, хр.почечная недостаточность и др. Тяжелая почечная недостаточность

Проба Зимницкого физиологична и проста по технике проведения. Учитывается выпитая в течение суток жидкость (чай, вода, суп, овощи, фрукты и пр.) и вычисляется отношение к ней общего диуреза в процентах. **Дневной диурез равен от 2/3 до 3/4 общего диуреза, преобладая над ночным в соотношении не менее чем 3:1. Колебания относительной плотности в различных порциях должны быть от 1010 до 1025 г/л (т.е. более 13 г/л).** В от-

дельных порциях минимальные колебания плотности составляют не менее 10 г/л и колебания количества 40-300 мл. Чем больше эти колебания, тем выше адаптационная способность почек. При вовлечении в патологический процесс почечных клубочков нарушается образование первичной мочи (гипостенурия в сочетании с олигурией). При потере канальцами почки способности концентрировать мочу (изостенурия) относительная плотность последней меняется в узких пределах (1010-1011 г/л). Преобладание ночного диуреза над дневным является ранним признаком почечной недостаточности.

**Пробы Фольгарда** (пробы на разведение и на концентрацию) - позволяют выявить наиболее ранние нарушения концентрационной функции почек.

• **Проба на разведение** – водная функциональная проба, выполняется натощак после опорожнения мочевого пузыря. Больной в течение 30 минут выпивает воды в расчете 20 мл на 1 кг массы тела. Затем, оставаясь в постели, в течение 4 часов каждые 30 минут собирает мочу. У здорового человека в течение 4 часов выводится не менее 75% выпитой жидкости. Максимальное ее количество приходится на вторую-третью порцию (до 300 мл), относительная плотность мочи падает до 1001-1003 г/л. При относительной плотности 1005-1010 г/л диагностируется **изостенурия**. Более 1010 г/л – **гиперстенурия**.

• **Проба на концентрацию** – может проводиться через 4 часа после водной нагрузки. Больному дают обед без жидкости, и он весь день должен питаться в сухомятку. Моча собирается каждые 2 часа в течение 8 часов. В норме она выделяется все уменьшающимися порциями (до 40 мл) с постепенным увеличением относительной плотности до 1025-1035 г/л. При относительной плотности 1015-1016 г/л диагностируют **начальную почечную недостаточность, пиелонефрит, либо тубулопатии**; при относительной плотности 1010-1012 г/л – **изостенурия**.

Противопоказаниями для проведения проб Фольгарда являются: почечная недостаточность, нефротический синдром, острая и хроническая недостаточность кровообращения.

**Реакция мочи** зависит от количества свободных водородных ионов  $H^+$ , образующихся в результате диссоциации органических и неорганических кислот, которые возникают во время катаболических процессов в организме. Ионы  $H^+$  в дистальной части почечного канальца связываются с буферными основаниями, и только небольшая их часть выводится с мочой в свободном виде.

Водородный показатель – рН – не является количественным показателем, а просто указывает на реакцию мочи (в норме – нейтральная или слабокислая).

В зависимости от режима питания **рН у практически здоровых людей колеблется в пределах от 5,0 до 7,0 (4,5-8,4)** и зависит от состава потребляемой пищи. Прием преимущественно мясной пищи ведет к окислению мочи, а молочно-растительная диета и употребление значительного количества ще-

лочной минеральной воды ведет к увеличению рН. У вегетарианцев рН мочи всегда около 7,0.

Помимо характера пищи на рН мочи оказывают влияние различные метаболические процессы, происходящие в организме и функциональное состояние канальцев почек. Поэтому реакция мочи имеет ограниченное клиническое значение.

Определяется рН в свежесобранной моче, так как при стоянии мочи на воздухе выделяется углекислота. Удаление диоксида углерода сдвигает рН мочи в щелочную сторону.

Изменения рН мочи зависит от рН крови:

- при ацидозе моча имеет кислую реакцию;
- при алкалозе – щелочную.

Расхождение этих показателей происходит при хронических поражениях канальцев почек: в крови наблюдается гиперхлорный ацидоз, а реакция мочи щелочная.

**Кислая реакция мочи (рН<5,0)** наблюдается при:

- метаболическом и респираторном ацидозе;
- диете с высоким содержанием мясного белка и подагре;
- сахарном диабете;
- гипокалиемии;
- обезвоживании и лихорадочных состояниях;
- в результате действия аскорбиновой кислоты, кортикотропина, хлорида аммония.

**Щелочная реакция мочи (рН>7,0)** наблюдается при:

- метаболическом и респираторном алкалозе;
- почечном канальцевом алкалозе;
- бактериальном разложении мочевины;
- после приема пищи, при вегетарианской диете;
- повышенной кислотности желудочного сока;
- гиперкалиемии и хронической почечной недостаточности;
- в результате действия цитрата натрия, бикарбонатов, адреналина, альдостерона.

## Химический состав мочи

Химический состав мочи не является постоянной величиной, а колеблется в пределах физиологической нормы. Однако выведение с мочой химических веществ меньше или больше этой нормы указывает на нарушение процесса образования мочи или наличие патологии в других органах и системах.

**Таблица 10. Химический состав вторичной мочи (мг/дл)**

Компоненты	Количество (мг)
• Мочевина N (азот)	682,00
• Мочевина	1459,00

• Креатинин N	36,00
• Креатинин	97,20
• Мочевая кислота N	12,00
• Мочевая кислота	36,00
• Амино N	9,70
• Аммиак N	57,00
• Натрий	212,00
• Калий	137,00
• Кальций	19,50
• Магний	11,30
• Хлориды	334,00
• Общие сульфаты	91,00
• Неорганические сульфаты	83,00
• Неорганические фосфаты	127,00
• Кислота N	27,89
• рН мочи	6,40
• Вода	96,554 мл

### **Белок.**

В почечных клубочках за сутки фильтруется около 5 г белка, главным образом – альбумина. Благодаря высокой реабсорбции более 99% его вновь поступает в кровь, с мочой удаляется менее 100 мг/сут.

*С мочой практически здорового человека выделяется в течение суток минимальное (25-75 мг/сут) количество белка, которое не определяется обычными качественными пробами при исследовании мочи, практикуемыми в настоящее время лабораторной диагностикой. Для физиологической протеинурии характерно содержание белка в моче ниже 0,003 г/л. Выделение больших количеств белка, при которых обычные качественные пробы на наличие белка в моче становятся положительными, называется **патологической протеинурией**.*

**Различают протеинурию почечного и внепочечного происхождения:**

**1 Протеинурия почечного происхождения:**

**а) физиологическая:**

- у новорожденных;

**б) инсультные:**

- при употреблении в пищу большого количества сырого яичного белка;
- при значительных физических нагрузках («маршевая»);
- при значительных психических нагрузках («эмоциональная»);
- при термическом воздействии («холодовая» протеинурия при ожогах);
- при воздействии химических факторов (отравление солями тяжелых металлов);

**в) ортостатическая;**

**г) органическая почечная протеинурия:**

- **клубочковая** – связана с повышенной проницаемостью почечных клубочков (обнаружение белков с относительно большой молекулярной массой свидетельствует об отсутствии избирательности почечного фильтра и выраженном его поражении);
- **канальцевая** – связана с неспособностью канальцев реабсорбировать белки, прошедшие через неизмененный гломерулярный фильтр. Органическая протеинурия характерна для:
  - остро и хронического гломерулонефрита;
  - нефрозов;
  - нефросклерозов;
  - врожденной аномалии почек (поликистоз почек).

## **2. Протеинурия внепочечного происхождения:**

**а) преренальная протеинурия** связана с усиленным распадом белка тканей, при высокой концентрации низкомолекулярного белка в плазме (белок Бенс-Джонса, миоглобин, гемоглобин) и наблюдается:

- при декомпенсации застойной сердечной недостаточности;

**б) постренальные протеинурии** вызываются белковыми смесями, выделяющимися при заболеваниях мочевыводящих путей и **наблюдаются при:**

- цистопиелитах;
- вульвовагинитах;
- уретритах;
- опухолях мочевыводящих путей.

Протеинурия является частым неспецифическим симптомом патологии почек. Различают **немассивную (потеря до 3 г/сут)** и **массивную (свыше 3 г/сут)** протеинурию. При почечной протеинурии белок обнаруживается как в дневной, так и ночной моче. Протеинурия часто сочетается с цилиндрурией, эритроцитурией, лейкоцитурией.

**Белок Бенс-Джонса** – группа патологических белков, которые осаждаются при температуре 45-65°C и появляются в моче при:

- миеломной болезни;
- макроглобулинемии.

**Миоглобинурия** – наличие миоглобина в моче – возникает при концентрации его в плазме выше 0,15 г/л при:

- наследственных заболеваниях мышц;
- мышечных некрозах;
- травмах мышц;
- длительной ишемии мышц;
- действию отравляющих веществ.

## **Сахар.**

**В моче практически здорового человека (в норме) отсутствует, либо содержится минимальное количество глюкозы (0,02% – 0,03-0,05г/л),** которое не определяется обычными качественными пробами. При превышении указанного количества определяется наличие глюкозы в моче.

**Глюкозурия** – выделение глюкозы с мочой, определяемое качественными пробами. По своему характеру глюкозурия может быть:

**1. Инсулярная (панкреатогенная) возникает при превышении гипергликемии почечного порога (8,8-9,9 ммоль/л) и наблюдается при:**

- сахарном диабете;
- остром панкреатите;
- при длительном голодании.

**2. Экстраинсулярная (внепанкреатическая):**

• **алиментарная** – может появиться спустя 30-60 минут после приема значительного количества углеводов, но исчезает спустя 2-4 часа;

• **центрального генеза при:**

- черепно-мозговых травмах;
- опухолях головного мозга;
- менингитах;
- лихорадочных состояниях;
- психическом возбуждении;
- отравлении морфином, стрихнином, хлороформом, фосфором;

• **гормональная при:**

- тиреотоксикозе;
- акромегалии;
- гиперплазии коры надпочечников;
- синдроме Иценко-Кушинга;

• **ренальная глюкозурия** обусловлена нарушением реабсорбции глюкозы в канальцах почек при почечном диабете.

**При количественном определении глюкозы в суточной моче необходимо собрать все количество суточной мочи:** с 6 часов утра (после опорожнения мочевого пузыря) в течение суток собирать всю мочу в одну посуду, последняя порция – в 6 часов утра следующих суток. Все порции мочи хранить в холодильнике в закрытой посуде. Затем измеряют общее количество мочи за сутки, чтобы в дальнейшем иметь возможность определения абсолютного количества глюкозы, выделяемой за сутки. Затем мочу тщательно размешивают и отливают около 200 мл для клинического анализа.

### **Ацетон (кетоновые тела)**

Кетоновые тела – продукты неполного окисления липидов и белков, синтезируются в печени. К кетоновым телам, выделяющимся вместе с мочой, относятся ацетон, ацетоуксусная кислота и  $\beta$ -оксимасляная кислота. Их определение очень важно при сахарном диабете – для диагностики метаболической декомпенсации, коррекции диеты и медикаментозной терапии.

**С мочой практически здоровых людей в течение суток выделяется минимальное количество (не более 20-50 г/сут) кетоновых тел**, которое не обнаруживается обычными качественными пробами в клинических лабораториях.

**Кетонурия** – повышенное выделение кетоновых тел с мочой встречается:

- в тяжелых случаях сахарного диабета (некомпенсированный сахарный диабет, гиперкетонемическая кома);
- кетонемических состояниях, обусловленных:
  - острыми инфекциями (дизентерия);
  - несбалансированным питанием (продолжительное голодание; диета, направленная на снижение массы тела; употребление преимущественно белковой и/или жирной пищи; исключение из питания углеводов);
  - сильным возбуждением;
  - сильным переутомлением;
  - гиперинсулинизмом;
  - тиреотоксикозом;
  - гликогенозом;
  - гиперпродукцией кортикостероидов (опухоль передней доли гипофиза или надпочечников, акромегалия).

### **Желчные пигменты.**

*В моче практически здоровых людей (в норме) желчные пигменты (билирубин) не содержатся, поскольку свободный (неконъюгированный – т.е. связанный с альбумином, но несвязанный с глюкуроновой кислотой) билирубин не растворяется в воде и не появляется в моче. В печени свободный билирубин конъюгирует (соединяется с глюкуроновой кислотой) и в этом виде выделяется с желчью в желудочно-кишечный тракт. **Связанный билирубин растворим в воде и при пороговой концентрации в крови – более 34 мкмоль/л, выделяется почками.***

В желчевыводящих путях билирубин восстанавливается до уробилиногена и поступает в кишечник, где преобразуется в стеркобилиноген. ***Небольшая часть стеркобилиногена повторно реабсорбируется в толстой кишке в общий кровоток и выводится с мочой.*** Уробилиноген в незначительном количестве (в желчевыводящих путях и в тонкой кишке) всасывается и по портальной системе поступает в печень, откуда вновь выводится с желчью. ***В норме уробилиноген с мочой не выводится.***

***Порфиринурия – выделение пигментных тел с мочой (при их концентрации в моче более 6 мг/сут),*** наблюдается при:

***а) первичной порфирии – наследственной – при:***

- эритропоэтической порфирии (при болезни Гюнтера);
- печеночной порфирии;
- урокопропорфирии;

***б) вторичной порфирии - симптоматической – при:***

- анемии;
- инфаркте миокарда;
- ревматизме;
- отравлении токсическими веществами;
- циррозе печени.

***Билирубинурия – появление прямого билирубина в моче – наблюдается при:***

- повышенном распаде гемоглобина (гемолитическая анемия, полицитемия, рассасывание массивных гематом);
- механической желтухе, инфекции билиарной системы;
- нарушении функции печени (вирусный гепатит, хронический гепатит, цирроз печени);
- увеличении образования стеркобилина в желудочно-кишечном тракте;
- в результате действия токсических веществ (алкоголя, органических соединений, опухоли печени).

**Уробилиногенурия (положительная проба Нейбауера)** встречается при:

- поражении паренхимы печени;
- гепатозах;
- циррозах;
- отравлениях и др.

**Таблица 11. Показатели мочи при различных формах желтухи**

Показатель	Формы желтухи			
	Механическая		Паренхима- тозная	Гемолитическая
	Неполная закупорка	Полная за- купорка		
Билирубин в сы- воротке крови в моче	Прямой +	Прямой +	Прямой +	Непрямой -
Уробилин	+	-	+	+
Желчные кислоты в моче	+	+	+	-

### **Гемоглобин.**

В моче практически здоровых людей гемоглобин не определяется.

**Гемоглобинурия** – появление в моче свободного гемоглобина в результате его повышения в плазме крови до 1,2 г/л – появляется при гемолизе эритроцитов. **Гемоглобинурии** делятся на две группы:

#### **1. Первичные:**

- при гемолитической анемии;
- маршевая или спортивная (после значительной физической нагрузки);
- после эпилептического припадка.

#### **2. Вторичные:**

- при переливании несовместимой группы крови;
- при инфекционных заболеваниях:
  - сепсисе;
  - тифе;
  - скарлатине;
  - малярии;
  - ангине;
- при отравлениях:
  - сульфаниламидными препаратами;



- сероводородом;
- соляной кислотой;
- анилиновыми красителями;
- ядовитыми грибами;
- при тяжелых травмах;
- при ангионевротических состояниях.

С целью улучшения *диагностики пароксизмальной ночной гемоглобинурии* предложен метод градиентного центрифугирования эритроцитов, позволяющий выделить их атипично легкую фракцию. Указанный метод, более чувствителен, чем кислотная проба Хема и сахарозная проба Хартмана. Сейчас эту пробу предлагают в качестве экспресс-метода.

### Азотистые вещества.

*Общий азот мочи* – сумма всех азотсодержащих соединений, находящихся в моче. К веществам азотистого обмена относятся - мочевины, мочевая кислота, креатинин, креатин, индикан, аммиак, аминокислоты и другие вещества.

*При нормальном рационе питания около 90% поступающих в организм азотистых веществ выводится с мочой в составе молекулы мочевины*, что составляет в абсолютном количестве 10-30 г азотистых веществ в сутки (400-1200 ммоль/сут, т.е. 6-17 г/сут общего азота), *и составляет в норме:*

- *мочевина - 333-583 ммоль/сут (20-25 г/сут);*
- *мочевая кислота –1,2-7,1 ммоль/сут (0,27-0,80 г/сут);*
- *азот аммиака – 35,7-71,4 ммоль/сут (0,6-1,3 г/сут);*
- *азот аминокислот – 3,57-14,28 ммоль/сут;*
- *креатинин – 7,1-17,7ммоль/сут (м -1-2 г/сут, ж - 0,5-1,6 г/сут);*
- *креатин – отсутствует (редко – следы).*

Выделение азотистых веществ с мочой *повышено при:*

- увеличении распада белков тканей;
- диабете;
- рассасывании экссудатов;
- повышенном содержании белка в пище;
- хроническом отравлении фосфором;
- лихорадке;

*понижено при:*

- заболеваниях печени (атрофии, циррозе, гепатите);
- заболеваниях почек (нефриты);
- заболеваниях сердечно-сосудистой системы.

### Мочевина.

Мочевина образуется в печени при обеззараживании аммиака в ходе обмена пуриновых азотистых соединений и является конечным продуктом обмена белков. Мочевина составляет 80-90% от общего количества продуктов азотистого обмена. Она характеризует состояние белкового обмена, мочевинообразующую функцию печени и выделительную функцию почек.

От уровня мочевины в крови в значительной мере зависит **ретенционная гиперазотемия (недостаточное выделение с мочой азотистых веществ при нормальном их поступлении в кровь)**.

**Повышение количества мочевины** отмечается при:

- употреблении в пищу мясных продуктов;
- всех заболеваниях, сопровождающихся усиленным распадом белковых веществ (лихорадочные состояния, тиреотоксикоз, злокачественные опухоли);
- приеме лекарственных препаратов (11-оксистероидов, тироксина, салициловых препаратов, хинина, кофеина);
- при сахарном диабете;
- заболеваниях почек, уремии.

**Понижение количества мочевины** отмечается при:

- тяжелых поражениях печени (атрофии, циррозе, гепатите);
- приеме инсулина, ацидозе.

### **Мочевая кислота.**

Мочевая кислота представляет собой конечный продукт обмена пуриновых оснований (составной части нуклеиновых кислот).

**Гиперурикурия – повышенное содержание мочевой кислоты в моче** отмечается при:

- лейкозах, истинной полицитемии;
- усиленном распаде тканей;
- химиотерапии;
- большом количестве пуринов в пище;
- нарушении реабсорбции мочевой кислоты в почечных канальцах (болезнь Вильсона, синдром Фанкони).

**Гипоурикурия – пониженное содержание мочевой кислоты в моче** отмечается при:

- гломерулонефритах, амилоидозе почек;
- подагре;
- прогрессирующей мышечной дистрофии;
- отравлении солями тяжелых металлов и алкоголем.

### **Креатинин.**

Креатинин является одним из конечных продуктов белкового (азотистого) обмена, образуется при превращении креатина и выводится с мочой. **Количество выделяемого креатинина** зависит от степени развития мускулатуры и содержания в ней креатинфосфата, **в сутки в среднем составляет 0,6-2 г**. Его определение используется для оценки функционального состояния почек (проба Реберга). Повышение уровня креатинина в крови наиболее достоверно отражает недостаточность азотовыделительной функции почек и имеет большое значение при определении степени почечной недостаточности. Его концентрация в крови обратно пропорциональна клиренсу. **Двукратное по-**

**вышение уровня креатинина в крови сопровождается снижением на 50% клубочковой фильтрации (составляющей в норме 90-140 мл/мин).**

**Гиперкреатининурия – повышенное выведение креатинина с мочой из организма человека,** наблюдается при:

- инфекционных заболеваниях;
- сахарном диабете;
- гигантизме;
- гипотиреозе.

**Гипокреатининурия – пониженное выведение креатинина с мочой из организма человека,** наблюдается при:

- анемиях;
- параличах;
- прогрессивной мышечной дистрофии;
- дерматомиозите;
- тиреотоксикозе;
- лейкомиях;
- заболеваниях почек.

**Проба Реберга – исследование клубочковой фильтрации по экзогенному креатинину.** При проведении пробы Реберга моча собирается в течение суток и вычисляется минутный диурез, определяется концентрация креатинина в крови и моче. Рассчитывается клубочковая фильтрация по формуле:

$$\Phi = \frac{C_m}{C_k} \times D_m,$$

где:  $C_m$  – концентрация в моче профильтрованного вещества;

$C_k$  – концентрация фильтрующегося вещества в крови;

$D_m$  – объем мочи, выделяемой за минуту.

Принимается, что содержание креатинина в плазме крови и в клубочковом фильтрате одинаково. По изменению его концентрации после прохождения через канальцы можно определить процент реабсорбированной воды (**канальцевую реабсорбцию**). Канальцевая реабсорбция рассчитывается по формуле:

$$R = \frac{\Phi - D_m}{\Phi} \times D_m,$$

где:  $\Phi$  – клубочковая фильтрация,

$D_m$  – объем мочи, выделяемой за минуту.

**Канальцевая реабсорбция составляет в норме 98-99%.**

**Повышена** при гиповолемических состояниях.

**Понижена** при нарушениях функции канальцев (пиелонефрит, интерстициальный нефрит, применение диуретиков, почечная недостаточность).

### **Креатин.**

Креатин – метилгуанидинуксусная кислота, является одним из важнейших компонентов азотистого обмена в организме, выполняя регуляторную роль во многих биохимических процессах. Он содержится в мышцах (преимущественно в миокарде).

***В моче практически здоровых людей не определяется***, но в детском возрасте существует физиологическая креатинурия до 1,5 м/моль/сутки. В моче креатин появляется при нарушении процесса его превращения в креатинин (т.е. при его концентрации в плазме крови свыше 120 мкмоль/л).

***Креатинурия у взрослых*** наблюдается при:

- миопатиях:
  - прогрессирующей мышечной дистрофии;
  - миастении;
  - полиомиелите;
  - миоглобинурии;
- заболеваниях эндокринной системы:
  - тиреотоксикозе;
  - болезни Аддисона;
  - акромегалии;
  - синдроме Иценко-Кушинга;
  - сахарном диабете;
  - при длительном лечении кортизоном, тестостероном;
- инфекционных заболеваниях;
- белковом голодании;
- ожогах;
- беременности.

### **Индикан.**

Это конечный продукт превращения триптофана. Он образуется в печени при обеззараживании индола. ***Его концентрация в моче составляет 40-60 мкмоль/сут (в норме)***. Увеличение концентрации индикана крови наблюдается при интенсификации процессов гниения в кишках, ретенционной гиперазотемии и чаще всего свидетельствует о тяжелой почечной недостаточности.

***Повышение в моче*** встречается при:

- разложении белков в организме (опухоли, абсцессы, бронхоэктазии);
- повышении процессов гниения в кишечнике (кишечная непроходимость);
- в послеоперационный период.

***Уменьшение в моче*** отмечается при:

- нарушениях экскреторной функции почек (нефрит, амилоидоз, туберкулез почек);
- уменьшении клубочковой фильтрации (нарушение кровообращения, декомпенсация сердечной деятельности, большие потери жидкости - длительный понос, неукротимая рвота, кровотечения, ожоги);

- заболеваний печени.

### **Аминокислоты.**

Аминокислоты – органические кислоты, содержащие одну и более аминогруппы; являются основной структурной частью молекулы белка.

***Выделение с мочой всех аминокислот, встречающихся в крови человека, минимально и не превышает 0,3-0,7 г/сутки.***

***Гипераминоцидурия – повышенное содержание аминокислот в моче, встречается при:***

- заболеваний печени:
  - циррозе;
  - гепатите;
- усиленном расщеплении белков и распаде тканей:
  - тяжелом течении инфекционных заболеваний;
  - злокачественных опухолях;
  - ожогах;
  - тяжелых травмах;
  - коматозных состояниях;
  - тиреотоксикозе;
  - лечении кортизоном;
  - фенилкетонурии – врожденной аномалии обмена фенилаланина;
  - алкаптонурии – врожденной аномалии обмена фенилаланина, тирозина.

### **Аммиак.**

Аммиак – химическое соединение азота с водородом, образуется при сокращении мышц, возбуждении нервной ткани и выводится из организма человека с мочой в виде аммиачных солей. ***Конечным продуктом обезвреживания и устранения аммиака в организме человека является мочеви́на.***

***Суточное выделение аммиака с мочой 35,7-71,4 ммоль/сут (0,6-1,3 г/сут).***

Количество аммиака в моче является важным показателем выделяемых организмом кислот и состояния кислотно-щелочного равновесия.

***Повышенное выделение аммиака с мочой*** наблюдается при:

- ацидозах (кроме почечных);
- значительной потере калия или натрия;
- первичном альдостеронизме;
- цистопиелитах.

***Пониженное его выделение с мочой*** отмечается при:

- алкалозах;
- почечно-тубулярном ацидозе;
- гиперфункции коры надпочечников.

### **Ферменты.**

**Амилаза** – групповое название ферментов, катализирующих гидролитическое расщепление гликогена, крахмала, а также продуктов их частичного гидролиза. **Амилаза мочи называется диастазой.**

**В норме активность диастазы в моче составляет 44 мг/с·л или до 64 г/ч·л по Вольгемуту.**

**Таблица 12. Активность амилазы при патологических состояниях**

Патологические состояния	Активность фермента	
	α-амилаза крови	диастаза мочи
Острый панкреатит	↑↑↑	↑↑
Острый панкреатит (тотальный)	N или ↑	N или ↑
Острый аппендицит	↑	↑
Перитонит	↑	↑
Перфоративная язва желудка	↑	↑
Острые уремии	↑	↓↓
Хронические заболевания почек (нефроз, нефроцирроз, гломерулонефрит)	↑	↓↓
Эпидемический паротит, камни, опухоли слюнных желез	↑	↑
Хронические воспаления, приводящие к циррозу или атрофии поджелудочной железы	↓	↓
Острый и хронический энтероколиты	↓ или N	↑ или N
Острые заболевания печени	↓	N
Хронические заболевания печени и желчных путей	↑	↑
Первичный рак тела и хвоста поджелудочной железы (гипергликемия и глюкозурия)	N или ↓↓	↓↓
Гастрит	N или ↑	N

**Повышение активности диастазы в моче бывает:**

- умеренное и отмечается при:
  - закупорке протока поджелудочной железы;
  - гнойном паротите;
- значительное и отмечается при:
  - острых панкреатитах;
  - острым некрозе поджелудочной железы.

**Снижение активности диастазы в моче** отмечается при:

- полном некрозе поджелудочной железы;
- нефрите.

### **Минеральные неорганические вещества**

Минеральные неорганические вещества необходимы для нормальной жизнедеятельности организма и поступают в него с пищей.

**Хлориды.** Около 90% хлоридов, поступающих с пищей, выводится с мочой. Поэтому их мало в моче грудных детей, а при переходе к смешанному кормлению их количество увеличивается.

*С мочой практически здоровых людей (в норме) выделяется 10-15 г/сутки хлоридов.*

***Гиперхлорурия*** – ***повышенное выделение хлоридов с мочой***, бывает при:

- гиперхлоремии (повышенном содержании хлоридов в крови);
- выздоровлении после инфекционных болезней;
- рассасывании отеков, экссудатов, трансудатов;
- понижении обратного всасывания в канальцах почек (гипофункции надпочечников, тяжелые поражения паренхимы почек, применение диуретиков).

***Гипохлорурия*** - ***пониженное выведение хлоридов с мочой***, встречается при:

- гипохлоремических состояниях – снижении содержания хлоридов в крови (острые лихорадочные заболевания (потеря хлоридов с потом), рвота и поносы; отеки, экссудаты, трансудаты, бронхопневмонии и пневмонии);
- уменьшении количества клубочкового фильтрата (при хроническом нефрите);
- увеличении обратного всасывания в канальцах почек (гиперфункции передней доли гипофиза и надпочечников при гиперальдостеронизме и лечении кортикостероидами); гипофункции задней доли гипофиза).

**Натрий.** *У практически здоровых людей (в норме) выделение натрия с мочой составляет 2-4 г/сутки.*

Выделение натрия идет параллельно с выделением хлоридов, а поэтому гипернатриурия и гипонатриурия, соответственно, встречаются при тех же состояниях, что гиперхлорурия и гипохлорурия.

***Соотношение, выделяемых натрия и хлоридов выражается в м.экв/л и колеблется в пределах единицы.***

**Калий.** *У практически здоровых людей (в норме) выделение калия с мочой составляет 7,5-2 г/сутки.* Между выделением с мочой калия и натрия существует антагонистическая зависимость: ***повышение выделения калия ведет к задержке натрия и наоборот.***

***Гиперкалиурия*** – ***повышение выделения калия с мочой***, наблюдается при:

- заболеваниях канальцев почек (почечный тубулярный ацидоз, полиурия после острой почечной недостаточности);
- приеме диуретиков;
- метаболических алкалозах и ацидозе;
- усиленном распаде клеток;
- длительной инфузии физиологическим раствором.

