

Биохимические методы диагностики заболеваний печени

Врач КЛД Нагиц Алла Власовна

Темы лекции:

1

Биохимические исследования при заболеваниях пече

2

Лабораторные синдромы заболеваний печени.

3

Энзимодиагностика заболеваний печени.

4

Алгоритм дифференциальной диагностики
желтух.

1. Биохимические исследования при заболеваниях печени

- Печень играет жизненно важную роль в промежуточном обмене веществ, в обезвреживании и выведении токсичных веществ. Повреждения этого органа могут не оказывать явного влияния на его функциональную активность, поскольку печень обладает значительным функциональным резервом, вследствие чего простые тесты функции печени (например, измерение концентрации билирубина и альбумина в плазме) недостаточно чувствительны для выявления заболеваний печени. Их значение состоит в том, что они позволяют установить сам факт заболевания и отслеживать его течение.

Функции печени

Метаболическая

Депонирующая

Дезинтоксикационная

Секреторная

Защитная

Кроветворение (в эмбриональном периоде)

Метаболическая функция печени

Продукты расщепления питательных веществ поступают в печень из пищеварительного тракта через воротную вену.

В печени протекают сложные процессы обмена белков и аминокислот, липидов, углеводов, биологически активных веществ (гормонов, биогенных аминов и витаминов), микроэлементов, регуляция водного обмена.

В печени синтезируются многие вещества (например, желчь), необходимые для функционирования других органов.

Депонирующая функция печени

В печени происходит накопление углеводов (например, гликогена), белков, жиров, гормонов, витаминов, минеральных веществ.

Из печени в организм постоянно поступают макроэнергические соединения и структурные блоки, необходимые для синтеза сложных макромолекул.

Защитная функция печени

Стероидные гормоны и билирубин, а также лекарственные вещества, этанол, чужеродные и токсичные эндогенные и экзогенные соединения поступают в печень, где они инактивируются и конвертируются в высоко полярные соединения (микросомальное окисление, конъюгация).

Фагоцитоз и лизис чужеродных клеток, в том числе раковых.

Экскреторная функция печени:

Из печени различные вещества эндо- и экзогенного происхождения либо поступают в желчные протоки и выводятся с желчью (более 40 соединений), либо попадают в кровь, откуда выводятся почками.

Кроветворная функция:

Печень является органом кроветворения у плода.

У взрослых в случае заболеваний кроветворных органов в печени образуются эктопические очаги кроветворения.

- Печень обеспечивает нормальное функционирование для других органов.
- В каждой печёночной клетке находятся несколько тысяч ферментов, частично они содержатся в плазме крови.
- При повреждении печени уровень этих ферментов в крови увеличивается или уменьшается. Возникающий ферментный спектр позволяет судить о виде и степени поражения органа, т.е. **по совокупности нескольких специально выбранных ферментов можно сделать заключение о больном органе и о характере заболевания.**
- Кроме этого, исследование желчных кислот и дезинтоксикационной системы печени также позволяет судить о патологии печени.

Заболевания печени могут быть обусловлены:

1. Нарушением проницаемости мембран печёночных клеток.

- При этом развивается „серозный гепатит”, и растворённые в цитозоле вещества поступают в плазму крови. В сыворотке крови увеличивается содержание ферритина, В12, наблюдается повышение активности ЛАП (лейцинаминопептидазы), АЛТ, частично АСТ.

2. Некрозом печёночных клеток.

- Повышается активность митохондриальных ферментов АСТ, ГлДГ, ЛДГ5, лизосомальных ферментов – КФ (кислая фосфатаза), β-глюкоронидаза.
- Причины некроза – инфекция (вирус, бактерии, простейшие), гипоксия – (ток, острая сердечная недостаточность), интоксикация неорганическими веществами (Р, Hg, Au, мышьяк), органическими веществами, медикаментами, растительными ядами, метаболические факторы – белковая недостаточность, действие антиметаболитов, застой желчных кислот.

3. Нарушением обмена веществ в гепатоцитах.

- Это, в первую очередь, относится к белкам, поступающим в плазму крови. Диагностически важным является снижение трансферрина, альбуминов, ХЭ (холинэстеразы), протромбина, факторов свёртывания крови.

2. Лабораторные синдромы заболеваний печени.

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:

1. цитолитический синдром,
2. мезенхимально-воспалительный синдром,
3. холестатический синдром (синдром холестаза),
4. синдром малой печеночно-клеточной недостаточности.

Обычно в каждом конкретном случае заболевания имеет место сочетание нескольких биохимических синдромов.

ЦИТОЛИТИЧЕСКИЙ СИНДРОМ (синдром нарушения целостности гепатоцитов)

Обусловлен нарушением проницаемости клеточных мембран, распадом мембранных структур, некрозом гепатоцитов и выходом в плазму ферментов.

