

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО  
И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

---

ЦЕНТР СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО,  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

Д.Р. НАЗИРОВА, С.К. НАЗАРОВА, Н.С. ГАНИЕВА

# **ТЕХНИКА КЛИНИКО- БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

*Учебное пособие для  
профессиональных колледжей*

Издательский дом «ILM ZIYO»  
ТАШКЕНТ – 2015

УДК: 615.47(075)  
ББК 52,5  
Н 19

*Рекомендовано к изданию Советом по координации  
деятельности научно-методических объединений высшего  
и среднего специального, профессионального образования*

**Рецензенты:**

*Худайбердиев Я.К.* – доцент кафедры  
детских инфекций Ташкентского института  
усовершенствования врачей, к.м.н.;

*Садыхова З.М.* – заведующая клинической  
лабораторией Ташкентского городского онкологического диспансера;

*Буриходжаева Х.С.* – заместитель директора  
по учебной работе колледжа им. П.Ф. Боровского

В настоящее время перед системой образования поставлена задача подготовки выпускников колледжей, отвечающих требованиям квалификационной характеристики, представленных в Государственных образовательных стандартах, а также профессиональных специалистов, умело ориентирующихся в системе новых медицинских и информационно-коммуникационных технологий.

Одним из путей решения поставленных задач является создание новейших учебников, учебных и методических пособий, руководств для обучения.

Данное учебное пособие, созданное для учащихся по направлению «Лечебное дело», соответствует программе подготовки выпускников колледжей по специальности «Фельдшер общей практики».

ISBN 978-9943-16-203-7

© «ILM ZIYO», 2015  
© Назирова Д.Р., Назарова С.К.,  
Ганиева Н.С.

---

---

# 1. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ ПРЕДМЕТА «ТЕХНИКА КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ». ОБМЕН БЕЛКОВ В ОРГАНИЗМЕ

## 1.1. Краткий исторический очерк

В период позднего средневековья клинико-диагностические исследования связаны с попыткой применения в медицине методов химического анализа. Древние письменные указания на исследование мочи для распознавания болезней, в частности сахарного диабета, содержатся в древнеиндийском медицинском труде Аюрведе (X–VI вв. до н.э.). Отмечено, что теоретические представления древних индусов, китайцев, египтян, греков (Гиппократ, Аристотель) о патологии соответствовали гуморальным концепциям, что проявилось также в классическом труде «Канон медицины» известного врача Востока Абу Али ибн Сины (Авиценны).

На клиническое значение физического и химического исследования крови и мочи указывали Казанцис и Парацельс (XV–XVI вв.).

Основы современной лабораторной диагностики были заложены в результате изобретения микроскопа и колориметра, открытия строения клетки, достижений химии, биохимии, микробиологии. В XVII в. А. Левенгук добился увеличения рассматриваемых объектов в 300 раз, что позволило увидеть сложный мир микроорганизмов.

Вместе с клинической медициной лабораторная диагностика испытала влияние идей Дж. Листера, Л. Пастера, Р. Вирхова, Г. Менделя, И.М. Сеченова, И.П. Павлова.

Крупнейший русский ученый С.П. Боткин явился инициатором создания в России новой клинической медицины, основанной на данных физиологии и опирающейся на лабораторно-экспериментальные исследования. Современник С.П. Боткина врач Г.А. Захарьин явился организатором лабораторий при клиниках Московского университета. Он рекомендовал врачам метод исследования элементов крови. Российский ученый Д.Л. Романовский предложил метод окраски малярийных плазмодиев и элементов крови. Дан-

ный метод окраски мазков крови используется и в настоящее время.

Унитарную теорию кроветворения разработал врач-гематолог А.А. Максимов, а учёным В.Е. Предтеченским было издано руководство по клиническим лабораторным исследованиям.

Украинские ученые С.Л. Эрлих и А.Я. Альтгаузен дополнили лабораторную диагностику морфологическими аспектами. А.Я. Альтгаузен был издан руководством для фельдшеров и лаборантов «Лабораторные клинические исследования». М.А. Аринкин предложил метод прижизненного получения и исследования костного мозга. Сконструированная им игла для получения костного мозга была в дальнейшем усовершенствована гематологом И.А. Кассирским. Ими был совместно создан фундаментальный труд «Клиническая гематология».

Голландские учёные Ландштейнер и Янский предложили основные концепции групповой принадлежности крови человека.

Учёным К.И. Скрябиным была заложена основа для создания школы по изучению гельминтов. Он изучил новые виды гельминтов и предложил меры профилактики по борьбе с гельминтозами.

Выдающиеся учёные нашей республики также внесли свой ценный вклад в развитие лабораторной службы. Основоположником развития клинико-биохимических исследований Узбекистана является академик биохимик Е.Х. Туракулов. Его фундаментальные труды в области эндокринологии по определению гормонов щитовидной железы применимы и по сей день.

Биохимиками Т.С. Соатовым и К.С. Казаковым было создано «Руководство по биохимическим исследованиям». К.С. Казаков долгое время был главным лаборантом Министерства здравоохранения Узбекистана.

Профессор М.М. Махкамова возглавляла лабораторную службу республики, одновременно заведовала кафедрой лабораторной диагностики Ташкентского института усовершенствования врачей.

Позже профессор А.Н. Арипов был назначен главным лаборантом Министерства здравоохранения Республики Узбекистан и заведующим кафедрой лабораторной диагностики института усовершенствования врачей Узбекистана. Им создано большое количество трудов по биохимическим исследованиям.

## 1.2. Обязанности лаборанта

Обязанности лаборанта клинико-диагностической лаборатории сложны и многообразны. Он является первым помощником врача-лаборанта.

Лаборант производит взятие материала для исследования – крови из пальца, кожных чешуек, ногтей, волос. В его обязанности входит приготовление реактивов и красителей и правильное их хранение.

Лаборант готовит препараты для микроскопирования. Он самостоятельно производит ряд анализов: определение физических свойств и химических исследований мочи, крови, желудочного и дуоденального содержимого, испражнений, мокроты.

Клиническая ценность лабораторных исследований зависит от выполнения следующих требований:

1. Запрос на анализ, где указываются имя, отчество, фамилия, пол и дата рождения пациента, а также палата, больница, адрес, клинический диагноз, требуемые анализы, дата и время взятия пробы, назначенное лечение.

2. Соблюдение правил взятия материала: срок сбора, время взятия, процедура взятия материала, консерванты.

3. Строгое соблюдение условий транспортировки биологического материала.

4. Результаты исследований во многом зависят от техники взятия крови, используемых при этом инструментов, сосудов, в которых хранится кровь, а также от материала, употребляемого в последующем анализе (сыворотка, плазма, цельная кровь). Игла для взятия крови должна быть с коротким срезом и достаточно большим диаметром, чтобы не травмировать стенку вены и не вызывать повреждения эритроцитов. Количество добавляемого антикоагулянта должно быть достаточным и хорошо перемешано с пробой во избежание свертывания крови.

Комната для проведения венепункций должна быть оборудована стационарными бактерицидными облучателями. Столы, где производятся венепункции должны иметь контейнеры:

- контейнер настольный для игл с упором для безопасного снятия игл;
- контейнер с вложенным пластиковым мешком для сбора отходов.

Для исследования глюкозы, мочевины может быть использована цельная кровь. Для определения натрия, калия,

билирубина, фосфатов следует использовать сыворотку или плазму крови. Определение активности ферментов проводят в сыворотке с отделением ее от плотной части крови в срок не более 1–2 часов.

При взятии пробы мочи нужно правильно учитывать время сбора мочи. Ответственность за соблюдение правил сбора биологического материала для лабораторных исследований несут медицинские сестры, работники процедурных кабинетов и дежурный персонал.

На лаборанте лежит обязанность ведения ежедневной учётной и периодической отчётной документации.

Для правильной оценки полученных результатов исследований лаборанту необходимо знать нормальные величины лабораторных показателей.

Лаборант не должен разглашать сведения, составляющие конфиденциальную информацию.

### **1.3. Соблюдение техники безопасности в клиничко-диагностических лабораториях**

1. Проводить исследования, соблюдая правила техники безопасности.

2. Лаборант должен носить халат в течение рабочего дня, а при проведении процедур одевать перчатки, в особых случаях надевать прорезиненный фартук и защитные очки.



3. Мыть руки с мылом под струей воды до и после контакта с пациентом, перед уходом на перерыв и в конце рабочего дня.

4. В лабораториях нельзя принимать пищу, пробовать реактивы на вкус, определять запах глубоким вдохом.

5. Все реактивы должны быть плотно закрыты. Нельзя наливать или высыпать реактивы над столом. В случае, если реактив пролился, рассыпался и попал на одежду или участки кожи, необходимо промыть водой, а затем нейтрализующим веществом.

6. Особую осторожность необходимо соблюдать при работе с концентрированными растворами кислот, щелочей, огнеопасными и ядовитыми веществами.

7. Концентрированные кислоты следует хранить в толстостенной стеклянной посуде, работу с летучими кислотами производить только в вытяжном шкафу.

8. Отработанные кислоты должны быть нейтрализованы или же сильно разбавлены.

9. При работе с пипетками пользоваться резиновой грушей, во избежание попадания крови, кислот в ротовую полость при засасывании.

10. Запрещается использовать пробирки с трещинами или сколами для центрифуги.

11. Правильно использовать нагревательные приборы с соблюдением правил безопасности при нагревании.

12. Все электроприборы в лаборатории должны быть заземлены. Работать следует только с исправной аппаратурой.

13. В лаборатории должны быть наготове средства тушения пожара: огнетушители, ящики с песком, покрывала из асбеста.

Каждое медицинское учреждение должно разработать правила безопасности, которые включают ясно сформулированные письменные инструкции по правилам безопасности и процедуры оказания неотложной помощи. Правила безопасности и процедуры неотложной помощи должны быть вывешены на видных местах в лаборатории. Персонал должен быть обучен и регулярно проходить переподготовку по правилам безопасности и оказанию неотложной помощи. Обо всех чрезвычайных ситуациях необходимо сообщать заведующему или главному врачу.

В наличии должна быть письменная инструкция, отражающая виды дезинфицирующих средств, применяемых в тех или иных случаях. Инструкции должны быть наклеены

на стену или находиться в удобном месте и использоваться персоналом, ответственным за приготовление дезинфицирующих средств.

#### **1.4. Приказы Министерства здравоохранения Республики Узбекистан**

Кабинет Министров и Министерство здравоохранения Республики Узбекистан разработали несколько нормативных документов, которые необходимо изучить и повседневно использовать в работе:

1. Приказ Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №600 от 2003 г. «О соблюдении правил дезинфекции, эпидемиологических и санитарно-гигиенических мероприятий в лечебно-профилактических учреждениях».

2. Приказ Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №80 от 7 мая 2009 г., приложение №9 «Положение о лаборанте клинико-диагностических лабораторий СВП».

3. Приказ Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №80 от 7 мая 2009 г., приложение №13 «Перечень проводимых лабораторных исследований лаборантом СВП».

4. Приказ Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №5 от 05.01.2012 г. «О мерах по совершенствованию борьбы с вирусными гепатитами в республике».