***Гипокалиурия*** – ***пониженное выделение калия с мочой***, наблюдается при:

- гипофункции коры надпочечников и гипофиза;
- уменьшении клубочкового филътрата;
- тяжелом течении нефрита;
- нефросклерозе;
- пиелонефрите.

**Фосфаты.** У практически здоровых людей (в норме) выделяется с мочой 2,5-4,0 г/сутки фосфатов, из них 0,7-1,6 г/сутки – фосфора.

***Повышенное выделение неорганического фосфора*** отмечается при:

- первичном рахите, не поддающемся лечению витамином Д;
- первичном гиперпаратиреозе;
- рахите, обусловленном низким содержанием кальция в пище;
- сахарном диабете;
- лейкемии;
- менингите.

***Понижение выделения неорганического фосфора с мочой*** отмечается при:

- гипопаратиреозе;
- заболеваниях почек;
- остеопорозе;
- инфекционных заболеваниях;
- акромегалии;
- гиперфосфатемическом почечном рахите.

**Кальций.** Выделение кальция с мочой колеблется в значительных пределах и зависит не только от содержания кальция в пище, но и от его усвоения организмом. Наиболее точные данные получают после шестидневной диеты с содержанием в суточном рационе 100 мг кальция и 400 мг фосфора. При этих условиях выделение кальция с мочой не должно превышать 0,3 г/сутки.

***Нормой суточного выделения кальция считается 0,1-0,3 г/сутки.***

***Повышенное выделение кальция с мочой*** отмечается при:

- значительном увеличении его содержания в пище;
- передозировке витамина Д;
- распаде костной ткани (гиперпаратиреоз, миеломная болезнь, костные опухоли).

***Пониженное выделение кальция с мочой*** наблюдается при:

- нефрите;
- гипопаратиреозе;
- гипотиреозе;
- рахите.

**Бикарбонаты** – кислые соли угольной кислоты, принимающие участие в поддержании постоянства рН крови.

Количество выделяемых с мочой бикарбонатов зависит от рН мочи и может колебаться в значительных пределах. ***Нормой выделения считается при:***



- рН мочи 5,6-0,5 ммоль/л;
- рН мочи 6,6-6,0 ммоль/л;
- рН мочи 7,8-9,3 ммоль/л.

*Количество бикарбонатов в выделяемой моче повышается при алкалозе (щелочной реакции) и понижается при ацидозе (кислой реакции мочи).*

### **Неорганический осадок.**

*Неорганизованный (неорганический) осадок* состоит из солей и кристаллических образований, встречающихся в нормальной и патологической моче. *Неорганический осадок не имеет большого клинического значения*, так как очень часто зависит от характера питья и питания.

**Оксалаты** выявляются при кислой реакции, при диете, содержащей капусту, ревень; при тяжелых хронических заболеваниях почек, диабете, нарушении обмена кальция, отравлении этиленгликолем, резекции тонкой кишки.

**Аморфные фосфаты** выявляются при щелочной реакции, при фруктовой диете, долгом стоянии мочи, цистите.

**Мочекислый аммоний** выявляется при щелочной реакции, при цистите с аммиачным брожением в мочевом пузыре.

**Трипельфосфаты** выявляются при щелочной реакции, при обильном приеме растительной пищи, минеральной воды, при долгом стоянии мочи, при циститах.

### **Органический осадок.**

*Органический осадок в моче выявляется реже, чем неорганический.*

**Мочевая кислота** выявляется при кислой реакции, после продолжительной физической нагрузки, при употреблении исключительно мясной пищи, при мочекислых диатезах, лейкозах, при применении цитостатиков, лихорадочных состояниях, гиповолемии (поносы, рвота, чрезмерная потливость).

**Ураты** выявляются при кислой реакции, у больных подагрой, при злокачественных опухолях, при применении цитостатиков, обширных ожогах, лихорадочных состояниях, гиповолемии (поносы, рвота, чрезмерная потливость), почечной недостаточности.

**Холестериновые конкременты** выявляются при тяжелой инфекции мочевыводящих путей, нефрите, амилоидной и липоидной дистрофии почек, новообразованиях, абсцессе почек.

**Цистиновые конкременты** выявляются при цистинурии и гомоцистинурии.

**Гематоидин** выявляется при кровотечениях из мочевыводящих путей (мочекаменная болезнь, новообразования мочевого пузыря, почек, абсцесс почек, простаты).

## ОСНОВНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И МОЧИ, ИХ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

**Таблица 13. Биохимические константы крови и мочи в норме и при патологиях**

Название анализа	Норма	Некоторые типичные отклонения при различных заболеваниях.
1	2	3
Глюкоза в сыворотке крови	3,3 – 5,5 ммоль/л 59 – 99 мг/дл; старше 60 лет 4,6-6,1 ммоль/л	<p>Это один из основных биохимических показателей.</p> <p><u>Увеличение</u> этого показателя (гипергликемия): бывает инсулярная - связанная с нарушением функции поджелудочной железы при: сахарном диабете, остром панкреатите (исчезают после затихания процесса в поджелудочной железе), панкреатических циррозах; экстраинсулярная – 1) алиментарная гипергликемия после обильного приема с пищей углеводов, 2) центрального генеза (нервная) – эмоциональная (при сильном психологическом возбуждении), действие токсических и механических раздражителей на центральную нервную систему (при травмах, опухолях мозга, эпилепсии, менингите, наркозе, токсикозах, отравлениях окисью углерода, эфиром, ртутью), 3) гормональная (при повышенной секреторной деятельности щитовидной железы, коры и мозгового слоя надпочечников, длительном лечении кортикостероидами), 4) печеночная (при патологии печени).</p> <p><u>Уменьшение</u> показателя (гипогликемия) наблюдается при: 1) передозировке инсулина (лечение сахарного диабета), 2) заболеваниях почек, когда нарушается процесс реабсорбции в канальцах, 3) плохом всасывании углеводов вследствие заболеваний тонкого кишечника, 4) иногда при сердечной недостаточности, 5) при недостаточной деятельности щитовидной железы, гипопифиза, коры и мозгового слоя надпочечников, 6) сплено-мегалии у детей, 7) повреждениях паренхимы печени, отравлении фосфором, бензолом, хлороформом (нарушение гликогенолиза печеночного типа), 8) гиперфункции островков Лангерганса поджелудочной железы (аденомы, гиперплазии, гипертрофии), 9) при несбалансированной диете (неправильном соотношении пищевых веществ), от недоедания и голода – алиментарная гипогликемия, 10) при инфекционных заболеваниях, 10) после больших потерь крови.</p>

<p>Тест толерантности к глюкозе</p>		<p>Для выявления латентного диабета следует использовать пробу с нагрузкой глюкозой – тест толерантности к глюкозе, который показывает способность организма использовать вводимую глюкозу.</p> <p><u>Показания для проведения теста:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Клинические признаки сахарного диабета, тощаковый уровень глюкозы в норме и отсутствии ее в моче.</li> <li>2. Однократная или постоянная глюкозурия без клинических проявлений сахарного диабета при нормальном тощаковом уровне глюкозы в крови.</li> <li>3. Лицам с семейным предрасположением к сахарному диабету, но не имеющим его явных признаков.</li> <li>4. Наличие глюкозы в моче на фоне: беременности, тиреотоксикоза, заболеваний печени, нарушения зрения неясной этиологии.</li> </ol> <p><u>Тест проводится</u> в присутствии лечащего врача после предварительной оценки постпрандиальной гипергликемии. Перед проведением теста за три дня отменяют все лекарственные препараты, способные повлиять на результат анализа: салицилаты, оральные контрацептивы, кортикостероиды, эстрогены, аскорбат, никотиновую кислоту. Для исследования у больного натощак утром берут первую пробу крови, потом он принимает 50 г глюкозы, растворенной в 300 мл воды (или 75 г – в 200 мл), для детей доза глюкозы определяется из расчета 1,75 г на 1 кг массы тела. Затем в течение 2 часов берут кровь и исследуют в ней содержимое глюкозы. Кровь берут 5 раз – натощак, через 30, 60, 90, 120 минут после дачи глюкозы (или 2 раза – через 1 и 2 часа после приема глюкозы).</p> <p>Первый подъем уровня сахара после введения глюкозы отражает силу рефлекторного раздражения симпатических нервов, возникающую после попадания глюкозы в пищеварительный канал. Дальнейшее повышение концентрации глюкозы, как правило, зависит от быстроты всасывания углеводов, функции печени и всех остальных периферических органов. У здорового человека содержание сахара в крови через час после нагрузки глюкозой достигает максимума и на 30-50% превышает уровень сахара в крови натощак, не превышая, однако, сахарный порог (9-10 ммоль/л). Нисходящее колено гликемической кривой отражает продукцию инсулина и зависит от состояния парасимпатической системы, функции поджелудочной железы, печени</p>
-------------------------------------	--	---

и других органов. Этот отрезок называется гипогликемическая фаза. Последняя точка на гликемической кривой, определяемая через 2 часа после приема глюкозы, зависит от равновесия всех участвующих систем и в норме должна совпадать с цифрой содержания глюкозы в крови натощак. При латентном диабете сахар в крови натощак может быть в норме, но через час после приема глюкозы уровень повышается на 80-100% и более, а через 2 часа не приходит к исходным показателям.

Повышенная толерантность к глюкозе характеризуется: низким уровнем глюкозы натощак, понижением уровня глюкозы по сравнению с нормой после нагрузки глюкозой, выраженной гипогликемической фазой. Повышение толерантности наблюдается при низкой скорости всасывания глюкозы в кишечнике, обусловленной его заболеванием, гипотиреозе, гипофункции надпочечников, избыточной секреции инсулина поджелудочной железой (инсулома и др.). Пониженная толерантность к глюкозе характеризуется: повышением уровня глюкозы в крови натощак, ненормально высоким максимумом кривой, замедлением кривой снижения уровня глюкозы в крови. Понижение толерантности наблюдается при неспособности организма утилизировать глюкозу (различные формы сахарного диабета), тиреотоксикозе, гиперфункции надпочечников, поражении гипоталамической области, язвенной болезни 12-перстной кишки, беременности, общей интоксикации при инфекционных заболеваниях, поражении почек.

#### **Типы гликемических кривых:**

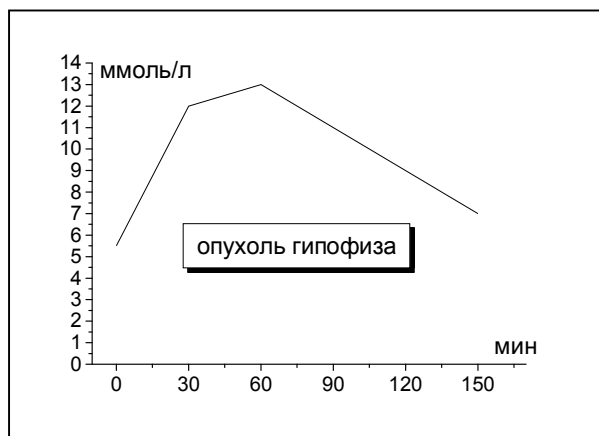
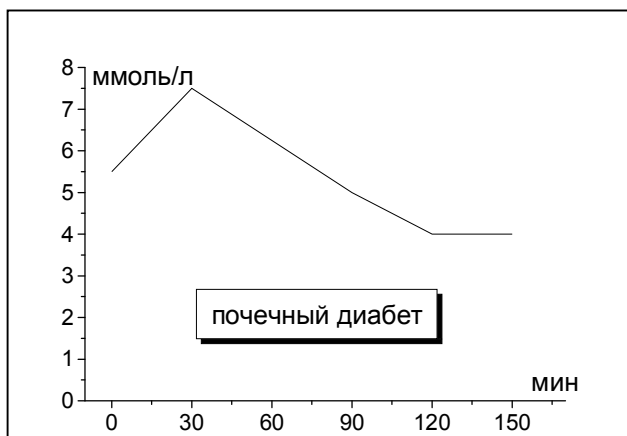
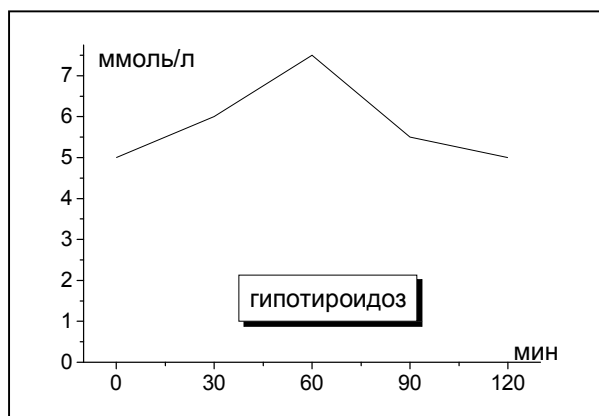
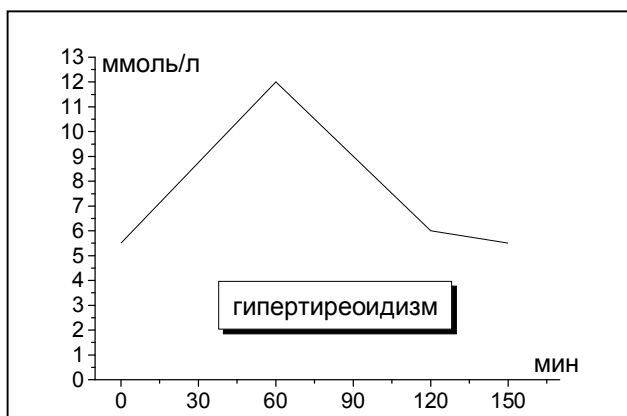
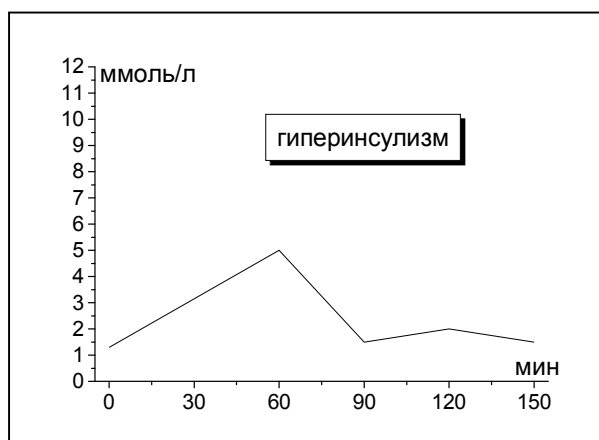
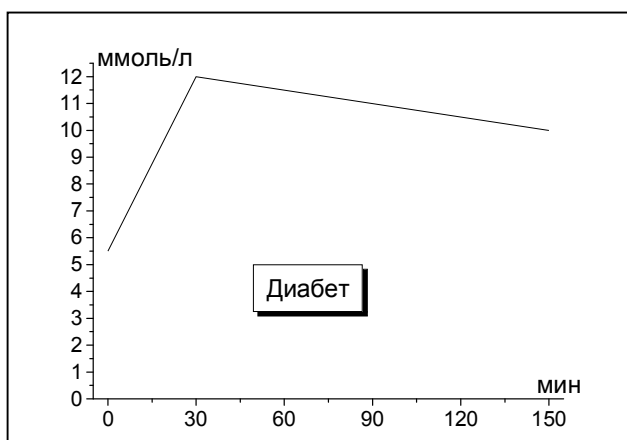
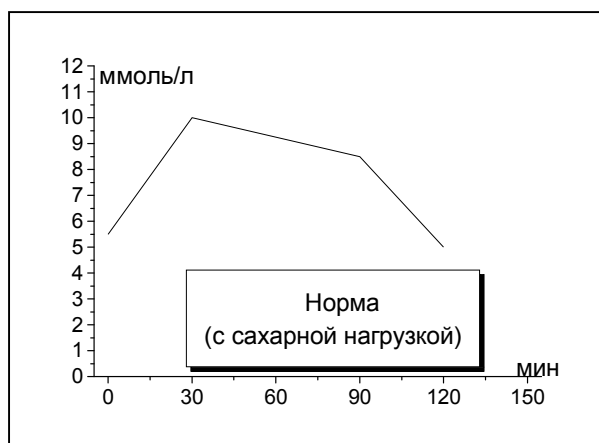
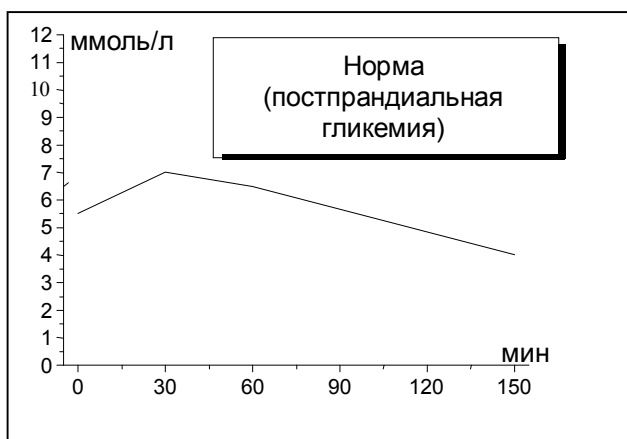
Нормогликемический тип. Натощак – 5,5 ммоль/л (3,9-6,0): через 30 мин – 7,7 (6,6-9,4): через 60 мин – 7,2 (5,5-8,3): через 90 мин – 6,7 (5,5-7,2): через 120 мин – 5,5 (3,9-6,0). Изменение одного показателя значения не имеет, но если глюкоза повышена более чем в 2 раза через 30-60 мин - это свидетельствует о патологии печени, латентном диабете.

Сомнительный тип. Изменение двух показателей 5,7 (3,7-6,4) – 8,4 (7,9-8,8) – 7,4 (6,5-8,1) – 6,9 (6,0-7,7) – 5,2 (4,4-6,3). Нужно дополнительное исследование.

Гиперактивность инсулярного аппарата: 3,6 (3,0-4,6) – 4,6 (4,0-6,0) – 4,0 (2,4-2,5) – 3,8 (2,5-4,0) – 2,4 (2,3-3,7).

Гипоинсулинемический и диабетический тип. Повышено более трех показателей: 6,0 (5,4-7,50) – 10,6 (8,6-16,2) – 9,0 (7,7-14,8) – 7,4 (6,9-11,3) – 6,3 (2,9-7,3).

## Кривые сахара после нагрузки 50г глюкозы: норма и патологии



**Продолжение таблицы 13**

1	2	3
Галактоза в сыворотке крови и моче	0,11-0,94 ммоль/л, 0,02-0,17 г/л; в моче не определяется (менее 0,08 ммоль/сут)	<u>Повышение</u> показателя в сыворотке крови – у недоношенных детей, в поздние сроки беременности, в период лактации. При врожденной галактоземии значительно увеличивается в крови и моче (обнаружение галактозы в моче у детей – патогномоничный признак этого заболевания). Нагрузка галактозой используется для определения функционального состояния печени. Проба считается положительной при выделении с мочой более 3г галактозы и наблюдается при острых гепатитах, особенно болезни Боткина.
Лактоза в сыворотке крови и моче	Менее 5 мг/л; в моче 120-400 мг/л; в женском молоке 75г/л	Дисахарид лактоза синтезируется в молочной железе и состоит из остатков Д-галактозы и Д-глюкозы. В моче лактоза появляется в поздние сроки беременности, в период лактации, при врожденном нарушении толерантности к лактозе, при высоком содержании молока в пище.
Сахароза в сыворотке крови и моче	Около 1,75 мкмоль/л; в моче – 64,26 мкмоль/л	Дисахарид сахароза синтезируется с участием УДФ-глюкозы и фруктозо-6-фосфата. <u>Повышение</u> содержания в моче (сахарозурия): при наследственном усилении синтеза сахарозы в организме (редкая аномалия обмена), врожденном нарушении толерантности к лактозе. Пробой на сахарозу пользуются при отрицательной реакции мочи на сахар.
Фруктоза в сыворотке крови и моче	5,55-277,5 мкмоль/л, 10,0-50,0 мг/л в моче менее 333,0 мкмоль/сут	Моносахарид фруктоза (левулеза) входит в состав ди-, олиго- и полисахаридов. <u>Повышается содержание</u> в сыворотке крови при наследственном нарушении толерантности к фруктозе, эссенциальной фруктозурии, заболеваниях печени. Выделение с мочой увеличивается при сахарном диабете, поражениях печени. У детей фруктозурия может быть при диспепсиях, токсикозах, экссудативном диатезе. Нагрузочная проба с фруктозой используется для выявления нарушений метаболизма фруктозы и поражений печени. После нагрузки фруктозой при гликогенозе I типа содержание в сыворотке крови снижается.
Пентозы в сыворотке	25,0 мг/л; в моче не определяются	Моносахариды, важнейшими из которых являются рибоза и дезоксирибоза нуклеиновых кислот. <u>Пентозурия</u> может носить алиментарный характер (упот-

крови и моче	(13,3-33,3 мкмоль/(кг:сут))	ребление большого количества плодов и ягод), наблюдаться при тяжелом сахарном диабете, некоторых интоксикациях, наследственных заболеваниях (эссенциальная пентозурия), циррозе печени.
Гексозы в сыворотке крови	5,8-6,6 ммоль/л, из них связанных с серомукоидом 1,2-1,6 ммоль/л	Гексозы – один из углеводных компонентов гликопротеинов. Определение в сыворотке гексоз, связанных с белками – показатель общего количества гликопротеинов, растворимых в хлорной кислоте (количества серомукоидов). <u>Увеличение</u> содержания – при воспалительных заболеваниях (острый гломерулонефрит, острый гепатит, активный туберкулез, бронхоэктатическая болезнь, эндокардит), <u>снижение</u> – при липоидном нефрозе.
Гликоген в крови	Взрослые: 16,2-38,7 мг/л, дети – несколько ниже	Почти весь гликоген крови находится в лейкоцитах, но основное депо в организме – печень и мышцы. Большое клиническое значение имеет цитохимическое определение гликогена в клетках крови, костного мозга, печени. <u>Повышается</u> уровень при ряде инфекционных заболеваний, болезнях системы крови, сопровождающихся высоким лейкоцитозом, гепатолентикулярной дегенерации, диабете, злокачественных новообразованиях. <u>Снижается</u> – при острых гепатитах у детей. Гликогенозы (наследственные нарушения обмена гликогена) связаны с дефектами ферментов, участвующих в обмене гликогена. Описаны восемь типов гликогенозов, из которых наиболее распространен I тип (болезнь Гирке, обусловленная дефицитом глюкозо-6-фосфатазы). Наследственный агликогеноз связан с дефектом фермента гликогенсинтетазы.
Пировиноградная кислота (пируват) в крови, спинно-мозговой жидкости и моче	Кровь: 46-114 мкмоль/л, СМЖ: 60-190 мкмоль/л, моча: 0,5-1,0 ммоль/сут	Продукт гликолитического распада глюкозы. <u>Увеличение</u> содержания пирувата наблюдается при гиповитаминозе В <sub>1</sub> (болезнь бери-бери), гепатитах, сердечной недостаточности, уремии, сахарном диабете (особенно при диабетическом кетоацидозе), гепатоцеребральной дистрофии, рассеянном склерозе, недостаточности пируватдекарбоксилазы, дыхательном алкалозе, отравлениях мышьяком, препаратами ртути.
Молочная кислота (лактат) в сыворотке	Кровь: 0,63 – 2,24 ммоль/л,	Конечный продукт гликолитического распада глюкозы (метаболический тупик, вновь вступает в обмен через обратное преобразование в пируват). Интенсивные и длительные мышечные нагрузки,

ке крови, спинно-мозговой жидкости	СМЖ: 0,84-2,36 ммоль/л	как при физических, так и при патологических состояниях (эпилепсия, тетания, столбняк и др. судорожные состояния) приводят к резкому <u>повышению</u> концентрации молочной кислоты. Увеличение содержания лактата наблюдается при повышенном внутричерепном давлении, геморрагических инсультах, внутричерепных кровоизлияниях, травмах, абсцессах мозга, рассеянном склерозе, менингитах, опухолях центральной нервной системы, а также при острых гепатитах, циррозе печени, хроническом алкогольном гепатите, инфекциях, пиелонефрите, полиомиелите, подостром септическом эндокардите, шоке, уремии, злокачественных новообразованиях, раке желудка, непроходимости привратника, гипоксиях, связанных с сердечной и легочной недостаточностью, анемиях, нарушениях кровообращения, гликогенозах, отравлениях ацетилсалициловой кислотой, метанолом, этанолом, изониазидом.
Мукопротеины в сыворотке крови	0,40-0,75 г/л	Прочные соединения углеводов с полипептидами (резус-фактор, эритропоэтин, $\alpha$ -глобулины и т.п.). <u>Увеличение</u> показателя наблюдается при инфекциях, злокачественных новообразованиях, ревматизме; <u>снижение</u> – при болезнях печени, лечении кортикоидами или АКТГ.
Мукопротеины в моче	Муж: 156 мг/сут; жен: 111 мг/сут	Кислые гликопротеины, состоящие из углеводных и белковых компонентом. <u>Физиологическое увеличение</u> показателя – в поздние сроки беременности, <u>снижение</u> – в пожилом возрасте. <u>Повышение</u> уровня – при ряде заболеваний легких (пневмония, туберкулез, бронхиальная астма, абсцесс), инфаркте миокарда, раке желудка. <u>Понижение</u> – при амилоидном нефрозе, сахарном диабете, эмфиземе легких.
Глюкозаминогликаны в сыворотке крови	4,8-8,4 мг/глюкуроновой кислоты, 2,19 $\pm$ 1,16 мг/г креатинина	Углеводный компонент протеогликанов, входящий в состав межклеточного вещества соединительной ткани. <u>Повышается</u> уровень в крови при острых воспалительных процессах, острых гепатитах, циррозе печени, амилоидозе почек, активном хроническом гепатите, особенно билиарном циррозе; <u>снижается</u> – при ревматоидном артрите.
Глюкозаминогликаны	отрицательно	Состоят из производных гексозаминов и гексурановой кислоты, входят в состав углеводно-белковых комплексов (протеогликанов) соединительной ткани.