Цитолитический синдром встречается при:

- вирусных, лекарственных, токсических гепатитах и других острых повреждениях печени,
- циррозе печени,
- хроническом активном гепатите,
- а также при быстро развивающейся или длительной обтурационной желтухе;

лабораторные признаки цитолитического синдрома:

- повышение активности ферментов в плазме крови:

АлАТ, АсАТ, ЛДГ и ее изофермент ЛДГ5, альдолаза и др.

- гипербилирубинемия (преимущественно прямая реакция)
- повышение в сыворотке крови концентрации железа

СИНДРОМ МАЛОЙ ПЕЧЕНОЧНО-КЛЕТОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ (без печеночной энцефалопатии)

это группа биохимических признаков, свидетельствующих о значительном снижении различных функций печени, в первую очередь синтетических.

Характеризуется:

- лихорадкой,
- снижением массы тела,
- желтухой,
- геморрагическим диатезом,
- внепеченочными знаками: «печеночный язык», «печеночные ладони», «сосудистые звездочки», изменение ногтей, оволосения, гинекомастия и др.;

Морфологически для этого синдрома характерны дистрофические изменения гепатоцитов, значительное уменьшение функциональной паренхимы печени вследствие изменений последней

лабораторные признаки синдрома малой печеночно-клеточной недостаточности:

- понижение активности холинэстеразы ХЭ в плазме крови
- уменьшение содержания в сыворотке крови протромбина
- гипоальбуминемия и (реже) гипопротеинемия
- уменьшение содержания V и VII факторов свертывания крови
- уменьшение концентрации холестерина
- гипербилирубинемия (преимущественно за счет увеличения свободного билирубина)
- повышение в крови уровня трансаминаз (АсАТ, АлАТ)
- повышение в крови печеночно-специфических ферментов - фруктозо-1-фосфатальдолазы, сорбитдегидрогеназы, орнитинкарбамилтрансферазы и др.

ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ СИНДРОМ (мезенхимально-воспалительный синдром)

Свидетельствует об активности патологического процесса в печени.

Клинически характеризуется:

- лихорадкой,
- артралгиями,
- лимфаденопатией,
- спленомегалией,
- васкулитами (кожа, легкие);

Морфологически данный синдром характеризуется активацией и пролиферацией лимфоидных и ретикулогистиоцитарных клеток, внутрипеченочной миграцией лейкоцитов, усилением фиброгенеза, формированием активных септ с некрозами вокруг них, васкулитами

Воспалительный синдром обусловлен развитием в печени так называемого иммунного воспаления: сенсibilизацией иммунокомпетентной ткани, активацией ретикулогистиоцитарной системы, инфильтрацией портальных протоков и внутридольковой стромы

лабораторные признаки воспалительного синдрома:

- повышение уровня γ -глобулинов сыворотки, нередко в сочетании с гипопроотеинемией;
- изменение белково-осадочных проб (тимоловой, сулемовой);
- появление неспецифических маркеров воспаления - повышение СОЭ, увеличение серомукоидов, повышение С-реактивного белка и др.
- повышение уровня IgG, IgM, IgA
- повышение в крови неспецифических антител - к ДНК, гладкомышечным волокнам, митохондриям, микросомам, печеночному липопротеиду; появление LE-клеток
- изменение количества и функциональной активности Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций - изменение реакции бластной трансформации лимфоцитов (БТЛ)

СИНДРОМ ХОЛЕСТАЗА

Виды холестаза

- внутрипеченочный (первичный) холестаз

Синдром холестаза обусловлен нарушением желчевыделительной функции гепатоцитов и поражением желчных канальцев.

Проявляется ультраструктурными изменениями гепатоцитов и гиперплазией гладкой цитоплазматической сети, изменением билиарного полюса гепатоцитов, накоплением компонентов желчи в гепатоцитах.

- внепеченочный (вторичный) холестаз

Обусловлен нарушением оттока желчи по печеночным и общему желчному протокам вследствие их обтурации - нарушением секреции желчи (развивается в случаях желчной гипертензии, которая в свою очередь связана с препятствием нормальному току желчи в желчевыводящих путях); происходит расширение междольковых желчных протоков, изменение их эпителия с накоплением в дальнейшем компонентов желчи в гепатоцитах и во всей билиарной системе; выявляется накопление желчи в желчных ходах

лабораторные признаки холестатического синдрома

- повышение активности щелочной фосфатазы ЩФ, ГГТ γ -глутамилтранспептидазы и некоторых других экскреторных ферментов – лейцинаминопептидазы ЛАП, 5-нуклеотидазы и др.
- гиперхолестеринемия, нередко в сочетании с повышением содержания фосфолипидов, β -липопротеидов, желчных кислот
- гипербилирубинемия (преимущественно за счет повышения концентрации прямого (конъюгированного) билирубина)
- повышение в крови уровня желчных кислот - дезоксихолевой и холевой
- в моче появляются желчные пигменты (билирубин)
- в кале стеркобилин снижается или исчезает

Основные критерии диагностики

Биохимические показатели	Цитолитический синдром	Малой ПК недостаточно	Воспалительный синдром	Синдром холестаза
Общий белок		Иногда понижен	Нередко повышен	
Альбумины		понижены		
γ- глобулины			повышены	
протромбин		понижен		
АлАТ, АсАТ	повышены			
ЛДГ и ЛДГ ₅	повышены			
ХЭ		понижена		
ГГТ и ЩФ				повышена
Тимоловая пр.			повышена	
Холестерин		понижен		повышен
Билирубин	Повышен (Бп)	Повышен (Бн)		Повышен (Бп)
Железо	повышено	понижено		
СРБ			положительный	
Серомукоиды			повышены	

3. Энзимодиагностика заболеваний печени.