5. Приказ Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №80 от 28.03.2012 г. «О совершенствовании профилактических мероприятий и организации медико-социальной помощи в связи с ВИЧ-инфекцией в Республике Узбекистан».

6. Приказ СанПиН №0304-12 от 15.05.2013 г. «Профилактика внутрибольничных инфекций».

Согласно приказу Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №80 от 28.03.2012 года: «О совершенствовании профилактических мероприятий и организации медико-социальной помощи в связи с ВИЧ-инфекцией в Республике Узбекистан» и приказу СанПиН №0304-12 от 15.05.2013 г. «Профилактика внутрибольничных инфекций» необходимо:

1. Ко всем образцам крови относиться как к потенциально опасным в плане наличия возбудителей вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции.



2. При загрязнении рук кровью, сывороткой, выделениями тщательно протирать их тампоном, смоченным кожным антисептиком, после чего мыть проточной водой с мылом.

3. Поверхности рабочих столов в конце рабочего дня, а в случае загрязнения кровью немедленно обрабатываются дезинфицирующими средствами, предназначенными для обработки поверхностей.

4. Ёмкости для проведения дезинфекции должны быть чётко маркированы, иметь крышки.

5. Лабораторные инструменты после окончания контакта с кровью или сывороткой должны подвергаться дезинфекции. Дезинфекция осуществляется химическими методами.

6. Лабораторные инструменты и посуду обеззараживают дезинфицирующим раствором хлорсодержащего средства.

7. С предметных стёкол с фиксированным и окрашенным мазком крови после проведения микроскопии удаляют остатки иммерсионного масла, стёкла кипятятся в мыльном растворе не менее 15 минут до полного отхождения краски, затем промываются проточной водой и сушатся в сушильном шкафу.

8. Предстерилизационную очистку и стерилизацию проводят в ОЦС.

9. Одноразовый лабораторный инструментарий (плашки, носики к автоматическим пипеткам и т.д.) утилизируют в соответствии с действующим нормативным документом.

10. Моча после исследования сливается в канализацию.

11. Лабораторная посуда, использованная для исследовании мочи, дезинфицируется погружением в 0,5% растворе хлорсодержащего дезинфектанта, экспозицией на 10 минут согласно инструкции. После дезинфекции посуда промывается, ополаскивается и высушивается в сушильном шкафу.

12. Не реже одного раза в год проводятся обследования персонала на маркеры вирусных гепатитов В и С, согласно действующему нормативному документу.

### **1.5. Введение в предмет «Биохимические исследования»**

Биологическая химия – наука о качественном и количественном составе сложных природных соединений, составляющих живую материю и их преобразованиях, то есть наука о химических основах жизнедеятельности организма. Структурной единицей живой материи является клетка.

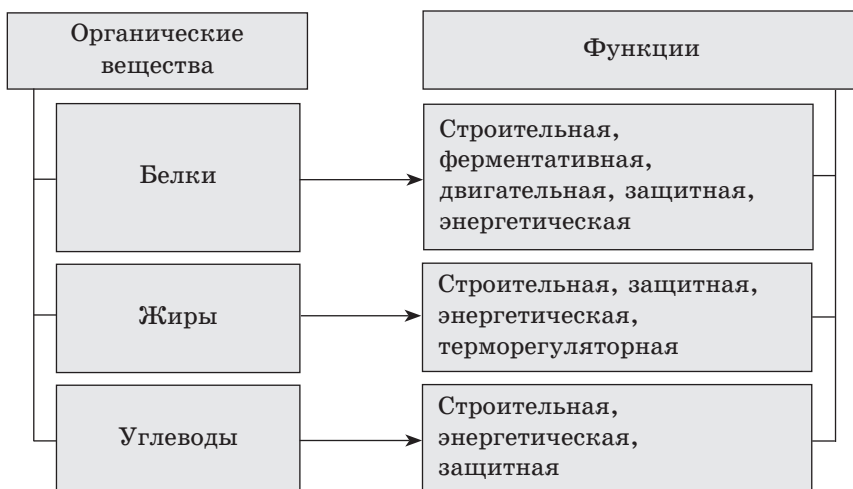
Биохимия создаёт теоретическую базу для изучения медико-биологических и специальных дисциплин: биологии, гигиены, физиологии, генетики, гистологии, микробиологии, патологии внутренних органов.

Задачи биохимии:

- изучение строения и функций биомолекул, входящих в состав тканей организма;
- изучение механизмов поступления пластических и биологически активных веществ во внутреннюю среду организма;
- изучение механизмов превращения поступивших мономеров в биополимеры, специфичные для данного организма;
- изучение механизмов высвобождения, накопления и использования энергии в клетке;
- изучение механизмов образования и выведения конечных продуктов распада веществ в организме;
- изучение механизмов воспроизведения и передачи наследственных признаков организма.

Особое свойство живой материи заключается в способности к эффективному преобразованию и использованию энергии путем постоянного поглощения химических веществ из внешней среды и выведения из организма продуктов распада. К признакам живой материи также относятся: высокий уровень структурной организации, а также самовоспроизведение и передача наследственных свойств.

### Функция белков, жиров и углеводов



Обмен веществ и энергии называется *метаболизмом* – это совокупность химических процессов, которым подвергаются различные соединения с момента поступления в организм и до момента их выделения из организма. Та часть обмена, которая заключается в поглощении и накоплении веществ из окружающей среды, образовании из них элементов своего тела, называется *анаболизмом*. Другая часть обмена веществ выделяет во внешнюю среду продукты распада – это *катаболизм*.

В метаболизме различают 4 стадии:

- переваривание – происходит в желудочно-кишечном тракте, при этом чужеродные биополимеры распадаются до мономеров;
- всасывание и транспортровка – прохождение мономеров через слизистую желудочно-кишечного тракта во внутреннюю среду организма;
- промежуточный обмен – под действием ферментов при гормональном участии происходят внутриклеточные процессы синтеза и распада;
- выделение конечных продуктов обмена.

В результате метаболизма во внутреннюю среду нашего организма поступает большое количество метаболитов, содержание которых составляет *гомеостаз* внутренних сред организма (кровь, сыворотка, спинномозговая жидкость, моча, пищеварительные соки и др.).

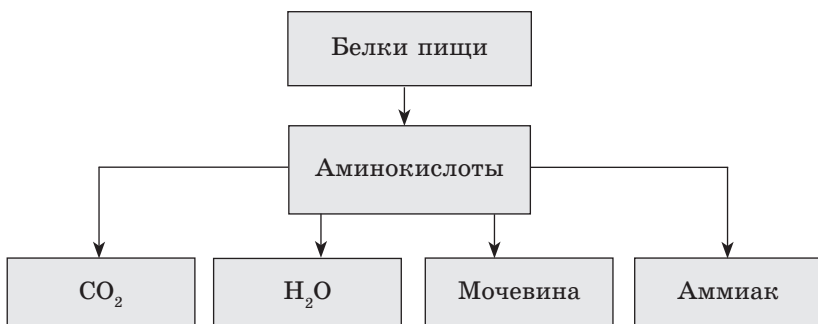
Любое заболевание начинается с нарушения одной реакции в метаболизме клетки, а затем оно распространяется на ткань, орган и целый организм. Нарушение гомеостаза ведет к изменениям клинико-биохимических показателей. Клинико-биохимические показатели широко используются при:

- постановке диагноза заболевания;
- выборе метода лечения и контроле за правильностью выбранного лечения;
- контроле за излеченностью патологического процесса;
- скрининге (выявление болезни на доклинической стадии);
- мониторинге (контроль за течением болезни и результатом лечения);
- прогнозе (возможные исходы заболевания).

## 1.6. Обмен белков в организме

Белки являются важной составной частью организма и играют основную роль в процессах жизнедеятельности. Бел-

ки относятся к высокомолекулярным соединениям, состоящим из 20 природных аминокислот, соединенных между собой пептидной связью.



Пептиды состоят из нескольких остатков аминокислот, связанных пептидной связью. В зависимости от количества остатков аминокислот и молекулярной массы различают:

1. Низкомолекулярные пептиды. В них содержатся от 2 до 10 остатков аминокислот. Например: ди-, три-, тетра-, пентапептиды и так далее.

2. Пептиды со средней молекулярной массой.

3. Высокомолекулярные пептиды.

Белки делятся на 2 группы:

1. Простые белки, или протеины, которые состоят только из аминокислот. Например: белки-ферменты желудочно-кишечного тракта человека – пепсин, трипсин, химотрипсин.

2. Сложные белки, или протеиды. В их состав, кроме аминокислот, входят небелковые вещества. Например: белки, содержащие углеводы – гликопротеиды; содержащие липиды – липопротеиды; содержащие нуклеиновые кислоты – нуклеопротеиды; белки, содержащие характерную окраску – хромопротеиды. Примером сложного белка является гемоглобин крови, который состоит из белка глобина и красящей группировки – гема.

Роль белков в организме:

1. *Ферментативная* – ферменты – это белки, которые участвуют в биохимических реакциях происходящих в организме.

2. *Гормональная* – 50% гормонов, вырабатывающихся в организме, – белковой природы.

3. *Рецепторная* – белки – рецепторы, находящиеся на клеточных мембранах.

4. *Структурная* – белки играют основную роль в формировании всех клеточных структур организма.

5. *Иммунологическая* – гуморальный иммунитет связан с наличием антител, состоящих из гамма-глобулинов.

6. *Гемостатическая* – в крови содержатся факторы свертывания крови, имеющие белковую природу.

7. *Противосвертывающая* – в крови имеются: антитромбиновые, антитромбопластиновые и фибринолитические белки.

8. *Транспортная* – фракции белков участвуют в переносе кислорода, липидов, стероидов, витаминов, лекарственных веществ.

9. *Сократительная* – белки принимают участие в сокращении мышц: актин, миозин и т. д.

10. *Обезвреживающая* – белки являются противоядием при отравлении тяжелыми металлами, алкалоидами.

11. *Опорная* – прочность соединительной, хрящевой и костной ткани осуществляется за счет белков: коллагена, эластина.

12. *Энергетическая* – 1 грамм белка при окислении дает 4,1 ккал энергии.

Белки должны поступать с пищей в организм в количестве 100 г в сутки. В зависимости от количественного и качественного состава аминокислот в белке они, по биологической ценности, могут быть полноценными и неполноценными. Белки, содержащие 53 % незаменимых аминокислот, являются полноценными.

**Физиологическая роль белков плазмы крови:**

- поддержание онкотического давления для сохранения объема циркулирующей крови;
- участие в свертывании крови;
- поддержание постоянного pH крови;
- перенос белками плазмы крови нерастворимых веществ (липидов, билирубина, жирных кислот, жирорастворимых витаминов и т.д.) в ткани и органы, то есть транспортная функция;
- участие в иммунных процессах организма;
- поддержание уровней катионов крови путем образования с ними соединений;
- образование «белкового резерва» организма за счёт сывороточных белков.

Белки плазмы крови поддерживают коллоидно-осмотическое давление, являются одной из важнейших буферных систем, играют большую роль в транспорте питательных веществ, витаминов, гормонов, лекарственных препаратов.