в моче		<p><u>Повышается</u> содержание в моче при врожденной патологии (мукополисахаридозы), заболеваниях почек с мукопротеинурией, ревматоидном артрите, СКВ, склеродермии, синдроме мальабсорбции с остеомалацией, злокачественных новообразованиях с обширными метастазами. С целью пренатальной диагностики мукополисахаридозов показан амниоцентез во II триместре беременности.</p> <p>Лабораторная диагностика типа глюкозаминогликана очень сложна. В обычной практике используется определение коэффициента К/О (см. гексуроновые кислоты) и подобные методы.</p>
Глюкозамин в сыворотке крови	<p>Взрослые: 3,4-4,35 ммоль/л, дети: 2,9-3,85 ммоль/л</p>	<p>Относится к аминасахарам, входит в состав гепарина, гиалуриновой кислоты.</p> <p>Меняется содержание глюкозамина при нарушениях в свертывающей системе, в высокой степени - при некоторых инфекционных заболеваниях.</p>
Глюкуроновая кислота в сыворотке крови	<p>61,8-66,9 ммоль/л, 12,0-13,0 мг/л</p>	<p>Компонент ряда глюкозаминогликанов.</p> <p><u>Увеличение</u> уровня – при заболеваниях печени, почек, в меньшей степени – при ревмокардите и раке.</p>
Гексуроновые кислоты в моче	<p>Взрослые: 2,4-3,9 мг/дл, дети 10-15 лет: 5-10 мг/дл</p>	<p>Компонент глюкозаминогликанов мочи. <u>Увеличение</u> выведения с мочой – при ревматизме, склеродермии, мукополисахаридозах.</p> <p>Для диагностики отдельных форм мукополисахаридозов определяют коэффициент К/О – отношение количества гексуроновых кислот, определенного карбазоловым методом, к их количеству, определенному орциновым методом. <u>Коэффициент К/О возрастает</u> при болезни Гурлера (гаргоилизм), <u>снижается</u> при болезни Хантера. Для дифференциальной диагностики между болезнью Моркио и гаргоилизмом используют определение в моче кератансульфата.</p>
Серомукоиды в сыворотке крови	<p>0,22-0,28 г/л, 0,13-0,20 условных единиц</p>	<p>Глюкопротеины с кислотными свойствами.</p> <p><u>Повышается</u> показатель при всех воспалительных и некро-биотических процессах: у больных инфарктом миокарда, желтушным синдромом (особенно на почве новообразования), злокачественными опухолями, при обострении хронического холецистита, при деструктивной форме туберкулеза легких, ревматизме, ревмокардите, мозговом инсульте, полиартритах, стрессе. <u>Понижается</u> содержание серо-</p>

		<p>мукоидов в случае гепатоцеребральной дистрофии, гепатитов, цирроза печени, рассеянного склероза.</p> <p>Диагностическое значение близко к другим гликопротеинам (см. гексозы, сиаловые кислоты).</p>
Нейраминавая кислота в сыворотке крови	2101,5 мкмоль/л	<p>Производное аминсахаров, входит в состав гликопротеинов, белков сыворотки крови и других соединений; ее уксусные и другие эфиры – сиаловые кислоты.</p> <p>Клиническое значение очень близко к сиаловым кислотам.</p>
Сиаловые кислоты в сыворотке крови	1,8-2,5 2,0-2,33 ммоль/л	<p>N-ацетил и N-гликозилпроизводные нейраминовой кислоты, входящей в состав гликопротеидов, гликолипидов, белков сыворотки крови.</p> <p><u>Нарастание</u> уровня сиаловых кислот наблюдается при активном ревматизме, инфекционных заболеваниях, аллергических состояниях, туберкулезе, некротических процессах, опухолях головного мозга и других локализациях, лейкемии, остеомиелите, лимфогранулематозе, нефрозе, инфаркте миокарда, эндокардите, недостаточности кровообращения II и III степени. Их концентрация увеличивается при заболеваниях, связанных с поражением паренхимы печени, коллагенозах, эритродермии, ретикулезах и некоторых других заболеваниях, протекающих с деструкцией соединительной ткани. <u>Снижение</u> содержания сиаловых кислот отмечено при циррозе печени, пернициозной анемии, гемохроматозе, болезни Вильсона-Коновалова, дегенеративных процессах ЦНС. С возрастом содержание сиаловых кислот в крови увеличивается. В моче сиаловые кислоты обнаруживаются лишь при протеинурии.</p>
Общий белок в крови	65-85 г/л У детей до 6 лет 56-85 г/л	<p><u>Увеличение</u> содержания (гиперпротеинемия) наблюдается при сгущении крови из-за значительной дегидратации организма (профузные поносы, несахарный диабет, усиленное потоотделение, неукротимая рвота, непроходимость кишечника, генерализованный перитонит, холера, тяжелые ожоги, лишение воды), миеломной болезни и болезни Вальденстрема (повышенное образование патологических белков). Незначительная гиперпротеинемия встречается при хроническом полиартрите и некоторых хронических процессах.</p> <p><u>Гипопротеинемия</u> наблюдается при:</p> <p>1) недостаточном поступлении белка пищи (недое-</p>

		<p>дание, голодание, опухоли и сужения пищевода, нарушение функции желудочно-кишечного тракта с ухудшением переваривания и всасывания белковых компонентов пищевых продуктов при продолжительных воспалительных процессах кишечника);</p> <p>2) понижении процессов биосинтеза белка (острые и хронические паренхиматозные гепатиты, сопровождающиеся выраженными цирротическими изменениями и интоксикацией от некоторых химических веществ при острых и хронических заболеваниях, длительных нагноительных процессах);</p> <p>3) повышенной потере белка на фоне: заболеваний почек, злокачественных опухолей, тяжелых тиреотоксикозов, острых и хронических кровотечений, резко увеличенной проницаемости капиллярных стенок и кровоизлияний (увеличения абсолютного содержания альбуминов при этом, как правило, не наблюдается).</p>
<p>Белковые фракции в сыворотке крови</p>	<p>Альбумины муж 48,9-61,7 % (жен 48,8-54,6%);</p> <p>глобулины 38,3-51,1% (45,7-51,5%):</p> <p><math>\alpha_1</math>- 3,0-5,4% (4,5-6,6%),</p> <p><math>\alpha_2</math>- 5,6-11,0% (8,0-11,0%),</p>	<p>В целом <u>снижение</u> уровня <u>альбуминов</u> (если исключить неполноценное питание, нарушение всасывания в кишечнике, большую потерю белка) чаще свойственно выраженному нарушению функции печени. Наиболее сильное снижение альбуминов бывает при портальном циррозе и жировой дистрофии печени.</p> <p>Глобулины: уровень <u><math>\alpha_1</math>-глобулинов</u> <u>повышается</u> при воспалительных процессах инфекционного и аллергического происхождения, поражении печени и всех процессах тканевого распада или клеточной пролиферации. <u>Снижается</u> – при эмфиземе.</p> <p>Уровень <u><math>\alpha_2</math>-глобулинов</u> <u>повышается</u> при всех видах острых воспалительных процессов, особенно с выраженным экссудативным и гнойным характером (пневмония, эмпиема плевры и др.), болезнях, связанных патологией системы соединительной ткани (коллагенозы, аутоимунные заболевания, ревматизм). <u>Снижается</u> – при гипопротеинемии, токсических гепатитах, врожденной желтухе механического происхождения у новорожденных и др.</p> <p><u>Повышение</u> уровня <u><math>\alpha_1</math>- и <math>\alpha_2</math>-глобулинов</u> часто отмечается при воспалительных процессах с одновременным снижением концентрации <math>\beta</math>-глобулинов.</p> <p>Уровень <u><math>\alpha</math>- и <math>\beta</math>-глобулинов</u> обычно <u>повышается</u> при холестазах, нефротическом синдроме.</p>

	<p><math>\beta</math>- 11,1-12,7% (11,5-14,1%)</p> <p><math>\gamma</math>- 19,8-20,6% (18,8-20,5%)</p>	<p>Уровень <u><math>\beta</math>-глобулинов</u> <u>повышается</u> при расстройстве липидного обмена, заболеваниях печени, диабете нефротическом синдроме, железодефицитных анемиях, гипотиреозе, приеме эстрогенов, беременности. <u>Снижается</u> – при циррозе печени.</p> <p><u><math>\gamma</math>-глобулины</u> – белковые фракции, содержащие антитела – иммуноглобулины классов G, A, M, D, E. Основная функция – поддержание гуморального иммунитета и реакций гемостаза, в частности, участие в реакциях формирования групповой принадлежности. <u>Повышается</u> показатель при патологических состояниях, связанных с интенсификацией иммунологических процессов. Увеличение уровня <math>\gamma</math>-глобулинов обусловлено повышенной продукцией иммуноглобулинов и наблюдается при острых и хронических бактериальных, грибковых и паразитарных инфекциях, хроническом гепатите, циррозе печени, токсическом поражении печени, гемолитической желтухе, злокачественных заболеваниях крови, некоторых опухолях, бронхиальной астме, ИБС, коллагенозах. Повышение <math>\gamma</math>-глобулинов может наступать за счет образования патологических белков – парапротеинов, относящихся к иммуноглобулинам. Парапротеины встречаются при миеломной болезни, макроглобулинемии Вальденштрема, хроническом лимфолейкозе, эндотелиомах, остеосаркоме.</p> <p><u>Гипогаммаглобулинемии</u> могут носить врожденный характер, могут быть обусловлены наличием различных заболеваний или патологических состояний, сопровождающихся истощением иммунной системы. Снижение уровня <math>\gamma</math>-глобулинов: при длительных хронических инфекциях, сепсисе, лечении цитостатиками, глюкокортикоидами, лучевой болезни, лучевой терапии, злокачественных опухолях, нарушении образования иммуноглобулинов, недостаточном количестве белка в пище, длительном голодании.</p> <p>Первичные гипогаммаглобулинемии делятся на физиологическую (у детей 3-5 месяцев), врожденную (агаммаглобулинемия) и идеопатическую. Вторичные бывают при истощении иммунной системы. К таким заболеваниям относятся злокачественные опухоли, хронические воспалительные процессы, аллергические заболевания.</p>
--	--	--

Таблица 14. Содержание иммуноглобулинов при различных заболеваниях

	Нозология	Jg А	Jg М	Jg G
1	Острый инфекционный гепатит	Н	↑↑↑	↑↑↑
2	Хронический гепатит	Н	Н, ↑	↑↑
3	Механическая желтуха	↑↑↑	Н	Н
4	Цирроз постинфекционный	Н	↑	↑↑↑
5	Алкогольный цирроз	Н, ↑	↑	↑↑↑
6	Ревматоидный артрит	↑↑	↑↑↑	Н
7	Системная красная волчанка	Н	Н	↑↑↑
8	Инфаркт миокарда	Н	↑↑	↑↑↑
9	Гломерулонефрит	↑↑↑	Н	Н
10	Нефроз, энтеропатия с потерей белка	↓↓	↓↓	↓↓↓
11	Гипоплазия костного мозга, миелолейкоз, метастазы, опухоли лимфоидной системы, лимфолейкоз	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓
12	Миеломы	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑
13	Гипогаммаглобулинемия	↓↓	Н	↓↓
14	Острая инфекция	Н	↑↑	Н
15	Хронические инфекции: А) инфекционный агент в крови или внутренних органах; Б) инфекционный агент, персистирующий на слизистых респираторного или желудочно-кишечного тракта; В) бактерионосительство	Н	↑↑	↑
		↑↑	Н	↑↑
16	Сифилис	↑↑	Н, ↑	↑↑
17	Менингококковая инфекция	Н	Н	↓↓
18	Малярия	Н	↑↑↑	↑
19	Паротит	↑	↑↑↑	↑
20	Сывороточный гепатит	Н	Н	↑↑↑
21	Новообразование печени	↑↑↑	Н	Н
22	Неспецифический язвенный колит	↑↑	Н	↑↑
23	Тиреоидит, болезнь Аддисона	Н	Н	↑↑↑
24	Гипертоксиоз, кахексия, лечение антибиотиками и цитостатиками	↓↓	↓↓	↓↓↓
25	Агаммаглобулинемия	О	О	О
26	Гемолитическая анемия	↓↓	↓↓	↓↓
27	Стенокардия	Н	Н	↑

Примечание: Н – норма, О – полное отсутствие, ↓ - снижение, ↑ - подъем

Белковые фракции сыворотки крови разделяют с помощью различных вариантов электрофореза и определяют на электрофореграммах.

**Типы электрофореграмм:**

1. ***Острого воспалительного процесса.*** Характеризуется выраженным уменьшением содержания альбуминов и возрастанием  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -глобулинов: в более поздние стадии обычно отмечается увеличение  $\gamma$ -глобулинов. Этот тип электрофореграмм характерен для начальных стадий пневмонии, острых полиартритов, экссудативного туберкулеза легких, острых инфекционных заболеваний, сепсиса, обширного свежего инфаркта миокарда.
2. ***Подострого хронического воспаления.*** Характеризуется умеренным уменьшением альбуминов и выраженным увеличением  $\alpha_2$ - и  $\gamma$ -глобулинов. Этот тип характерен для поздних стадий пневмонии, хронического туберкулеза легких, хронического эндокардита, холецистита, цистита, пиелита.
3. ***Нефротического симптомокомплекса.*** Характеризуется значительным уменьшением альбуминов, повышением  $\alpha_2$ - и  $\beta$ -глобулинов при умеренном снижении уровня  $\gamma$ -глобулинов. Этот тип характерен для липоидного нефроза, нефросклероза, токсикозов беременности, терминальных стадий туберкулеза легких, кахексий и других заболеваний.
4. ***Злокачественных новообразований.*** Характеризуется резким снижением содержания альбуминов при значительном увеличении всех глобулиновых фракций. Наиболее высокого подъема достигает фракция  $\beta$ -глобулинов. Этот тип электрофореграмм обнаруживается при метастатических новообразованиях с различной локализацией первичной опухоли.
5.  ***$\gamma$ -глобулиновых плазмацитом.*** Характеризуется значительным уменьшением содержания альбуминов,  $\alpha_2$ - и  $\beta$ -глобулинов при увеличении  $\gamma$ -глобулинов. Этот тип электрофореграмм характерен для  $\gamma$ -плазмацитом, макроглобулинемии и некоторых ретикулезозов.
6.  ***$\beta$ -глобулиновых плазмацитом.*** Характерно уменьшение альбуминов и большинства глобулиновых фракций. Только фракция  $\beta$ -глобулинов претерпевает избирательное увеличение. Данный тип фореграмм присущ  $\beta$ -плазмацитомам,  $\beta$ -плазмноклеточной лейкемии и макроглобулинемии Вальденштрема.
7. ***Гепатитов.*** Ему свойственно умеренное уменьшение содержания альбуминов, увеличение уровня  $\gamma$ -глобулинов, а также некоторое увеличение  $\beta$ -глобулинов. Этот тип характерен для гепатитов, последствий токсического повреждения печени, гемолитических процессов, некоторых форм полиартритов и дерматозов, некоторых лейкемий и злокачественных новообразований кроветворного и лимфатического аппарата.

8. **Цирроза печени.** Характеризуется значительным снижением содержания альбуминов при сильном увеличении  $\gamma$ -глобулиновой фракции. Этот тип фореграмм выявляется при циррозах печени, тяжелых формах туберкулеза легких, некоторых формах хронического полиартрита и коллагенозов.
9. **Механической желтухи.** Отмечается уменьшение уровня альбуминов, умеренное увеличение содержания  $\alpha_2$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулинов. Этот тип фореграмм характерен для обтурационной желтухи, для желтух, вызванных развитием рака желчевыводящих путей и головки поджелудочной железы, что приводит к механическому препятствию оттока желчи.

Продолжение таблицы 13

1	2	3
Альбумин в сыворотке крови	35-53 г/л	<p><u>Увеличение</u> содержания альбумина наблюдается при гипогидратации, приеме анаболических стероидов. <u>Уменьшение</u> показателя вызывают – врожденная альбуминемия, анальбуминемия, ожоги, квашиоркор, алиментарная дистрофия, гепатит, цирроз печени, некроз паренхимы печени, гепатокардиальный синдром, кахексия, инфекции, панкреатит, нефротический синдром, муковисцидоз, сахарный диабет, тиреотоксикоз, болезнь Иценко-Кушинга, гиперкортицизм, травмы, хронические заболевания кишечника, патологическое распределение жидкости после операций, асцит.</p> <p>Для прогноза неблагоприятно понижение содержания, повышение указывает на выздоровление.</p>
Кислый $\alpha_1$ -гликопротеид в сыворотке крови	<p>муж 0,5-1,3 г/л жен 0,4-1,2 г/л</p>	<p>Кислый <math>\alpha_1</math>-гликопротеид (орозомукоид) относится к белкам «острой фазы». <u>Повышение</u> уровня наблюдается при острых инфекциях и воспалении, системных ревматических заболеваниях, миеломе, острой малярии, инфаркте миокарда, болезни Ходжкина, приеме эстрогенов. <u>Понижение</u> – при нефротическом синдроме, беременности – до 25%.</p>
$\alpha_1$ -анти трипсин в сыворотке крови		<p><math>\alpha_1</math>-антитрипсин или <math>\alpha_1</math>-протеиназный ингибитор – белок «острой фазы». <u>Повышается</u> содержание при острых инфекциях и воспалениях, прогрессирующих злокачественных опухолях (особенно с метастазами в печень), острой малярии, лечении анаболическими стероидами, при беременности – до 100%. <u>Снижение</u> уровня наблюдается вследствие наследственной недостаточности, а также при ювенильном циррозе, эмфиземе легких, приеме тестостерона.</p>
С-реак-	отрицатель-	СРП - белок «острой фазы», при электрофорезе пе-

<p>тивный протеин в сыворотке крови (СРП)</p>	<p>НО (&lt;0,005 г/л)</p>	<p>ремещается с <math>\alpha_2</math>-глобулинами. В крови здоровых людей СРП отсутствует, но обнаруживается при многих патологических состояниях, сопровождающихся воспалением и некрозом тканей. При воспалительных процессах уровень СРП в крови увеличивается в 10-100 раз. Наблюдается только повышенная концентрация, что характерно для острых и хронических бактериальных инфекций (при острых определение полезно для мониторинга эффективности лечения), острой пневмонии, острого инфаркта миокарда (к концу 2-й недели исчезает), эндокардита, острой малярии, панкреатитов, некрозов, активной форма туберкулеза, хронической почечной недостаточности, ревматоидного артрита, подагры, анкилозирующего спондилита, болезни Ходжкина, карциномы и др.</p> <p>В основе метода – давшая название белку реакция неспецифической коаггуляционной преципитации. Ее обнаружили Тиллет и Френсис в крови больных в остром периоде ревматической атаки и при кокковых инфекциях по способности СРП реагировать с соматическим С-полисахаридом пневмококков: слабоположительная (высота преципитата в капилляре 1 мм), положительная (2-3 мм), резко положительная (4 мм). При нефелометрическом или спектрофотометрическом исследовании норма 0,001 г/л.</p>
<p>Ревматоидный фактор (РФ) крови</p>	<p>До титра 1:20</p>	<p>РФ – специфические белки крови, концентрация которых значительно <u>увеличивается</u> при узелковом периартрите, ревматоидном артрите, хроническом гепатите, системной красной волчанке с поражением суставов, саркоидозе, дерматомиозите, бактериальном эндокардите, циррозе печени.</p> <p>По рекомендованной ВОЗ методике (реакцией геммагглютинации) реакция с титром 1:40 и выше считается положительной. РФ может встречаться у практически здоровых людей в 2-5% случаев.</p>
<p><math>\alpha_2</math>-макроглобулин в сыворотке крови</p>	<p>муж: 1,2-2,7 г/л жен: 1,4-3,2 г/л</p>	<p><u>Повышается</u> количество при воспалительных заболеваниях, бронхопневмонии, нефротическом синдроме, заболеваниях печени, сахарном диабете, врожденных пороках сердца, беременности (до 40%). <u>Пониженная</u> концентрация бывает при остром панкреатите, желчно- и почечнокаменной болезни, язве желудка и двенадцатиперстной кишки, опухолях печени, фибринолизе, инфаркте миокарда.</p>



Гапто-глобин в сыворотке крови	тип 1-1: 1,0-2,3 г/л тип 1-2: 0,9-3,8 г/л тип 2-2: 0,7-2,3 г/л	Является белком «острой фазы», представитель фракции $\alpha_2$ -глобулинов. Содержание его <u>повышается</u> при острых воспалительных и системных ревматических заболеваниях, нефротическом синдроме, туберкулезе, ожогах и некрозах тканей, опухолях, болезни Ходжкина. <u>Понижение</u> концентрации наблюдается при наследственной недостаточности, гемолитической анемии, заболеваниях печени, панкреатите, сепсисе, острой малярии.
C <sub>3</sub> -компонент комплемента в крови	0,55-1,20 г/л, в свежих образцах: 0,50-0,92 г/л	Белок «острой фазы», <u>повышается</u> содержание при острых воспалительных процессах. <u>Снижается</u> уровень при хронических инфекциях, гломерулонефрите, наследственной недостаточности, болезнях иммунных комплексов.
C <sub>4</sub> -компонент комплемента в крови	0,20-0,50 г/л, в свежих образцах: 0,11-0,38 г/л	<u>Снижается</u> содержание в случае наследственной недостаточности, наследственного ангионевротического отека, при развитии болезни иммунных комплексов
Церулоплазмин в сыворотке крови	0,2-0,6 г/л 1,3-3,3 ммоль/л	Си-содержащий гликопротеид, антиоксидант, способствует освобождению железа и связыванию его с трансферрином. Относится к фракции $\alpha_2$ -глобулинов. <u>Повышение</u> активности – при острых и хронических инфекционно-воспалительных заболеваниях, сепсисе, болезнях печени (гепатиты, циррозы, механическая желтуха), злокачественных опухолях (лейкозы, меланома, лимфогрануломатоз), пернициозной анемии, шизофрении, сифилисе нервной системы, инфаркте миокарда. <u>Снижение</u> – при хронических заболеваниях печени, гепатоцеребральной дегенерации (болезнь Коновалова-Вильсона), нефротическом синдроме, сепсисе (на стадии катаболических расстройств), перитоните, анемии, синдроме энтеральной недостаточности. Гипоцерулоплазминемия обнаруживается у новорожденных.
Трансферрин в сыворотке крови	муж: 2,3-4,0 г/л жен: 3,0-3,8 г/л	Представитель фракции $\beta$ -глобулинов. <u>Увеличение</u> показателя – недостаток железа, железodefицитные анемии, липоидный нефроз, беременность (до 40%), прием эстрогенов, оральных контрацептивов. <u>Уменьшение</u> – наследственная недостаточность (врожденная атрансферринемия), инфекция, острые воспалительные заболевания, нефроз, хроническая почечная недостаточность, гастроэнтеропатии, ожо-

		ги, злокачественные опухоли, гепатит, квашиоркор, недоедание, гемохроматоз, острая малярия, прием тестостеронов.
Ферритин в сыворотке крови	муж: 21-235 мкг/л жен: 12-150 мкг/л	<u>Увеличение</u> уровня – активация транспорта железа, заболевания печени с угнетением синтеза глобулинов, гемолитическая анемия, сидероахристическая анемия, талассемия, отравление оловом. Менее выражено при легочных инфекциях, остеомиелите, ревматоидном артрите, системной красной волчанке, остром миелобластном и лимфобластном лейкозах, раке молочной железы.
Фибриноген в плазме крови	1,7-4,0 г/л	Этот белок свертывания крови относят к белкам «острой фазы» $\beta$ -глобулиновой фракции. <u>Повышенное</u> содержание бывает при острых воспалительных процессах, гепатитах, обтурационной желтухе, злокачественных новообразованиях, лейкозах, анемии, уремии, нефрозе, ожогах, сердечно-сосудистых заболеваниях (острой (ИМ) и хронической ишемической болезни сердца), приеме оральных контрацептивов. Следует иметь в виду, что гиперфибриногемия не всегда свидетельствует о гиперкоагуляции или склонности к тромбозам. <u>Пониженное</u> содержание – при наследственной недостаточности, афибриногемии, гипофибриногемии, гиперфибринолизе, гемолитическом уремическом синдроме, диссеминированном внутрисосудистом свертывании, циррозе печени, приеме анаболических стероидов, стрептокиназы, урокиназы. Уменьшение содержания фибриногена плазмы (фибриногена А) до уровня ниже 1 г/л служи фактором риска появления кровотечений из сосудов внутренних органов.
Миоглобин в сыворотке крови	35-50 мкг/л	Значительное <u>увеличение</u> концентрации миоглобина крови наблюдается при остром инфаркте миокарда. Миоглобин крови определяют с помощью тест-систем иммуно-ферментного анализа (ИФА). В основе твердофазного ИФА лежит высококонтактное связывание антител к миоглобину с поверхностью полистирена, в результате чего внутренняя поверхность лунок планшета приобретает свойства антигенового сорбента, способного извлекать из биологических жидкостей миоглобин. Образовавшийся комплекс «антиген-антитело» выявляется с помо-

		<p>щью тех же (по специфичности) антител, конъюгированных с ферментом (пероксидазой из корня хрена). Далее ферментативная активность определяется по изменению окраски субстративной смеси. Изменение окраски регистрируется на многоканальном микрофотометре “Мультискан” при длине волны 492 нм. Расчет концентраций миоглобина производится графически по калибровочной кривой, результаты выражаются в нг/мл.</p>
<p>Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК)</p>	<p>1,3-3,5 г/л</p>	<p>Образование ЦИК – это нормальный иммунный ответ на антигенный раздражитель. Большая часть ЦИК быстро удаляется из крови системой моноуклеарных фагоцитов (чем выше фагоцитарная активность (ФАЛ), тем ниже содержание иммунных комплексов). Этот тест позволяет судить о функциональной полноценности системы иммунитета. Следить за уровнем ЦИК в крови необходимо с целью оценки эффективности терапии. С увеличением возраста растет и содержание ЦИК.</p> <p><u>Причины накопления ЦИК:</u> 1. Хронические инфекции 2. Дефективность процесса элиминации иммунных комплексов вследствие расстройства всей системы иммунитета. Накопление ЦИК может привести к различным патологическим состояниям.</p> <p><u>Повышение содержания ЦИК</u> в крови отмечается при новообразованиях, хронических инфекциях, аутоиммунных заболеваниях. Иммуно-комплексная патология развивается при ряде инфекционных, неинфекционных и паразитарных заболеваний. Это - постстрептококковый гломерулонефрит, лепра, лимфаденит, хореоменингит, паразитарные инфекции, острый и хронический гепатиты (в том числе вирусный гепатит В), малярия, токсоплазмоз, лейшманиоз, лейкозы, дерматиты, язвенный колит, тиреоидит Хашимото, ювенильный диабет, атеросклероз. <u>Низкий уровень ЦИК</u> имеется в крови здоровых лиц и свидетельствует об элиминации чужеродных антигенов, продуктов распада тканей в организме.</p> <p>Высокий уровень ЦИК дает возможность предположить, что данный больной подвержен риску возникновения аутоиммунных заболеваний. При повышении уровня ЦИК в 2-4 раза рекомендуется введение препаратов, способствующих выведению ЦИК</p>

		<p>из организма и нейтрализующих их токсическое действие. При снижении уровня ЦИК в 2-4 раза (уменьшении сывороточных иммуноглобулинов и снижении иммунологической реактивности) рекомендованы общеукрепляющие средства: витамины, стимуляторы растительного происхождения. В случае образования ЦИК при наличии инфекции, необходимо устранить её источник.</p> <p>При высокой концентрации иммуноглобулинов, как правило, повышается содержание ЦИК:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. У здоровых людей уровень ЦИК коррелирует с общим количеством иммуноглобулинов.</li> <li>2. При воспалительных процессах наблюдается повышение уровня иммуноглобулинов с одновременным повышением уровня ЦИК.</li> <li>3. При аутоиммунных заболеваниях наблюдается чрезмерное накопление ЦИК, несоответствующее уровню иммуноглобулинов.</li> </ol>
<p>Проба Вельтмана в сыворотке крови</p>	<p>До 5-7-й пробы; 0,4</p>	<p>При заболеваниях печени вырабатываются белки с измененными физико-химическими свойствами, снижается коллоидная устойчивость белков. Такие белки легче выпадают в осадок при действии осадителей. Обнаружить подобное изменение свойств белка можно при помощи проб на коллоидоустойчивость (или осадочных проб): Вельтмана, сулемовой, тимоловой.</p> <p>Реакция может меняться в двух направлениях: в сторону укорочения коагуляционной ленты или её удлинения. <u>Удлинение</u> ленты (снижение показателя) наблюдается при фиброзных и пролиферативных процессах, паренхиматозных повреждениях печени и гемолитических состояниях: болезни Боткина, циррозах печени, малярии, после переливания крови, аутогемотерапии и при многих воспалительных заболеваниях (пневмонии, плеврите, туберкулезе легких). <u>Укорочение</u> коагуляционной ленты (сдвиг влево от 5-ой до 1-ой пробирки) – повышение показателя - обнаруживается при острых воспалительных и экссудативных процессах, когда увеличивается количество <math>\alpha</math>- и <math>\beta</math>-глобулинов в экссудативной фазе ревматизма, активном процессе туберкулеза легких, нефрозах, макроглобулинемии Вальденстрема, <math>\alpha_2</math>- и <math>\beta</math>-плазмацитоме, злокачественных опухолях, экссудативном перитоните, больших потерях жидкости,</p>

		острых инфекционных заболеваниях. Крайнее укорочение коагуляционной ленты наблюдается при остром ревматизме.
Проба сулемовая в сыворотке крови	1,6-2,2 мл	<u>Положительная реакция</u> (снижение величины) наблюдается при ряде патологических состояний: заболеваниях печени (при болезни Боткина сулемовая проба составляет 1 мл, приходя к норме при выздоровлении), хроническом нефрите, нефрозе, пневмонии, туберкулезе легких, силикотуберкулезе, силикозе, миеломной болезни, инфекционных заболеваниях и др. Положительная реакция без повышения температуры свидетельствует о поражении печени. Положительная проба, сопровождающаяся повышенной температурой, наблюдается при хронических инфекционных заболеваниях.
Проба тимоловая в сыворотке крови	0-4 ед.	<u>Повышение</u> тимоловой пробы наблюдается в 90-100% случаев болезни Боткина (уже в преджелтушной ее стадии, при безжелтушной форме) и при токсическом гепатите. Реакция положительна при постгепатитном и при постнекротическом, особенно желтушном циррозе (в отличие от других форм циррозов), холангите, холециститах. При механической желтухе тимоловая проба в 75% случаев отрицательна, что имеет дифференциально-диагностическое значение. При механической желтухе проба становится положительной, если процесс осложняется паренхиматозным гепатитом. Для дифференциации механической желтухи от паренхиматозной большую роль играет проведение тимоловой пробы вместе с пробой Бурштейна (определение ЛПНП турбидиметрическим методом). При паренхиматозной желтухе обе пробы положительны, при механической желтухе тимоловая проба отрицательна (в норме), а проба Бурштейна резко положительна. По данным ряда авторов у 30% больных, перенесших инфекционный гепатит, тимоловая проба повышена в течение полугода после выписки из стационара. Эта коагуляционная проба имеет значение при сепсисе, септическом эндокардите, ревматоидном артрите, ревматической лихорадке, коллагенозах, туберкулезе легких, малярии, лимфогрануломатозе, опухолях, множественной миеломе, тиреотоксикозе, диабете, нефрозах, макроглобулинемии, криоглобулинемии, инфекционном мононуклеозе, вирусных

