

3. Тема занятия: Биохимические исследования при заболеваниях печени. Функции печени. Лабораторные тесты диагностики заболеваний печени. Клинические и биохимические синдромы. Гипоальбуминемия и гиперглобулинемия. Энзимодиагностика заболеваний печени.

Печень играет важную роль в обмене белков, углеводов, липидов. Клетки печени метаболизируют, детоксицируют и экскретируют экзо- и эндогенные вещества. Важной функцией печени является синтез белков плазмы. В печени также синтезируются желчные кислоты, необходимые для переваривания и всасывания жиров. Гликолиз, цикл Кребса, синтез и распад аминокислот, реакции окислительного фосфорилирования – все эти процессы представлены в гепатоцитах, богатых митохондриями. В печени представлены 2 основных типа клеток: гепатоциты или паренхиматозные клетки, составляющие около 60% всей клеточной массы, и Купферовы клетки, входящие в состав ретикуло-эндотелиальной системы и составляющие 30% от всех клеток печени.

Цель занятия: Освоить основные лабораторные методы диагностики заболеваний печени, изучить основные функции печени, клинические и биохимические синдромы поражения печени, диагностическое значение определения ферментов.

Знать:

- основные функции печени;
- клинические и биохимические синдромы поражения печени;
- методы лабораторной диагностики заболеваний печени.

Уметь:

- оценить правильность выбора лабораторного метода исследования функции печени;
- определять характер заболевания печени, основываясь на лабораторных данных.

Функции печени

Обмен углеводов.

Выход глюкозы из печени поддерживает уровень сахара крови в промежутках между приемами пищи; основными источниками глюкозы при этом является гликоген (гликогенолиз и глюконеогенез). Печень также превращает в глюкозу галактозу и фруктозу.

Обмен аминокислот и белков.

Аминокислоты, получаемые из пищи и образующиеся при катаболизме белков тканей, поступают в печень. В печени некоторые из них дезаминируются или трансаминируются до кетокислот, другие метаболизируются до мочевины и аммиака. В печени также синтезируется большинство белков плазмы (за исключением иммуноглобулинов, синтезируемых лимфоидной тканью).

Обмен липидов.

Печень извлекает из сосудистого русла остатки хиломикронов и синтезирует липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), которые превращаются печеночной липазой в липопротеины низкой плотности (ЛПНП). На поверхности гепатоцитов находится большое количество ЛПНП-рецепторов. В печени синтезируются

предшественники ЛПНП, также как и фермент лецитин-холестерин ацилтрансфераза (ЛХАТ), превращающий предшественники в функциональные ЛПНП-частицы. Роль печени в обмене липидов включает также продукцию кетоновых тел из неэтерифицированных жирных кислот, секрецию холестерина в желчь.

Обмен желчных кислот.

Основными желчными кислотами являются холевая и хенодезоксихолевая кислоты, синтезируемые из холестерина только в печени. Они секретируются в желчь, и большая их часть вновь возвращается по кровотоку из кишечника в печень. Синтез новых желчных кислот регулируется количеством «реутилизированных» кислот. Кишечная микрофлора дегидроксилирует первичные желчные кислоты до вторичных кислот – дезоксихолевой и литохолевой.

Конъюгация и детоксикация.

Конъюгации и детоксикации подвергаются стероидные гормоны и лекарственные препараты (табл.1).

Таблица 1

Функции печени и методы их оценки

Функции		Методы оценки
Обмен углеводов	Глюконеогенез	Уровень глюкозы в крови, продукция глюкозы печенью
	Утилизация лактата	Уровень лактата в крови
	Обмен галактозы	Способность к элиминации галактозы
Обмен белков и аминокислот	Синтез белков плазмы	Концентрация белков плазмы
	Мочевина	Уровень мочевины сыворотки
	Метаболизм аммиака	Уровень аммиака крови
Обмен липидов	Метаболизм липопротеинов	Уровень липидов и липопротеинов сыворотки
	Гидроксилирование витамина D	Уровень 25-гидроксиолекальциферола
	Синтез желчных кислот	Уровень желчных кислот в сыворотке, тесты на мальабсорбцию жиров
Детоксикация и экскреция	Обмен билирубина	Уровень билирубина в сыворотке, билирубин в уробилиноген в моче
	Экскреция ксенобиотиков	Экскреция аминопирина, экскреция бромсульфалеина
	Метаболизм гормонов	Определение гормонов, оценка электролитного баланса