Описаны более сотни белковых компонентов плазмы крови. В зависимости от способа разделения получают различные фракции белков, сходных по некоторым свойствам. Главные из них – альбумины, глобулины и фибриноген.

С помощью метода электрофореза на бумаге в сыворотке крови обнаружено 5 фракций белков. Методом электрофореза в крахмальном геле выявляется до 17 фракций белков. Методом иммунофореза можно получить до 30 фракций белков.

Альбумины составляют более половины общего количества белков плазмы крови.

**Альбумины** – высоко гидрофильные низкомолекулярные белки, поэтому они удерживают воду в организме и поддерживают коллоидно-осмотическое давление крови. Они выполняют транспортную функцию, образуя временные комплексы с билирубином, желчными кислотами, кальцием, гормонами, лекарственными препаратами.

Альбумины быстро обновляются в организме и образуются в печени.

**Глобулины** представлены различными по химическому составу и функциям белками. Среди них отмечают гликопротеиды, липопротеиды и иммуноглобулины. Они не растворяются в воде и до 80% образуются в печени и подразделяются на альфа-, бета- и гамма-глобулины.

**Альфа-глобулины** участвуют в транспортировке гормона тироксина, ретинола. Они также выделяют гаптоглобин и протромбин. Гаптоглобины обладают способностью соединяться с гемоглобином, предупреждая его потерю организмом через почки. Протромбин является неактивным предшественником тромбина – белка, способствующего превращению фибриногена в фибрин.

**Бетта-глобулины** – это, в основном, липопротеиды. В их состав входят также свободный и эфирсвязанный холестерин.

**Фосфолипиды** – в этой фракции обнаружены трансферрин и С-реактивный белок. Функция трансферрина заключается в связывании и переносе железа в ткани. Содержание С-реактивного белка увеличивается при патологии, сопровождающейся воспалением и распадом тканей.

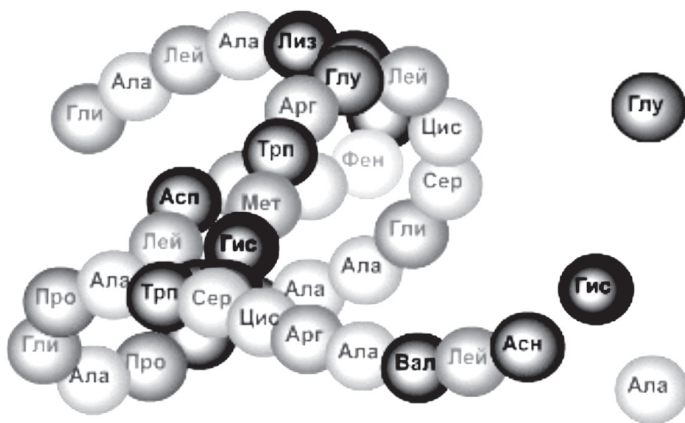
**Гамма-глобулины** (иммуноглобулины) – представлены антителами.

**Фибриноген** – образуется в печени, имеет большую молекулярную массу и участвует в заключительной стадии свертывания крови – формировании сгустка.

Пищевой белок, попавший в желудочно-кишечный тракт, в желудке под действием фермента пепсина в присутствии соляной кислоты расщепляется. Образовавшиеся высокомолекулярные полипептиды поступают в двенадцатиперстную кишку и подвергаются действию трипсина, химотрипсина, эластазы (эндопептидазы) и карбоксипептидаз А и В. В результате действия всех ферментов образуются олиго-, ди-, трипептиды, а также свободные аминокислоты, которые поступают в тонкий кишечник, где под действием амино-, ди-, три-, и олигопептидаз происходит расщепление их до свободных аминокислот. Всасывание аминокислот в тонком кишечнике происходит с участием глутатиона, образующего комплекс, который, проходя через мембрану, распадается на свободную аминокислоту и глутатион.

Аминокислоты поступают в кровь и по воротной вене попадают в печень, где подвергаются ряду превращений. В печени аминокислоты используются для синтеза собственных белков и белков плазмы крови, а также для синтеза биологически активных веществ (гормонов, аминов, пептидов) и специфических азотсодержащих соединений (нуклеотидов, гема, креатина).

Промежуточный обмен аминокислот – это совокупность превращений аминокислот в организме человека от момента



поступления их в кровь до выведения из организма в виде мочевины, углекислого газа и воды.

Печень обеспечивает наличие свободных аминокислот организма. Аминокислоты, как и белки, не накапливаются и не запасаются в тканях. Аминокислоты, образовавшиеся при распаде белков в клетках тканей, подвергаются распаду с образованием конечных продуктов белкового обмена и освобождению энергии. Часть аминокислот подвергается дезаминированию, когда от одной аминокислоты отнимается аминогруппа и аминокислота превращается в кетогруппу; аминогруппа присоединяется к другой кетокислоте и получается новая аминокислота. Данный процесс протекает с участием фермента трансаминазы.

В результате дезаминирования отщепляется аминогруппа и в организме во всех тканях образуется аммиак, который является очень токсичным веществом. Организм выработал определенные механизмы его обезвреживания. В клетках нервной, почечной, печеночной и других тканях происходит присоединение аммиака к глутаминовой и аспарагиновой аминокислотам с образованием нетоксичных соединений – глутамина и аспарагина. Главная роль в обезвреживании аммиака принадлежит печени, которая осуществляет синтез мочевины.

В почках происходит процесс образования из аммиака аммонийных солей. В частности, из организма удаляются аммиак, остатки кислот и сохраняются необходимые катионы натрия и калия, поэтому содержание аммиака в крови незначительно. Определение аммиака в крови имеет большое прогностическое значение при заболеваниях печени. В норме в цельной крови аммиака содержится менее 65 мкмоль/л. С мочой в сутки выделяется 0,5 г аммиака. При тяжелых паренхиматозных повреждениях печень не в состоянии обезвредить поступающий аммиак, и он накапливается в крови. Общими клиническими симптомами для всех нарушений синтеза мочевины являются рвота, отвращение к продуктам, богатых белками, нарушение координации движений, раздражительность, сонливость, умственная отсталость.

Содержание аммиака в моче является важным показателем состояния кислотно-щелочного равновесия. Повышение количества аммиака в моче наблюдается при ацидозе, при гиперфункции коры надпочечников, лихорадочных состояниях, при цистопиелитах и некоторых других заболеваниях.

Небольшая часть аминокислот под влиянием гнилостных бактерий толстого кишечника превращается в токсические



вещества – индол и скатол, которые удаляются из организма с калом в виде индикана.

Остаточный азот крови – азот небелковых азотистых компонентов в сыворотке крови.

В состав остаточного азота крови входит мочеви́на, которая составляет 85%; креатинин, мочевые кислоты, индикан, аминокислоты, соли аммония составляют 15%. В клинико-диагностических лабораториях исследуют количество мочевины, так как 85% остаточного азота составляет азот мочевины. В норме азот мочевины в крови составляет 2,9–8,9 ммоль/л, мочеви́на крови – 3,5–9,0 ммоль/л. При потреблении белка в количестве 100 г в сутки с мочой за сутки выделяется 25–35 г мочевины. Повышение концентрации мочевины в крови называется *уремия*.

Причины развития уремии:

- почечная недостаточность, острый и хронический нефрит, острый канальцевый некроз, обструкция мочевыводящих путей, когда выделение мочевины с мочой резко снижается и её концентрация в крови возрастает;
- усиление метаболизма азота, кровотечения из верхних отделов желудочно-кишечного тракта;
- уменьшение почечного кровотока, шоковые состояния.

При хронической почечной недостаточности развивается уремия, в результате накопления большого количества мочевины в крови. Для удаления из крови мочевины прибегают к гемодиализу.

Понижение концентрации мочевины в крови наблюдается во время беременности, при голодании, при патологии печени (цирроз печени, отравление ядами).

**Белки плазмы крови.** Из 9–10% сухого остатка плазмы крови на долю белков приходится 65–85 г/л. Нормальное содержание альбуминов в плазме крови составляет 40–50 г/л, глобулинов – 20–30 г/л, фибриногена – 2–4 г/л.

При различных патологических состояниях могут изменяться показатели общего количества белка плазмы крови.

**Гиперпротеинемия** – увеличение общего количества содержания белков плазмы. Диарея, неукротимая рвота, обширные ожоги, потеря воды сопровождаются повышением концентрации белков.

**Гипопротеинемия** – уменьшение общего количества белков в плазме крови – возникает, в основном, за счет уменьшения количества альбуминов (при нефротическом синдроме, при

острой атрофии печени, поражении желудочно-кишечного тракта, карциноме и др.).

Содержание альбуминов в сыворотке крови снижается при недостатке белков в пище, кахексии, нефрозе, воспалительных процессах, инфекциях, циррозе печени.

Содержание альфа-глобулинов повышается при острых инфекциях, некрозах, остром ревматизме, экссудативном туберкулезе, нефрозе, карциномах.

Содержание бета-глобулинов в крови повышается при застойной желтухе, гепатитах, нефрозах, миеломах.

Содержание гамма-глобулинов в сыворотке крови повышается после перенесенных инфекционных заболеваний, воспалительных процессов.

### 1.7. Методы исследования

Определение общего белка сыворотки крови можно проводить с помощью биуретовой реакции. Также чаще используют исследование аппаратом – рефрактометром. Норма общего белка в сыворотке крови 65–85 г/л.

*Определение белковых фракций проводят методом электрофореза на бумаге. Белки сыворотки обладают электрическим зарядом различной величины и под воздействием постоянного тока движутся по смоченной буферным раствором бумаге к положительному полюсу. Аппарат представляет собой камеру из толстого стекла с закрывающейся крышкой. На дне камеры устанавливаются свободно вынимающиеся кюветы, в которые опущены концы электродов. В середине камеры установлена вынимающаяся рамка, на которой укрепляют бумажные ленты. В оба отделения кювета заливают буферный раствор до одинакового уровня. Подготавливают полоски хроматографической бумаги, смачивают буферным раствором, отмечают место нанесения сыворотки и кладут на рамку между кюветами. На ленту, в отмеченном месте, наносят 0,01 мл негемолизированной сыворотки. Используется шлифованное стекло, его переворачивают на бумагу, закрывают камеру и включают прибор.*

*Позже ленты сушат 15–20 минут в сушильном шкафу при температуре 95–105°C, красят, опять промывают, сушат и просматривают. В настоящее время широко используется метод электрофореза на пленках из ацетата целлюлозы, так как химическая однородность ацетата и одинаковый размер пор позволяют увеличить четкость разделения.*

## Биуретовая реакция

Данная реакция является универсальной для определения всех видов белков, так как она определяет наличие всех пептидных связей, с помощью которых соединяются между собой аминокислоты, входящие в состав белков и формирующие их первичные структуры.

В основе биуретовой реакции лежит способность пептидных связей в щелочной среде образовывать с сульфатом меди окрашенные комплексные соединения, цвет которых зависит от длины полипептидной цепи. Раствор белка (нативного) даёт сине-фиолетовое окрашивание.