		инфекциях.
Проба формоловая в сыворотке крови	Отрицательная	<u>Повышается</u> при септическом эндокардите.
Фенилпировиноградная кислота (ФПК) в моче	Отсутствует	<u>Появляется</u> в моче при фенилпировиноградной олигофрении (слабоумии). ФПК в моче здоровых людей отсутствует, ее появление свидетельствует о нарушении обмена незаменимой аминокислоты – фенилаланина. В здоровом организме фенилаланин гидроксилируется фениланингидроксилазой. Блок синтеза или снижение активности этого фермента приводит к накоплению фенилаланина, который в результате переаминирования превращается в фенилпировиноградную кислоту, поэтому определение ФПК в моче является важным диагностическим тестом при заболеваниях, связанных с нарушением обмена фенилаланина, обусловленного поражением печени. ФПК исследуют для выявления тяжелого наследственного заболевания – фенилкетонурии и для оценки степени тяжести течения вирусного гепатита. При фенилкетонурии уровень фенилаланина в сыворотке крови и экскреция ФПК с мочой не зависят от возраста, пола и степени умственной отсталости больных. При токсикохимических поражениях печени и вирусном гепатите увеличение содержания фенилаланина в сыворотке крови и выделение ФПК соответствует тяжести болезни.
Аминотрансферазы (трансаминазы) в сыворотке крови	Аспартат-аминотрансфераза (АсАТ) 0,1-0,45 мкмоль/ч.мл (50-40 ед.)  аланинаминотрансфераза (АлАТ) 0,1–0,68 мкмоль/ч.мл (до 40 ед.)	При инфаркте миокарда АсАТ <u>повышается</u> через 6-8 часов, максимальная активность достигается через 24-36 часов, снижается до нормы к 5-6 дню. АсАТ повышается также при остром гепатите и других тяжелых изменениях в клетках печени; умеренное увеличение наблюдается при механической желтухе, у больных с метастазами в печень и циррозом. При острых заболеваниях печени активность АлАТ возрастает в большей степени, чем АсАТ. Коэффициент де Ритиса (отношение активности АсАТ к АлАТ) в норме составляет $1.33 \pm 0.42$ . При заболеваниях сердца он выше, а при болезнях печени ниже. Резкое повышение активности АлАТ наблюдается при гепатите с максимумом на 6-10 день заболевания и постепенным возвращением к норме к 15-20 дню. Осо-

		<p>бенно высоки значения активности этой трансаминазы при некрозе печеночных клеток. Длительное повышение активности двух ферментов или повышение в поздние сроки говорит о развитии массивного некроза печени. У 70 % больных в ранние сроки развития цирроза повышается активность АсАТ и АлАТ. Длительное незначительное увеличение активности трансаминаз свидетельствует о хроническом гепатите или циррозе, но при циррозе может быть и нормальная активность ферментов. Повышается активность ферментов при безжелтушном сывороточном гепатите, инфекционном мононуклеозе (в 80% случаев), при лекарственных назначениях, проявляющих гепатоцеллюлярный эффект, при внепеченочной закупорке с желтухой (АлАТ больше, чем АсАТ). Возрастает активность обеих трансаминаз при остром холецистите, холецистите с желчной коликой, остром панкреатите, первичном раке печени в 80% случаев, вторичном раке печени - в 50%, при введении морфиноподобных лекарств, приеме алкоголя, остром алкогольном отравлении, гемолитических состояниях.</p> <p>Определение активности трансаминаз является обязательным скрининг-тестом для доноров крови.</p>
<p>Лактат-дегидрогеназа (ЛДГ) в крови и моче</p>	<p><u>в сыворотке крови:</u> 1,50-4,67 мкКАТ/л 90-280 МЕ/л 220-3200 нмоль/(с·л)</p> <p>ЛДГ<sub>1</sub> 19-36% ЛДГ<sub>2</sub> 32-50% ЛДГ<sub>3</sub> 14-27% ЛДГ<sub>4</sub> 0-9 % ЛДГ<sub>5</sub> 0-12%</p> <p>ЛДГ<sub>2</sub>/ЛДГ<sub>1</sub> 1,2-1,5</p> <p><u>в моче:</u> 378 мкМ/ч 13,4 МЕ/сут</p>	<p>Абсолютные показатели значительно варьируют в зависимости от метода определения. Фермент широко распространен в организме, поэтому определение общей активности – относительно неспецифический показатель. Изоферменты ЛДГ обладают хорошо выраженной тканевой и органной специфичностью, поэтому именно их определение имеет большое значение для диагностики.</p> <p><u>Повышение общей активности в сыворотке крови</u> наблюдается при инфаркте миокарда, повреждениях печени различной природы (вирусное, токсическое, травматическое), заболеваниях почек, опухолях, лейкозах, тромбоцитопении, гемолизе эритроцитов; в моче – при остром и подостром гломерулонефрите, нефротическом синдроме, канальцевом некрозе, злокачественных и доброкачественных опухолях почек и мочевого пузыря, диабетическом гломерулосклерозе, выраженной гипертензии.</p> <p><u>Повышение активности ЛДГ<sub>1</sub></u> в сыворотке крови – инфаркт миокарда (начиная с 10-20 часа первых су-</p>

	<p>ЛДГ<sub>1</sub> 55-56%  ЛДГ<sub>2</sub> 26-33%  ЛДГ<sub>3</sub> 7-8%  ЛДГ<sub>4</sub> 0-3%  ЛДГ<sub>5</sub> 0-1%</p>	<p>ток с максимумом на 2-3 сутки) при снижении индекса ЛДГ<sub>2</sub>/ЛДГ<sub>1</sub> до 0,6-0,8; диффузный гломерулонефрит в стадии почечной недостаточности, хронический гломерулонефрит при обострениях, опухоли яичка, мегалобластная анемия, гемолиз эритроцитов, тиреотоксикоз, миопатия при болезни Иценко-Кушинга.</p> <p><u>Относительное снижение активности ЛДГ<sub>1</sub> и ЛДГ<sub>2</sub></u> – кардиосклероз атерогенного генеза без нарушений кровообращения, активная фаза пиелонефрита.</p> <p><u>Повышение активности ЛДГ<sub>2</sub></u> – мегалобластная анемия, острый лимфобластный лейкоз; <u>снижение</u> – пиелонефрит и гипоксические заболевания почек.</p> <p><u>Повышение активности ЛДГ<sub>3</sub></u> – острый лимфобластный лейкоз, рак желудка, кишечника, поджелудочной железы, желчного пузыря, щитовидной железы, молочных желез, доброкачественные опухоли женских половых органов, некроз легких.</p> <p><u>Повышение активности ЛДГ<sub>4</sub></u> – заболевания печени различной этиологии, обострения гепатитов, ревматизма, острый нефрит, хронический нефрит (нефротический вариант), заболевания почек с их гипоксией, кардиосклероз с нарушением гемодинамики, тяжелый диабет, рак печени, почек, желудка, кишечника, молочных желез, шейки матки, предстательной железы, бронхов, лимфоузлов.</p> <p><u>Повышение активности ЛДГ<sub>5</sub></u> – повреждения печени различной природы (вирусное, токсическое, травматическое), метастазы в печень, обострения гепатитов, ревматизма, кардиосклероз с нарушением гемодинамики, тяжелые заболевания почек, сопровождающиеся их гипоксией, опухоли и отторжение почек при пересадке, тяжелый диабет.</p> <p><u>Повышение активности изоферментов ЛДГ в моче.</u> При остром, хроническом гломерулонефрите, пиелонефрите, опухолях почек наблюдается рост активности ЛДГ<sub>3</sub> при увеличении (появлении) ЛДГ<sub>4</sub> и ЛДГ<sub>5</sub>.</p>
<p>Креатинфосфокиназа в сыворотке крови (КК)</p>	<p>до 20 Е/л</p>	<p>КК присутствует в крови человека в различных формах: КК-ММ (мышечный изофермент), КК-ВВ (мозговой изофермент), КК-МВ (комбинированный-изофермент, содержащийся в большом количестве в сердечной мышце), макро-КК типа 1 (ферменты, связанные с иммуноглобулином), макро-КК типа 2</p>



		(форма митохондриальной КК, но окончательные доказательства ее наличия в сыворотке пока не получены). Активность КК <u>повышается</u> при инфаркте миокарда, мышечной дистрофии, ревмокардите, ревматоидном артрите, полимиозитах, хирургических вмешательствах, гипотиреозе, приеме алкоголя. <u>Снижение</u> активности фермента – тиреотоксикоз.
Лейцин-аминопептидаза (ЛАП) крови	84-125 нмоль/ч·л	<u>Повышается</u> активность ЛАП у больных с гипоксией, связанной с сердечной декомпенсацией. При этом состоянии содержащийся в клетках печени фермент выходит в кровь, что объясняется увеличением проницаемости мембран печеночных клеток. Фермент имеет такое же диагностическое значение, как и щелочная фосфатаза, но активность ЛАП не повышается при заболеваниях костной ткани. Возрастает активность фермента при механической желтухе, метастазах в печень даже в отсутствие желтухи, панкреатитах и холециститах, лимфогранулематозе, инфекционном мононуклеозе и в 60% случаев алкогольного цирроза.
Трипсин в сыворотке крови	0-50 нКАТ/л 0,5-2,3 ммоль/л 17-67 нмоль/с·л 10-60 мкг/л (иммунореактивный)	<u>Повышение</u> активности трипсина в сыворотке крови наблюдается при остром панкреатите, приеме ферментативных препаратов per os. <u>Снижение</u> активности трипсина отмечается при раке поджелудочной железы, хроническом панкреатите, нарушении всасывания в кишечнике, сахарном диабете, муковисцидозе.
Химотрипсин в сыворотке крови	6-11 мкг/л (иммунореактивный)	<u>Повышение</u> активности химотрипсина в сыворотке крови наблюдается при пероральном приеме ферментативных препаратов, остром панкреатите. <u>Снижение</u> активности трипсина отмечается при злокачественных опухолях поджелудочной железы, хроническом панкреатите, муковисцидозе, патологии процессов всасывания в кишечнике, диабете.
Пепсиноген в сыворотке крови и моче	<u>сыворотка:</u> 123-142 мкг/л (иммунореактивный) <u>моча:</u> (уропепсин) 38-96 мг/сут	При pH ниже 6,0 преобразуется в активный пепсин. <u>Повышение</u> содержания пепсиногена <u>в крови</u> – при повышенной секреции желудочного сока, язве двенадцатиперстной кишки, синдроме Золлингера-Аддисона, увеличении массы стенок желудка. <u>Снижение</u> – опухоли желудка, атрофический гастрит, болезнь Аддисона. <u>Увеличение экскреции уропепсина</u> – повреждение

	2-3 мг/час	канальцев почек, воздействие АКТГ или глюкокортикоидов, синдром Иценко-Кушинга. Снижение – почечная недостаточность, болезнь Аддисона.
Липаза в сыворотке крови	0-470 нмоль/с·л 0-28 мкмоль/мин·л 0-160 ЕД/л	В клинической практике имеет значение липаза поджелудочной железы. <u>Повышение</u> активности фермента в несколько раз отмечается при остром панкреатите (с максимумом на 12-24 часа от начала приступа и нормализацией через 1,5-2,0 недели), карциноме поджелудочной железы. Повышается при хроническом панкреатите, менее значительно – при острых и хронических заболеваниях почек, спазме сфинктера Одди, инфаркте кишки, перитоните, введении гепарина. <u>Снижение</u> – воздействие тяжелых металлов, хинина. Важно определение показателя в дифференциальной диагностике паротита, когда в отличие от амилазы активность фермента не изменяется, если нет непосредственного воспаления поджелудочной железы.
Альфа-амилаза крови	16-30 г/ч.л.; широкие границы 12-32 г/ч л	Значительное <u>повышение</u> активности фермента в крови наблюдается при остром панкреатите, остром аппендиците, перитоните, перфоративной язве желудка и 12-перстной кишки, опухолях головки поджелудочной железы, опухолях слюнных желез, паротитах.
Диастаза (амилаза) мочи	26-160 г/ч.л.	<u>Понижение</u> активности фермента в моче: при заболеваниях печени (гепатит, циррозы, злокачественные опухоли и их метастазы в печень), гипоамилаземии, интоксикациях, обширных ожогах кожи, сахарном диабете, гипотиреозах, заболеваниях с общими расстройствами питания и падения веса. Отсутствие активности фермента в моче – почечная недостаточность.
Кислая фосфатаза в сыворотке крови	67-167 нмоль/с·л; 0,42-2,0 нКАТ/л; 4-10 МЕ; муж: 2,5-11,7 ЕД/л, жен: 0,3-9,2 ЕД/л	Относительно других тканей в предстательной железе присутствует наибольшее (в сотни раз выше) количество фермента. <u>Повышение</u> общей активности фермента – карцинома предстательной железы с метастазами в кости, гиперпаратиреоз, прогрессирование болезни Педжета и болезни Гоше, рак молочной железы, тромбоцитопении с тромболизисом, гемолизе. Существующий изоферментный спектр в клетках крови значительно и специфично меняется при разных лейкозах, что используется для их дифференциальной диагностики
Щелоч-	Взрослые:	Щелочная фосфатаза присутствует в каждом органе.

<p>ная фосфатаза (ЩФ) крови</p>	<p>0,74-2,29 мккат/л; до 120 МЕ/л</p> <p>дети: 1,2-6,3 мккат/л; до 250 МЕ/л</p>	<p>Наиболее высокая удельная активность фермента обнаружена в эпителии тонкой кишки, эпителии канальцев почек, остеобластах, гепатоцитах, желчных протоках, лактирующей молочной железе, плаценте.</p> <p>Активность ЩФ в сыворотке часто <u>повышена</u> при обструктивных заболеваниях печени, холестазах, гепатите, явлениях гепатотоксичности, болезни Педжета, остеомалации, новообразованиях, вовлекающих в патологический процесс печень и костную ткань. Повышение активности ЩФ происходит не только в условиях активного роста костной ткани (у детей), но и при ее разрушении, остеопорозе и последующей остеомалации. В печени ЩФ локализована в клетках эндотелия вокруг портальных и центральных вен, как в синусоидах, так и в желчных канальцах. При холестазах активность ЩФ повышается за счет увеличения ее синтеза желчными протоками. Исследуют ЩФ в дифференциальной диагностике внутри- и внепеченочного холестаза. При камнях желчного пузыря и протока, новообразованиях в этих органах, активность ЩФ возрастает в 10 раз и более, при гепатите (внутрипеченочная обструкция желчных путей) - в 2-3 раза. При острых некротических изменениях в гепатоцитах активность ЩФ может быть нормальной до тех пор, пока в патологический процесс не будут вовлечены желчные канальцы и не будет задержки желчеотделения. Но не всегда есть зависимость между активностью ЩФ и содержанием билирубина при поражении паренхимы печени. В начале развития внутрипеченочного стаза ЩФ может быть более активной вследствие усиления синтеза белка в гепатоцитах, а затем за счет нарушения целостности клетки желчных канальцев. Активность ЩФ повышается у 31% больных ревматоидным артритом, полиартритом, ревматоидным васкулитом, гранулематозом, что связывают с вовлечением в процесс гепатобилиарной системы. Надо помнить, что даже терапевтическая доза противовоспалительных препаратов (салицилатов) приводит к повышению активности АсАТ, АлАТ и ЩФ. Общую активность ЩФ рассматривают как полезный индикатор рака молочной железы с метастазами в кости. <u>Понижается</u> активность ЩФ при карциноме предстательной железы (метастазах), гемолизе эритро-</p>
---------------------------------	---	---

		роцитов.
Холин-эстераза (ХЭ) в сыворотке крови	11-15 Е/л; 50-155 мкмоль/с·л; 3000-9300 МЕ	ХЭ – индикатор гепатодепрессивного синдрома. Высокая активность ХЭ отмечается в поджелудочной железе и печени. Фермент синтезируется в гепатоцитах. Снижение активности ХЭ отражает угнетение протеосинтетической функции печени. <u>Понижается</u> активность ХЭ при поражении печеночных клеток и хронических заболеваниях печени, механической желтухе, новообразованиях: на 45% при остром вирусном гепатите, на 85% при шоковой печени, на 78% при хроническом персистирующем гепатите, на 56% при хроническом активном гепатите, на 69% при циррозе печени, на 63% при раке печени. В начальных стадиях инфекционной желтухи активность фермента снижается резко. При инфаркте миокарда резко снижается в конце первых суток, что обусловлено шоком, который ведет к повреждению печени (центридолевые некрозы). Отравление, применение миорелаксантов снижает активность ХЭ. <u>Повышается</u> активность ХЭ при нефротическом синдроме из-за увеличения синтеза альбуминов печенью и быстрой потери мелкодисперсной фракции белков. Увеличение активности фермента отмечается также при нефрите, нефрозе, артериальной гипертонии, столбняке, маниакально-депрессивном психозе, тревоге и депрессивных неврозах, иногда при ожирении.
Гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ) в сыворотке крови	0.17–1.77 мккат/л  0,6-3,96 ммоль/ч л	По крайней мере, 5 процессов <u>повышают</u> активность гамма-глутамилтрансферазы: 1) цитолиз, 2) холестаза, 3) интоксикация, 4) опухолевый рост в печени, 5) лекарственная интоксикация. Повышается активность ГГТ при заболеваниях печени и гепатобилиарного тракта - остром сывороточном гепатите, хроническом гепатите, циррозе, любой желтухе, опухолях печени, поджелудочной железы, остром панкреатите в 100% случаев. У больных со злокачественными опухолями без метастазов повышение незначительно, а с метастазами даже без желтухи – значительно. Повышается у больных гломерулонефритом, пиелонефритом, амилоидозом почек в период обострения. В сыворотке крови определяют два изофермента ГГТ, изменение активности которых при различных заболеваниях печени дифференциально-диагностического значения не имеет.

## **Клинические аспекты лабораторной диагностики повреждений печени.**

*Распознавание острых повреждений печени с помощью лабораторных тестов базируется в основном на выявлении синдромов:* цитолиза, мезенхимально-воспалительного, гепатодепрессии и выделяемого в последние годы синдрома шунтирования печени.

В распознавании **синдрома цитолиза** главную роль отводят ферментам. Наиболее распространены среди них аминотрансферазы АсАТ и АлАТ:

- АсАТ локализуется преимущественно в митохондриях, реагирует на более тяжелые повреждения печени и имеет период полураспада около 20 часов.
- АлАТ – преимущественно цитоплазматический фермент. Его активность изменяется при относительно легких повреждениях гепатоцитов. Период его полураспада около 50 часов.
- ГГТ – в последнее время стали использовать в качестве индикатора цитолиза. Это мембранозависимый фермент. Его активность изменяется при холестазах, алкогольной интоксикации, а также опухолевом росте в печени.

Все острые повреждения печени, как правило, протекают с выраженным синдромом цитолиза. Своевременное исследование активности этих ферментов почти всегда гарантирует выявление цитолиза.

Диагностика **гепатодепрессивного синдрома** сложна. ХЭ обладает длинным периодом полураспада, поэтому сравнительно малопригодна для выявления острых нарушений печени. Другие распространенные индикаторы гепатодепрессии (протромбиновый индекс, альбумин и др.) также имеют длинный период полураспада. Нагрузочные пробы (бромсульфалеиновая и антипириновая) громоздки. Наиболее информативным является тест по определению проконвертина (его период полураспада 6-10 часов).

Индикаторы **мезенхимально-воспалительного синдрома** (гамма-глобулин, тимоловая и сулемовая пробы) мало информативны в ранней диагностике острых повреждений. Изменения этих показателей регистрируются спустя несколько дней после начала повреждения. Необходимость их исследования связана с накоплением токсических продуктов в кишечнике и поступлением их в печень и общий кровоток. Особенно характерны эти изменения для портально-печеночной недостаточности на фоне энцефалопатии. Для выявления этого синдрома необходимо определение концентрации аммиака, содержания отдельных аминокислот (тирозин, фенилаланин, триптофан, метионин), а также фенолов и жирных кислот с короткой цепью.

### **Основные формы печеночной недостаточности:**

- **печеночно-клеточная** (истинная эндогенная печеночная) недостаточность, для которой характерна быстро нарастающая энцефалопатия, резкое снижение индикаторов гепатодепрессии и умеренное повышение индикаторов шунтирования (как правило, определяется желтуха);

- портальнопеченочная недостаточность с выраженной энцефалопатией;
- васкулярно-печеночная недостаточность, для которой характерны неглубокая энцефалопатия, относительно умеренное снижение индикаторов гепатодепрессии и резкое, нередко прогрессирующее, нарастание индикатора шунтирования. Часто наблюдается асцит.

### **Основные острые повреждения печени.**

1. Острый вирусный гепатит В. Прямая индикация проводится с помощью поверхностного антигена и антител к антигену гепатита В. Для этого заболевания характерно 5-20-кратное повышение активности трансаминаз АсАТ и АлАТ, отчетливое снижение уровня чувствительных индикаторов гепатодепрессии, повышение содержания гамма-глобулина, результатов тимоловой пробы. При тяжелом течении, особенно при начинающейся печеночно-клеточной недостаточности, часто регистрируют резкое возрастание индикаторов шунтирования.

2. Острый алкогольный гепатит.

В отличие от вирусного гепатита повышение активности трансаминаз у больных выражено слабее. Часто резко возрастает активность ГГТ. Реже повышается уровень холестерина, мочевой кислоты, а также лейкоцитов крови. Повышается активность амилазы крови. Изменения этих тестов наблюдаются в ближайшие 12-36 часов после значительной интоксикации.

1. Острый токсический гепатит.

Главное отличие острых токсических повреждений печени от острого вирусного гепатита заключается в менее выраженных изменениях индикаторов гепатодепрессии (на 6-10 день заболевания активность ХЭ и количество холестерина отчетливо снижены). При этом типе гепатита, возникающего при острых тяжелых расстройствах кровообращения, активность трансаминаз повышена в 2-3 раза, ГГТ в 1,5 – 2 раза. Острые безжелтушные повреждения печени встречаются в 2-5 раз реже, чем желтушные.

### **Виды желтухи.**

При механической желтухе в крови присутствует как прямой, так и непрямой билирубин. Прямой появляется в результате переполнения и разрыва желчных капилляров, непрямой – при нарушении превращения непрямого билирубина в прямой. Содержание прямого билирубина достигает высоких цифр (250-340 мкмоль/л). При длительной желтухе в связи с нарушением функции печени несколько увеличивается содержание непрямого билирубина. Прямой билирубин появляется в моче (желчные пигменты +), придавая ей коричневую окраску с ярко-желтой пеной, кал обесцвечивается либо периодически (при неполной закупорке, чаще камнем), либо на длительный срок (при сдавливании протока опухолью).

Гемолитическая желтуха развивается в результате чрезмерного разрушения эритроцитов в клетках РЭС (селезенка, печень, костный мозг) и столь значительного образования непрямого билирубина из гемоглобина, что оно превышает выделительную способность печени. Гемолитическая желтуха являет-

ся основным симптомом гемолитических анемий (например, аутоиммунной гемолитической анемии) или же одним из многих симптомов других заболеваний (В<sub>12</sub>-дефицитная анемия, малярия, затяжной септический эндокардит). При гемолитической желтухе в крови накапливается большое количество непрямого билирубина, который не переходит в мочу. Желчные пигменты в моче отсутствуют, но моча значительно пигментирована за счет резко возрастающего выделения стерко-билиногена (в 10-15 раз), а частично и уробилиногена. Испражнения имеют насыщенный темный цвет.

**Паренхиматозная желтуха** (печеночная, инфекционно-токсическая) развивается в результате повреждения печеночных клеток при некоторых инфекционных процессах (болезни Боткина и Васильева-Вейли, пневмонии, тифе, сепсисе, отравлении фосфором, хлороформом, мышьяком, эфиром и другими ядами). Паренхиматозная желтуха может возникнуть как следствие внутривенной закупорки сгущенной желчью после повреждения печеночных клеток вирусом или ядами. Параллельно увеличению прямого билирубина в крови возрастает уровень непрямого билирубина, т.к. нарушаются ферментативные процессы, и понижается активность глюкуронилтрансферазы в клетках печени, которые обеспечивают транспорт непрямого билирубина и превращение его в прямой. В моче определяется прямой билирубин и уробилин. Уменьшается выделение стеркобилиногена, но полное обесцвечивание кала наблюдается редко.

**Таблица 15. Дифференциальная диагностика желтухи**

Показатели	Паренхиматозная желтуха	Инфекционная желтуха (болезнь Боткина)	Механическая желтуха	Гемолитическая желтуха
Уробилиноген мочи	+	++	-	++++
Билирубин мочи	+	++	++++	-
Билирубин крови: прямой, непрямой	++ +	++ +	++ +	- ++
Стеркобилин кала	+	+	-	++
Сулемовая проба	+	+++	-	-
Показатели цитоллиза (АСТ, АЛТ)	++	++	-	-
Показатели мезенхимального синдрома (тимоловая проба, глобулины)	++	+++	-	-
Показатели холестаза (щелочная фосфатаза, ГГТ)	+	++	+++	-

С-реактивный протеин	+	++	-	+
----------------------	---	----	---	---

Для диагностики желтухи в первую очередь необходимо определение общего билирубина крови и его фракций (прямого и неконъюгированного билирубина).

**Продолжение таблицы 13**

1	2	3
Общий билирубин в сыворотке крови	8,6-20,5 мкмоль/л (11,12 мкмоль)	<p>Желтушная окраска кожи появляется при концентрации билирубина в крови более 34,2 мкмоль/л. Содержание билирубина <u>повышается</u> при следующих патологиях: а) поражение паренхимы печени с нарушением её билирубинвыделительной функции (инфекции, токсические вещества, включая алкоголь, некоторые медикаменты); б) повышенный гемолиз эритроцитов; в) выпадение ферментного звена, обеспечивающего синтез глюкуронида билирубина.</p> <p>Для дифференциальной диагностики желтухи - паренхиматозной, обтурационной и гемолитической важно исследование не только общего билирубина, но также его фракций.</p>
Прямой билирубин в сыворотке крови	2,1-5,1 мкмоль/л 2,57 мкмоль/л (0,15 мг/дл)	<u>Повышается</u> при печеночных желтухах, паренхиматозных повреждениях печени (синдром Дубина-Джонсона, синдром Ротора), подпеченочных (механических) желтухах, функциональных гипербилирубинемиях (см. выше).
Непрямой билирубин в сыворотке крови	6,4-15,4 8,6 мкмоль/л (0,5 мг/дл) 75% от общего	<u>Повышается</u> при надпеченочных желтухах, к которым относятся анемии разного происхождения, а также функциональные гипербилирубинемии: болезнь Жильбера, постгепатитная гипербилирубинемия, желтуха новорожденных (физиологическая), семейная негемолитическая желтуха новорожденных (синдром Клиглера-Найара). Повышается при подпеченочных желтухах, печеночных желтухах (см. выше).
Порфирины в сыворотке крови	копропорфирин 3-21 мкмоль/л; δ-аминолевулиновая кислота 0,8-2,3 моль/л	<u>Увеличение</u> содержания порфиринов наблюдается при первичных порфириях, вторичных порфириях, гемолитической анемии, железодефицитной анемии, сидеробластической анемии, остром гепатите, хроническом гепатите, отравлении оловом. <u>Снижение</u> концентрации порфиринов отмечается при развитии пернициозной анемии.