Лабораторные тесты диагностики заболеваний печени

Под тестами оценки функций печени обычно подразумеваются измерения компонентов крови, свидетельствующих о наличии и типе поражения печени. В повседневной клинической практике для этого используется определение уровня билирубина, активности ферментов (трансаминаз и щелочной фосфатазы) в образцах сыворотки. Определение концентрации сывороточного альбумина также может быть одним из показателей заболеваний печени. Эти биохимические определения могут помочь в дифференциации следующих состояний:

- Обструкция билиарного тракта
- Острое гепатоцеллюлярное повреждение
- Хронические заболевания печени

Концентрация общего билирубина сыворотки и активность сывороточной фосфатазы свидетельствует о холестазае, блокаде оттока желчи.

Концентрация альбумина сыворотки является одним из существенных показателей синтетической способности печени, хотя на уровень альбумина влияют и многие другие факторы.

Клинические и биохимические синдромы

Болезни печени сопровождаются рядом лабораторных синдромов. При анализе результатов биохимического исследования у больных с заболеваниями печени целесообразно выделять четыре лабораторных синдрома, каждый из которых в известной степени соответствует определенным морфологическим и функциональным изменениям в органе: цитолитический синдром, мезенхимально-воспалительный синдром, холестатический синдром (синдром холестаза), синдром малой печеночно-клеточной недостаточности. Обычно в каждом конкретном случае заболевания имеет место сочетание нескольких биохимических синдромов.

Синдром нарушения целостности гепатоцитов (синдром цитолиза или цитолитический синдром). Характеризуется повышением в плазме крови активности индикаторных ферментов – АсАТ (аспартатаминотрансферазы), АлАТ (аланинаминотрансферазы), ЛДГ (лактатдегидрогеназы) и ее изоферментов – ЛДГ4 и ЛДГ3; специфических печеночных ферментов: фруктозо-1-фосфатальдолазы, сорбитдегидрогеназы, а также концентрации ферритина, сывороточного железа, витамина В₁₂ и билирубина главным образом за счет повышения прямой фракции.

В оценке степени выраженности патологического процесса основное значение придается активности АлАТ и АсАТ. Повышение их уровня в сыворотке крови менее чем в 5 раз по сравнению с верхней границей нормы рассматривается как умеренная, от 5 до 10 раз – как средняя степень и свыше 10 раз – как высокая степень выраженности. Морфологической основой этого синдрома являются гидропическая и ацидофильная дистрофия и некроз гепатоцитов с повреждением и повышением проницаемости клеточных мембран.

Синдром холестаза (эксреторно-билиарный синдром, холестатический синдром – нарушение эксреторной функции печени). Сопровождается повышением уровня в сыворотке крови ЩФ (щелочная фосфатаза), ЛАП (лейцинаминопептидаза), ГГТФ, холестерина, Р-липопротеинов, конъюгированной фракции билирубина, желчных кислот,

фосфолипидов, снижается экскреция бромсульфалеина (вофавердина) и радиофармакологических препаратов. Морфологической основой внутриклеточного холестаза являются ультраструктурные изменения гепатоцита – гиперплазия гладкой цитоплазматической сети, изменения билиарного полюса гепатоцита, накопление компонентов желчи в гепатоците, которые нередко сочетаются с цитолизом гепатоцитов. При внутрипеченочном холестазе выявляют накопление желчи в желчных ходах, а при внепеченочном – расширение междольковых желчных протоков.

Синдром печеночно-клеточной недостаточности (синдром синтетической недостаточности). Проявляется уменьшением содержания в сыворотке крови общего белка и особенно альбумина, трансферрина, холестерина, II, V, VII факторов свертывания крови, холинэстеразы, альфа-липопротеинов, но в то же время повышением билирубина за счет неконъюгированной фракции. Морфологическим субстратом синдрома являются выраженные дистрофические изменения гепатоцитов и/или значительное уменьшение функционирующей паренхимы печени вследствие ее некротических изменений.