### Ход определения № 1

*В пробирку вносят 5 капель 1% р-ра яичного белка (белок куриного яйца фильтруют через марлю, а затем разводят дистиллированной водой в расчёте 1:10), 3 капли 10% р-ра гидроксида натрия и 1 каплю 1% р-ра сульфата меди и перемешивают. Содержимое пробирки приобретает сине-фиолетовое окрашивание.*

### Ход определения № 2

*К 0,1 мл сыворотки крови прибавляют 5 мл рабочего раствора биуретового реактива и смешивают, избегая образования пены. Через 30 минут измеряют на фотометре в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 500–560 нм (зелёный светофильтр) против холостой пробы. Холостая проба: к 5 мл рабочего биуретового реактива прибавляют 0,1 мл 154 ммоль/л раствора хлорида натрия, далее обрабатывают как опытную пробу.*

*Расчёт ведут по калибровочному графику.*

Построение калибровочного графика: из калибровочного раствора готовят рабочие растворы как указано ниже.

№ пробирки	Калибровочный раствор альбумина, мл	154 ммоль/л раствора хлорида натрия, мл	Концентрация альбумина, г/л
1	0,2	0,8	20
2	0,4	0,6	40
3	0,6	0,4	60
4	0,8	0,2	80
5	1,0	–	100

Из каждого разведения берут по 0,1 мл рабочего раствора и прибавляют по 5 мл рабочего биуретового реактива: через 30–60 минут измеряют на фотометре, как в опыте, против холодной пробы. По полученным данным строят калибровочный график. Калибровочная кривая линейна до 101 г/л альбумина. Нормальные величины 65–85 г/л (6,5–8,5 г/100 мл).

### Вопросы для закрепления

1. Какие открытия способствовали развитию лабораторной диагностики?
2. Расскажите о роли учёных Боткина С.П. и Захарьина Г.А. в деле развития лабораторной службы.
3. Кем была предложена унитарная теория кроветворения?
4. Расскажите о роли учёных Эрлиха С.Л. и Альтгаузена А.Я. в деле развития лабораторной службы.
5. Какими учёными был создан фундаментальный труд «Клиническая гематология» и какова его роль в деле развития лабораторной службы?
6. Какими учёными были предложены основные концепции групповой принадлежности крови человека?
7. Расскажите о роли выдающихся учёных республики, внесших свой вклад в развитие лабораторной службы Узбекистана.
8. От каких требований зависит клиническая ценность лабораторных исследований?
9. Кто несёт ответственность за соблюдение правил сбора биологического материала для лабораторных исследований?
10. Перечислите основные правила соблюдения техники безопасности в клиничко-диагностических лабораториях.
11. Какие меры должны быть предусмотрены для предотвращения чрезвычайных ситуаций в лаборатории?
12. Какие меры должны быть предусмотрены при развитии пожара в лаборатории?
13. Какие приказы Министерства здравоохранения Республики Узбекистан освещают задачи лаборантов клиничко-диагностических лабораторий?
14. Какие приказы Министерства здравоохранения Республики Узбекистан должны неукоснительно выполнять лаборанты клиничко-диагностических лабораторий?

15. Какую роль в организме человека выполняют протеины?
16. Дайте определение простым и сложным белкам. Приведите примеры.
17. Какие белки осуществляют прочность хрящевой и костной ткани?
18. Какое количество энергии в килокалориях выделяется при окислении 1 г белка в организме человека?
19. Назовите суточную норму белка, необходимую для человека.
20. Дайте характеристику альбуминам и глобулинам.
21. Под действием какого фермента расщепляется пищевой белок в желудочно-кишечном тракте?

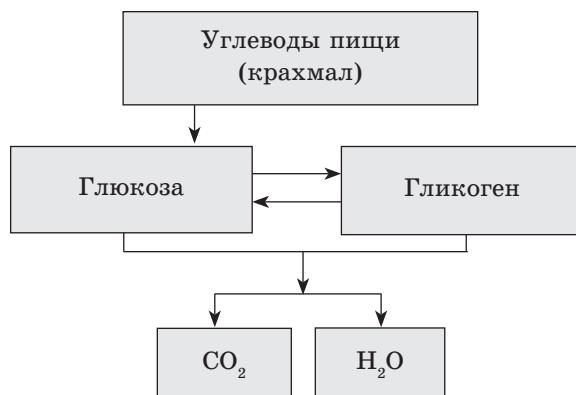
---

---

## 2. ОБМЕН УГЛЕВОДОВ. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ УГЛЕВОДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

### 2.1. Роль углеводов в организме

Для осуществления биохимических реакций, лежащих в основе жизнедеятельности организма, необходима энергия. Источником этой энергии являются углеводы.



Углеводы – это органические соединения, которые подразделяются на моносахариды, олигосахариды и полисахариды.

*Моносахаридами* называются углеводы, которые не могут быть гидролизованы до более простых форм. К ним относятся глюкоза, фруктоза, галактоза, рибоза, эритроза и другие.

*Олигосахариды* подразделяются на ди-, три-, тетра-сахариды. К дисахаридам относятся сахароза, мальтоза, лактоза и др.

Полисахариды делятся на:

1. Гомополисахариды: к ним относятся крахмал, гликоген (животный крахмал), декстрины (образуются при частичном гидролизе крахмала и гликогена) и целлюлоза (растительная клетчатка).

2. Гетерополисахариды: к ним относятся гепарин (полимер, участвует в антисвертывающей системе крови, усиливает

действие антитромбина III); гиалуроновая кислота (полимер, входит в состав соединительной ткани и участвует в регуляции проницаемости ткани); хондроитинсульфаты – полимеры и мономеры, которые состоят из остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетилгалактозамина, входящих в состав основного вещества хряща.

Функции углеводов в организме:

1. *Энергетическая*. При распаде 1 г углеводов выделяется 4,1 ккал.
2. *Структурная* (гетерополисахариды).
3. *Защитная* (синтез иммунных тел в ответ на воздействие антигенов).
4. *Гемостатическая* (участие в свертывании крови).
5. *Антисвертывающая* (гепарин).
6. *Гомеостатическая* (поддержание гомеостаза, например водно-электролитного обмена).
7. *Опорная* (в составе костей, хрящей).
8. *Механическая* (в составе соединительной ткани).
9. *Группспецифические* вещества эритроцитов крови.
10. *Осморегуляторная* (благодаря глюкозе).
11. *Обезвреживающая* (парные глюкороновые кислоты).
12. *Антилипидемическая* (гепарин).

Расщепление полисахаридов начинается в ротовой полости под воздействием амилазы слюны. Образовавшиеся декстрины и мальтоза попадают в желудок, где расщепление углеводов прекращается из-за кислой реакции содержимого желудка. Переваривание продолжается в двенадцатиперстной кишке под действием панкреатической амилазы с образованием дисахаридов: мальтозы и изомальтозы. Поступившие с пищей дисахариды сахароза и лактоза расщепляются в тонком кишечнике под действием мальтозы, изомальтозы, сахарозы, лактозы.

Целлюлоза незначительно расщепляется в толстом кишечнике под действием глюкозидазы, выделяемой микробами.

Образовавшиеся в тонком кишечнике моносахариды: глюкоза, фруктоза, галактоза всасываются в кровь. В крови остается только глюкоза, так как фруктоза и галактоза превращаются в глюкозу под действием изомераз. В крови здорового человека более 90% всех низкомолекулярных углеводов приходится на долю глюкозы, которая в силу высокой растворимости в воде и других свойств занимает исключительное положение главного источника энергии для многих клеток организма. Кровь через капилляры ворсинок кишечника по-

падает через воротную вену в печень, а затем разносится к органам и тканям.

Все клетки, кроме мозга, используют глюкозу при участии гормона поджелудочной железы – *инсулина*. Посредством рецепторов инсулина глюкоза переходит в клетки. Клетки мозга получают глюкозу путем диффузии.

Глюкоза частично превращается в гликоген и откладывается в печени и мышцах как запасной энергетический материал. В этом процессе задействованы ферменты гексокиназа в мышцах и глюкокиназа в печени. Основной запас гликогена находится в мышцах, так как их вес больше веса печени. В каждой клетке печени синтезируется только 1–2 молекулы гликогена, чтобы не повышалось осмотическое давление.

Основная часть глюкозы доставляется к клеткам органов и тканей, где окисляется путем гликолиза, аэробным окислением, фосфоглюконатным (пентозофосфатным) путем.

Гликолиз – основной процесс образования энергии путем окисления глюкозы. Окисление глюкозы в клетках происходит через ряд превращений с образованием промежуточных продуктов, важнейшими из которых являются молочная и пировиноградная кислоты, ацетилкоэнзим-А (ацетил КоА), рибоза. При определенных условиях из этих веществ образуются жиры и белки. Например, пировиноградная кислота превращается в ацетил КоА, который используется для синтеза жирных кислот и холестерина или является исходным веществом для образования аминокислот – аланина, валина, лейцина. Рибоза используется для синтеза рибонуклеиновой и дезоксирибонуклеиновых кислот.

В анаэробных условиях глюкоза является единственным источником энергии для работы скелетной мышцы. Образовавшийся из глюкозы лактат поступает с кровью в печень, где превращается в глюкозу, которая затем возвращается в мышцу (цикл Кори).

Биологическое значение глюконеогенеза заключается не только в возвращении лактата в метаболический фонд, но и в поддержании концентрации глюкозы на достаточном уровне при недостатке углеводов в организме, например при углеводном или полном голодании и сахарном диабете. Глюконеогенез протекает тем же путем, что и гликолиз, только в обратном направлении. За сутки в норме синтезируется до 80 г глюкозы.

Уровень глюкозы в крови здорового человека относительно постоянен – 3,33–5,55 ммоль/л. (80–120 мг%). Та-



кое постоянство регулируется центральной и вегетативными нервными системами, железами внутренней секреции и печенью. Она проходит на клеточном уровне с вовлечением в работу целого ряда ферментов. Основными ферментами, участвующими в реакции превращения глюкозы в организме, являются гексокиназа, альдолаза, лактатдегидрогеназа и др.

При поступлении большого количества углеводов с пищей уровень глюкозы в крови повышается. Богатая глюкозой кровь вызывает возбуждение нервных центров в продолговатом мозге и гипоталамусе. Импульсы по блуждающему нерву передаются в бета-клетки островков Лангенгарса поджелудочной железы, вызывая выделение гормона инсулина в кровь. Инсулин стимулирует ферменты печени, осуществляющие превращение глюкозы в гликоген и уровень глюкозы в крови снижается.

Инсулин активизирует гликолиз, активизирует ферменты гексокиназу и глюкокиназу, обеспечивает проникновение глюкозы через клеточные мембраны и ее окисление с образованием энергии; способствует переводу избытка глюкозы в жиры и белки.

В регуляции углеводного обмена участвуют и другие гормоны – все они повышают уровень глюкозы в крови.

*Глюкагон* – гормон альфа-клеток поджелудочной железы, ингибирует гликолиз, инактивирует фермент пируваткиназу.

*Тироксин* – гормон щитовидной железы, усиливает процесс окисления глюкозы в клетках и распад гликогена в печени до глюкозы.