Желчные кислоты в сыворотке крови	2,5-6,8 мкмоль/л	Повышение уровня отмечается после приема пищи. <u>Увеличение</u> – вирусный гепатит, алкогольный гепатит, цирроз печени, холестаза, первичный рак печени, муковисцидоз, сфероцитоз, язва желудка и двенадцатиперстной кишки. <u>Понижение</u> – после приема антихолестериновых препаратов.
Остаточный (небелковый) азот	Азот: мочевины 50%, аминокислот 25%, эрготеонеина 8%, мочевой кислоты 4%, креатина 5%, креатинина 2,5%, аммиака и индикана 0,5%, остальной 5%	Остаточный небелковый азот представляют азотистые вещества, которые содержатся в фильтрате биологической жидкости после осаждения белков. Эти низкомолекулярные азотистые вещества являются продуктами обмена белков и нуклеиновых кислот. По их концентрации можно судить об интенсивности распада белков; о характере белкового обмена в организме; о выделительной функции почек, выводящих эти продукты; о функции печени, перерабатывающей и обезвреживающей их.
Мочевина в сыворотке крови	2,5-8,3 3,3-6,6 ммоль/л (20-40мг/дл)	Мочевина – конечный продукт белкового обмена. <u>Повышение</u> мочевины может быть при недостаточном выделении ее с мочой и нормальном поступлении в кровь. Задержка может быть связана с нарушением функции самой почки при гломерулонефрите, хроническом поликистозе, хроническом и подостром диффузных нефритах, при сморщенной почке, туберкулезе почки, гидронефрозе, амилоидозе почек. Внепочечная азотемия может быть в результате нарушения кровоснабжения почки или препятствия оттоку мочи при врожденных пороках сердца, профузных кровотечениях, опухолях мочевого пузыря и предстательной железы, почечнокаменной болезни. Повышается мочевина при избыточном поступлении компонентов азота в кровь в связи с распадом тканевых белков (при распаде опухолей, при лейкозах, тяжелых инфекциях, голодании, кишечной непроходимости). <u>Понижается</u> мочевина в крови при печеночной недостаточности (паренхиматозная желтуха, острая дистрофия печени), декомпенсированном циррозе из-за нарушения синтеза мочевины в печени.

Мочевина в суточной моче	333,0-582,8 ммоль/л	<u>Повышение</u> мочевины в моче может быть при повышенном распаде белка (интенсивная мышечная работа, диабет, лихорадка). <u>Снижается</u> содержание мочевины при паренхиматозных желтухах, острой дистрофии печени, прогрессирующем циррозе, у больных с уремией, нефритом, ацидозом.
Мочевая кислота в сыворотке крови	муж: 0,12-0,5; 0,21-0,46 ммоль/л жен: 0,08-0,41; 0,15-0,38 ммоль/л (2-6,4 мг/дл)	Мочевая кислота – конечный продукт превращения пуринов нуклеиновых кислот. <u>Повышается</u> у больных с поражением клубочков почки (острый и хронический нефрит, первично и вторично сморщенная почка). Резко повышается у больных подагрой (первичная гиперурикемия). В крови и моче повышается при усиленном распаде нуклеопротеидов (вторичная гиперурикемия), что встречается при некоторых гематологических заболеваниях (миелоидная метаплазия, эритремия, полицитемия, гемоглобинопатия (талассемия), пернициозная анемия, гемолитическая желтуха, злокачественная анемия), злокачественных заболеваниях (лейкозы, множественная миелома, лейкопения), сердечно-сосудистых заболеваниях (инфаркт миокарда), диабете, печеночной недостаточности. Вторичная гиперурикемия встречается у больных эндокринными и обменными заболеваниями: микседемой, гипо- и гиперпаратиреоидозом, ожирением, алкоголизмом, при 3-ем типе ГЛП и др. <u>Повышается</u> мочевая кислота также при полиартрите.
Креатин в сыворотке крови, (в моче)	муж: 13-53 мкмоль/л жен: 27-71 мкмоль/л (муж: 0-0,3 ммоль/сут жен: 0-0,6 ммоль/сут)	<u>Увеличение</u> содержания отмечается при обильном мясном питании, некрозе скелетных мышц, дерматомиозите, сахарном диабете, гипертиреозе, синдроме Кушинга, акромегалии, евнухоидизме, ревматоидном артрите, лейкозах, ожогах, инфекциях, переломах костей. <u>Уменьшение</u> встречается при гипотиреозе, лечении тестостероном.
Креатинин в сыворотке крови	муж: 0,053-0,117 ммоль/л, 1-2 мг/дл жен: 0,044-0,107 ммоль/л, 0,5-1,6 мг/дл	<u>Повышается</u> параллельно с мочевиной при нарушении функции почек при нефритах и нефрозах. Устойчивое повышение говорит о нарушении работы почечного фильтра, удвоение концентрации креатина в крови соответствует снижению фильтрации на 50%. Повышение концентрации креатинина в сыворотке крови является признаком почечной недостаточности. <u>Повышается</u> креатинин при закупорке мочевых путей, при кишечной непроходимости, тяже-

		лом диабете, позиционном некрозе мышц и синдроме длительного раздавливания, мышечной дистрофии, ожогах и других заболеваниях.
Креатинин в моче	0,5-2 г/сут 4,4-17,6 ммоль/сут муж: 1-2 г/с 8,8-17,6 ммоль/сут жен: 0,5-1,6 г/с 4,4-15,8 ммоль/сут	<u>Увеличение</u> креатинина в моче отмечается при усиленной мышечной работе, лихорадочных состояниях, пневмонии, выраженной недостаточности функции печени. <u>Понижение</u> количества креатинина в моче наблюдается при мышечной атрофии, голодании, дегенерации почек, амилоидозе почек, лейкемии.
Клиренс-тест креатинина (КТК)	Муж. 0,93-1,32 мл/(с•м <sup>2</sup> ), жен 0,85-1,23 мл/(с•м <sup>2</sup> ).	КТК используется для оценки скорости клубочковой фильтрации почек. Клиренс – объем плазмы крови, который почки способны очистить от креатинина за минуту. Расчет проводится по следующей формуле: $K = (M \times D) : P$ , где М – концентрация креатинина в моче, P – содержание креатинина в плазме, D – минутный объем мочи. <u>Клиренс креатинина увеличивается</u> при белковой диете, повышении сердечного выброса при значительной физической нагрузке (в частности – у спортсменов), отравлении окисью углерода. <u>Уменьшение</u> ниже 0,27 мл/(с•м <sup>2</sup> ) считается весьма выраженным. Уменьшается – при снижении почечного кровотока (пиелонефрит, закупорка мочевыводящих путей, нефротический синдром, сердечно-сосудистая недостаточность, шок, кровотечения), почечной недостаточности, печеночной недостаточности, миеломной болезни, эклампсии, малярии, рахите. Протеинурия, выраженная почечная недостаточность при использовании указанного метода влияют на правильность оценки скорости клубочковой фильтрации.
Проба Реберга	1.Клубочковая фильтрация 75-125 мл/мин 80-120 мл/мин  2.Каналь-	Креатинин относится к беспороговым веществам, на основе этого Реберг предложил функциональную пробу. Параллельно определяется эндогенный креатинин в сыворотке крови утром натощак и в моче, которая собирается в это же утро: большой мочится в унитаз, выпивает 400-500 мл воды, через 30 мин берут кровь, через час он собирает всю мочу полностью. Вычисляется минутный диурез, фильтрация и реабсорбция.

	цевая реаб-сорбция 97-99% 98,2-98,8%	<u>Снижение фильтрации</u> наблюдается при сердечных заболеваниях с недостаточностью кровообращения, хронических нефритах и сморщенной почке. Азотемия развивается при падении фильтрации до 35 мл/мин
Аммиак в сыворотке крови, (в моче)	11-35 мкмоль/л, (10-107 ммоль/сут)	<u>Увеличение</u> – почечный ацидоз, хроническая почечная недостаточность, гепатит, жировая дистрофия печени, цирроз печени, перитонит, наследственные дефекты механизмов обезвреживания аммиака.
Щелочной резерв крови	100-200 мэкв/л	Цифры менее 100 указывают на ацидоз, а выше 200 – на алкалоз.
Ванилил-миндальная кислота в моче (ВМК)	0,0075- 0,0222 мкм/л, 2,5-38,0 или 14,3±1,5 мкмоль/с	Определение ВМК – это важный тест в диагностике гормональноактивных опухолей ткани надпочечников и симпатической нервной системы (наравне с определением экскреции катехоламинов, их метоксипроизводных). Специфичность теста при феохромоцитоме составляет 99%. ВМК можно определять как в суточной моче, так и в отдельных порциях мочи, собранной за определенный промежуток времени после гипертонического криза. Одной из форм симптоматической гипертонии является состояние, обусловленное наличием гормональноактивной опухоли хромаффинной ткани надпочечников, параганглиев, симпатических узлов. К этим опухолям относятся феохромоцитома, нейробластома, параганглиома. Феохромоцитома продуцирует значительное количество катехоламинов, которые секретируются в кровь, метаболизируются и экскретируются мочой.
Общие липиды в сыворотке крови	4,6-10,4 г/л 4-8 г/ л (350-800 мг/дл)	<u>Увеличение</u> – при сахарном диабете, липоидном нефрозе, нефротическом синдроме, билиарном циррозе, остром гепатите, эссенциальной гиперлипемии, атеросклерозе, ишемической болезни сердца, гипотиреозе, панкреатите, злоупотреблении алкоголем.
Холестерол в сыворотке крови (ХС)	3,1-8,0 3,11-5,2 ммоль/л (120- 250мг/дл)	Гиперхолестеринемия (увеличение концентрации ХС в сыворотке крови) – достоверный фактор риска развития атеросклероза: ниже 5,2ммоль/л – нет риска; 5,2-6,5 ммоль/л – зона риска (пограничная); 6,5-8,0 ммоль/л – умеренное увеличение; выше 8,0 ммоль/л – выраженное увеличение. Очень <u>высокий уровень</u> ХС бывает при атеросклерозе, нарушении липидного обмена, липоидном нефрозе, сахарном диабете, заболеваниях печени. <u>Увеличение</u> концентрации наблюдается при механической

		желтухе, нефрите и нефрозах, сопровождаемых отеками, инфаркте миокарда, ИБС, сифилисе, гипотиреозе, авитаминозе группы В и др. <u>Уменьшение</u> концентрации наблюдается при анемиях, туберкулезе, лихорадках, сыпном тифе, гипертиреозе, голодании, раковой кахексии, паренхиматозной желтухе, поражении ЦНС.
Фосфолипиды в сыворотке крови	2,52-2,91 (2,0-3,5) ммоль/л; 1,25-2,75 г/л; Дети: 1,80-2,95г/л; старше 65 л: 1,90-3,65г/л Фракции (основные): фосфатидилхолин 60-70%, сфингомиелин 15-20%, лизолецитин 6,5-9% кефалины 5-8%	Фосфолипиды – главные компоненты клеточных мембран. <u>Увеличение</u> содержания общих фосфолипидов – холестаза, легкие формы гепатита, цирроз печени, гиперлипопротеинемии IIa и IIb, алкоголизм, панкреатит, нефротический синдром, болезнь Гирке, прием оральных контрацептивов, эстрогенов. <u>Снижение</u> – тяжелые вирусные гепатиты, абеталипопротеинемии, гипертиреоз, рассеянный склероз, пернициозная и серповидноклеточная анемии. Выделяют 5-11 фракций фосфолипидов (в зависимости от метода). При наследственных нарушениях метаболизма фосфолипидов (преимущественно сфинголипидов) развиваются болезни Гоше, Краббе, Ниманна-Пика, синдромы Тея-Сакса, Фабри, генерализованный ганглиозидоз, лейкоцистозия (метахроматическая)
Триацилглицериды в сыворотке крови (ТАГ)	0,5-1,5 г/л, муж: 0,45-1,86 ммоль/л, жен: 0,4-1,53 ммоль/л	Триацилглицериды (нейтральные жиры) являются важным показателем в диагностике нарушений липидного обмена (типов дислипопротеинемий (ДЛП)). Содержание нейтральных жиров <u>повышается</u> при атеросклерозе, ИБС, инфаркте миокарда, диабете, нефротическом синдроме, панкреатите, жировой инфильтрации печени, эссенциальной семейной гиперлипемии. <u>Снижение</u> количества ТАГ наблюдается при гипертиреозе.
Липопротеины низкой плотности (ЛПНП) в сыворотке	18,35 ед. 35-55ед. опт. плотности 3,0-4,5 г/л (300-450 мг/дл)	Липопротеины низкой плотности богаты ХС, переносят ХС из печени в ткани, являются главной транспортной формой ХС. ЛПНП – “атерогенные” ЛП, <u>повышаются</u> при атеросклерозе, ИБС, обусловленной коронарным атеросклерозом. Повышение их уровня тесно связано с гиперхолестеремией или дислипопротеинемией, поскольку ХС входит в состав, главным образом,

<p>крови или (β-ЛП)</p>		<p>ЛПНП. Повышаются они при диабете, гипотиреозе, мононуклеозе, некоторых острых гепатитах, резкой гипопротеинемии. Но проба имеет значение и как функциональная проба печени. В сочетании с тимоловой пробой она важна для дифференциации механической и паренхиматозной желтух. При паренхиматозной желтухе обе пробы повышены или тимоловая повышена, а Бурштейна (на ЛПНП) нормальна. При механической желтухе тимоловая проба отрицательна, а Бурштейна – положительна. Результаты определения ЛПНП учитывают при выявлении типа нарушения липидного обмена (типа ДЛП).</p>
<p>Холестерол липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) (α-холестерол) в сыворотке крови</p>	<p>0,8-1,8 ммоль/л (220 мг/дл)  муж:  1,25-4,25 г/л (125-425 мг/дл)  жен:  2,5-6,5 г/л (250-650 мг/дл)</p>	<p>ЛПВП синтезируются в печени, переносят ХС из периферических тканей в печень. <u>Понижение</u> содержания α-холестерола (α-ХС) наблюдается при ИБС, склонности к ИБС и атеросклерозу. Это антиатерогенный холестерин. Снижается при остром гепатите, циррозе печени, застойной желтухе. <u>Повышение</u> ХС ЛПВП бывает редко, при этом отсутствует атеросклероз. Повышение ХС ЛПНП характерно для атеросклероза. Содержание ЛПВП учитывают при определении типа ДЛП. Установлено снижение ЛПВП у больных шизофренией любой формы, вне зависимости от обострения или ремиссии заболевания. Коэффициент ЛПВП/ЛПНП у больных шизофренией равен 0,2-1,15 (N 1,24-2,6).</p>
<p>Индекс атерогенности <math>\frac{ХС - \alpha ХС}{\alpha ХС}</math></p>	<p>2,0 -2,51 (широкие границы 1,98-3,0)</p>	<p>Это отношение “атерогенных” липопротеинов к “неатерогенным”. Возрастание индекса свидетельствует об атерогенности липопротеидного спектра. Это может иметь место как при нормальном ХС ЛПВП, но повышенном уровне ХС ЛПНП и ХС ЛПОНП (относительная гипоальфалипопротеинемия), так и при снижении уровня ХС ЛПВП. <u>Повышается</u> индекс атерогенности у лиц с факторами повышенного риска ИБС (при значениях 3-4 – умеренная вероятность развития ИБС, выше 4 – высокая), больных ИБС, атеросклерозом, гипертонической болезнью (даже на начальных стадиях и в молодом возрасте).</p>

### Типирование липопротеинов

*Позволяет узнать нарушение уровня липопротеинов крови (тип дислипидемии – ДЛП). Существует 5 типов ДЛП по классификации Фредриксона: 1, 2а, 2б, 3, 4, 5 (таблица 16). Для каждого вида ДЛП характерна своя клиническая картина.*

**Дислиппротеинемия делится на первичную и вторичную** (связана с заболеваниями внутренних органов: атеросклероз, панкреатит, диабет и др.)

Первичная ДЛП может зависеть от факторов внешней среды (диета и др.) или иметь генетическую природу (заболевания семейного характера). Наследственным фактором обладают только три первые формы – так называемые первичные гиперлиппротеинемии (ГЛП).

ДЛП 4-го и 5-го типов вторичны, связаны с чрезмерным поступлением с пищей масел и особенно углеводов, они не имеют наследственного характера, а молекулярные механизмы их возникновения исследуются.

Для определения типов ДЛП используются следующие лабораторные данные и расчетные показатели:

1. Оценка внешнего вида сыворотки через 12-24 часа при стоянии в холодильнике.
2. Содержание ХС.
3. Содержание ТАГ.
4. Данные электрофореза ЛП в геле агарозы.
5. Содержание ХС-ЛПНП ( $\beta$ -ХС).
6. Содержание ХС-ЛПВП ( $\alpha$ -ХС).
7. Содержание ХС-ЛПОНП (пре- $\beta$ -ХС).
8. Определение индекса атерогенности.
9. Определение коэффициента атерогенности.

1-ый тип ДЛП не атерогенен; типы ДЛП 2а и 2б бывают при ИБС; у людей с 3-им и 4-ым типами ДЛП часто развивается атеросклероз; при 5-ом типе ДЛП иногда развиваются ИБС, диабет. Значительное нарушение липидного обмена в виде ДЛП бывает при холестазах. При алкогольных повреждениях печени чаще всего наблюдается ДЛП 4 и 5 типов, т.е. гипер-пре- $\beta$ -ЛП сочетается с повышением хиломикронов (5-ый тип). Реже бывает ДЛП 1 типа.

**Таблица 16. Типирование дислиппротеинемии по Фредриксону**

	1 тип	2 тип		3 тип	4 тип	5 тип
		2а	2б			
ХМ (хиломикроны)	↑↑	-	-	-	-	↑↑
ЛПОНП	N или ↑	N	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑
ЛПНП	-	↑	↑	↑↑	-	-
ЛПВП	ослаблен	N или ↓	N или ↓	↑	↑	↑
ТАГ	↑↑	N	↑	↑	↑	↑
ХС	↑	↑↑	↑	↑	N или ↑	↑↑
Электрофорез	интенсивная полоса хиломикронов	усиленная полоса ЛПН	усилены полоса ЛПНП и ЛПОНП	широкая полоса от ЛПНП до ЛПОНП	интенсивная полоса ЛПОНП, ЛПНП в	увеличенная полоса ЛПОНП с тенден-

Вид плазмы	на старте ЛПВП, ЛПНП часто не видны слой ХМ над прозрач плазм.	П Прозрачная	мутная слегка или прозрачная	(как облако) Прозрачная или молочно-мут,возм. слой ХМ	норме или снижена Прозрачная или молочно-мутная	цией к старту, где увеличены ХМ Молочно-мутная со слоем ХМ
Индекс атерогенности	<3	>4	>4	>4	3-4	<3
КА= ХС ммоль/л	<2.2	>5.5	3.45-5.5	3.45 -4.5	<2.2	<2.0
ТАГ моль/л						
Риск появления атеросклероза	-	↑↑	↑↑	↑↑	↑	-
С чем связан	↓ активности постгепариновой ЛПЛ	↑ образования и недостаточная утилизация ЛП в печени, ↓ кол-ва В,Е-рецепторов и активности ЛПЛ		↓ удаления ЛПОНП из крови	↓ выход НЭЖК из жирового депо, ↓ активности ЛПЛ	↓ активности ЛПЛ
Характерные заболевания	липемия спленомегалия, панкреатит	коронарный атеросклероз, ксантома тоз в области Ахиллова сухожилия, разгибателей кистей и стоп		атеросклероз и коронарная недостаточность	ИБС, сахарный диабет, атеросклероз	сахарный диабет, панкреатит, абдоминальные колики

При исследовании липидного обмена следует соблюдать определенные требования к взятию крови и выполнению анализа:

1. Проводится утром, натощак, после 12-14 часов голодания.
2. В течение последних 14 дней пациент должен получать полноценную пищу.
3. Вес больного в течение последних 14 дней должен быть неизменен.
4. Лекарства, влияющие на уровень липидов, должны отменяться за 3 недели до забора крови. Завышают результаты: билирубин, амидопирин, салицилаты, хлорпромазин, витамин А, бромиды. Снижают: нитраты, нитриты, тиоурацил.
5. Анализы нужно повторить через несколько дней для уточнения диагноза.



6. Исследование липидов крови проводить стандартизованными методами.

*Продолжение таблицы 13*

1	2	3
Кетоновые тела (КТ) в сыворотке крови и моче	Ацетон (сыв) менее 10 мг/л, КТ (моча) 20-50 мг/сут	КТ – общее название продуктов метаболизма жирных кислот и ацетил-КоА, включающих ацетон, ацетоуксусную кислоту и β-оксималяную кислоты. При использовании для анализа таблеток и тест-полосок КТ в норме не выявляются. <u>Увеличение</u> КТ (кетонемия и кетонурия) – диабет, длительное голодание (особенно у детей), несбалансированность уровня инсулина и количества поступающих с пищей углеводов и жиров, избыток ряда гормонов, катехоламинов, повышенный обмен веществ при тиреотоксикозе, высокой температуре.
Малоновый диальдегид (МДА)	Сыворотка: 2,51-3,69 мкмоль/л, эритроциты: 16-18 мкмоль/л	МДА – конечный продукт перекисного окисления липидов в клетках. В крови определяются его метаболиты – ТБК-активные соединения, которые условно называют МДА. <u>Увеличивается</u> при патологических состояниях, сопровождающихся усилением перекисидации липидов, - гипоксии, гипероксии, интоксикациях различного генеза, химических, термических, радиационных поражениях.
Железо в сыворотке крови	муж: 14,3-28,7 мкмоль/л жен: 10,7-21,5 мкмоль/л дети: 7,15-21,5 мкмоль/л	Сывороточное железо – это железо, связанное с трансферрином (β-глобулином). Гипосидеремия ( <u>понижение</u> сывороточного железа) наблюдается после острых и хронических кровопотерь, при ахилических анемиях из-за нарушения всасывания железа из пищеварительного тракта, гнойных и септических заболеваниях, острых инфекционных заболеваниях, железодефицитных анемиях. <u>Гиперсидеремия</u> ( <u>увеличение</u> сывороточного железа) наблюдается при усилении гемолиза эритроцитов; пернициозной анемии (повышенный распад эритроцитов и нарушение их созревания в костном мозге); сидероахристической анемии (поступающее в костный мозг железо не используется в полной мере для синтеза гемоглобина из-за ферментативного нарушения синтеза гема); эритремии; приеме внутрь препаратов железа; гемохроматозах; хронических гепатитах; циррозах. Повышаться железо может при злокачественных новообразованиях, талассемии, желтухах различной

		этиологии. Железо следует определять во всех случаях гипохромных анемий для дифференциации железодефицитных анемий от сидероахристических.
Общая железосвязывающая способность сыворотки (ОЖСС)	44,8 – 71,6 мкмоль/л	ОЖСС – общее количество железа, которое может связываться с трансферрином. Оно складывается из насыщенной железом части трансферрина (сывороточное железо) и ненасыщенной (НЖСС). В настоящее время в гематологической практике о содержании трансферрина судят по определению ОЖСС (хотя в действительности трансферрин всегда ниже). При железодефицитной анемии, независимо от причины, ее вызывающей, железо сыворотки снижается, ОЖСС нормальна или выше нормы за счет компенсаторно повышенного синтеза трансферрина и некоторого удлинения продолжительности жизни этого белка. Процент насыщения железа трансферрином (КНТ) снижается при анемиях, связанных с воспалением, гнойных септических инфекциях, остеомиелите, ревматизме. Это не истинная гипохромная анемия, так как нет истинного дефицита железа. Оно уходит в очаг воспаления и захватывается фагоцитами. Железо сыворотки снижается до 40 – 60%, ОЖСС нормальна или снижена, КНТ снижен или нормален. При гемохроматозе ОЖСС несколько снижена.
Коэффициент насыщения железа трансферрином (КНТ)	16,2 – 50%	КНТ – это процент, который составляет железо сыворотки от ОЖСС или отношение связанного в трансферрине железа к общему. При железодефицитных анемиях КНТ снижается до 12% и ниже, менее снижен при анемиях, связанных с воспалением, гнойной септической инфекцией, интоксикацией. При первичном гемохроматозе, когда железо сыворотки резко увеличено, ОЖСС несколько снижено, КНТ велик – обычно до 85%. Повышается КНТ при сидеробластной приобретенной рефрактерной анемии, вызванной свинцовой интоксикацией (железо повышено, ОЖСС нормальна), талассемиях (ОЖСС в норме или повышена), анемиях, связанных с нарушением синтеза протопорфирина (железо повышено, ОЖСС нормальная).
Медь в сыворотке крови	жен: 13,4–24,4 мкм/л муж:	Резкое нарушение содержания меди наблюдается при анемиях, когда повышается ее содержание в крови, при уменьшении количества депонированной меди в печеночной ткани. Во время лечения гипо-

	<p>11,0–22,0 мкм/л новорожд: 3,1–9,4 мкм/л</p>	<p>хромной анемии у детей, а также анемии от кровопотерь и хронической анемии у женщин, медь в сочетании с кобальтом является лечебным препаратом. При недостатке меди в продуктах питания отмечается обеднение медью печени и увеличение ее концентрации в крови. Маточные кровотечения прекращаются после насыщения организма медью. <u>Гиперкупремия и гиперцерулоплазмия</u> бывает у лиц, страдающих пернициозной анемией, в остром периоде инфекций, протекающих с лихорадкой и распадом клеточных элементов, при заболеваниях печени (гепатитах, циррозах и механических желтухах) у больных с лейкозами, ревматизмом, инфекционным неспецифическим полиартритом, пневмонией, острой дизентерией, злокачественными опухолями, туберкулезом, у беременных женщин, в 2-3 раза увеличивается у больных сифилисом и при болезнях нервной системы. Примером роли меди в патогенезе болезней нервной системы может служить болезнь Вильсона (заметно возрастает содержание меди в печени, головном мозге, а также ее выведение с мочой; одновременно уменьшается содержание меди и церулоплазмينا в плазме крови, отмечается недостаточность обмена этого металла в печени).</p>
Литий в сыворотке крови	0,6–1,2 ммоль/л	Литий определяют через 8-12 часов после приема пищи, утром, натощак. <u>Гиперлитиемия</u> наблюдается при атаксии, угнетении ЦНС, судорогах, нарушении функции ЖКТ, нарушениях ритма сердечной деятельности, болезнях почек, зобе, лейкоцитозе, гиперкальциемии. <u>Гиполитиемия</u> наблюдается при длительном назначении мочегонных препаратов
Натрий в сыворотке крови	<p>Дети: 134–146 ммоль/л, взрослые: 136–150 ммоль/л</p>	<p><u>Относительная гипонатриемия</u> не сопровождается снижением уровня натрия в организме. В сыворотке крови снижение уровня натрия обусловлено увеличением количества воды и объема циркулирующей крови. Наблюдается после приема большого количества жидкости. <u>Абсолютная гипонатриемия</u> определяется при недостаточном поступлении натрия в организм или повышенном выделении натрия (потеря натрия с мочой при гипоальдостеронизме, гипофункции надпочечников), а также при диспепсиях, токсикозах, энтеритах, дизентерии, холере, рвоте, метаболическом ацидозе, отеке, асците, раке легкого. <u>Относительная гипернатриемия</u> наблюдается при</p>

		дегидратации в результате потери воды без потери солей при ограничении приема жидкости. <u>Абсолютная гипернатриемия</u> наблюдается при повышенном поступлении натрия в кровь или сниженной экскреции натрия из организма, при опухоли надпочечников, нарушении кровообращения в почках, гипертонической болезни, сердечно-сосудистой недостаточности, кровопотерях, хроническом нефрите, болезнях печени, гепатитах, циррозе.
Калий в сыворотке крови	Дети: 3,4–4,7 ммоль/л, взрослые: 3,5–5,1 ммоль/л	<u>Гипокалиемия</u> наблюдается при недостаточном поступлении калия, после введения инсулина больным сахарным диабетом, при стенозе привратника, кишечной непроходимости, ренальной полиурии. Снижение уровня калия ниже 1,5 ммоль/л наблюдается при тахикардии, резком изменении мышечного тонуса (парализации), остановке сердца. <u>Гиперкалиемия</u> отмечается при патологии почек (анурии), травмах, синдроме раздавливания, гемолизе эритроцитов, гипофункции надпочечников, ожогах, шоке, гипертермии. При гиперкалиемии возможна брадикардия, аритмия, асистолия, остановка сердца.
Кальций в сыворотке крови	Дети: 2,1–2,73 ммоль/л, взрослые: 2,25–2,55 ммоль/л	<u>Гипокальциемия</u> наблюдается при энтеритах, панкреатитах, гиповитаминозе Д, нарушении функции желудочно-кишечного тракта, гипопаратиреозе, хроническом нефрите, хронической почечной недостаточности, нефрозе, гипоальбуминемии, циррозе печени, алкоголизме.
Кальций ионизированный в сыворотке крови	1,05–1,30 ммоль/л	<u>Гипокальциемия</u> ведет к снижению мышечного тонуса, нарушению нервно-мышечного возбуждения, тетаническим судорогам. <u>Гиперкальциемию</u> отмечают при гиперпаратиреозе, миеломной болезни, лимфоме, лейкозе, злокачественных опухолях, саркоидозе, тиреотоксикозе, акромегалии, гипокальциемической нефропатии, передозировке витамина D.
Магний в сыворотке крови	0,7-1,2 ммоль/л	<u>Уменьшение</u> возможно во время беременности. Дефицит магния вызывает судороги, делирий. Снижается при заболеваниях почек с большим диурезом, при токсемии беременных, избыточной лактации, раке, тетании, панкреатитах, сердечной недостаточности, хроническом алкоголизме, гипопаратиреозе, гиперальдостеронизме, диабетическом ацидозе, действии диуретиков. <u>Повышение</u> – хроническая почечная недостаточность (особенно с анурией и гиперка-