Существует три основных типа изменения активности ферментов, характерные для всех видов патологических процессов в организме:

- повышение активности ферментов, постоянно присутствующих в крови
- понижение активности ферментов, постоянно присутствующих в крови
- появление в крови ферментов, которые в норме отсутствуют

Состояние печени можно оценивать по показателям следующих ферментов:

- аминотрансферазы (АСТ и АЛТ)
- лактатдегидрогеназа (ЛДГ)
- щелочная фосфатаза (ЩФ)
- глутаматдегидрогеназа (ГлДГ)
- сорбитолдегидрогеназа (СДГ)
- γ - глутамилтрансфераза (ГГТ)
- фруктозо-монофосфат-альдолаза (ФМФА)

Чувствительность

энзимодиагностики при заболеваниях печени

Высокая чувствительность энзимодиагностики объясняется тем, что концентрация фермента в клетках печени (гепатоцитах) в 1000 раз выше, чем в крови.

Энзимодиагностика имеет важное значение для выявления печеночных повреждений, протекающих без желтухи.

Например:

- лекарственные повреждения,
- безжелтушная форма вирусного гепатита,
- хронические заболевания печени.

Виды ферментов

Ферменты могут располагаться в мембране, цитоплазме или митохондрии х гепатоцитов. Каждый фермент имеет свое строгое место.

- Легко выходящие в кровь ферменты находятся в мембране или цитоплазме гепатоцитов. К этой группе относят – лактатдегидрогеназу, аминотрансферазы и щелочную фосфатазу. Их активность увеличивается в клинически бессимптомную фазу заболевания.
- При хронических повреждениях печени увеличивается активность митохондриальных ферментов (митохондрия – органелла клетки), к которым относится митохондриальная АСТ.
- При холестазах увеличивается активность желчных ферментов – щелочной фосфатазы.

Аланинаминотрансфераза (АЛТ, АлАТ)

Нормальная активность АлАТ:

в крови мужчин равна 10-40 Ед/л, у женщин – 12-32 Ед/л.

Различные уровни повышения активности АЛТ выявляются при **острых гепатитах, циррозе печени, обтурационной желтухе и при приеме гепатотоксических препаратов** (яды, некоторые антибиотики).

Резкое повышение активности АлАТ в 5-10 и более раз является несомненным признаком острого заболевания печени. Высокая активность фермента при таком остром заболевании печени после проявления клинических симптомов держится недолго. Если нормализация активности фермента не происходит в течение двух недель, это говорит о развитии массивного повреждения печени.

Определение активности АЛТ является обязательным скрининговым тестом для доноров.

Аспаратаминотрансфераза (АСТ, АсАТ)

В норме у здорового человека активность АсАТ:

15-31 Ед/л у мужчин и 20-40 Ед/л у женщин.

Активность АСТ возрастает при некрозе печеночных клеток.

Причем в данном случае имеет место прямо пропорциональная зависимость между концентрацией фермента и степенью повреждения гепатоцитов: то есть чем выше активность фермента, тем сильнее и обширнее повреждение гепатоцитов.

Увеличение активности АСТ также сопровождает острый инфекционный и острый токсический гепатит (отравления солями тяжелых металлов и некоторыми лекарствами)

коэффициент Де Ритиса

коэффициент определяется соотношением
АсАТ/АлАТ

отражает степень тяжести поражения печени

- норма - 1,3-1,4 (в других источниках: $1,3 \pm 0,42$)

Повышение коэффициента Де Ритиса более 1,4 (преимущественно за счет АсАТ) наблюдается при тяжелых поражениях печени с разрушением большей части печеночной клетки (хронический активный гепатит с высокой степенью активности, цирроз печени, опухоль);

Коэффициент Де Ритиса меньше 1,2 при острых процессах, разрушающих мембрану клетки и не затрагивающих глубинные структуры печеночной клетки,

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)

Нормальная активность ЛДГ в сыворотке крови составляет 140-350 Ед/л.

ЛДГ является широко распространенным ферментом в организме человека.

Степень его активности в различных органах в убывающем порядке:

почки > сердце > мышцы > поджелудочная железа > селезенка > печень > сыворотка крови.

В сыворотке крови присутствует 5 изоформ ЛДГ.

Поскольку ЛДГ содержится и в эритроцитах, то кровь для исследования не должна содержать следы гемолиза.