*Глюкокортикоиды* – гормоны коры надпочечников, активизируют образование глюкозы из аминокислот (глюконеогенез).

*Гормоны передней доли гипофиза* стимулируют работу других желез внутренней секреции, которые влияют на углеводный обмен.

*Соматотропный гормон* усиливает выделение глюкагона, *адреналокортикотропный гормон* – адреналина и кортикостероидов, *тиреотропный гормон* – тироксина, – все они повышают уровень глюкозы в крови.

Инсулин – единственный гормон, вызывающий снижение уровня глюкозы в крови, а все остальные гормоны обладают противоинсулярным действием – увеличивают содержание глюкозы в крови.

## 2.2. Патология углеводного обмена

Основные пути поступления глюкозы в кровь:

- гидролиз сложных углеводов пищи;
- глюконеогенез;
- распад гликогена.

Пути расходования глюкозы крови:

- распад глюкозы для получения энергии;
- расход глюкозы на образование гликогена (запасание энергетического материала);
- биосинтез в клетках олигосахаридов и гетерополисахаридов;
- синтез липидов в жировой ткани и другие.

Виды нарушения углеводного обмена:

- нарушение переваривания и всасывания в желудочно-кишечном тракте;
- гипергликемия – повышенное содержание глюкозы в крови более 5,5 ммоль/л;
- гипогликемия – понижение количества глюкозы в крови менее 3,3 ммоль/л;
- врожденные (наследственные) нарушения углеводного обмена.

Нарушение переваривания и всасывания углеводов в желудочно-кишечном тракте происходит из-за отсутствия или недостатка ферментов кишечника: лактозы, мальтозы, сахарозы.

Гипергликемии бывают инсулярные – связанные с изменением функции поджелудочной железы, и экстраинсулярные – не связанные с функцией поджелудочной железы.

Инсулярные гипергликемии вызываются дефицитом выработки инсулина или недостаточностью его действия и наблюдаются при сахарном диабете и остром панкреатите.

При сахарном диабете поражены бета-клетки островков Лангенгарса поджелудочной железы. Различают диабет двух основных типов: 1) инсулинзависимый – нарушен синтез инсулина, 2) инсулиннезависимый – синтез инсулина не нарушен, но увеличен синтез глюкогена. Для дифференциации этих двух типов проводят глюкозотолерантный тест (ГТТ).

Основные биохимические сдвиги углеводного обмена при сахарном диабете:

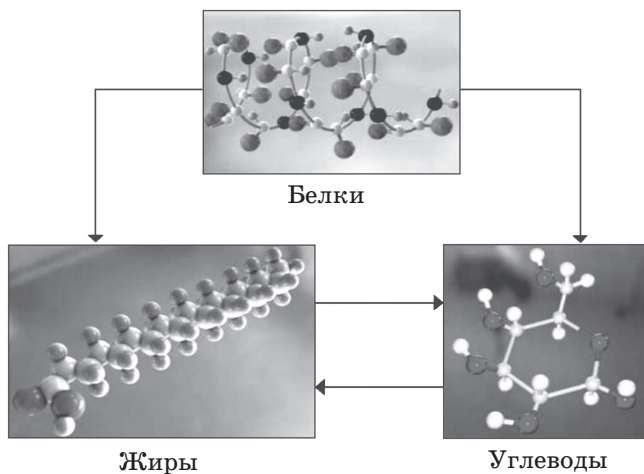
- гипергликемия и глюкозурия;
- кетонемия и кетонурия;
- азотемия и азотурия;

- полидипсия (жажда, потребление большого количества воды);
- полиурия (выделение большого количества мочи);
- ацидоз.

Уровень глюкозы может достигать высоких цифр 15–18 ммоль/л, превышающих сахарный порог (9–10 ммоль/л; 160–180 мг%), что приводит к развитию глюкозурии (выделение глюкозы с мочой). Повышается осмотическое давление крови, которое приводит к появлению жажды. Употребление большого количества жидкости ведет к полиурии. Моча слабо окрашена, но имеет высокую относительную плотность из-за присутствия глюкозы.

Концентрация глюкозы в крови повышена, но клетки организма испытывают энергетический голод, так как без инсулина не происходит ее усвоение.

### Взаимное превращение веществ в организме



Организм активно мобилизует жиры из жировой ткани, которые, окисляясь в печени, дают энергию и промежуточный продукт окисления ацетил КоА. Активизируется процесс образования глюкозы из аминокислот (глюконеогенез). В этот процесс подключается ацетил КоА и цикл Кребса тормозится. Избыток ацетил КоА приводит к образованию большого количества его производных – ацетоуксусной, бета-оксимасляной кислот и ацетона. Ацетоуксусная кислота, бета-оксимасляная

кислота и ацетон являются кетоновыми телами. Их увеличение в крови приводит к кетонемии и кетонурии. Реакция крови сдвигается в кислую сторону с развитием ацидоза. У больного отмечается расстройство дыхания, расстройство сердечной деятельности, потеря сознания и развивается диабетическая кома. От больного исходит специфический запах ацетона.

Экстраинсулярные гипергликемии отмечаются при некоторых физиологических состояниях и патологических процессах, связанных с нарушением функции центральной нервной системы, эндокринных желез, печени.

Физиологическая бывает при приеме большого количества легко усвояемых углеводов и называется *алиментарной*.

Сильные эмоциональные возбуждения раздражают центральную нервную систему, происходит выделение адреналина в кровь, усиливается распад гликогена печени до глюкозы и уровень ее в крови повышается. Такая гипергликемия носит временный характер.

Патологические экстраинсулярные гипергликемии отмечаются при опухолях мозга и травмах, токсикозах, при гиперфункции желез внутренней секреции.

Гипогликемия отмечается при повышенном выделении инсулина бета-клетками островков Лангенгарса при опухолях поджелудочной железы или введении больших доз инсулина больным сахарным диабетом, при гипофункции желез внутренней секреции, при голоде и недоедании.

С целью выявления заболеваний при нарушении углеводного обмена в клиничко-биохимических лабораториях наиболее часто проводят определение количества глюкозы в крови и моче.

### 2.3. Методы исследования

Для скрининговой оценки содержания глюкозы в крови и моче в настоящее время широко используют тест-полоски. Это полоска ватмана или другого полимерного материала, на которую наклеен аналитический элемент – квадрат светло-желтого, светло-розового и светло-бежевого цвета. Элемент пропитывается активным раствором. Глюкоза под влиянием ферментов окисляется с выделением пероксида водорода, который реагирует с красителями, изменяя их окраску: желтый переходит в зеленый, розовый – в красный, бежевый – в синий. Возникшую окраску сравнивают с цветовой шкалой на футляре.

Виды тест-полосок: «глюко-уротест» – для определения глюкозы в моче;

диагностические полоски «ФАН» – для полуколичественного определения глюкозы в крови; индикаторные полоски «гемо-глюкотест» – для определения концентрации глюкозы в крови; «Глюкостикс» и многие другие.

#### Ход исследования

*На полоску наносят каплю крови или погружают на 1–2 секунды в мочу. Выдерживают на воздухе 1–3 минуты и сравнивают со шкалой на поверхности футляра.*

Для определения глюкозы в крови используют также индикаторные полоски и глюкометр.

Этот метод является наиболее быстрым и подходящим для учреждений первичной медико-санитарной помощи (ПМСП), в которых проводится небольшое количество анализов определения глюкозы в крови. Существуют различные модели глюкометров, которые определяют глюкозу в крови в пределах от 0,55 до 27,7 ммоль/л. Важно проверять упаковку тест-полосок, так как они специфичны для данного глюкометра и не являются взаимозаменяемыми.

#### Ход исследования

*Используется капиллярная кровь. После прокола пальца кровь наносится на тест-зону полоски, чтобы была покрыта вся поверхность. Работа ведется строго по инструкции.*



*Полоска помещается в глюкометр и считываются показатели, указанные на глюкометре.*

Глюкоза почти равномерно распределена между плазмой и эритроцитами, поэтому ее определение в цельной крови или ее жидкой части имеет в принципе одинаковую информативность. Во взятой в пробирку крови интенсивно идет гликолиз, в результате чего концентрация глюкозы быстро снижается. Кроме того, сама венепункция, вызывая неприятные эмоции, способствует выбросу адреналина и повышению уровня гликемии.

Во многих лечебно-профилактических учреждениях биохимические лаборатории используют различные методы исследования глюкозы в крови, но наибольшее распространение получила проба Йенсена, глюкозо-оксидазный и с ортотолуидином.

### **Определение глюкозы в крови и моче по цветной реакции с ортотолуидином**

Глюкоза при нагревании с ортотолуидином в растворе уксусной кислоты дает зеленое окрашивание, интенсивность которого пропорциональна концентрации глюкозы.

Реактивы: 1) ортотолуидиновый реактив, 2) 3% раствор трихлоруксусной кислоты, 3) стандартный раствор глюкозы 5000 мг/л.

#### **Ход определения**

*В пробирку наливают 0,9 мл 3% раствора трихлоруксусной кислоты и выдувают на ее стенку 0,1 мл крови. Встряхивают и центрифугируют. К 0,5 мл центрифугата добавляют 4,5 мл ортотолуидинового реактива. Пробирку со смесью помещают в кипящую водяную баню точно на 8 минут, вынимают, охлаждают под водопроводной водой до комнатной температуры. Измерения проводят на колориметре при длине волны 590–650 нм (оранжевый или красный светофильтр) в кювете с толщиной слоя 10 мм против контроля.*

*Контроль. 0,5 мл трихлоруксусной кислоты и 4,5 мл ортотолуидинового реактива.*

Стандартная проба ставится как опытная, но вместо сыворотки берут стандартный раствор глюкозы с концентрацией

5,5 ммоль (300 или 17,5 ммоль в случае высокого содержания сахара в крови).

Расчёт ведут по формуле:

$$C_{\text{оп}} = C_{\text{ст}} \times E_{\text{оп}} : E_{\text{ст}} \text{ ммоль глюкозы,}$$

где  $C_{\text{оп}}$  – концентрация глюкозы в пробе,  $C_{\text{ст}}$  – концентрация глюкозы в стандарте,  $E_{\text{оп}}$  – оптическая плотность пробы,  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность стандарта.

Определение глюкозы в моче производят так же, как и в крови, но при расчете учитывают степень разведения мочи.

### Вопросы для закрепления

1. Что представляют собой углеводы?
2. Какие углеводы относятся к моносахаридам?
3. К какой группе полисахаридов относится гепарин?
4. Какие функции в организме человека выполняют углеводы?
5. Под действием каких ферментов и где начинается расщепление углеводов?
6. В каком виде всасываются углеводы из кишечника?
7. Какое количество глюкозы синтезируется в организме человека за сутки?
8. В чём проявляется влияние инсулина на обмен углеводов?
9. Какой гормон активизирует процесс распада гликогена в печени до глюкозы?
10. Содержание глюкозы в крови составляет 12 ммоль/л. Появится ли в данном случае глюкоза в моче? Поясните ответ.
11. В каком случае наблюдается гипергликемия временного действия?
12. Назовите наиболее распространённые методы исследования глюкозы крови в биохимических лабораториях.
13. Глюкометры – приборы для измерения параметра глюкозы в крови различной модификации, но принцип работы един (окрашивание тест-полосок). Возможно ли использование тест-полосок одного глюкометра для другого? Поясните ответ.