		лиемией), гипотиреоз, гипокортицизм, парентеральное введение глюкозы, солей магния. Избыток магния приводит к замедлению проведения импульсов в проводящей системе сердца, блокаде нервно-мышечной передачи.
Марганец в плазме крови и моче	Плазма: 14,2-19,2 мкг/л, моча: 1,0-10,0 мкг/л	<u>Повышение</u> – при атеросклерозе, гипертонической болезни, инфекционных заболеваниях (туберкулез, гепатиты, дизентерия), бронхиальной астме, рахите, недостаточности кровообращения, мочекаменной болезни, полиартрите, ревматизме у детей. Профессиональные манганозы проявляются хронической марганцевой интоксикацией вплоть до развития синдрома паркинсонизма. При гипертонической болезни марганец избыточно выводится с мочой, а при ИБС рано накапливается в волосах. <u>Понижение</u> – при анемиях (Аддисона-Бирмера, гастрогенная железодефицитная), гастритах, язвенной болезни желудка, уремии, нечувствительном к инсулину диабете, микробной экземе. Относительная недостаточность – иногда при беременности и у детей при искусственном вскармливании.
Молибден в плазме крови и моче	6,8-7,6 мкг/л 28-32 мкг/сут	Дефицит молибдена сопровождается снижением активности молибденсодержащих ферментов: сульфитоксидазы, альдегидоксидазы, ксантинооксидазы, участвующей в образовании мочевой кислоты. Эндемические нарушения пуринового обмена ведут к развитию молибденовой подагры, эндемического зоба. Молибден плазмы может снижаться при анемиях различного генеза. Профессиональные молибденозы ведут к повышению содержания мочевой кислоты.
Йод белково-связанный в сыворотке крови	40-80 мкг/л 315-630 нмоль/л	Белковосвязанный йод – это сумма йода тироксина, трийодтиронина, дийодтирозина. Увеличение – физиологическое (беременность, физические нагрузки), при терапии йодом, тиреотоксикозе, остром гепатите. Снижение – при гипотиреозе, нефрозах, циррозе печени, терапии трийодтиронином, кортизоном, после ртутных диуретиков. При гипотиреозе снижается, главным образом, белковосвязанный йод (до 25 мкг/л).
Хлориды в сыворотке крови	96–108 ммоль/л	<u>Гиперхлоремия</u> наблюдается при гипогидратации, почечном канальцевом ацидозе, острой почечной недостаточности, несахарном диабете, метаболическом ацидозе, при диарее, респираторном алкалозе, гиперпаратиреозе, травме головы, гипофункции

		надпочечников, при длительном приеме тиазидных диуретиков. <u>Гипохлоремия</u> отмечается при респираторном ацидозе, избыточном потоотделении, длительной рвоте, нефрите с потерей солей, травме головы, водной интоксикации, диабетической коме, язвенном колите, синдроме Кушинга, ожоговой болезни, раннем токсикозе беременных, при введении бикарбонатов, кортикостероидов, диуретиков, слабительных, теофиллина.
Фосфор неорганический в сыворотке крови	Дети: 1,45-2,1 ммоль/л, взрослые: 1,82-2,0 ммоль/л	<u>Гиперфосфатемия</u> наблюдается при хронической почечной недостаточности, хроническом нефрите, нефросклерозе, хроническом гломерулонефрите, акромегалии, диабетической коме, гипопаратиреозе, плазмацитоме, миеломной болезни, саркоидозе, метастазах опухолей в кости, избыточном введении витамина Д, при приеме андрогенов, фуросемида, паратиреоидного гормона, тетрациклина. <u>Гипофосфатемия</u> отмечается при рахите, остеомаляции, алкогольном отравлении, тубулярном ацидозе, гиперинсулинизме, диабетической коме, демпинг-синдроме, гиперпаратиреозе, гипофизарной карликовости, стеаторее, септицемии, при приеме противосудорожных препаратов, адреналина, эстрогенов, инсулина, пероральных контрацептивов.
Фосфор липидный в крови	Сыворотка (плазма): 2,0-3,5 ммоль/л, эритроциты: 3,0-5,0 ммоль/л	Входит в состав оболочек эритроцитов и липопротеидов плазмы, большая часть приходится на долю лецитинов и кефалинов. <u>Увеличивается</u> при холестазах, алкогольном и билиарном циррозе, вирусном гепатите легкой формы, инфаркте миокарда, нефротическом синдроме, хроническом нефрите, диабетической коме, болезнях Гирке и Ниманна-Пика, введении эстрогенов, адреналина. <u>Снижается</u> при тяжелой форме вирусного гепатита, гипертиреозе, атеросклерозе, пернициозной анемии, квашиоркоре, жировой дегенерации печени, наследственном сфероцитозе, приеме тироксина, этанола, никотина.

## **СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В КЛИНИКО- ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ**

Настоящая глава является важным дополнением практикума. Она включает принципы работы современных биохимических приборов и анализаторов, применяемых в клинической лабораторной диагностике, и наиболее важные современные методологии, используемые в медицине, генетике и клинико-биохимической диагностике.

### **АВТОМАТИЗАЦИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

В современных клинико-диагностических лабораториях широко используются различные автоматические анализаторы: биохимические автоанализаторы, газоанализаторы, анализаторы электролитов, автоанализаторы для подсчета форменных элементов крови, гемокоагулографы, тромбозластографы, радионуклидные анализаторы и другие.

Средства автоматизации начали внедряться в практику клинической химии еще в 50-е годы XX столетия, получили широкое развитие в следующее десятилетие и продолжают совершенствоваться по настоящее время. Автоматизированные системы и автоанализаторы для большинства лабораторий открыли новые возможности в сравнении с ручными технологиями, заменив деятельность человека на многих наиболее ответственных, трудоемких и опасных этапах лабораторных исследований.

Автоматизация лабораторных исследований сделала более доступными для широкой клинической практики многие сложные и трудоемкие анализы и способствовала отработке новых биохимических методов. Применение автоматизированной аппаратуры обеспечивает высокое качество проведения исследований, существенно повышает производительность и улучшает условия труда работников лаборатории, повышает точность диагностики.

Высокоразвитое программное обеспечение компьютеризированных анализаторов способствует совершенствованию системы контроля качества, позволяет на основе полученных результатов автоматически проводить расчет диагностически важных параметров и соотношений (непрямой билирубин, отношение альбумин/глобулин и др.), осуществлять предварительную оценку и автоматизацию процессов обработки результатов, их идентификации и архивирования, подключать аппаратуру к общебольничной компьютерной сети, а также предоставляет возможность обслуживания в одной лаборатории многих клинических учреждений.

Современные анализаторы, снабженные устройствами для микродозирования исследуемого материала и реактивов, работают с малыми объемами биологического материала – от 1 до 100 мкл, что важно в экономическом аспекте, поскольку снижается расход дорогостоящих реактивов.

## Уровни автоматизации

Первый уровень автоматизации в клинической химии предполагает использование современных фотометрических приборов с микропроцессорным управлением, выводом результатов на цифropечать и встроенными термостатирующими устройствами. В качестве дозирующих устройств используются автоматические пипетки и шприцевые дозаторы.

Для лабораторий малой и средней мощности предназначены специализированные автоматизированные комплекты технических средств для проведения биохимических исследований, представляющие собой набор автоматизированных приборов для пробоподготовки и фотометрирования, объединенных единой концепцией. Определенным шагом на пути совершенствования автоматизации в клинической химии можно считать переход к колориметрам и спектрофотометрам с одновременной возможностью исследований УФ-области спектра. В ряде случаев предусматривается подключение персонального компьютера для обработки результатов исследований.

Такие биохимические системы правильно называть автоматизированными комплексами или полуавтоматическими анализаторами. Чем выше уровень или степень автоматизации при использовании аппаратуры, тем меньше операций для выполнения в ручном неавтоматизированном режиме.

Высокоавтоматизированные аппараты, называемые биохимическими (клиническими) автоанализаторами или биохимическими автоматами, выполняют большинство технологических операций, предусмотренных методиками автоматизированного лабораторного анализа:

- маркировка проб и контейнеров с реагентами;
- дозирование проб, производимое с высокой точностью, как правило, в диапазоне от 1 до нескольких десятков микролитров;
- дозирование реагентов дозирующими устройствами, работающими с объемами, измеряемыми десятками и сотнями микролитров;
- перемешивание и термостатирование (инкубация) проб;
- транспортировка пробы и реакционной смеси по технологической линии (к позициям дозирования, перемешивания, термостатирования-инкубирования и фотометрирования);
- промывка кювет и наконечников дозаторов;
- калибровка измерительного блока;
- измерение характеристик исследуемого образца (реакционной смеси);
- обработка и предварительная диагностическая оценка полученных данных;
- регистрация результата и его протоколирование на бланке пациента, представление результата (информации) оператору;
- статистическая обработка данных контроля качества;
- распечатка и архивирование результатов.

Однако даже самые совершенные высокоавтоматизированные системы для клинической химии, называемые клиническими или биохимическими автоматами и автоанализаторами, не могут полностью исключить человека из



процесса выполнения исследований. Врач-лаборант по-прежнему выполняет такие трудно алгоритмируемые функции, как, например, оценка внешних характеристик исследуемого образца, функции задания программы исследований и управления ходом ее выполнения, включая выполнение срочных и внеплановых исследований.

В большинстве биохимических анализаторов для определения концентрации исследуемого вещества в анализируемой пробе используют фотометрические методы, базирующиеся, прежде всего, на основе абсорбционных измерительных устройств. Многие современные анализаторы также оснащены блоками ионоселективных электродов для исследований электролитов.

## **Классификация биохимических автоанализаторов**

Современный парк биохимических анализаторов отличается большим разнообразием типов и моделей автоанализаторов. Среди них распространены как настольные, так и стационарные анализаторы.

Первые модели анализаторов были рассчитаны на выполнение одного конкретного исследования с возможностью ручного последовательного перепрограммирования на другой анализ. Современные модели так называемых селективных анализаторов позволяют автоматически программировать выполнение для каждого отдельного пациента своего набора определений из имеющегося перечня программы исследований. Эти анализаторы обычно имеют stat-режим, обеспечивающий возможность выполнения срочного заказа путем вмешательства в процесс выполнения заданной программы исследований – это анализаторы открытого доступа.

Модели отличаются и по применяемым кюветам: встречаются анализаторы, в которых используют одноразовые кюветы или контейнеры, либо анализаторы с кюветами многократного использования.

Важным для пользователя является такая характеристика анализатора, как возможность работы с реактивами различных фирм. Обладающие этой возможностью приборы называют анализаторами открытого типа в отличие от анализаторов закрытого типа, работающих только с реагентами определенного производителя. И хотя в целом постепенно отмечается переход к открытым системам, многие известные фирмы продолжают выпускать закрытые биохимические анализаторы, которые пользуются неизменным спросом. К системам закрытого типа относятся анализаторы с одноразовыми кюветами, которые выпускаются с уже внесенными в них реактивами и стандартами.

## **Анализаторы «жидкой химии»**

Анализаторы «жидкой химии» – это анализаторы, работающие с жидкими реактивами, по способу транспортировки пробы, реактивов и реакционной смеси разделяются на дискретные, непрерывно-проточные и центрифужные анализаторы.

**Дискретные анализаторы растворов.** В дискретных анализаторах формирование цветного комплекса в процессе реакции проводится в специальных

однотипных емкостях (пробирках, кюветах, лунках). Эти емкости транспортируют раствор с пробами и реагентами до позиции, в которой производится измерение. Калибровочные, контрольные и исследуемые растворы находятся в блоке подачи проб. С помощью наконечника дозатора-дилютера пробы исследуемый материал поступает в пробирки или кюветы транспортной системы. При этом наконечник дозатора-дилютера пробы должен либо меняться, либо промываться, чтобы предотвратить или уменьшить загрязнение (влияние предыдущей пробы на последующую). Пробирки (кюветы) транспортной системы, последовательно передвигаясь, поступают в позиции дозирования реагентов. Дозаторы реагента отмеряют его определенные объемы. При дозировании пробы и реагентов перемешивание растворов достигается либо струей самого дозатора, либо специальными перемешивающими устройствами.

Транспортная система встроена в термостат. Образующаяся в пробирках реакционная смесь подвергается термостатированию, и через некоторое время после дозирования реагентов, равное времени инкубации, оказывается в позиции фотометрирования. Если транспортные пробирки одновременно являются кюветами, то сразу в них происходит фотометрирование фотометром. Если транспортные пробирки не являются кюветами, то реакционная смесь поступает в стационарные кюветы фотометра с помощью блока подачи реакционной смеси и промывки кюветы. Промывка кюветы осуществляется реакционным раствором. Далее пробирки транспортной системы поступают в позицию блока мойки или блока замены кювет – пробирок одноразового использования.

Цикл работы анализатора повторяется. Программа работы анализатора задается оператором с пульта управления. Результаты измерений регистрируются принтером. Все управление и обработка результатов измерения могут осуществляться микроЭВМ.

В современных анализаторах чаще используются кюветы, пробирки, наконечники дозаторов одноразового использования. Это позволяет значительно сократить объемы моющих операций, но возникают проблемы утилизации отходов.

Дискретные анализаторы по своей конструкции являются сложными приборами, и в отличие от относительно простых проточных анализаторов имеют серьезные преимущества, так как в них:

- минимизировано влияние предыдущей пробы на последующую;
- может быть снижен расход реактивов;
- может быть повышена производительность.

В настоящий момент дискретные анализаторы являются доминирующими на рынке.

Указанные выше анализаторы широко применяются в лабораторной практике. Ниже приводится клинический пример использования этого типа анализаторов.

Наиболее актуальным разделом современной клинической лабораторной диагностики является распознавание инфаркта миокарда (ИМ), особенно в

ранние сроки в случаях его атипичного течения, или повторных ИМ. Специфичность и чувствительность ЭКГ метода далеки от абсолютных. По данным различных авторов, своевременно не диагностируется от 10 до 42% случаев ИМ.

Клинико-лабораторное выявление повышенного уровня маркеров некроза миокарда помогает не только в диагностике ИМ, но и позволяет выделять группу больных с максимальным риском неблагоприятных исходов (ИМ и смерть). В основе лабораторной диагностики ИМ лежит исследование активности ферментов сыворотки крови. Использование программы лабораторной диагностики, выявление критериев степени тяжести, контроль эффективности лечения, прогнозирование исхода ИМ по данным лабораторных тестов, несомненно, вносит дополнительный вклад в повышение эффективности борьбы с этим заболеванием.

В 2000г был опубликован совместный документ Европейского Кардиологического Общества и Американского Кардиологического Колледжа, отражающий современный подход к диагностике острого ИМ (ОИМ). Причиной пересмотра диагностических критериев послужило внедрение в практику диагностикумов для определения кардиальных тропонинов Т и I, имеющих высокую как чувствительность, так и специфичность в отношении повреждения миокарда и поэтому выявляющих даже минимальную зону некроза миокарда. Из-за высокой специфичности и чувствительности определение сердечных тропонинов стало «золотым стандартом» в биохимической диагностике ОИМ.

Во многих крупных многоцентровых исследованиях продемонстрировано, что появление в крови маркеров некроза миокарда, особенно сердечных тропонинов, при остром коронарном синдроме связано с высоким риском смерти и развития ИМ. Риск последующих осложнений пропорционален степени повышения содержания тропонинов в крови. В большинстве из современных исследований уровень тропонина I и T был независимым предиктором неблагоприятного исхода ишемической болезни сердца (ИБС). Кроме того, выявление пациентов с повышенным содержанием тропонинов в крови среди больных с нестабильным течением ИБС важно с целью выделения групп пациентов для более "агрессивного" антитромботического и инвазивного лечения. На основании результатов крупных рандомизированных исследований повышенное содержание сердечных тропонинов в сыворотке крови было признано экспертами Европейского Кардиологического Общества маркером, указывающим на больший риск тяжелых осложнений ИБС. Определение сердечных тропонинов было рекомендовано для широкого применения в практику при оценке состояния больных с острым коронарным синдромом (ОКС), в том числе выявление очагов некроза в миокарде при отсутствии электрокардиографических данных указывающих на это.

Метод определения МВ фракции креатинфосфокиназы (КФК МВ). КФК МВ определяется альтернативным кинетическим (спектрофотометрическим) методом, включающим использование вспомогательного и индикаторного ферментов. Антитела, включённые в ферментативный реагент, связываются и

ингибируют активность М субъединицы КФК МВ. Измеряется оставшаяся активность В субъединицы.

Метод определения тропонина I. Уровень тропонина I плазмы крови определяется иммунометрическим тестом. Тест предназначен только для диагностики *in vitro* в анализаторе IMMULITE® для количественного измерения тропонина в сыворотке. Субстратом для прибора является адамантил диоксетан, который под воздействием щелочной фосфатазы расщепляется, образуя неустойчивое соединение. Переход его в устойчивое состояние происходит с выделением фотонов, далее считывается световой поток. Ферментативно усиленная хемилюминесценция обеспечивает длительное свечение, повышая возможность считывания.

Таким образом, определение тропонина I осуществляется методом усиленной ферментативной иммунохемилюминесценции на автоматическом анализаторе закрытого типа IMMULITE®.

Диагностически достоверным повышением уровня тропонина I считают значения более 2 нг/мл, активности МВ фракции креатинфосфокиназы более 50 U/L.

К критериям ранней постинфарктной стенокардии относят появление типичных ангинозных болей в период от 2 до 21 дня заболевания.

Острый коронарный синдром без изменений на ЭКГ характеризуется повышением уровня тропонина I до 6 нг/мл и активности МВ КФК до 30 U/L. Примечательно, что в 70% случаев у больных ОИМ не наблюдается увеличение активности МВ КФК.

Острый коронарный синдром с депрессией сегмента ST и изолированным отрицательным зубцом T на ЭКГ характеризуется депрессией сегмента ST, достоверным повышением уровня тропонина I до 9 нг/мл и активности МВ фракции КФК до 65U/L.

У больных ОИМ с изолированным отрицательным зубцом T на ЭКГ достоверно повышается уровень тропонина I до 22 нг/мл и активность МВ КФК до 72 U/L. Иногда у этих больных повышения активности МВ фракции КФК не наблюдается. Это больные с "минорными" некрозами миокарда.

**Непрерывно-проточные анализаторы растворов.** В проточных анализаторах транспортирование пробы, реагентов и формирование цветного комплекса осуществляются в потоке, непрерывнодвигающемся по специальным трубкам. Пробы отбираются с помощью наконечника-зонда, который по очереди опускается в каждую пробирку на фиксированное время. Пробы и реагенты подаются по индивидуальным гибким пластиковым трубкам от единого многоканального перистальтического насоса. Проба и реагенты сливаются на соответствующих стадиях в T-образные смесители и продвигаются по трубкам к стеклянным горизонтальным спиральным смесителям-инкубаторам, которые обеспечивают перемешивание жидких фаз путем повторяющегося изменения направления движения смеси. Спираль может быть уложена в термостат для поддержания необходимой температуры. Длина спирали определяет время инкубации.

Недостатками этого типа автоанализаторов являются: большой расход реактивов и пробы, а также возможность загрязнения предыдущей пробой последующей при относительно невысокой производительности (до 60 анализов в час).

**Центрифужные анализаторы.** Центрифужные анализаторы отличаются от описанных выше дискретных анализаторов использованием центробежной силы для перемещения пробы, реагентов и формирования реакционной смеси. Принцип действия центробежного анализатора основан на быстром вращении специального ротора, по внешнему диаметру которого укреплены кюветы. Кювета имеет сложную форму, как минимум две емкости для пробы и реагента, а также рабочую область, в которой происходит фотометрирование. При вращении ротора под действием центробежной силы реагент и проба попадают в емкость, где формируется цветной комплекс и происходит фотометрирование реакционной смеси.

Преимущество таких анализаторов по сравнению с традиционными дискретными анализаторами проявляется в возможности их использования в качестве экспресс-анализаторов, исключительной простоте в работе и высокой производительности при проведении кинетических исследований.

Основной недостаток центрифужных анализаторов – высокая стоимость одноразовых кювет специальной конструкции. Широкого распространения центрифужные анализаторы не получили.

## **Анализаторы «сухой химии»**

Прогрессивной технологией при выборе принципов работы биохимических анализаторов (способа проведения реакции) следует признать системы, построенные на использовании твердофазных носителей реактивов, заменяющих традиционно используемые в биохимическом анализе «жидкие» реактивы.

Системы, построенные на этом принципе, называют анализаторами «сухой химии». Они ориентированы как на качественные, так и на количественные определения биохимических компонентов в биологических жидкостях: моче, сыворотке крови, плазме, цельной крови.

Качественные или полуколичественные методы экспресс-анализа получили широкое распространение, в них используются индикаторные реагентные полоски, пропитанные реагентами, которые чувствительны к тому или иному компоненту анализируемого биосубстрата. При контакте таких полосок с биожидкостью поверхность бумажной полоски меняет свою окраску.

О наличии и концентрации исследуемого компонента в биожидкостях можно судить визуально на основании сравнения измененного цвета бумажной полоски со специально прилагаемыми цветными стандартами (цветными шкалами).

Преимущества качественного метода с использованием бумажных полосок:

- простота метода, доступная медработникам любой квалификации;

- возможность проведения анализа без использования сложной аппаратуры и дополнительной лабораторной посуды;
- быстрота получения результата.

Основной недостаток метода – низкая точность анализа и ограниченное число видов исследований.

Используемые в биохимических анализаторах «сухой химии» технологии количественных анализов основаны на регистрации изменения цвета под действием реакции. Измерение производится методом рефлектометрии, когда световой поток от поверхности индикаторов на определенной длине волны направляется на фоточувствительный элемент.

Принципиально существуют две формы носителей «сухих» реактивов:

- реагентные полоски из чистой целлюлозы, имеющие стандартную плотность, определенную толщину волокон и пропитанные соответствующими реактивами;
- система многослойных аналитических пленок (СМАП) в виде специальных ориентированных на определенный анализ слайдов, в которых каждый слой системы выполняет свои функции. Эта технология разработана американской компанией Kodak.

Верхняя часть СМАП – это распределительный слой, обеспечивающий равномерное распределение исследуемой пробы на рабочей поверхности системы. Следующая, реактивная, часть системы может состоять из нескольких слоев пленок, каждый из которых содержит соответствующие специфические реагенты в сухом виде. Иногда система содержит дополнительные промежуточные слои, предназначенные для разрушения, маскировки или фильтрации нежелательных продуктов реакции, содержащихся в исследуемой пробе. Последняя часть – отражательный слой, основная функция которого заключается в отражении падающего светового потока на чувствительный фотоэлемент. Все слои посредством специальной рамки объединяются в слайд. Исследуемая проба дозируется на верхний распределительный слой, равномерно распределяется по нему и за счет капиллярных сил последовательно проходит все реактивные слои системы, образуя в результате цветной комплекс.

Другой вид слайдов ориентирован на определение электролитов. В таком слайде расположена ион-селективная мембрана.

Производятся компактные анализаторы, состоящие из трех блоков. Первый блок (центральный) имеет пульт оператора, дисплей и принтер. На этом блоке проводится анализ методом конечной точки. На втором блоке проводятся кинетические исследования. Третий блок служит для определения электролитов.

Исследуемым материалом может быть сыворотка, плазма крови, цереброспинальная жидкость, моча. Анализируемая жидкость дозируется с помощью специального автоматического дозатора. Объем исследуемого материала составляет 10 мкл на одно исследование.

На каждом слайде имеется штриховой код, несущий информацию о виде исследования и номере партии слайда. Каждый слайд герметично упакован в

фольгированный пакет. При хранении упакованных слайдов в бытовом холодильнике срок годности слайда немногим более года.

Системы многослойных пленок по сравнению с бумажными полосками позволяют значительно повысить точность анализа и, сохраняя преимущества «сухой химии», по метрологическим параметрам не уступают традиционным методам биохимического анализа в растворе.

Главный недостаток применения анализаторов, построенных на технологии СМАП, – относительно высокая стоимость слайда, что увеличивает затраты на проведение одного анализа в сравнении с затратами, выполняемыми по традиционной схеме на жидких реактивах.

## **ЛАЗЕРНАЯ НЕФЕЛОМЕТРИЯ**

Нефелометрия – вид оптического анализа, который базируется на количественном измерении светового потока, рассеиваемого частицами дисперсной системы в направлении, обычно почти перпендикулярном направлению падающего луча света. Явление светорассеяния возникает в том случае, если размеры частиц, встречаемых на пути светового потока, превышают длину волны электромагнитного излучения. Измеряя интенсивность светорассеяния, определяют концентрацию, размеры и/или форму частиц веществ, находящихся в состоянии тонких взвесей, эмульсий или коллоидных растворов.

Другими словами, с помощью нефелометрического анализа измеряют степень мутности раствора (эмульсии, взвеси). Чем мутнее дисперсная система, тем больше она рассеивает света и тем меньше пропускает. В определенных условиях наблюдается пропорциональная зависимость между содержанием частиц во взвеси (капелек в эмульсии) и ее мутностью. Оптимальные условия измерения светорассеяния возникают при использовании растворов низкой концентрации.

В настоящее время в лабораторной практике не используются модели простых старых нефелометров, а применяются варианты лазерных нефелометров, позволяющих проводить максимально точные измерения.

Принцип работы лазерного нефелометра. Принцип работы прибора основан на измерении светорассеивания неокрашенных белковых растворов и других реагентов.

При измерении светорассеивания растворов на лазерном нефелометре источником излучения является гелий-неоновый лазер. Луч, идущий от гелий-неонового лазера, имеет фиксированную длину волны. Например, в однолучевом лазерном нефелометре фирмы «STET» (Германия) установлен лазер с длиной волны  $\lambda=632,8$  нм. Измеряемая на приборе экстинкция – величина безразмерная и изменяется от 0 до бесконечности, но исследование производится только при одной определенной длине волны.

Такой монохроматический луч проходит через исследуемый раствор, находящийся в кювете, и рассеивается им. Регистрация производится с помощью фотоэлемента, встроенного в корпус прибора. Результатом работы фотоэлемента является изменение силы электрического тока, что и отображается на

цифровом индикаторе дисплея. Перед фотоэлементом находится шторка, которая защищает его от попадания света. Она динамично связана с крышкой кюветного отделения: при открывании крышки шторка закрывается и наоборот.

Результат исследования выражается в единицах оптической плотности, которые пропорциональны концентрации светорассеивающего вещества при данной длине волны. Расчет концентрации светорассеивающих белковых растворов проводится графическим методом.

Особенности работы на лазерном нефелометре. Лазерный нефелометр «STET» работает в автоматическом или полуавтоматическом режиме. Если перед лазерным нефелометром установлен автоматический дозатор растворов, подающий кюветы в прибор, то работа осуществляется в автоматическом режиме. Если автоматический дозатор отсутствует, и реактивы дозируются ручным механическим дозатором, то лазерный нефелометр работает в полуавтоматическом режиме.

Прибор предназначен для исследования микрообъема образца, а именно 10 мкл сыворотки или плазмы крови с последующим получением предельно точного результата с минимальной ошибкой исследования, которой можно пренебречь на практике. (Такой подход к результатам исследования недопустим при работе с биохимическими автоанализаторами).

Порядок работы на однолучевом лазерном нефелометре «STET»:

1. Прибор включают в сеть за 15 минут до начала измерения. За это время гелий-неоновый лазер выходит на стационарный режим работы.
2. В начале работы используются кюветы с калибровочным материалом (стандартным, эталонным) известных концентраций. При этом микрообъем пластиковых одноразовых кювет заполняют исследуемым раствором, далее кюветы поочередно захватывает за верхние «ушки» кюветодержатель-транспортер и погружает их в камеру для измерения интенсивности светорассеивания, а после измерения результата вынимает и выбрасывает в урну для утилизации полистирена. Результат измерения загорается на экране дисплея и печатается на бумажной ленте.
3. Далее измеряют кюветы с исследуемыми образцами.

Расчет концентрации светорассеивающего раствора. Для этой цели используют графический метод, который заключается в построении калибровочного графика по экстинкциям известных концентраций. Например, для построения калибровочной кривой светорассеивания белковых растворов при определении иммунных комплексов сыворотки или плазмы крови применяют агрегированную при 63°C в течение 40 минут белковую  $\gamma$ -глобулиновую фракцию II КОНА. Результаты выражают в г/л эквивалентных концентраций агрегированного  $\gamma$ -глобулина.