В плазме крови активность ЛДГ на 40% ниже, чем в сыворотке.

При каких патологиях печени увеличено содержание изоформ ЛДГ.

В связи с широкой распространенностью ЛДГ в различных органах и тканях, повышение общей активности ЛДГ не имеет большого значения для дифференциальной диагностики различных заболеваний.

Для диагностики инфекционного гепатита используют определение активности изоформ ЛДГ4 и ЛДГ5.

При остром гепатите активность ЛДГ5 в сыворотке крови повышается в первые недели желтушного периода.

Повышение совокупной активности изоформ ЛДГ4 и ЛДГ5 выявляется у всех больных инфекционным гепатитом в первые 10 суток.

При желчнокаменной болезни без закупорки желчных ходов повышения активности ЛДГ не обнаружено.

При ишемии миокарда происходит увеличение активности общей фракции ЛДГ за счет явления застоя крови в печени.

Щелочная фосфатаза (ЩФ)

В норме активность щелочной фосфатазы в крови колеблется в зависимости от возраста и пола.

Так у здоровых взрослых людей активность щелочной фосфатазы лежит в пределах **30-90 Ед/л.**

Активность этого фермента повышается в периоды активного роста – при беременности и у подростков.

Нормальные показатели активности щелочной фосфатазы у подростков достигают **400 Ед/л,** а у беременных женщин – **до 250 Ед/л.**

Щелочная фосфатаза (ЩФ)

При развитии обтурационной желтухи активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови возрастает в 10 и более раз.

Определение активности ЩФ используют в качестве дифференциально-диагностического теста именно **обтурационной желтухи**.

Менее значительное повышение активности щелочной фосфатазы в крови выявляется также при гепатитах, холангитах, язвенных колитах, кишечных бактериальных инфекциях и тиреотоксикозе.

Глутаматдегидрогеназа (ГлДГ)

В норме ГлДГ присутствует в крови в небольших количествах, 0 – 0,9МЕ/л, так как является митохондриальным ферментом.

Степень увеличения активности данного фермента выявляет глубину поражения печени.

Увеличение концентрации глутаматдегидрогеназы в крови является признаком начала дистрофических процессов в печени, вызванных эндогенными факторами или экзогенными.

К эндогенным факторам относят опухоли печени или метастазы в печень,

К экзогенным – токсины, повреждающие печень (тяжелые металлы, антибиотики и т.д.), и инфекционные заболевания.

Коэффициент Шмидта

Совместно с аминотрансферазами рассчитывают коэффициент Шмидта (КШ).

$$\text{КШ} = \frac{(\text{АсАТ} + \text{АлАТ})}{\text{ГЛДГ}}$$

- При обтурационной желтухе коэффициент Шмидта равен 5-15,
- при остром гепатите – более 30,
- при метастазах опухолевых клеток в печень – около 10.

Сорбитолдегидрогеназа (СДГ)

Этo органоспецифичный фермент, который содержится в клетках печени, и поэтому повышение его активности в плазме можно считать признаком поражения печени.

В норме его ориентировочная активность составляет 0 – 0,9 ЕД/л.

Повышение активности СДГ наблюдается при:

- остром вирусном гепатите (активность СДГ возрастает в дожелтушном периоде, предшествуя повышению в сыворотке крови уровня билирубина и активности трансаминаз);
- обострении хронического гепатита;
- печеночной коме;
- обтурационной желтух

γ-глутамилтрансфераза ГГТ

Данный фермент имеется не только в печени. Максимальная активность ГГТ выявляется в почках, поджелудочной железе, печени и предстательной железе.

У здоровых людей в норме концентрация ГГТ составляет

у мужчин – 10,4 – 33,8 МЕ/л,

у женщин – 8,8 – 22,0 МЕ/л.

У новорожденных детей активность фермента в 5 раз выше, а у недоношенных – в 10 раз.

Активность ГГТ повышается при заболеваниях печени и желчевыводящей системы, а также при диабете.

Наиболее высокая активность фермента сопровождает обтурационную желтуху и холестаза. Активность ГГТ при данных патологиях увеличивается в 10 и более раз.

При вовлечении печени в злокачественный процесс происходит увеличение активности фермента в 10-15 раз, при хронических гепатитах – в 7 раз.

γ-глутамилтрансфераза очень чувствительна к алкоголю, что используется для дифференциальной диагностики между вирусными и алкогольными поражениями печени.

Определение активности этого фермента является наиболее чувствительным скрининговым тестом, который предпочтительнее определения активности аминотрансфераз (АСТ и АЛТ) или щелочной фосфатазы.

Фруктозо- монофосфат-альдолаза (ФМФА)

В норме в крови содержится в следовых количествах. Определение активности ФМФА используют для диагностики острого гепатита. Однако в большинстве случаев определение активности данного фермента используют для выявления профессиональной патологии у людей, которые работают с токсичными для печени химическими веществами.

При остром инфекционном гепатите активность фруктозо-монофосфат-альдолаза возрастает в десятки раз, а при воздействии токсинов в низких концентрациях (хроническом отравлении токсинами) – только в 2-3 раза.