---

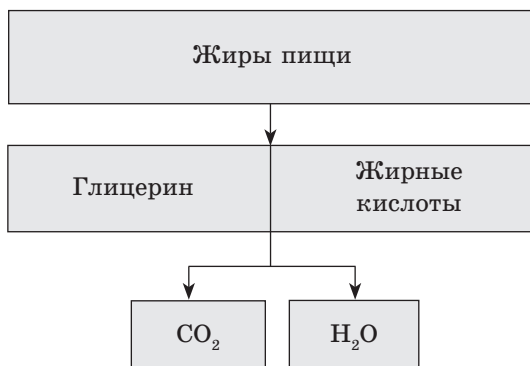
---

### 3. ОБМЕН ЖИРОВ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРОВ (ЛИПИДОВ) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

#### 3.1. Роль жиров в организме

В состав клеток и тканей организма человека вместе с белками и углеводами входят жиры и жироподобные вещества, объединенные в большую группу органических соединений, называемых *липидами*. Они разнообразны по химическому строению, нерастворимы в воде, но растворяются в органических растворителях (эфир, хлороформ, бензол).

#### Расщепление жиров



При окислении 1 г жира высвобождается 38,9 кДж энергии

Липиды широко распространены в природе и являются важной частью пищи. Здоровый человек в сутки потребляет до 100 г жиров. Липиды выполняют различные функции в организме:

1. Липиды входят в состав клеточных мембран – *структурная функция*.
2. Отдельные липиды являются гормонами (кортикостероиды), витаминами (D<sub>3</sub>, F).
3. Липиды влияют на активность ферментов.
4. Переносят метаболическое топливо – *транспортная функция*.



5. Участвуют в передаче нервных импульсов.
6. Являются растворителями для жирорастворимых витаминов А, D, Е, К, способствуя их всасыванию.
7. Обеспечивают терморегуляцию в организме.
8. Участвуют в химических процессах как «метаболическое топливо» – *энергетическая функция*.

В зависимости от химического состава липиды подразделяются на:

1. Простые липиды – это сложные эфиры жирных кислот и различных спиртов: триацилглицерины, диацилглицерины, моноацилглицерины, эфиры холестерина.

2. Сложные липиды – это сложные эфиры жирных кислот и спиртов, дополнительно содержащие и другие компоненты. Они делятся на классы: фосфолипиды, гликолипиды, сульфоллипиды, липопротеины.

3. Предшественники и производные липидов: жирные кислоты, глицерин, стероиды, жирорастворимые витамины, холестерин, простагландины, тромбоксаны.

Высшие жирные кислоты (ВЖК) могут быть насыщенными и ненасыщенными. К насыщенным относятся пальмитиновая и стеариновая кислоты, а к ненасыщенным – олеиновая, линолевая, линоленовая и арахидоновая кислоты. Незаменимыми называются ВЖК, которые не синтезируются в организме и поступают в него в основном в составе растительных масел.

Простагландины – обладают высокой биологической активностью, влияют на скорость кровотока в капиллярах, сократимость гладкой мускулатуры матки и желудочно-кишечного тракта, агрегацию тромбоцитов, участвуют в воспалительных реакциях организма.

Триацилглицерины входят в состав цитоплазмы клеток. В форме запасного или резервного жира содержатся в подкожной жировой клетчатке, сальниках, околопочечной жировой капсуле. Это наиболее концентрированный источник энергии. Кроме того, при окислении жиров образуется достаточно много воды, поэтому резервный жир – это запас воды в организме.

Фосфолипиды и сфинголипиды являются основными компонентами клеточных мембран, они обеспечивают проницаемость и активный перенос через мембрану в клетку веществ, нерастворимых в воде. Фосфолипидами богата печень, где они образуются из триацилглицеринов и азотистых оснований.

К группе стероидов относятся холестерин и его производные, содержащиеся в большом количестве в печени и нервной ткани. Холестерин синтезируется из ацетил КоА в печени. Он является структурным компонентом клеточных мембран. Из него образуются желчные кислоты, мужские и женские половые гормоны, гормоны коры надпочечников и витамин D при ультрафиолетовом облучении.

Транспортной формой липидов крови являются липопротеиды. Жиры циркулируют в крови только в связи с белком.

Переваривание липидов начинается в двенадцатиперстной кишке. Начальным этапом является эмульгирование жиров под воздействием жирных кислот и их солей, часть которых синтезируются в печени из холестерина, а другая часть образуется в кишечнике из выделившихся жирных кислот под влиянием ферментов микроорганизмов (микрофлора кишечника). Позже происходит гидролиз липидов. Вначале липазы неактивны, но в просвете кишечника они активируются трипсином и желчными кислотами. Панкреатическая липаза гидролизует жиры с образованием глицерина и жирных кислот. Фосфолипазы гидролизуют фосфолипиды до глицерина, жирных кислот, азотистых оснований и остатков фосфорной кислоты. Эфиры холестерина попадают в желудочно-кишечный тракт в составе животных жиров (свиной, бараний, говяжий), желтка яиц, сливочного масла, красной и черной икры рыб. Фермент холестерол-эстераза также выделяется поджелудочной железой в неактивном состоянии и активируются желчными кислотами. Этот фермент осуществляет гидролиз эфиров холестерина с образованием свободного холестерина и высших жирных кислот.

Продукты расщепления липидов всасываются в слизистой оболочке тонкого кишечника. Глицерин, азотистые основания и фосфорная кислота, как растворимые в воде, легко всасываются в клетки слизистой оболочки кишечника. Нерастворимые в воде жирные кислоты образуют комплекс с желчными кислотами, который может проникать через слизистую кишечника. Холестерин, жирорастворимые витамины и некоторые стероидные гормоны всасываются в кишечнике тоже с помощью желчных кислот.

Осуществив перенос, освободившиеся желчные кислоты с током крови по воротной вене возвращаются в печень и вновь выделяются с желчью в двенадцатиперстную кишку.

Из слизистой кишечника продукты расщепления пищевых жиров поступают в лимфу, а затем в кровь через грудной

лимфатический проток. Липиды практически нерастворимы в воде. Транспорт кровью осуществляется в виде частиц, состоящих из липидов и белка – это хиломикроны. Они переносятся, главным образом, в печень и жировую ткань. В жировой ткани происходит депонирование жира, который служит запасным источником энергии.

### 3.2. Роль печени в обмене липидов

Отмечается активное участие печени во всех основных процессах обмена липидов. В печени образуются желчные кислоты, необходимые для активации липазы и эмульгации жиров, также печень обеспечивает всасывание в кишечнике продуктов расщепления липидов. В печени перерабатываются нейтральные жиры. Нейтральные жиры доставляются в печень током крови из жировых депо, где используются на образование фосфолипидов при наличии азотистых оснований и активной фосфорной кислоты.

С целью диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, болезней печени и почек, а также нейро-эндокринных расстройств в клинической практике производят определение общих липидов и их фракций.

Виды нарушения обмена липидов:

- нарушение переваривания и всасывания;
- жировая дегенерация печени;
- гиперлипопроотеинемии: а) первичные, б) вторичные;
- гиперхолестеринемии;
- нарушение метаболизма кетоновых тел;
- авитаминозы (F, D);
- лизосомные болезни.

Нарушение переваривания и всасывания липидов может возникнуть при заболеваниях поджелудочной железы, при нарушении поступления желчи в кишечник. При заболеваниях поджелудочной железы наблюдается *стеаторея* (повышенное содержание липидов и высших жирных кислот в кале). При стеаторее кал бело-серого цвета с крупными или мелкими включениями жировых капель.

Изменение содержания липидов в крови называется *дислипидемией*. Увеличение содержания липидов – *гиперлипидемия*. Высокое содержание липидов отмечается при сахарном диабете, но особенно высокие цифры наблюдаются при липоидном нефрозе. При острых гепатитах отмечается постоянное повышение уровня липидов, особенно в период

развития желтухи. Гиперлипидемия отмечается и при микседеме.

Уменьшение содержания липидов сыворотки крови – *гиполипемия* выражена при циррозе печени и гипертиреозе, вследствие повышенного окисления жиров.

Развитие атеросклероза, приводящее к ишемической болезни сердца (ИБС) и другим тяжелым заболеваниям, всегда связано с *гиперхолестеринемией*. Холестерин – очень важный компонент липидной фракции. У здорового человека содержание общего холестерина в сыворотке крови от 3,11 до 6,48 ммоль/л. Увеличение холестерина отмечается при сахарном диабете, липоидном нефрозе, атеросклерозе, механической желтухе, гиподисфункции щитовидной железы. Высокие показатели холестерина отмечаются при наследственной гиперхолестеринемии вследствие нарушения процессов регуляции синтеза и распада холестерина.

Низкие показатели холестерина – гипохолестеринемия – отмечаются при остром панкреатите, острых инфекционных заболеваниях, туберкулезе легких, гипердисфункции щитовидной железы. При атеросклерозе в стенках пораженных сосудов отмечается избыточное отложение холестерина, что сужает их просвет и нарушается кровоснабжение органов и тканей.

### **3.3. Нарушение метаболизма кетоновых тел**

Местом синтеза кетоновых тел является только печень. В организме кетоновые тела образуются как дополнительные энергетические субстраты для внепеченочных тканей при дефиците глюкозы в клетках, что наблюдается при общем или углеводном голодании, при сахарном диабете. Материалом для синтеза является ацетил-КоА, который в большом количестве образуется в печени при интенсивном окислении высших жирных кислот, поступающих из жировых депо в результате липолиза. Количество производимых печенью кетоновых тел превышает возможность их окисления и кетоновые тела накапливаются в крови, выводятся из организма с мочой, а ацетон частично удаляется через легкие. Кетоновые тела: бета-оксимасляная кислота, ацетоуксусная кислота, ацетон – накопление их приводит к метаболическому ацидозу – сначала компенсаторному, а затем к сдвигу реакции крови.

Наряду с определением общих липидов в клинико-диагностических лабораториях определяют фосфолипиды, триацилглицерины (нейтральные жиры), холестерин свободный и

эфиро-связанный. Эти липиды входят в состав липопротеинов (ЛП). Нормальное содержание в сыворотке крови нейтральных жиров 0,56–2,15 ммоль/л. Увеличение их содержания наблюдается при ожирении, сахарном диабете, атеросклерозе, гипофункции щитовидной железы.

Нормальное содержание в сыворотке крови фосфолипидов составляет 2,8–4,4 ммоль/л. Повышенные нормальные показатели отмечаются при тех же заболеваниях, что и при увеличении нейтральных жиров.

Холестерин свободный – 1,04–2,33 ммоль/л.

Эфиры холестерина – 2,33–3,49 ммоль/л.

### 3.4. Методы исследования

#### Определение общего холестерина в сыворотке крови (метод Илька)

Холестерин в присутствии уксусного ангидрида и смеси уксусной и серной кислот дает зеленое окрашивание.