Разновидностью нефелометрии является турбидиметрия.



## Варианты турбидиметрического анализа

**Турбидиметрический метод** основан на измерении частичной непрозрачности анализируемой среды путем оценки снижения интенсивности падающего светового потока. Поглощение монохроматического светового потока происходит в случае, если длина волны электромагнитного излучения оказывается значительно меньше, чем размеры частиц. Турбидиметрия является менее чувствительным методом по сравнению с собственно нефелометрией, поскольку для турбидиметрического анализа используются среды с относительно большим содержанием частиц в единице объема.

При проведении собственно нефелометрии падающий на кювету монохроматический световой поток и приемник излучения (фотоэлемент) располагаются под прямым или близким к нему углом. При использовании турбидиметрии источник света и приемник излучения – на одной линии.

Это позволяет многие фотометры применять в качестве и колориметров, и нефелометров (ФЭК-56, ФЭК-Н-57 и др.). В приборах такого типа имеется специальный светофильтр для нефелометрических определений с максимумом пропускания около 590 нм. Таким образом, турбидиметрию можно представить как вид абсорбционного фотометрического анализа, основанный на измерении поглощения или пропускания света частицами мутных растворов (тонких взвесей, эмульсий, коллоидных растворов).

Турбидиметрический анализ применяют для оценки проб коллоидной устойчивости белков, для исследования системы свертывания крови (коагулометры, агрегометры), определения количества эритроцитов (прибор MF 4020). Нефелометрически определяют белки крови и других жидкостей.

Распространенным и более современным вариантом турбидиметрии является **метод иммунотурбидиметрического исследования**. Этот метод также основан на определении степени мутности системы, что зависит от количества преципитата, образующегося в результате реакции «антиген-антитело».

О ходе иммунологической реакции судят:

1. по «конечной точке» – результат измеряется через фиксированный промежуток времени (статическая нефелометрия), результаты соотносятся с контрольными пробами (фирмы «Техникон», «Берингер»);
2. по динамике нарастания продуктов реакции – результат учитывается на уровне максимума скорости реакции (кинетическая нефелометрия), за счет чего сокращается время получения результата и повышается точность исследований (приборы фирмы «Бекман»).

## ФЛЮОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

Флюориметрический метод относят к методам эмиссионного анализа, основанного на способности многих органических веществ (фенолов, ароматических аминов, полициклических соединений, сопряженных полиаминов и др.) люминесцировать, т.е. давать характерный спектр испускания при освещении исследуемого образца ультрафиолетовым или другим коротковолновым излучением. Таким образом, флюориметрия основана на способности ве-

щества поглощать свет определенной длины волны и излучать свет (люминесцировать) с большей длиной волны и меньшей энергией.

**Флюориметры** – приборы, использующиеся для измерения концентрации вещества по интенсивности его флюоресценции (вторичного излучения, возникающего в ответ на облучение анализируемого вещества светом с более короткой длиной волны, чаще – ультрафиолетовым).

В отличие от фотоэлектроколориметров в них всегда используется источник ультрафиолетового света, монохроматизация световых потоков (возбуждение и испускание) достигается применением интерференционных светофильтров или монохроматоров.

Исследуемый раствор вносится в кварцевую кювету, приемник излучения (фотоумножитель) располагается под прямым углом к возбуждающему флюоресценцию монохроматическому световому потоку, а возникающий в фотоэлектронном умножителе сигнал подается либо непосредственно на чувствительный гальванометр, либо после предварительного усиления – на стрелочный или цифровой прибор, печатающее устройство.

Применение для регистрации свечения фотоумножителей и усилителей «снимаемого» с них сигнала придает методам флюоресцентного анализа весьма большую чувствительность. Они в 100-1000 раз чувствительнее аналогичных им методов абсорбционного фотометрического анализа.

При использовании флюориметрического метода исследования оценку результатов (например, при определении экскреции катехоламинов с мочой и др.) производят непосредственно по шкале прибора, отградуированной по стандарту: предварительно находят цену деления шкалы, соответствующую точно известному содержанию стандартного вещества в пробе.

Флюориметрические методы характеризуются высокой специфичностью и избирательностью благодаря:

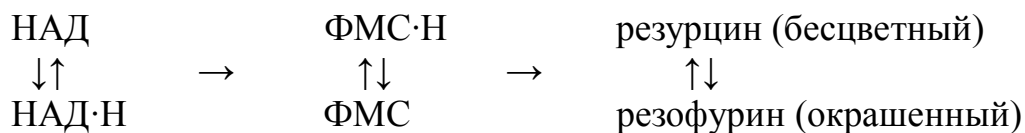
1. применению в большинстве из них процедуры предварительного отделения анализируемого продукта от других, обладающих близкой химической структурой;
2. преобразованию его в соединение, отличающееся более высоким квантовым выходом (что осуществляется, например, в тригидроксииндоловом методе определения катехоламинов);
3. использованию такой узкой области ультрафиолетового (монохроматического) света, в которой возбуждается флюоресценция лишь интересующего исследователя метаболита,
4. существенным различиям в максимумах спектров возбуждения и флюоресценции продуктов с несколько разной химической структурой,
5. весьма малой вероятности того, что в содержимом кюветы флюориметра имеются два или более вещества, способных подвергаться свечению в выбранном режиме возбуждения флюоресценции.

В основе разработанных флюоресцентных методов могут лежать:

1. собственная флюоресценция пиридиновых коферментов (НАДН, НАДФН),

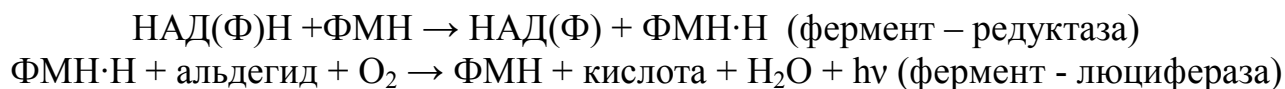
2. способность НАД-содержащих кофакторов вступать в реакцию с веществами с образованием продуктов, обладающих флюоресценцией с большим квантовым выходом.

Чаще всего с такой целью используется флюоресцентная редоксиндикаторная цепь:



Благодаря использованию этой цепи чувствительность методов становится намного выше, так как получаемый в реакции резофурин флюоресцирует в 100 раз сильнее НАДН.

Для определения активности НАД(Ф)-зависимых оксидоредуктаз часто применяется биохемилюминесцентный метод, основанный на использовании системы с двумя ферментами НАД(Ф)·Н:флавиномононуклеотид(ФМН)-оксидоредуктаза-люцифераза из светящихся бактерий. В этой системе реакция светоизлучения протекает в результате ферментативного окисления НАД(Ф)·Н в цепи последовательных реакций:



При реакции с бактериальной люциферазой флюоресценция продукта в 1000 раз превышает флюоресценцию НАД·Н.

Методы, основанные на данной реакции, позволяют достаточно специфично и с высокой чувствительностью определять содержание субстратов и активность ферментов, катализирующих реакции с участием НАД·Н, НАДФ·Н. Следовательно, можно определять и другие сильно флюоресцирующие продукты, образующиеся под влиянием отдельных форм пиридин-нуклеотидов.

Измерение интенсивности флюоресценции в единицу времени называют «скоростной флюориметрией». В задачу определения входит оценка изменения содержания флюоресцирующих веществ в реакционной смеси в динамике развития ферментативного процесса.

Разработаны также экспресс-методы, когда регистрация флюоресценции производится практически сразу же после внесения флюоресцентного зонда в анализируемую биологическую жидкость.

Одним из достаточно хорошо разработанных вариантов анализа является иммунофлюоресцентный метод, когда используется свечение ковалентно связанной метки. Этот метод применяется при количественном определении белков в сыворотке крови. Связывание белка с антисывороткой способствует тушению флюоресценции.

Разработан метод **флюоресцентнополяризационного иммуноанализа** и анализаторы на его основе. Например, в Abbot TDxFLx системе источник света – галогеновая лампа излучает свет в широком диапазоне длин волн с произ-

вольной пространственной ориентацией. Интерференционный фильтр перед источником света позволяет проходить только синему свету (418-489 нм). Свет затем проходит через поляризационный кристалл, формирующий линейно поляризованный синий свет. Линейно поляризованный синий свет возбуждает флюорофор и переводит его в возбужденное состояние. После возбуждения флюорофор возвращается в исходное состояние, излучая зеленый свет (525-550 нм). Когда флюорофор присоединяется к большой молекуле антитела, это ограничивает свободное вращение, и излучаемый зеленый свет будет иметь такую же линейную поляризацию как возбуждающий синий свет, и поляризация сохраняется. Напротив, когда флюорофор свободно вращается, излучаемый зеленый свет будет линейно поляризован в другой плоскости, чем возбуждающий синий свет, и поляризация будет уменьшаться. Как следует из вращающих свойств молекул в растворе, степень поляризации прямо пропорциональна размеру молекулы. То есть поляризация возрастает с увеличением молекулярного размера.

Присоединение методологии **конкурентно связанного иммуноанализа** позволяет помеченной молекуле антигена конкурировать за присоединение к молекулам антитела. В реакции конкурентного связывания участвуют следующие компоненты: антитело, антиген пациента и помеченный антиген с флюоресцином (метка-антиген комплекс). Когда конкурентное присоединение имеет место, метка-антиген комплекс присоединяется к молекуле антитела, меньший метка-антиген комплекс остается в растворе.

Если образец пациента содержит низкую концентрацию антигена: после того как реакция конкурентного связывания достигает устойчивого состояния, в реакционной смеси будет содержаться высокая концентрация связанных флюоресцентных меток и поляризация возрастает. Если образец пациента содержит высокую концентрацию антигена: после достижения устойчивого состояния реакционной смеси поляризация, напротив, меньше.

Для проведения исследования на приборе необходимы: картриджи для анализа, солубилизирующий и преципитирующий растворы, пак с реагентами (содержит сурфактант в буфере, антитела моноклональные мышиные, раствор флюоресцирующей метки). Из цельной крови при добавлении солубилизирующего, преципитирующего растворов и последующем центрифугировании получают супернатант с определяемым веществом, который переносят в картриджи и помещают в TDX вместе с паком реагентов.

Точное отношение между поляризацией и концентрацией определяемого вещества (непомеченные гормоны, лекарства и др.) в образце устанавливается с помощью измерения значений поляризации калибраторов с известной концентрацией лекарств и гормонов. По значениям поляризации, полученным для каждого неизвестного образца, рассчитывают концентрацию определяемого вещества, используя калибровочную кривую. Конечные результаты измерений выводят на печать.

**Флюориметрические анализаторы.** В настоящее время разнообразные клиничко-лабораторные флюориметрические анализаторы выпускаются не

только известными зарубежными фирмами. Заслуживают внимания отечественные приборы серии «Флюорат» (Санкт-Петербург) и приборы НПО «СОЛАР» (Белоруссия). Основная модель серии «Флюорат» представляет собой не только собственно флюориметр, но также хемилуминометр, нефелометр, коагулометр, фотометр. Большие потенциальные возможности прибора реализуются благодаря использованию дополнительных приспособлений: «ПИФА» (поляризационная флюориметрия), «Стрип» или «Планшет» (гетерогенный иммуноанализ), «ВЭЖХ» (жидкостная хроматография), «КЭФ (капиллярный электрофорез) и других. Прибор может применяться для выполнения классических однокочечных методов анализа – определения содержания субстратов, метаболитов, витаминов, микроэлементов, ферментов, гормонов, медиаторов, аминокислот и др.

Применение универсальных высокочувствительных флюориметров (типа «Флюотест») позволяет осуществлять многие виды клинико-биохимических исследований методами ультра- и субмикрoанализа, в том числе и тех, которые не могут быть выполнены с применением абсорбционной фотометрии. Основной набор светофильтров, которые встроены в прибор, дает возможность производить исследования широкого спектра биологических веществ (субстратов, ферментов, гормонов, витаминов, порфиринов, липопротеинов, биологически активных веществ и многих других).

НПО «СОЛАР» освоено выпуск достаточно совершенных и удобных компьютеризированных спектрофлюориметров, не уступающих лучшим мировым образцам и применяемых в основном для научной работы.

## **ИММУНОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКЕ**

Особый интерес к иммунохимическим диагностическим тестам появился после разработки методов анализа биологически активных веществ, известных под названием «методов связывания», из которых наиболее популярными и перспективными являются радиоиммунологический (РИА) и иммуноферментный (ИФА) методы. С их помощью в лабораториях определяют широкий спектр показателей, используемых различных областях медицины:

- в эндокринологии для диагностики сахарного диабета, патологии гипотазарно-надпочечниковой и тиреоидной систем, изучения механизмов эндокринно-обменных нарушений;
- в онкологии для ранней диагностики злокачественных опухолей и контроля за эффективностью лечения;
- в кардиологии для диагностики ОИМ и дифференциации форм сосудистых нарушений;
- в педиатрии для определения причин нарушений развития у детей и подростков;
- в акушерстве и гинекологии для контроля за развитием плода, диагностики гинекологических заболеваний и выявления причин бесплодия;
- в аллергологии для определения концентрации иммуноглобулинов и аллергенов;

- в психиатрии для оценки эффективности лечения и т.д.

В основе этих методов лежит сатурационный (saturation – насыщение) заместительный анализ. Он основан на конкуренции немеченых («холодных») молекул определяемого биологического вещества и молекул этого же вещества, соединенных с меткой, за связывание специфическими биндинг-системами. В качестве связывающих систем используют антитела, специфические транспортные белки или рецепторные белки органов-мишеней. Немеченое вещество и его меченый аналог конкурируют за лиганд, используемый в количестве, достаточном для полного насыщения его связывающей способности. После отделения комплекса от свободных ингредиентов подсчитывают количество несвязанной метки или метки в составе комплекса.

В сатурационном анализе в качестве метки может быть использован радиоактивный нуклид ( $^{125}\text{I}$ ,  $^3\text{H}$  и др.), применяются также флюоресцентные, ферментные, свободнорадикальные метки.

## Иммуноферментный метод исследования

Иммуноферментный анализ относится к фотоколориметрическим и иммунологическим методам исследования в комплексном исполнении.

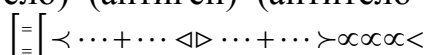
### Проведение иммуноферментного анализа.

Самой распространенной модификацией иммуноферментного анализа является **твердофазный иммуноферментный метод**. Существуют два основных вида твердофазного анализа:

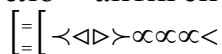
- I. классический «сэндвич» – способ для обнаружения антигенов в биологических жидкостях, основной принцип метода заключается в последовательности иммуноферментных реакций.

Общая схема «сэндвич»-метода:

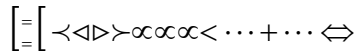
- 1) (полистирен – антитело) (антиген) (антитело – фермент)



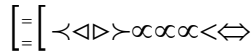
- 2) (полистирен – антитело – антиген – антитело – фермент)



- 3) (полистирен – антитело – антиген – антитело – фермент) (субстрат)



- 4) (полистирен – антитело – антиген – антитело – фермент – субстрат)



- II. гетерогенный метод для обнаружения антител и аутоантител в биологических жидкостях. Используется аналогичный принцип последовательного связывания; разница заключается в том, что на твердофазной подложке фиксируется антиген, взаимодействующий в последующем с аутоантителами, конъюгированными с ферментом (пероксидазой). Гетерогенный ИФА иначе называют ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) – ферментсвязывающий иммуносорбентный анализ.

При разделении связанного и свободного меченого антигена (антитела) в качестве твердофазной подложки для закрепления антигена (антитела) могут

использоваться нерастворимые носители из полистирена, целлюлозы, сефадекса, сефарозы, агарозы, латекса и других материалов, или же поверхность пробирок, лунок планшетов, микроплат из полистирена, силиконовых трубок.

Чаще всего, тот и другой методы ИФА заключаются в высококонтактном связывании антител с поверхностью планшета разового использования, в результате чего лунка планшета приобретает свойства антительного сорбента, способного извлекать из биологических жидкостей исследуемое вещество. В качестве антительного сорбента используются преимущественно полистироловые планшеты для иммунохимических исследований (коммерческие, типовые, имеющие соответствующий ГОСТ), поскольку полистирен эффективно адсорбирует антитела. Образовавшийся комплекс «антиген-антитело» выявляется с помощью тех же антител, конъюгированных с ферментом. В качестве ферментной метки используют пероксидазу из корня хрена, щелочную фосфатазу, глюкозооксидазу,  $\beta$ -галактозидазу.

#### Регистрация результата исследования.

Активность фермента оценивается с помощью цветной реакции. Например, активность пероксидазы из корня хрена по реакции с хромогенным субстратом (тетраметилбензидин). Интенсивность окраски пропорциональна концентрации субстрата реакции в образце.

Ферментативная активность регистрируется на одно- или многоканальном («мультискан») планшеточном иммуноферментном анализаторе-спектрофотометре (например, «DUNEX» с длиной волны 450 нм) по степени изменения окраски субстратной смеси. Количественную оценку проводят по калибровочной кривой графическим методом (как на фотоколориметре). Тест-системы высоко специфичны и позволяют определять количество исследуемых веществ в концентрации 10-20 нг в 1 мл и выше.

#### Контроль качества.

Избранные точки калибровочной кривой и значение контрольного образца должны попасть в диапазон значений оптической плотности, концентрации и коэффициента вариации, указанных в паспорте контроля качества.

Иммунохимические методы исследования интенсивно развиваются и используются не только для решения фундаментальных проблем иммунологии, белковой химии, эндокринологии, генетики, но и для решения практических задач различных областей медицины, особенно тех, в которых необходимы точные количественные методы определения содержания биологически активных макромолекул.

В настоящее время проведена клиническая апробация твердофазных иммуноферментных методов количественного определения гормонов, миоглобина, фибриногена, продуктов деградации фибрин-фибриногена, фибронектина, иммуноглобулинов класса E, аутоантител к миоглобину, инсулину и т.п. При этом фирмами-производителями оценивается клиническая и серо-эпидемиологическая целесообразность применения разработанных диагностикомов.

Разрабатываются серии ИФА-диагностикумов для комплексной оценки функционирования отдельных органов и систем организма, разностороннего подхода к обследованию пациента не только на этапе установления точного диагноза, но и при проверке эффективности лечебных воздействий. Приводим один из рекомендуемых комплексов тест-систем для иммуноферментного определения уровня тиреоидных гормонов при патологии щитовидной железы:

- тиреотропный гормон (Юни – Тест – ИФА – ТТГ),
- общий тироксин (Юни – Тест – ИФА – ТГ<sub>4</sub>),
- свободный тироксин (Юни – Тест – ИФА – ТГ<sub>3</sub>),
- тиреоглобулин (Юни – Тест – ИФА – ТГ),
- антитела к тиреоглобулину (Юни – Тест – ИФА – АТ – ТГ),
- антитела к микросомальной фракции щитовидной железы (Юни – Тест – ИФА – АТ – МФТ).

## Радиоиммунологический анализ

Радиоиммунологический анализ относится к вариантам радионуклидного сатурационного анализа.

Основной принцип РИА-диагностики. Экспериментальная система в радиоиммунологическом анализе содержит три основных компонента: *лиганд (определяемое вещество, называемое обычно «антиген», хотя этот термин достаточно условный, поскольку далеко не всегда происходит реакция именно антиген-антитело в иммунологическом смысле), меченый радионуклидом лиганд и антитело*, связывающее меченый и немеченый лиганды. РИА-диагностика основана на специфической иммунохимической реакции антигена с антителом при конкуренции с меченым антигеном. Количество связавшегося антителом радиоактивного лиганда в системе в момент насыщения обратно пропорционально количеству нерадиоактивного.

Вместе с собственно РИА-диагностикой под термином РИА часто объединяют (что достаточно некорректно) и несколько других **разновидностей радионуклидного анализа**, отличающихся по своим характеристикам:

1. Если метить не лиганд, а антитело и использовать методы разделения комплексов антитело-лиганд от свободных антител, то также можно определить содержание лиганда в пробе. Данный методический подход получил название иммунорадиометрического анализа (ИРМА).
2. Позже вместо антител стали использовать естественные белки плазмы или тканей, которые обладают специфическим сродством к определяемому веществу. На основе такого подхода разработан радио-конкурентный анализ (РКА), иначе - метод конкурентного белкового связывания (**КБС**).
3. Методика использования тканевых рецепторных белков вместо антител для специфического связывания лигандов позволила осуществить разработку радиорецепторного анализа (РРА).



4. Существует также радиоэнзиматический анализ (РЭА) – методический подход, при котором в качестве связывающего агента для определяемого вещества и его меченого аналога используют специфический фермент.

Благодаря точности, надежности, высокой специфичности и чувствительности ( $10^{-15}$ - $10^{-12}$  г/л), простоте выполнения методы РИА получили широкое распространение. Применение высокоспецифичных антител к анализируемому веществу в сочетании с изотопной меткой позволяет с высокой чувствительностью определять практически неограниченно широкий круг веществ, на что в ряде случаев требуется лишь несколько капель крови, другой биологической жидкости или экстракта. Тест-системы для радиолигандного анализа выпускаются в виде коммерческих РИА-наборов (radioimmunoassay kit), укомплектованных всем необходимым для проведения исследования. С помощью наборов возможно количественное и качественное определение широкого спектра соединений в различных средах организма, биологических экстрактах.

Многие вещества, исследуемые с помощью РИА, сложно определить биохимическим способом в смеси с другими, часто похожими, соединениями.

Необходимые компоненты РИА-набора:

1. Метка. В качестве радиоактивной метки используются  $^{125}\text{I}$  и  $^3\text{H}$ . Применение этих изотопов различно и определяется их свойствами.  $^3\text{H}$  прекрасно хранится, но энергия образующихся при его распаде  $\beta$ -частиц очень мала, поэтому для регистрации излучения необходимо растворять радиоактивное вещество в жидком сцинтилляторе. При использовании нуклидов  $^{125}\text{I}$  не нужны сцинтилляторы, но невозможно длительное хранение изотопа из-за относительно короткого периода полураспада. Таким образом, выбор изотопа определяется задачами исследования.  
При РИА-диагностике радионуклид применяется исключительно в виде комплекса с «антигеном» (удельная активность – 100 мкюри/мг), т.к. принцип радиолигандного метода подразумевает конкурентное взаимодействие молекул определяемого вещества и его меченого аналога со связывающим агентом, то. При выполнении процедур РИА используется «тотальная проба», которая содержит только метку и характеризует ее активность.
2. Стандарты. Это четко отмеренные количества определяемого вещества для построения калибровочного графика, в том числе присутствует нулевой стандарт. Обычно используется пять или шесть стандартов. В каждом отдельно взятом наборе в качестве метки и стандарта выступает один и тот же «антиген», с той лишь разницей, что в состав стандарта радиоактивная метка не входит. Используя стандартные растворы, можно построить калибровочную кривую и по ней определить содержание лиганда в опытных пробах. Необходимое условие качественного выполнения анализа – одновременное выполнение трех параллельных проб для каждого стандарта.
3. Связывающий агент. Он выступает в качестве предмета конкуренции между меткой и стандартом или определяемым веществом. По аналогии с «ан-

тигеном» здесь традиционен термин «антитело» (или «антисыворотка»), хотя при таких вариантах сатурационного анализа, как ИРМА, РРА в этом качестве выступают белки, тканевые рецепторы и т.д.

При выполнении радиоиммунологического анализа используется проба на неспецифическое связывание, которая содержит все компоненты набора, кроме антитела, и позволяет определить неспецифическое связывание метки с разделяющими компонентами и стенками пробирки.

4. Система разделения иммунных комплексов и свободных лигандов. Она предназначена для сепарации образовавшихся комплексов «антиген-антитело» от непрореагировавших между собой компонентов смеси. В разных наборах используются различные варианты методов разделения:

- 1) метод двойных антител или «сэндвич-метод» (вторичные антитела простые в растворе без носителя, или антитела, ковалентно фиксированные на подвижной твердой фазе – гранулированных частицах сефарозы, целлюлозы, сефадекса, стекла);
- 2) иммобилизованные антитела (связывающий реагент иммобилизован с помощью ионных, гидрофобных сил на дискообразных частицах полимеров или на стенках полимерных пробирок);
- 3) фракционное осаждение (полиэтиленгликоль, сульфат аммония, сульфит натрия, этанол, диоксан и др.);
- 4) адсорбция (активированный уголь, силикаты, гидроксипатит);
- 5) гель-фильтрация (добавление геля в пробирку, на современном этапе колонки не используются).

В настоящее время чаще всего для анализа используют наборы второго поколения, где применяются различные варианты твердофазного РИА, при котором антитела фиксированы на иммуносорбентах – «твердой фазе» или на стенках одноразовых пробирок и можно обойтись без центрифугирования.

Порядок проведения РИА-диагностики. Методические детали и особенности проведения радиоконкурентного анализа описаны в инструкциях фирм-изготовителей для каждого РИА-комплекта. Радиоиммунологический анализ подразумевает следующие основные этапы:

1. *Внесение* в пробирку: исследуемой пробы или раствора стандарта, меченого антигена, антисыворотки или другого специфического связывающего компонента в присутствии буфера.
2. *Инкубация* проб в оптимальных для каждого набора условиях, что необходимо для установления динамического равновесия между процессами образования и распада иммунных комплексов. Длительность инкубации зависит от молекулярной массы реагирующих антигенов и температуры, при которой происходит реакция.
3. *Сепарация* связанной и свободной фракций меченого лиганда одним из методов разделения (фракционное осаждение, адсорбция и др.) с последующим центрифугированием и аспирацией или декантированием супернатанта. В случае применения твердофазных вариантов РИА процесс разделения иммунных комплексов и свободных лигандов упрощается.

Заключительными этапами РИА являются:

1. *Радиометрия одной из полученных фракций.* В некоторых РИА-наборах осаждается не комплекс антиген-антитело, а свободный лиганд, поэтому в таких наборах определяется радиоактивность не осадка или иммобилизованного комплекса, а надосадочной жидкости.
2. *Построение калибровочной кривой по результатам измерений стандартных проб.* Калибровочный график отражает зависимость между величиной радиоактивности связанного (или свободного) лиганда и количеством введенного немеченого аналога. Стандартная кривая может быть построена несколькими способами, но во всех случаях по оси ординат откладывается процент связывания, а по оси абсцисс – концентрации стандартов. К каждому поставляемому РИА-набору фирма-производитель обычно прилагает калибровочный график, выполненный на момент приготовления реактивов, в том числе и метки. Калибровочная кривая, построенная в лаборатории при проведении РИА-анализа, всегда имеет отклонения от первичного графика (угол наклона и др.), обусловленные не столько периодом полураспада радиоактивной метки, сколько степенью сохранения иммунореактивности меченого лиганда. Его молекулы с течением времени деградируют вследствие радиоллиза. Антитело перестает «узнавать» свой видоизмененный антиген: образование комплексов антиген-антитело резко снижается. Чем ниже величина связывающей способности антитела, тем ниже чувствительность тест-системы, поскольку калибровочная кривая будет более полой. Дополнительный вклад в модификацию кривой вносит снижение радиоактивности метки в процессе транспортировки и хранения набора. Вследствие этих причин нельзя пользоваться первичной калибровочной кривой. Для обработки результатов необходимо иметь кривую, отражающую состояние реагентов на момент выполнения анализа.
3. *Расчет концентрации определяемого вещества в анализируемых пробах* – путем сравнения степени редукции связывания меченого соединения в пробах и стандартах. Конечные результаты выражают в единицах, рекомендованных фирмами-изготовителями тест-наборов для построения калибровочных кривых из стандартных навесок определяемых веществ.

Радиометрию проб и математическую обработку информации (перевод числа импульсов счета каждой пробы в единицы концентрации с учетом калибровочных проб) проводят на  $\gamma$ -счетчиках,  $\gamma$ -спектрометрах,  $\beta$ -сцинтилляционных счетчиках, снабженных пакетом прикладных программ компьютерной обработки данных.

Наиболее часто с помощью РИА-методов определяют стероидные и белково-пептидные гормоны, тропные гормоны гипофиза, опухолевые антигены, иммуноглобулины, транспортные белки крови, витамины, многие ферменты, лекарственные вещества, простагландины, опиоидные пептиды, циклические нуклеотиды и другие биологически активные вещества.

## БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ДНК- И ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОЙ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ

Достижения в области молекулярной биологии изменяют возможности фармакологической коррекции различных патологических процессов. Эти знания не только углубили представления об экспрессии генов, но и позволили разработать новые подходы к диагностике и лечению ряда заболеваний. В настоящее время доказана взаимосвязь между изменениями в структуре ДНК и некоторыми патологическими процессами. Идентификация генов, нарушение работы которых приводит к развитию наследственных заболеваний, создала предпосылки для развития наиболее эффективных методов их коррекции, лечения и профилактики.