Активность ферментов при различных патологиях печени и желчевыводящих путей

Фермент	Острый гепатит	Цирроз	Холангит	Обтурационная желтуха
АСТ	↑↑	↑	↑	↑
АЛТ	↑↑↑	↑	↑	↑
ЛДГ	↑↑	— / ↑	—	—
ЩФ	—	↑	↑	↑↑↑
СДГ	↑↑↑	↑ (при обострении)	—	—
ГГТ	↑↑	↑	↑↑	↑↑↑
ФМФА	↑↑	—	—	—

4. Алгоритм дифференциальной диагностики желтух.

Желтуха (icterus) — синдром, развивающийся вследствие накопления в крови избыточного количества билирубина, характеризующийся желтушной окраской кожи, слизистых оболочек и склер.

Желтуху выявляют при осмотре, который следует производить днем или при освещении лампой дневного света. Лучше всего желтушное окрашивание обнаруживается на конъюнктиве, слизистой оболочке мягкого неба или губ.

Причиной любой желтухи является нарушение равновесия между образованием и выделением билирубина.

Традиционно было принято различать гемолитическую, паренхиматозную и механическую желтуху.

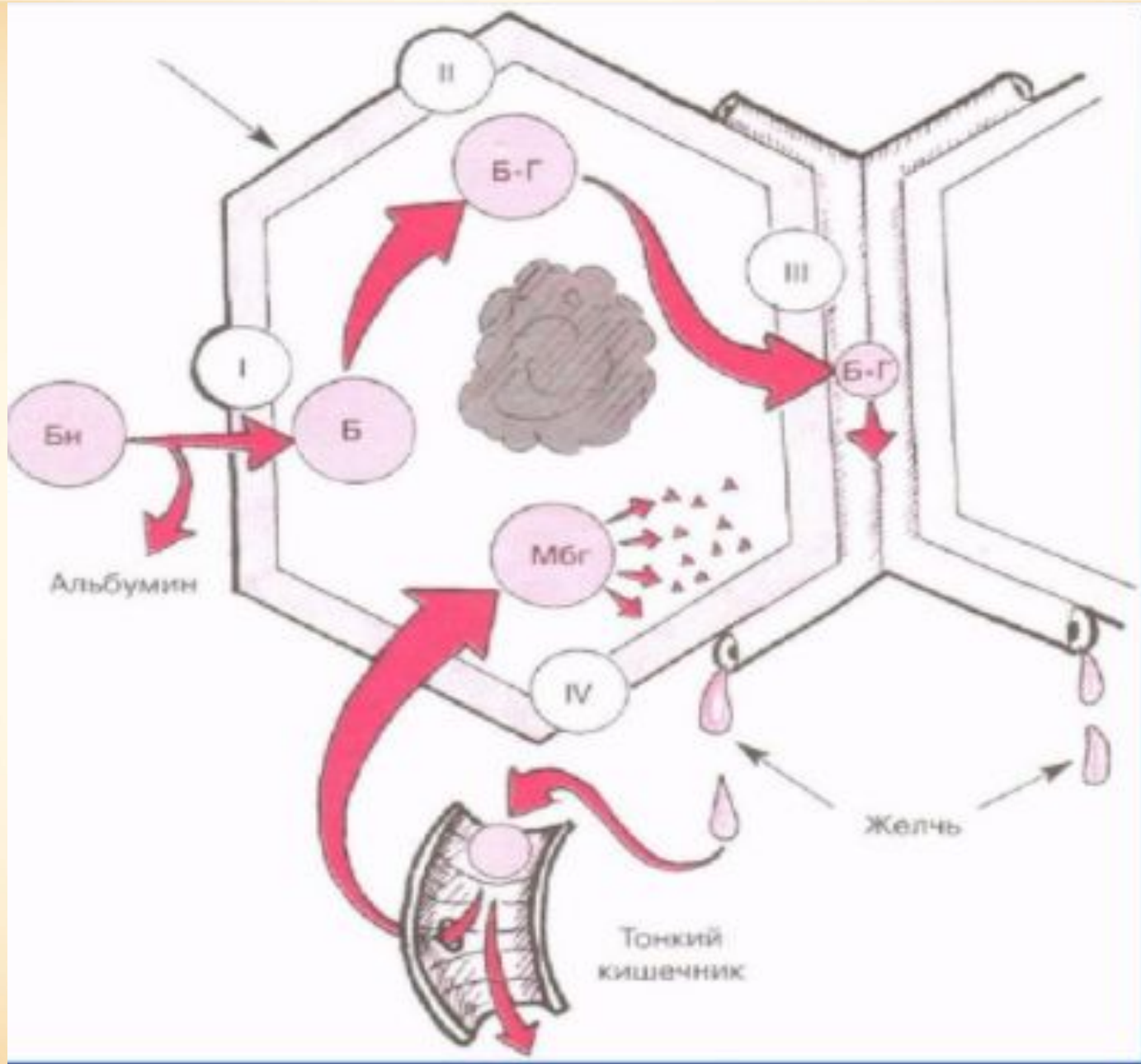
По современной классификации, выделяют надпеченочную, печеночную и подпеченочную желтухи.