Реактивы: 1) смесь ледяной уксусной кислоты и уксусного ангидрида, 2) стандартный раствор холестерина – 1800 мг/л.

#### Ход определения

*К 2,1 мл кислотной смеси медленно, по стенке добавляют 0,1 мл сыворотки крови. Пробирку энергично встряхивают 10–12 раз и помещают в термостат на 20 минут при температуре 37°С.*

*Измерения проводят на колориметре против реактива при длине волны 625 нм, при красном светофильтре и кювете с толщиной слоя 5 мм. Расчет ведут по калибровочному графику.*

#### Построение калибровочной кривой и расчёт

*К 0,05–0,2 мл калибровочного раствора добавляют такое количество кислотной смеси, чтобы общий объём был 2,2 мл, перемешивают и выдерживают 20 минут при температуре 37°С, так же как и опытные пробы, а затем фотометрируют. Окраска калибровочной пробы, в которую взято 0,05 мл калибровочного раствора, соответствует содержанию холестерина в плазме 3 ммоль/л, пробы, в которую взято 0,1 мл, – содержанию 6 ммоль/л и т.д.*

Нормальные величины зависят от возраста и особенности жизни и колеблются от 5,5 до 7, 22 ммоль/л.

## Определение холестерина альфа-липопротеидов

Липопротеиды, обладающие электрофоретической подвижностью, осаждаются гепарином в присутствии солей марганца и удаляются центрифугированием, при этом хиломикроны всплывают, образуя плёнку. В растворе остаются только альфа-липопротеиды, в которых содержание холестерина определяют любым из описанных методов.

### Ход определения

*В пробирку, установленную в штативе на ледяной бане, помещают сначала 1 мл исследуемой плазмы или сыворотки, затем 0,04 мл препарата гепарина, перемешивают, далее добавляют 0,04 мл 1 М раствора марганца хлорида, снова тщательно перемешивают и оставляют стоять на льду ещё на 30 минут. Центрифугируют 30 минут, при скорости центрифуги 2500 оборотов в минуту, желательна при температуре 4–6°С. Пробирки надо вынимать осторожно, так как легко взмутить осадок. Нижний слой содержит осаждённые бета-липопротеиды, верхний – растворённые альфа-липопротеиды, над ним может плавать кольцо хиломикронов. Пипеткой с тонким носиком осторожно отсасывается слой, содержащий альфа-липопротеиды, который используют для определения холестерина из описанного выше метода.*

*Нормальные величины: 0,9–1,9 ммоль/л.*

## Определение в крови липопротеидов

Жиры переносятся в крови в виде сложных комплексов с белками – липопротеидами, более мелкие из которых обозначаются как альфа- и бета-липопротеиды, а крупные носят название *хиломикронов*. Последние образуются в стенке кишечника и переносят кроме жиров и жирорастворимые витамины.

### Ход определения

*Каплю сыворотки наносят на фильтровальную бумагу и высушивают. Бумагу помещают в чашку Петри и заливают р-ром судана, оставляя на 1 час. После чего вынимают и помещают в 50% р-р спирта. На листе, на месте нанесения сыворотки, образуется розовое пятно.*

### Вопросы для закрепления

1. Дайте определение липидам.
2. Назовите основные функции липидов.
3. Укажите свойства насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. Приведите примеры.
4. Укажите значение фосфолипидов для организма.
5. Из какого вещества синтезируется холестерин и каково его значение?
6. В каком отделе пищеварительного тракта начинается переваривание липидов?
7. Расскажите о процессе переваривания и всасывания липидов в организме.
8. Дайте характеристику липопротеидов. Каково их значение?
9. Где образуются желчные кислоты и какова их функция в переваривании жиров?
10. Назовите причины нарушения обмена липидов.
11. Как проявляются нарушения обмена холестерина и к каким заболеваниям это нарушение может привести?

---

---

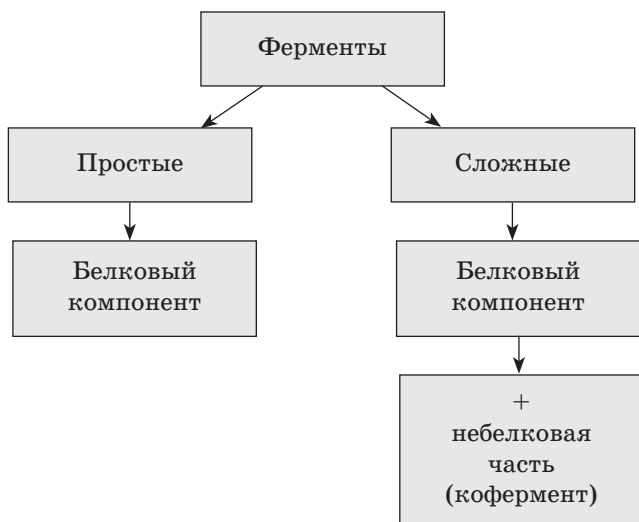
## 4. ФЕРМЕНТЫ. ГОРМОНЫ. ВИТАМИНЫ. ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ

### 4.1. Ферменты

*Ферментами* называются вещества белковой природы, которые способны каталитически ускорять протекание биохимических реакций в живом организме. Они синтезируются клетками организма. Будучи веществами белковой природы, ферменты обладают свойствами белков, отличающих их от катализаторов неорганической природы.

Свойства ферментов:

1. Все ферменты белковой природы. Они могут быть простыми белками – *протеинами* и сложными – *протеидами*. *Коферментами* сложных ферментов являются витамины или металлы.



2. Все ферменты – термоллабильны. Термоллабильность ферментов выражается в их чувствительности к действию температуры.



3. Ферменты специфичны: различают абсолютную, относительную и стереохимическую специфичность.

4. Ферменты для своего действия требуют строго определенного значения рН среды для создания активного центра фермента.

5. Ферменты обладают высокой каталитической активностью.

Активность ферментов зависит от присутствия в среде активаторов и ингибиторов. Вещества, усиливающие действия ферментов, называются *активаторами*. Вещества, тормозящие действие ферментов, называются *ингибиторами*.

Международным биохимическим конгрессом была принята систематическая классификация и номенклатура ферментов. Все ферменты подразделяются на 6 основных классов по типу осуществляемых ими важнейших биохимических реакций.

1. *Оксидоредуктазы* – катализируют окислительно-восстановительные реакции.

2. *Трансферазы* – катализируют реакции переноса химических групп.

3. *Гидролазы* – катализируют гидролиз сложных соединений.

4. *Лиазы* – катализируют все реакции негидролитического расщепления веществ и образование новых связей без участия энергии, выделяющейся при гидролизе АТФ.

5. *Изомеразы* – катализируют реакции взаимопревращения изомеров.

6. *Лигазы* – катализируют соединение более простых молекул в сложные, сопряженное с распадом АТФ.

Каждый класс ферментов подразделяется на подклассы (группы) и подподклассы (подгруппы). В подгруппе ферменты располагаются по порядковому номеру. Также фермент имеет шифр. Название фермента складывается из названия вещества взаимодействия – субстрата, участника реакции, типа реакции и окончания «аза». Для простоты и краткости пользуются рабочим названием фермента с добавлением окончания «аза». Из-за низкой активности ферментов в биологических жидкостях, а также из-за трудности дифференциации различных ферментов химическим способом на практике не применяется прямое химическое определение активности ферментов, а измеряется каталитический эффект ферментов путем измерения скорости реакции, при которой субстрат под действием фермента превращается в

продукт реакции. Данная величина прямо пропорциональна количеству фермента. Происходит насыщение фермента субстратом и скорость реакции зависит только от активности фермента. Исследование эффекта насыщения привело к созданию общей теории зависимости между ферментативной реакцией и концентрацией субстрата, которое носит название константы Михаэлиса–Ментена. Константа Михаэлиса–Ментена характеризует степень сродства фермента с субстратом и представляет собой концентрацию субстрата, при которой скорость становится максимальной. Единицей активности фермента является «катал» (кат) и его производные мкат, мккат и другие. *Катал* – количество фермента, которое катализирует превращение 1 моля субстрата за 1 секунду (моль/с).

В клинической лабораторной диагностике чаще всего используется определение оксидоредуктаз, трансфераз и гидролаз. Лиазы и изомеразы определяются значительно реже, лигазы совсем не находят применения. Наиболее широко изучаются ферменты крови. Это объясняется доступностью взятия материала и возможностью многократных исследований. В крови содержатся:

- собственные ферменты (факторы свертывания крови),
- ферменты форменных элементов крови (тромбокиназа тромбоцитов),
- ферменты, попавшие в кровь из органов пищеварения (амилаза, пепсин),
- ферменты из клеток органов и тканей.

Принято считать, что каждый фермент ускоряет одну какую-либо реакцию, однако одна и та же реакция может катализироваться несколькими разными белками, отличающимися по физико-химическим свойствам. Полипептидные цепи разных форм фермента, вырабатываемых в одном и том же организме, могут различаться по аминокислотной последовательности. Это свидетельствует о том, что они закодированы разными генами. Такие формы называются *изоферментами*. Они могут различаться по органам, где синтезируются, по частям клетки, а также по генной структуре индивидуума (генетический маркер).

В некоторых случаях в биологических жидкостях присутствуют *проферменты* – неактивные формы ферментов. Они активизируются при влиянии протеолитических ферментов, которые отщепляют от проферментов часть полипептидной цепи. Так активируются ферменты, участвующие в механиз-

ме свертывающей системы крови, а также трипсин. В основе многих болезней лежат нарушения нормального функционирования ферментативных процессов. Изменения в специфических ферментативных реакциях можно понимать как причину или следствие различных патологических состояний. При этом возможно увеличение и уменьшение активности ферментов. Вследствие нарушения проницаемости клеточных мембран, распада клеток и гиперфункции органов, в крови появляются ферменты, отсутствующие у здорового человека.

Большинство заболеваний можно характеризовать как нарушение содержания того или иного фермента в организме. Установлено, что первопричиной ряда заболеваний являются нарушения синтеза ферментов. К ним относятся наследственные заболевания, такие как фенилпировиноградная олигофрения, различные виды гемолитических анемий, гликогенозы, разнообразные формы нарушения свёртывания крови. При заболеваниях печени в целях диагностики производят определение аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы и вычисляют соотношения между ними. Вирусные гепатиты сопровождаются активацией этих ферментов, а при механических гепатитах, без клеточного распада, активность этих ферментов в пределах нормы.

Для диагностики заболеваний сердечной мышцы (инфаркт миокарда, стенокардия) определяются следующие ферменты: лактатдегидрогеназа (ЛДГ), АсАТ, АлАТ, креатинфосфокиназа. Активность этих ферментов резко возрастает при инфаркте миокарда, при стенокардии не повышается активность АсАТ, АлАТ и креатинкиназы.

При заболеваниях поджелудочной железы с клеточным распадом резко возрастает активность альфа-амилазы.

При рахите повышается активность щелочной фосфатазы.