Методами молекулярной биологии и медицины были созданы вакцины для предотвращения гепатита, синтезирован инсулин человека для лечения сахарного диабета, фактор VIII свертывания крови для восстановления нормальных процессов гемостаза и лечения гемофилии, а также другие фармакологические препараты. С помощью генной терапии оказалось возможным встраивать полноценно работающие гены в клетки организма больного и восстанавливать метаболические нарушения, вызванные мутантными генами.

Для выявления дефектов в структуре ДНК, она должна быть выведена из биологической жидкости, биоптата, а также из структуры клеток и «наработана» в количестве, достаточном для лабораторного исследования. Либо с терапевтической целью должны быть выделены гены для введения их в дефектные клетки организма пациента.

### Основные методы, используемые при ДНК-диагностике заболеваний:

1. выделение ДНК,
2. расщепление ДНК,
3. идентификация специфических последовательностей в ДНК,
4. блот-гибридизация ДНК,
5. секвенирование ДНК,
6. получение рекомбинантных ДНК и их амплификация.

**Выделение ДНК.** ДНК может быть выделена из любого типа тканей и клеток, содержащих ядра. Этапы выделения включают быстрый лизис клеток, удаление фрагментов клеточных органелл с помощью центрифугирования, ферментативное разрушение белков протеиназами, экстрагирование ДНК из раствора. В ходе выделения получают фрагменты ДНК значительно короче исходных. Такие молекулы приходится дополнительно фрагментировать.

**Расщепление ДНК с помощью рестриктаз.** Рестриктазы – это ферменты, расщепляющие ДНК. Для фрагментирования ДНК используют рестриктазы или рестриktionные эндонуклеазы, полученные из бактериальных клеток. Эти ферменты *in vitro* расщепляют внутренние участки ДНК на сравнительно небольшие фрагменты. Рестриктазы узнают специфические последовательности из 4-6, реже из 8-12 нуклеотидов в двухцепочечной молекуле ДНК (сайты

рестрикции) и «разрезают» ее в местах локализации этих последовательностей.

Известно более 500 различных типов рестриктаз бактериального происхождения, причем каждый из этих ферментов узнает свою специфическую последовательность. Поэтому с помощью набора рестриктаз можно разрезать молекулу ДНК на фрагменты желаемой длины. Образующиеся в результате рестрикции фрагменты ДНК могут быть исследованы методом электрофореза в агарозном или полиакриламидном геле.

**Идентификация специфических последовательностей.** При обработке рестриктазами геномной эукариотической ДНК, в частности ДНК человека, образуется много фрагментов различной длины, поэтому их не удается удовлетворительно разделить с помощью электрофореза в агарозном или полиакриламидном геле. Идентификация нужных фрагментов ДНК в таком геле возможна только путем гибридизации с мечеными ДНК-зондами. Синтез ДНК-зондов осуществляется в автоматизированных машинах, позволяющих синтезировать фрагменты однонитевой ДНК длиной свыше 100 нуклеотидных звеньев со строго определенной первичной структурой. Такие молекулы можно использовать для специфического связывания с исследуемыми участками гена.

**Блот-гибридизация по Саузерну.** Классическим методом идентификации интересующих участков ДНК стал метод блот-гибридизации по Саузерну, предложенный в 1975 году. Суть метода заключается в том, что сплошная «лестница» фрагментов ДНК, получившаяся в результате деления по молекулярной массе в гелях, подвергается денатурации при температуре 90-95°C для разрыва слабых связей между основаниями двухцепочечной молекулы ДНК с образованием одноцепочечных молекул. Фрагмент ДНК затем переносится с геля на плотный носитель (нитроцеллюлозный фильтр или нейлоновую мембрану). Фиксированную на фильтре ДНК гибридизуют с ДНК- или РНК-зондом, содержащим метку. Методом радиоавтографии определяют положение искомого фрагмента геномной ДНК на электрофореграмме. Блот-гибридизация – чувствительный метод идентификации ДНК-последовательностей.

**Установление первичной структуры ДНК-фрагментов (секвенирование ДНК).** Наиболее часто для установления первичной структуры ДНК используют дидезоксисеквенирование. В реакционных пробах, содержащих денатурированную однонитевую ДНК, ДНК-полимеразу, дезоксинуклеозидтрифосфаты (дНТФ) (дАТФ, дЦТФ, дГТФ и дТТФ, один из которых является радиоактивным), и праймер инициируют синтез ДНК в присутствии специфических дидезоксинуклеозидтрифосфатов (ддНТФ), или терминаторов, – ддАТФ, ддЦТФ, ддГТФ или ддТТФ. Синтез одновременно ведут в четырех параллельных пробах, в каждую из которых наряду с компонентами реакционной смеси прибавляют один из 4 ддНТФ.

ДдНТФ будут конкурировать с нормальными дНТФ за включение в растущую полинуклеотидную цепь. При встраивании ддНТФ вместо соответствующего нуклеотида синтез ДНК прекращается. Затем устанавливают последовательность нуклеотидов во вновь синтезированных фрагментах, комплементарных ДНК-матрице.

Секвенируемый фрагмент ДНК метят по фосфатному остатку. Фрагмент ДНК гибридизируется только с теми октануклеотидами, последовательности которых комплементарны его участкам. Таким образом, определяется набор всех возможных октануклеотидов, присутствующих в исследуемом фрагменте ДНК. Далее при помощи специальной компьютерной обработки упорядочивается расположение октамеров в исследуемом фрагменте ДНК.

**Получение рекомбинантных ДНК и их амплификация.** Исследуемые фрагменты ДНК обычно предварительно амплифицируют (увеличивают количество в миллионы раз), для того чтобы получать их в любое время и в неограниченном количестве. Исключительно ценным инструментом в решении этой проблемы оказалось использование рекомбинантных ДНК (т.е. ДНК, построенных из участков разного происхождения).

### ***1. Получение рекомбинантных ДНК.***

Для получения таких молекул первоначально выделяют ДНК из 2 разных источников. Каждую из них в отдельности фрагментируют, используя одну и ту же рестриктазу, расщепляющую ДНК с образованием «липких» концов. После процедуры нагревания до 90-95°C и медленного охлаждения (отжига) до 30°C наряду с исходными молекулами ДНКх и ДНКу могут образовываться рекомбинантные молекулы, состоящие из фрагментов ДНКх и ДНКу, связанных между собой «липкими» концами. Ковалентное сшивание фрагментов осуществляют с помощью ДНК-лигазы в присутствии АТФ как источника энергии.

### ***2. Клонирование ДНК.***

Для получения значительных количеств необходимого материала проводят клонирование ДНК, предполагающее встраивание нужного нам фрагмента ДНК в векторную молекулу ДНК (или вектор). Вектор обеспечивает проникновение этой рекомбинантной, или химерной, ДНК в бактериальные клетки. В качестве векторов используют плазмиды, фаги, ретро- и аденовирусы. Особенно часто в качестве вектора служит плазмидная ДНК. Плазмиды – небольшие кольцевые двухцепочечные молекулы ДНК, присутствующие в бактериальных клетках в различном количестве копий.

Используемую для клонирования плазмидную ДНК и исследуемую ДНК расщепляют по определенному участку рестриктазой, получают рекомбинантную ДНК, возвращают гибридную плазмиду в кольцевую форму, вводят в бактериальные клетки (осуществляют трансформацию бактерий). При размножении трансформированных бактерий происходит увеличение числа копий введенного в плазмиду фрагмента ДНК (таким способом чужеродный для бактерий генетический материал может быть получен в значительном количестве).

### **3. Полимеразная цепная реакция.**

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), предложенный в 1983 году Карри Муллисом (Нобелевская премия 1993 г.), явился эпохальным открытием в области молекулярной биологии.

**Основной принцип метода полимеразной цепной реакции.** Суть ПЦР заключается в идентификации специфического участка молекулы ДНК с последующим копированием или амплификацией этого участка с целью получения достаточного количества копий, которые могут быть выявлены доступными методами детекции. С помощью ПЦР одна молекула идентифицируемой ДНК может быть обнаружена в присутствии миллионов других молекул ДНК. Метод ПЦР позволяет избирательно синтезировать *in vitro* участки ДНК длиной от нескольких десятков до нескольких сотен пар нуклеотидов, используя в качестве матрицы любые образцы ДНК.

Для проведения ПЦР необходимы: исследуемая ДНК, субстраты синтеза (дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ), два праймера, термофильная ДНК-полимераза, ионы  $Mg^{2+}$ .

#### **Оборудование для проведения ПЦР-диагностики**

1. Термоциклер или амплификатор – программируемый термостат (прибор для проведения амплификации (умножения) детектируемого участка генома). Позволяет задавать температурный режим (90-95°C, 30-50°C, 60-70°C), параметры времени, количество циклов. Прибор рассчитан на одновременный анализ 24-96 образцов клинического материала, из которых один положительный и один отрицательный контроль. Выбор оптимального режима работы определяется длиной и специфичностью амплифицируемого участка.
2. Приборы для выделения образца ДНК или РНК: микроцентрифуга для подготовки проб исследуемого материала в пробирках типа «эппендорф» объемом 1,5-2,0 мл, обеспечивающая скорость вращения ротора 13000-16000 об/мин; встряхиватель типа «вортекс»; термоблок до 100°C.
3. Приборы для регистрации (детекции):
  - В случае использования электрофареза – источник тока и камера для электрофоретического анализа исследуемых образцов; источник УФ-излучения для создания светового потока в УФ-области спектра и анализа агарозных гелей (транслюминатор).
  - При использовании колориметрического определения (в наборах фирмы «Hoffman – La Roche», Швейцария) – многоканальный или одноканальный фотометр для плашек и промыватель для плашек.

**Порядок проведения полимеразно-цепной реакции.** Полимеразная цепная реакция – это метод амплификации *in vitro*, с помощью которого в течение нескольких часов можно выделить и размножить определенную последовательность ДНК в количестве, превышающем исходную в 108 раз.

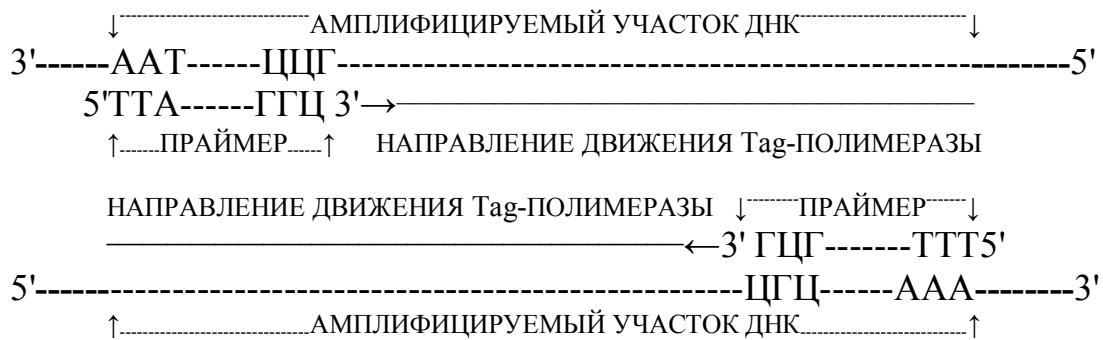
Амплификация заключается в повторяющихся циклах, представляющих собой трехступенчатый процесс, протекающий при различных температурах.

**I. Денатурация или плавление ДНК** при 90-95°C – разрыв слабых связей между основаниями матричной двухцепочечной молекулы ДНК с образованием одноцепочечных молекул.

**II. Гибридизация или отжиг ДНК с праймерами** – это отжиг праймеров с комплементарными последовательностями. Специфическая гибридизация цепей ДНК с праймерами идет при температуре 30-60°C.

При амплификации с помощью ПЦР используют два олигонуклеотидных праймера (затравки), фланкирующих участок ДНК, специфический для определяемого возбудителя. Искусственно синтезированные праймеры для ПЦР, как правило, представляют собой олигодезоксирибонуклеотиды длиной около 20-30 нуклеотидных остатков. Для синтеза праймеров необходимо знать нуклеотидную последовательность (первичную структуру) амплифицируемой области ДНК. Праймеры должны быть комплементарны 3'-концам амплифицируемого участка.

Приведена принципиальная схема гибридизации ДНК с праймерами.



**III. Элонгация (полимеризация)** – это последующая достройка полинуклеотидных цепей от праймеров с помощью ДНК-полимеразы при температуре 60–70°C.

Праймеры ориентированы таким образом, что синтез с помощью полимеразы протекает только между ними, удваивая количество копий этого участка ДНК. Амплифицированный участок называют «ампликоном». В результате происходит экспоненциальное увеличение количества специфического фрагмента приблизительно по формуле  $2^n$ , где  $n$  – число прошедших циклов амплификации. Продолжительность одного цикла менее 3 минут. Таким образом, за 2 часа можно получить около миллиарда копий определяемой последовательности ДНК. Процесс амплификации идет эффективно, если использовать термостабильную ДНК-полимеразу (Tag-полимераза), которая выделена из бактерии *Thermus Aquaticus* горячих источников, поэтому устойчива к действию высоких температур. Достоинства этой полимеразы – нет необходимости ее замены после каждого цикла при сравнительно высоком температурном оптимуме детерминируемой ею реакции (70-75°C).

Этот трехступенчатый цикл повторяется, пока не будет синтезировано достаточно материала для регистрации. Полученный материал фракциониру-



ют методом электрофореза в агарозном или полиакриламидном геле, применяя этидия бромид, который образует с ДНК комплексы, флюоресцирующие в УФ-лучах. С помощью специальных гелей удастся разделить фрагменты ДНК до 500 нуклеотидов, отличающихся только на один нуклеотид.

Описанную процедуру амплификации проводят в автоматическом режиме в приборе – циклизаторе, или термоциклере, амплификаторе ДНК. Такой прибор позволяет задавать нужное количество циклов и выбирать оптимальные временные и температурные параметры. За 25-30 циклов число синтезированных копий ДНК достигает нескольких миллионов.

С помощью ПЦР можно получить достаточное количество копий участков ДНК, в которых предполагается присутствие мутаций, полиморфизм сайтов. Можно проводить ДНК-диагностику инфицированности пациентов вирусными, бактериальными и грибковыми возбудителями болезней.

### **Основные характеристики ПЦР-анализа**

1. **Надежность** – защищенность анализа от ложноположительных и ложноотрицательных результатов.

*Ложноположительный* результат анализа является следствием заражения образца или реактивов молекулами ДНК исследуемого образца или, что бывает чаще, «ампликонами». В связи с этим необходимо пространственное разделение диагностической лаборатории как минимум на три блока: в одном из них осуществляют подготовку ДНК образца, в другом – постановку амплификации и в третьем – электрофорез и индикацию. Перенос реактивов и оборудования между блоками должен быть исключен. Достаточным контролем является отсутствие сигнала для образца с заведомо отсутствующей ДНК исследуемого образца. В наборах фирмы «Hoffman – La Roche» проблема решается за счет использования специального фермента амперазы или N-урацилгликозидазы, катализирующего разрушение предварительно амплифицированного материала в потенциально зараженной ПЦР-смеси перед началом нового анализа, не затрагивая нативной ДНК.

*Ложноотрицательный* результат – следствие недостаточной чувствительности реакции, ошибок оператора в выделении ДНК и проведении амплификации и др. Поэтому в каждой серии анализов присутствует положительный контроль-образец с заведомо присутствующей матрицей для праймеров, например, хромосомная ДНК искомого возбудителя инфекции. Причиной ложного результата может быть присутствие в образце ингибиторов реакции. При использовании указанных контролей, надежного оборудования, жестко стандартизированных реактивов метод ПЦР высокон надежен.

2. **Чувствительность** анализа характеризуется наименьшей концентрацией клеток или вирусных частиц в пробе, дающей положительный результат, и определяется эффективностью методики выделения ДНК возбудителя, чувствительностью собственно ПЦР и чувствительностью выбранного метода индикации. Теоретически возможно зарегистрировать единичные копии генома возбудителя в пробе. Оптимальные условия достигаются подбором

температурно-временного режима, концентрации ионов магния, праймеров и фермента в реакционной смеси, применением при необходимости «горячего старта» – добавления фермента в реакционную смесь, уже прогретую до температуры плавления ДНК. Достигнуть предельно высокой чувствительности при самых простых методах индикации позволяет и четырех-праймерная амплификация: сначала пара «внешних» праймеров запускает синтез первого ампликона, затем после нескольких циклов пара праймеров, комплементарных внутренним последовательностям первого ампликона, запускает синтез второго, меньшей длины. Предел чувствительности ПЦР-диагностикума инфекционных заболеваний, при условии использования 100 мкл клинического образца, в 100-1000 возбудителей в 1 мл.

3. **Избирательность анализа** – способность диагностикума выявлять возбудителей инфекции конкретного вида на фоне любых других микроорганизмов, вирусов и клеток организма-хозяина. При этом время постановки диагноза составляет всего 6-8 часов вместо 2-8 недель при выделении возбудителя из культуры клеток. Перспективна мультиплексная ПЦР, позволяющая определить в одной пробе нуклеиновые кислоты сразу нескольких возбудителей, что особенно актуально, так как часто при диагностике обнаруживаются смешанные формы инфицирования.

#### **Преимущества метода ПЦР и его диагностическое значение**

- 1) Метод позволяет обнаруживать патогенные для человека бактерии и вирусы в тех случаях, когда другими способами это сделать невозможно.
- 2) Для диагностики практически всех известных в настоящее время заболеваний может быть использован один набор приборов и незначительно различающиеся наборы реактивов для инфекций, что обусловлено химическим сродством нуклеиновых кислот. Появляется возможность создания для многих биологических жидкостей и возбудителей универсальной процедуры приготовления пробы, выделения ДНК и постановки реакции.
- 3) Отпадает необходимость в средах, клеточных культурах, узкой специализации персонала. ПЦР-диагностикумы дают возможность избежать проблем, связанных с перекрестно реагирующими антигенами.
- 4) Возможен анализ серонегативных пациентов на самых ранних стадиях инфекционного процесса, когда лечение наиболее эффективно.
- 5) Легко определяются патогенные возбудители, для которых не разработаны или затруднены методы культивирования, а также для персистирующих форм патогенных бактерий.
- 6) Метод позволяет поставить надежный диагноз в течение рабочего дня, т.е. за 6-8 часов.
- 7) Метод обладает высокой чувствительностью (до 1-5 копий возбудителя в пробе) и специфичностью (различают серологические штаммы).
- 8) Проведение анализа возможно в минимальном объеме пробы.
- 9) Возможна одновременная диагностика нескольких возбудителей заболевания в одной пробе.
- 10) Определение резистентности и чувствительности к антибиотикам.

11) Метод ПЦР максимально эффективен при контроле качества лечения.

Открытие ПЦР произвело настоящую революцию в биологической науке: исследователи получили мощнейший инструмент для понимания вопросов эволюции, механизмов дифференциации клеток, экспрессии генов на разных этапах развития организма в норме и при патологии.

Метод незаменим в пренатальной диагностике наследственных заболеваний (миодистрофия Дюшена и Беккера, муковисцидоз, фенилкетонурия, гемофилия, атаксия Фридриха, спинальная амиотрофия), при установлении пола ребенка и отцовства.

В иммунологии с помощью ПЦР можно установить, какие гены контролируют синтез тех или иных соединений в иммунном ответе, проводить типирование тканей. Для определения совместимости тканей чрезвычайно полезным может быть недавно разработанный набор «Ампликор» фирмы «Hoffman – La Roche», для анализа генов HLA-комплекса.

Впечатляющие возможности открывает метод ПЦР в вирусологии и онкологии. Разработаны способы диагностики для выявления корона-вируса, вызывающего острое респираторное заболевание, атипичную пневмонию и гастроэнтерофилию, а также вирусов иммунодефицита человека и гепатита. ВИЧ-инфекция, а также гепатит В и С являются одними из самых опасных вирусных инфекций во всем мире. Понятие «вирусный гепатит» объединяет несколько заболеваний, вызываемых гепатотропными вирусами разных классов: А (HAV), В (HBV), С (HCV), D (HDV), Е (HEV), G (HGV), ТТ (TTV). Метод ПЦР позволяет избирательно выявлять различные варианты вирусов гепатита, несмотря на особенности их строения.

Четверть онкологических заболеваний вызывается вирусами: рак шейки матки и папиллом человека (ДНК-вирус); рак печени после перенесенного вирусного гепатита В; лимфома Беркитта (вирус Эпштейна-Барр); саркома (РНК-содержащий вирус); саркома Капоши; лейкоз (вирус Т-клеточного лейкоза), вирусный рак носоглотки и другие. Разработаны методы ПЦР для очень точной и избирательной диагностики различных онковирусов.

Одним из самых распространенных вирусных заболеваний человека является герпес. При диагностике выделяют 2 формы простого герпеса человека I и II (ВПГ I и ВПГ II), отличающиеся по антигенным и биохимическим свойствам. ПЦР позволяет избирательно выявлять ВПГ I и ВПГ II. При этом большой чувствительностью обладает метод гнездовой (nested) ПЦР. Вирус простого герпеса I вызывает поражение кожи в области губ, а ВПГ II индуцирует поражение урогенитального тракта и шейки матки. Герпетическая инфекция повышает риск заболевания раком шейки матки, может быть причиной преждевременных родов и патологии плода, а также смерти новорожденного. СПИД (синдром приобретенного иммунодефицита) и герпес сопутствуют друг другу: герпетические изъязвления кожи и слизистых оболочек половых органов являются «входными воротами» для возбудителя ВИЧ-инфекции. Кроме того, одним из первых проявлений СПИДа являются симптомы герпеса.

Итак, основные группы выявляемых методом ПЦР-диагностики вирусов: пиксовирусы (оспа), вирусы герпеса, папова-вирусы (бородавки), гепаднавирусы (гепатит В и С), аденовирусы (заболевания дыхательных путей), пикорна-вирусы (гепатит А, полиомиелит), миксо-вирусы (грипп, корь, свинка), парамиксовирусы (краснуха), арбовирусы (энцефалит), реовирусы (кишечные и респираторные заболевания), ретровирусы (лейкемия, СПИД).

Необходимо отметить, что особенно эффективно метод ПЦР применяется в диагностике и мониторинге инфекционных заболеваний, где мировым лидером является фирма «Hoffman – La Roche», представляющая на рынок в настоящее время наборы реактивов «Ампликор» для выделения ДНК ВИЧ-1 (качественный и количественный метод), ДНК микобактерий туберкулеза, РНК вируса гепатита С (качественный и количественный метод), ДНК хламидии трахоматис (*Ch. trachomatis*) и/или гонококка, ДНК группы энтеровирусов. Разрабатываются и внедряются в практику наборы для определения цитомегаловируса (качественный и количественный метод), возбудителей респираторных заболеваний, кишечных инфекций и ряд других.

## ЕДИНИЦЫ СИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

СИ – Systeme Internationale – Si

В лабораторной диагностике в медицине при выражении единиц концентрации веществ, других измеряемых параметров для унификации получаемых данных необходимо использовать Международную систему единиц, не рекомендуется применять другие единицы.

При переводе единиц массы в единицы количества вещества может помочь коэффициент перерасчета:

$$K = \frac{1}{Mr},$$

где  $Mr$  – относительная молекулярная масса.

При использовании данной формулы получаются следующие единицы количества вещества:

Исходные единицы массы	Соответствующие единицы количества вещества (молярные)
г (грамм)	моль
мг (миллиграмм)	ммоль
мкг (микрограмм)	мкмоль
нг (нанограмм)	нмоль

В данной таблице приведены только наиболее часто используемые в клинической лабораторной практике варианты единиц измерения. Остальные рекомендуемые множители и приставки – в справочной таблице 17.

### Рекомендуемые правила применения Международной системы единиц в клинической лабораторной диагностике.

1. В качестве единиц объема следует применять **литр**, не рекомендуется в знаменателе применять дольные или кратные от литра единицы (1 мл, 100 мл).
2. Концентрация измеряемых веществ указывается как молярная (**моль/л**) или массовая концентрация (**г/л**).
3. Молярная концентрация используется для веществ с известной относительной молекулярной массой. Ионная концентрация указывается в виде молярной.
4. Массовую концентрацию используют для веществ, относительная молекулярная масса которых неизвестна.
5. Плотность указывается в **г/л**, клиренс – в **мл/с**.
6. Активность ферментов на преформированное количество веществ по времени и объему выражается как **моль/(с·л)**, **мкмоль/(с·л)**, **нмоль/(с·л)**.

**Таблица 17. Множители и приставки для образования десятичных кратных и дольных единиц и их наименование**

МНОЖИТЕЛЬ	ПРИСТАВКА	ОБОЗНАЧЕНИЕ ПРИСТАВКИ	
		МЕЖДУНАРОДНОЕ	РУССКОЕ
10 <sup>18</sup>	экса (триллион)	E	Э
10 <sup>15</sup>	пета (биллиард)	P	П
10 <sup>12</sup>	тера (биллион)	T	Т
10 <sup>9</sup>	гига (миллиард)	G	Г
10 <sup>6</sup>	мега (миллион)	M	М
10 <sup>3</sup>	кило (тысяче)	k	к
10 <sup>2</sup>	гекто (сто)	h	г
10 <sup>1</sup>	дека (десяти)	da	да
10 <sup>-1</sup>	деци	d	д
10 <sup>-2</sup>	санти	c	с
10 <sup>-3</sup>	милли	m	м
10 <sup>-6</sup>	микро	μ	МК
10 <sup>-9</sup>	нано	n	н
10 <sup>-12</sup>	пико	p	п
10 <sup>-15</sup>	фемто	f	ф
10 <sup>-18</sup>	атто	a	а

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бородин Е.А.. Биохимический диагноз (физиологическая роль и диагностическое значение биохимических компонентов крови и мочи) в 2-х частях. – Благовещенск, 1989. – (I часть) 142с., (II часть) 77с.
2. Бышевский А.Ш., Галян С.Л. Биохимические сдвиги в диагностике патологических состояний (с элементами патохимии). – Новосибирск: изд-во НГУ, 1993. – 200с.
3. Гольдберг Е.Д. Справочник по гематологии с атласом микрофотограмм. – Томск: Изд-во Том. Ун-та, 1989. – 468с.
4. Данилова Л.А. Анализы крови и мочи. – СПб.: Самлит-Медкнига, 2000. – с.
5. Клинико-диагностическое значение лабораторных показателей / В.Долгов, В.Морозова, Р.Марцишевская и др. – М.: Лабинформ", "Центр", 1995. – 224 с.
6. Клиническая оценка лабораторных тестов / Под ред. Н.У.Тица: Пер. с англ. - М.: Медицина, 1986. – 480с.
7. Клинический диагноз – лабораторные основы / Под ред. В.В.Меньшикова, при участии И.И. Дедова, В.И. Маколкина, Н.А.Мухина. – М.: Изд-во "Лабинформ", 1997. – 320с.
8. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике (В 2-х томах). – Мн.: Беларусь, 2000. – (I том) 495с., (II том) 463с.
9. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической биохимии. – Минск: Беларусь, 1982. – 365с.
10. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В. Биохимические исследования в клинике. – Элиста: АПП "Джангар", 1998. – 250 с.
11. Лабораторная диагностика и функциональные пробы в детской эндокринологии / Под ред. Н.П.Шабалова – СПб.: Специальная Литература, 1996.- 136 с.
12. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В.Меньшикова – М.: Медицина, 1987. – 365 с.
13. Липперт Г. Международная система единиц в медицине. – М.: Медицина, 1980. – 208с.
14. Литвинов А.В. Норма в медицинской практике: Справочное пособие. – М.: МЕДпресс, 2000. – 144 с.
15. Лифшиц В.М., Сидельникова В.И. Биохимические анализы в клинике: Справочник. - М.: МИА, 1998. – 303 с.
16. Маршалл В.Дж. Клиническая биохимия: Пер. с англ. – М.: Бином; СПб.: Невский диалект, 1999. – 468 с.
17. Справочник лабораторных и функциональных показателей здорового человека / М.П.Беляев, М.И.Гнеушев, Т.И.Егорова и др. – М., 1992.
18. Справочник практического врача / Вельтищев Е.Ю., Комаров Ф.И., Навашин С.М. и др. / Под ред. А.И.Воробьева. – М.: Медицина, 1993. – 608 с.
19. Шустов В.Я. Клиническая гематология. – Саратов: Изд-во Саратов. Ун-та, 1998
20. Энциклопедия клинических лабораторных тестов/ Под ред. Н.Тица. – Пер. с англ./ Под ред. В.В.Меньшикова. – М.: Лабинформ, 1997. – 960с.