Нарушенная функция гепатоцитов может приводить к нарушению синтеза альбумина, что наблюдается при хронических заболеваниях печени. Наиболее выраженные гипоальбуминемии выявляются при портальном циррозе, жировой дистрофии печени.

Мезенхимально-воспалительный синдром. Характеризуется гипергаммаглобулинемией, повышением показателей белково-осадочных проб, увеличением СОЭ, появлением в крови продуктов деградации соединительной ткани (С-реактивный белок, серомукоид и др.). Наблюдаются изменения показателей клеточных и гуморальных иммунных реакций: появляются антитела к субклеточным фракциям гепатоцита, ревматоидный фактор, антимитохондриальные и антиядерные антитела, изменения количества и функциональной активности Т- и В-лимфоцитов, а также повышение уровня иммуноглобулинов.

При морфологических исследованиях печени характерна активация и пролиферация лимфоидных и ретикулогистиоцитарных клеток, усиление фиброгенеза, формирование активных септ с некрозами гепатоцитов, внутрипеченочная миграция лейкоцитов, васкулиты (табл.2).

Таблица 2

Лабораторные синдромы поражения печени

Синдром цитолиза (цитолитический синдром или синдром нарушения целостности гепатоцитов)	↑ АсАТ, АлАТ, ЛДГ и ее изоферментов – ЛДГ4 и ЛДГ3, фруктозо-1-фосфатальдолазы, сорбит-дегидрогеназы, а концентрации ферритина, сывороточного железа, витамина В12 и билирубина за счет повышения прямой фракции
Синдром холестаза (экскреторно-билиарный синдром, холестатический синдром)	↑ ЩФ, ЛАП, ГГТФ, холестерина, Р-липопротеинов, конъюгированной фракции билирубина, желчных кислот, фосфолипидов
Синдром печеночно-клеточной недостаточности (синдром синтетической недостаточности)	↓ общего белка (особенно альбумина), трансферрина, холестерина, II, V, VII факторов свертывания крови, холинэстеразы, альфа-липопротеинов ↑ билирубина за счет неконъюгированной фракции

Мезенхимально-воспалительный синдром	↑ СОЭ, появление в крови С-реактивного белка, ревматоидного фактора, антител к субклеточным фракциям гепатоцита, антимитохондриальных и антиядерных антител, изменение количества и функциональной активности Т- и В-лимфоцитов, повышение уровня иммуноглобулинов.
---	---

Энзимодиагностика заболеваний печени

Печень продуцирует большое число ферментов, поступающих непосредственно в кровь. При поражениях печени количество одних ферментов в сыворотке крови понижается, а других – повышается.

Ферменты, которые обнаруживаются в норме в плазме или сыворотке крови, условно можно разделить на 3 группы.

Секреторные ферменты, синтезируясь в печени, в норме выделяются в плазму крови, где играют определенную физиологическую роль, например ферменты, участвующие в процессе свертывания крови (протромбиназа), холинэстераза. При поражении печени их синтез снижается, и активность этих ферментов падает.

Индикаторные ферменты попадают в кровь из тканей, где они выполняют определенные внутриклеточные функции. Одни из них находятся в цитозоле клеток (ЛДГ, АлАТ, АсАТ), другие – в митохондриях (ГДГ, АсАТ) и т.д.

При поражении печени ферменты из клеток вымываются в кровь, и активность их возрастает. Наибольшее диагностическое значение имеет определение активности АлАТ и АсАТ. Активность трансаминаз в сыворотке крови: АсАТ – 5–40 Е/л, АлАТ – 5–43 Е/л. При остром паренхиматозном гепатите АлАТ увеличивается в 20–30, а иногда в 100 раз и более. Несколько меньше повышается активность АсАТ.

Экскреторные ферменты синтезируются главным образом в печени (щелочная фосфатаза). В физиологических условиях эти ферменты в основном выделяются с желчью. При многих патологических процессах выделение эксcretорных ферментов с желчью нарушается, а активность их в плазме крови повышается.