Билирубинемия

норма общего билирубина 4,0 – 20,5 мкмоль/л

норма прямого билирубина до 25% от общего

- ❖ Результат повышенного образования билирубина
- ❖ Нарушение метаболизма билирубина
- ❖ Снижение экскреции билирубина
- ❖ Сочетание этих факторов



Печеночная желтуха

- Нарушение захвата свободного билирубина печеночной клеткой и связывание его с глюкуроновой кислотой



Увеличение свободного (непрямого) билирубина

- Нарушение выделения билирубин-диглюконата

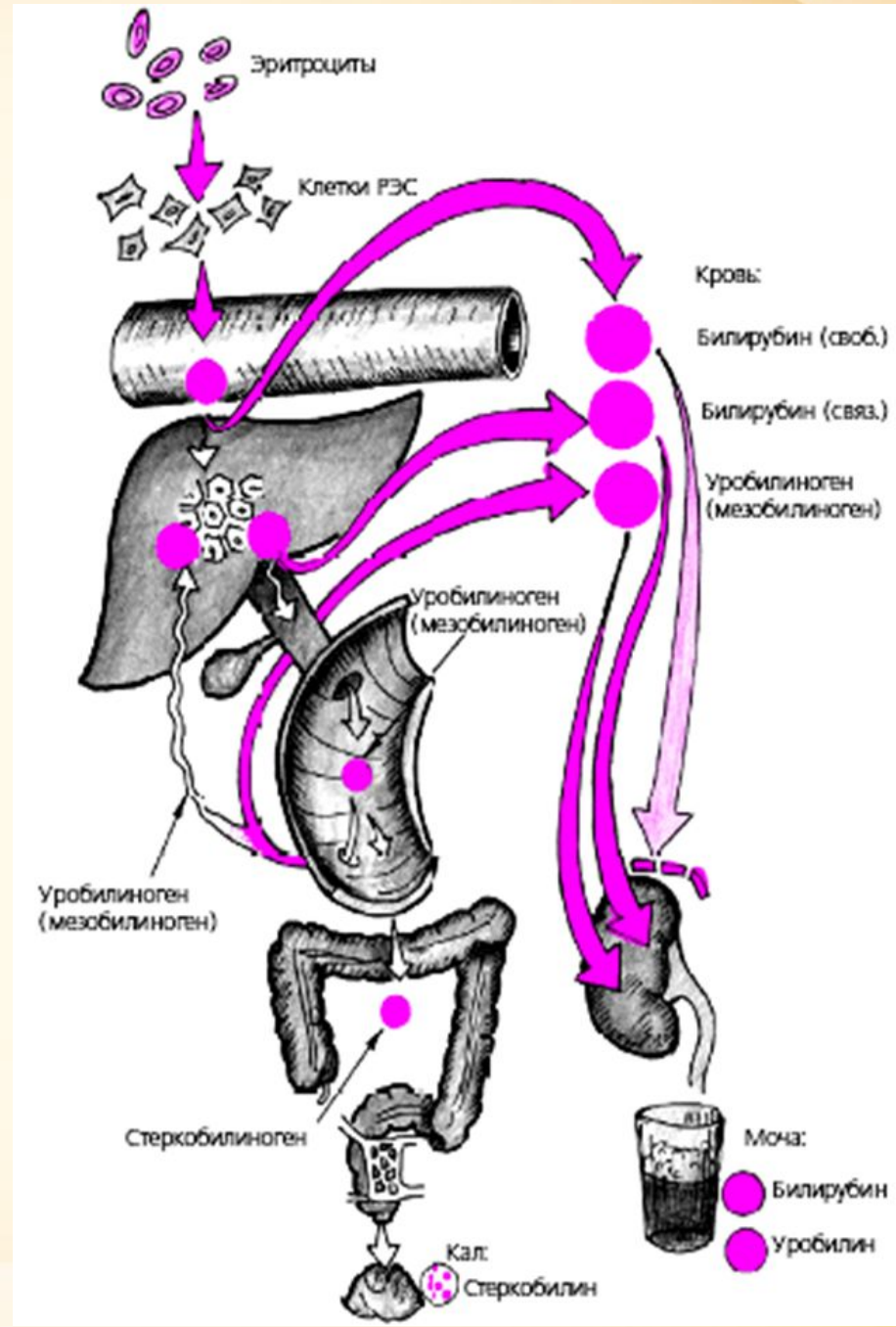


Увеличение связанного (прямого) билирубина

- нарушение захвата и способности метаболизировать уробилиноген



в моче уробилин и билирубин



Подпеченочная (обтурационная) желтуха

- Блокируется выведение желчи из печени



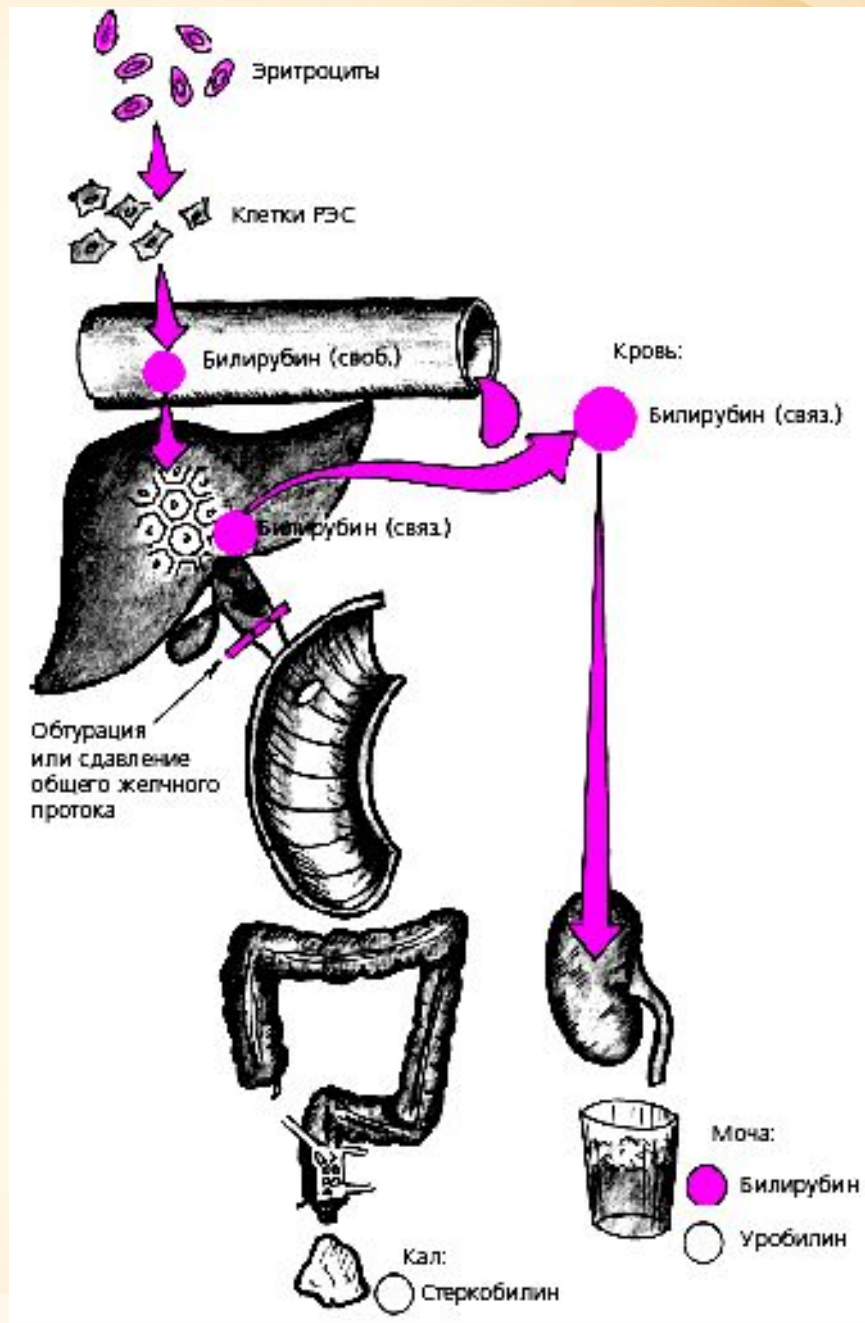
В крови нарастает уровень связанного (прямого) билирубина

- Не образуется уробилиноген и стеркобилин



В моче много прямого билирубина, отсутствует уробилин

Кал ахоличный

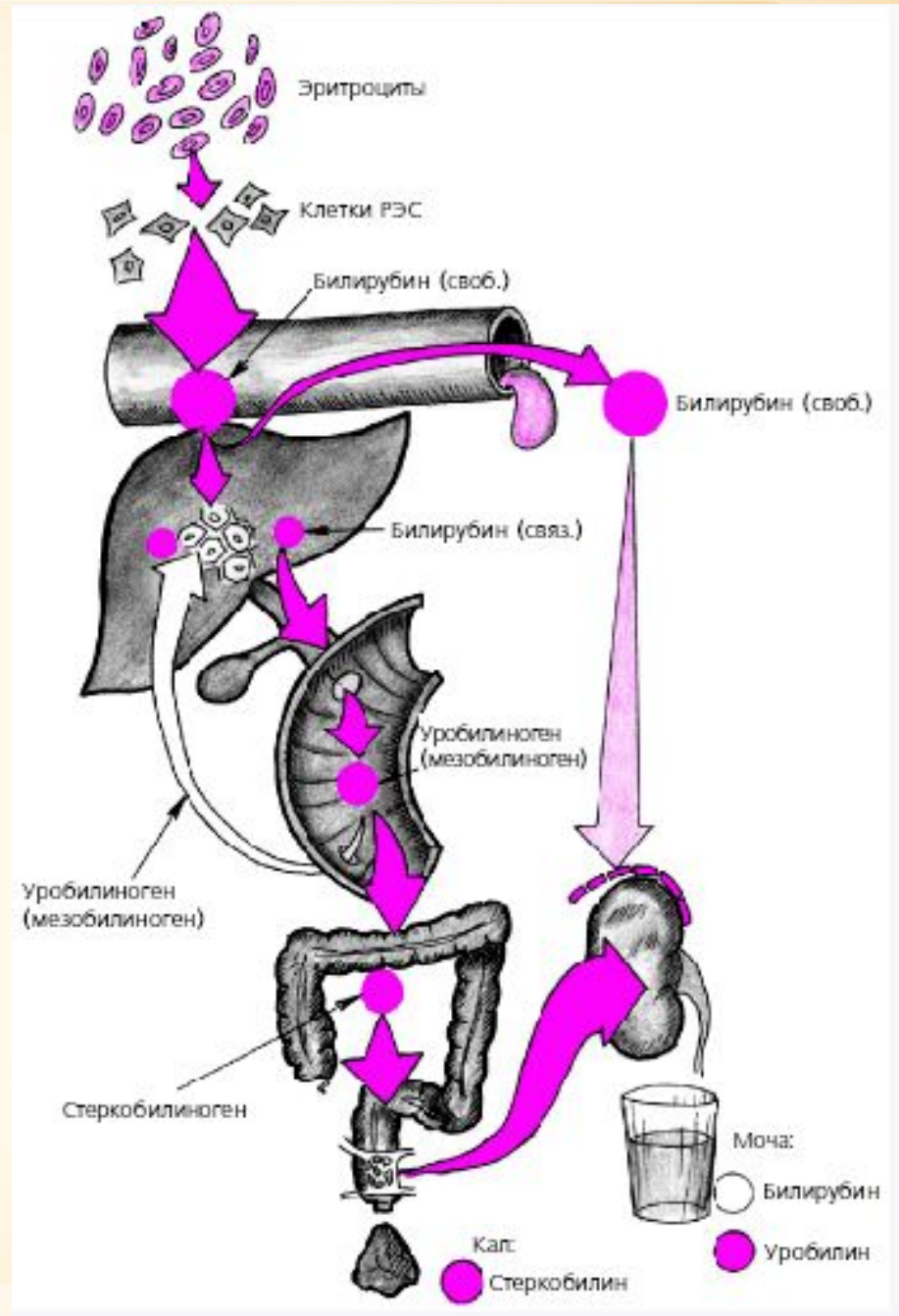


Надпеченочная (гемолитическая) желтуха.

- Образование в РЭС большого количества свободного (непрямого) билирубина который не успевает метаболизировать в печени хотя функция гепатоцитов не нарушена

В крови увеличивается содержание свободного (непрямого) билирубина

-связанный билирубин выделяется в печенью в кишечник



Основные лабораторные признаки желтух различного происхождения

показатели	Печеночная	Подпеченочная	Надпеченочная
Билирубин в сыворотке крови	Повышен прямой и непрямой	Повышен прямой	Повышен непрямой
Билирубин в моче	имеется	имеется	отсутствует
Уробилин в моче	Имеется (мезобилиноген)	отсутствует	Имеется (стеркобилиноген)
Стеркобилин в кале	Имеется, но может быть снижен	отсутствует	имеется

Наследственные нарушения метаболизма билирубина

Синдром Жильбера

- Сниженная конъюгация, в некоторых случаях сниженное поглощение билирубина.

Синдром Клиглера-Найяра:

- 1 тип – отсутствие конъюгирующего фермента
- 2 тип – частичная недостаточность фермента

Синдром Дубина-Джонсона

- умеренным повышением в крови прямого (связанного) билирубина вследствие нарушения механизмов его транспорта из гепатоцитов в желчь;

Синдром Ротора

- очень редкое состояние, первичный биохимический дефект в отличие от других функциональных гипербилирубинемий не идентифицирован

Заключение.

В клинической практике определение концентрации билирубина в сыворотке крови применяют для решения следующих задач.

- Выявление увеличенного содержания билирубина в крови в тех случаях, когда при осмотре больного желтуха не выявляется или наличие её вызывает сомнение. Желтушная окраска кожи появляется тогда, когда содержание билирубина в крови превышает 30-35 мкмоль/л.
- Объективная оценка степени билирубинемии.
- Дифференциальная диагностика различных видов желтух.
- Оценка течения заболевания путём повторных исследований.

Содержание билирубина в крови может быть понижено при низком гемолизе, что наблюдают при постгеморрагических анемиях и алиментарной дистрофии. Уменьшение содержания билирубина диагностического значения не имеет.

Спасибо за внимание.