Щелочная фосфатаза.

Увеличение активности щелочной фосфатазы (ЩФ) при заболеваниях печени является результатом увеличенного синтеза фермента клетками, расположенными в желчных канальцах, обычно в ответ на холестаза, который может быть интра- и внепеченочным. Холестаза, даже непродолжительный, приводит к увеличенной активности фермента, по крайней мере, вдвое превышающий нормальный уровень. Высокая активность ЩФ может также наблюдаться при инфильтративных заболеваниях печени (например, опухолях). Это также характерно для цирроза.

Печень не является единственным источником активности ЩФ. Умеренные количества ЩФ представлены в костях, тонком кишечнике, плаценте, почках.

Лактатдегидрогеназа.

Уровень ЛДГ часто возрастает при гепатоцеллюлярной дисфункции, хотя на практике определение активности этого фермента редко используют в диагностике заболеваний печени из-за низкой специфичности показателя (фермент широко распространен в организме).

γ-глутамилтранспептидаза.

γ-глутамилтранспептидаза (ГГТП) – это микросомальный фермент, широко представленный в тканях, особенно таких, как печень и почечные канальцы.

Активность γ-глутамилтранспептидазы в плазме резко повышается (иногда более, чем в 50 раз) при холестазе и является показателем печеночной недостаточности. Увеличение активности ГГТП наблюдается также у лиц, употребляющих алкоголь, даже в отсутствии явной патологии печени. При остром поражении печени изменение активности ГГТП параллельны изменениям активности трансаминаз.

Глутаматдегидрогеназа катализирует превращение глутаминовой кислоты в альфа-кетоглутаровую и аммиак; фермент сосредоточен в митохондриях клеток, преимущественно в гепатоцитах. Он также обнаружен в незначительном количестве в нервной ткани, скелетных мышцах, миокарде и молочной железе.

Глутаматдегидрогеназа – один из органоспецифических ферментов, определяется в сыворотке крови при заболеваниях печени.

Поскольку фермент является митохондриальным, то степень повышения его активности отражает глубину цитолиза при заболеваниях печени, по её уровню можно судить о тяжести патологического процесса.

Сорбитолдегидрогеназа – органоспецифический фермент печени, катализирующий обратимое превращение сорбитола во фруктозу с участием НАД в качестве кофермента. Фермент локализован в цитоплазме гепатоцитов. Сывороточная активность энзима повышается при вирусных гепатитах. Как правило повышение активности СДГ наблюдается в дожелтушный период вирусного гепатита, предшествует увеличению активности других (ферментов, отражающих поражение печени. Однако высокие цифры активности СДГ выявляются в разгар болезни, иными словами, тест уступает по чувствительности другим органоспецифическим ферментам и определению активности аминотрансфераз. Кроме того, активность СДГ нормализуется быстрее, чем активность аминотрансфераз, что также является недостатком теста. Другие заболевания печени (токсические гепатиты, циррозы, гипоксические поражения печени) сопровождаются незначительным увеличением активности энзима.

ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ

1. Функции печени.
2. Лабораторные методы диагностики заболеваний печени.
3. Клинические и биохимические синдромы при заболеваниях печени.
4. Нарушение целостности гепатоцита: синдром цитолиза.
5. Синдром повышенной проницаемости.
6. Экскреторно-билиарный синдром: соотношение активности ферментов и фракций билирубина.
7. Воспалительный синдром: общий белок сыворотки крови и белковые фракции.
8. Энзимодиагностика заболеваний печени.

9. Значение аланин- и аспартат-аминотрансфераз, лактатдегидрогеназы, γ -глутамилтранспептидазы, щелочной фосфатазы, глутаматдегидрогеназы, сорбитолдегидрогеназы.

10. Гипер- и гипо-ферментемия.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

1. Записать протокол практического занятия с указанием цели и задачи, перечислить основные функции печени.

2. Записать виды клинических и биохимических синдромов при заболеваниях печени. Дать характеристику каждому из синдромов с описанием основных биохимических показателей.

3. Записать основные ферменты, использующиеся для лабораторной диагностики заболеваний печени.