В практике работы биохимических лабораторий при проведении ферментативных анализов необходимо учитывать специфику исследуемых веществ. Необходимо строго соблюдать условия реакции: температуру, рН среды, концентрацию субстрата и др. Особые требования предъявляются к исследуемому материалу. Кровь берется натощак, быстро отделяется сыворотка от сгустка; ни в коем случае нельзя работать с гемолизированной сывороткой, поэтому необходимо выбирать соответствующий антикоагулянт.

Среди перспективных методов определения активности ферментов используются тесты с сухими реактивами (диагностические полоски), когда все ингредиенты нанесены на бумагу, остается только нанести на нее исследуемую жидкость и через некоторое время бумага приобретает характерное окрашивание. Чем быстрее развивается окраска, тем выше активность фермента. В настоящее время тесты на бумаге для определения активности холинэстераз приняты в качестве унифицированных. Диагностические полоски могут быть использованы для экстренной диагностики у постели больного.

### Качественное определение ферментов

#### Определение активности альфа-амилазы (метод Каравея)

Крахмал в присутствии ионов йода окрашивается в синевато-фиолетовый цвет. Альфа-амилаза расщепляет крахмал с образованием продуктов, не дающих цветной реакции с йодом. Об активности фермента судят по уменьшению концентрации крахмала.

Реактивы: 1) субстратно-буферный раствор с фосфатом натрия, бензойной кислотой и крахмалом, 2) 0,1 нормальный основной раствор йода, 3) 0,01 нормальный рабочий раствор йода.

#### Ход определения

*В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 мл субстратно-буферного раствора, нагревают 5 минут при температуре 37°C, добавляют 0,1 мл сыворотки или профильтрованной мочи. Инкубируют 7,5 мин при температуре 37°C. Сразу же добавляют 5 мл рабочего раствора йода и доводят объем дистиллированной водой до 50 мл. Тотчас измеряют экстинкцию на ФЭКе в кювете с толщиной слоя 10 мм при красном светофильтре против воды. Контрольную пробу ставят как опытную, но сыворотку или мочу добавляют вместе с рабочим раствором йода после инкубации. Измерение проводят как в опытной пробе.*

Активность альфа-амилазы выражают в граммах крахмала, расщепленного 1 л сыворотки (или мочи) за 1 час инкубации при температуре 37°C.

В норме активность альфа-амилазы в сыворотке крови 12–32 г/(ч.л), в моче 20–160 г/(ч.л).

## Определение активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови (метод Райтмана и Френкеля)

*АлАТ катализирует обратимую реакцию переноса аминокетильной группы с образованием пировиноградной и глутаминовой кислот. Пировиноградная кислота взаимодействует с 2,4-динитрофенилгидразином в щелочной среде с образованием динитрофенилгидразина пировиноградной кислоты красного цвета. Интенсивность окраски пропорциональна количеству образовавшейся пировиноградной кислоты. По ее количеству судят об активности АлАТ. Экстинкцию измеряют на ФЭКе с зеленым светофильтром в кювете с толщиной слоя 10 мм против контроля. Расчет активности фермента производят по калибровочному графику, показывающему зависимость оптической плотности от содержания пировиноградной кислоты. В норме активность АлАТ составляет 0,1–0,68 мкмоль пировиноградной кислоты на 1 л сыворотки за 1 ч инкубации при температуре 37°C.*

### Вопросы для закрепления

1. Дайте определение понятию «ферменты».
2. Какова химическая природа ферментов?
3. Назовите важнейшие свойства ферментов.
4. Дайте определение понятиям «активаторы» и «ингибиторы» ферментов.
5. На какие классы по типу биохимических реакций делятся ферменты?
6. Дайте определение понятию «изоферменты».
7. Что собой представляют проферменты?
8. Какое значение имеет определение ферментов у человека?
9. Охарактеризуйте особенности забора крови для определения ферментов.
10. Какова причина ферментопатий?
11. Приведите примеры наследственных заболеваний, развившихся в результате нарушения синтеза ферментов.

### 4.2. Витамины

*Витаминами* называют незаменимые низкомолекулярные органические вещества, поступающие в организм с пищей извне и участвующие в регуляции биохимических процессов на

уровне ферментов. Витамины входят в состав ферментов и являются коферментами или кофакторами.

Витамины подразделяются на:

1. *Жирорастворимые* – А, D, E, K, F.

2. *Водорастворимые* – витамины группы B, PP, H, C, фолиевая кислота, пантотеновая кислота (B3), P (рутин).

**Витамин А** (антиксерофтальмический) – ретинол, потребность его в организме составляет 2,5–3,0 мг в сутки. Основными источниками витамина А в пище являются печень, яичный желток и рыбий жир, а провитамина А – морковь, томаты. Он участвует в процессах регуляции зрения, в окислительно-восстановительных реакциях, изменяет проницаемость мембран клеток и тканей, усиливает биосинтез гликопротеинов мембран клеток. Гипо- и авитаминоз А выражается отсутствием сумеречного зрения, сухостью кожных покровов и слизистых оболочек.

**Витамин D** (антирахитический), суточная потребность в организме человека составляет 0,025 мг. Из витамина D синтезируется гормон кальцитриол, регулирующий обмен кальция и фосфора в организме.

Источники: витамин D образуется в коже под влиянием ультрафиолетовых лучей из холестерина и поступает в организм с рыбьим жиром, сливочным маслом, желтком яиц, печенью. Гипо- и авитаминоз D в детском возрасте приводит к развитию рахита. У взрослых при недостаточном поступлении в организм витамина D, происходит снижение ионов кальция в крови, что приводит к повышению нервно-мышечной возбудимости, нарушению свертываемости крови, остеомаляции.

**Витамин E** (антистерильный), потребность которого в организме составляет 5 мг. Источники: растительные масла, семена злаков, капуста, мясо, сливочное масло, яичный желток. Он влияет на репродуктивную функцию и обмен селена в организме, предотвращает гемолиз эритроцитов. Гипо- и авитаминоз E у детей приводит к развитию гемолитической желтухи, у взрослых развиваются дегенеративные процессы в репродуктивных органах, выкидыши у беременных, жировая дистрофия печени и дистрофические изменения в скелетных мышцах.

**Витамин K** (антигеморрагический), суточная потребность 1 мг. Источники: капуста, ягоды рябины, арахисовое масло, тыква, томаты, печень свиньи. Он участвует в свертывании крови, необходим для четырех факторов свертывания крови.

Гипо- и авитаминоз К приводит к нарушению свертывания крови, к капиллярным и паренхиматозным кровотечениям.

**Витамин F** по химической природе является эссенциальными и полиненасыщенными ВЖК. Суточная потребность 10–30 г. Гипо- и авитаминоз F приводит к снижению биосинтеза эфиров холестерина, простагландинов, лейкотриенов, тромбоксанов, что приводит к развитию сухости кожи и слизистых, шелушению кожи, выпадению волос, ломкости ногтей. Витамин F участвует в регуляции обмена липидов.

**Витамин В<sub>1</sub>** (антиневритный) – тиамин, суточная потребность 1,2–2,2 мг. Источники: мука темного помола, отруби, неочищенный рис, дрожжи и печень. При гипо- и авитаминозе В<sub>1</sub> нарушается обмен углеводов. Основные признаки гипо- и авитаминоза В<sub>1</sub>: поражения нервной системы, ведущие в запущенных случаях к атрофии мышц, потере памяти, нарушениям сердечно-сосудистой системы.

**Витамин В<sub>2</sub>** (витамин роста) – рибофлавин, суточная потребность 2,7 мг. Источники: молочные продукты, яйца, мясо, печень, хлеб грубого помола. Гипо- и авитаминоз В<sub>2</sub> приводит к нарушениям микросомального окисления, обмена ВЖК нуклеиновых кислот и биогенных аминов.

**Витамин В<sub>6</sub>** (антидерматитный), суточная потребность 2,0–3,0 мг. Источники: зерновые, бобовые, мясо, рыба. Гипо- и авитаминоз витамина В<sub>6</sub> приводит к нарушению биосинтеза заменимых аминокислот, белка, гемма, нарушению распада гликогена.

**Витамин В<sub>12</sub>** (антианемический) – кобаламин, суточная потребность человека в витамине В<sub>12</sub> составляет 2–3 мкг. Источники: говяжья печень, мясо, рыба, молоко, яйца. Гипо- и авитаминоз В<sub>12</sub> вызывает нарушение процессов кроветворения, в результате развиваются мегалобластическая и пернициозная анемии. Нарушение катаболизма нечетных ВЖК приводит к накоплению их в мозге, что становится причиной нарушения психики.

**Витамин PP** (антипеллагрический) – никотинамид, суточная потребность человека составляет 18 мг. Источники: рис, хлеб, морковь, мясо, печень, картофель. Он участвует в окислении и биосинтезе ВЖК, стероидных гормонов, кетоновых тел, входит в состав ферментов. Гипо- и авитаминоз PP характеризуется дерматитом, деменцией и диареей.

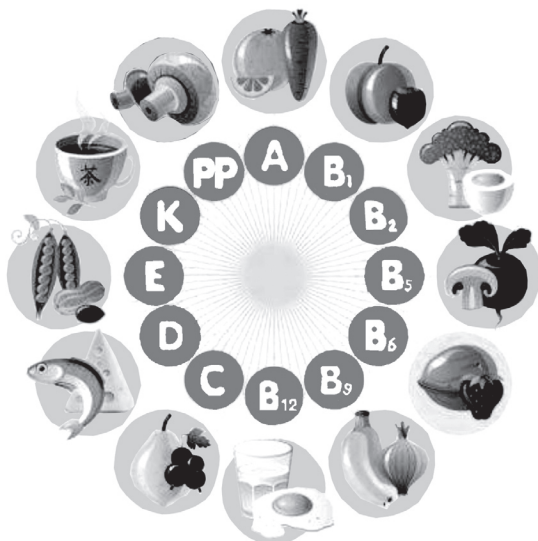
**Витамин H** (антисеборейный) – биотин, суточная потребность в организме человека оставляет 0,25 мг. Источники: желтки яиц, дрожжи, печень, молоко, картофель, лук, тома-

ты. Витамин Н может синтезироваться в кишечнике человека микробами. Гипо- и авитаминоз витамина Н приводит к нарушению биосинтеза нуклеиновых кислот, мочевины, ВЖК, а также к нарушению глюконеогенеза.

**Витамин С** (антицинготный, антискорбутный) – аскорбиновая кислота, суточная потребность человека составляет 100 мг. Источники: шиповник, черная смородина, болгарский перец, картофель, citrusовые, ягоды рябины, хрен, укроп, капуста. Гипо- и авитаминоз витамина С приводит к нарушению биосинтеза коллагена, стероидных гормонов, адреналина, карнитина, гемоглобина и серотонина.

**Фолиевая кислота** (фолацин) – суточная потребность в организме человека составляет 200 мкг. Источники: петрушка, укроп, листья салата, мясо, печень. Гипо- и авитаминоз фолиевой кислоты приводит к нарушению синтеза серина, метионина, белков и нуклеиновых кислот, что сопровождается задержкой роста, анемией, лейкопенией.

**Витамин Р** (рутин), содержится в гречихе, бобовых, листьях руты. При отсутствии витамина Р в пище у человека повышается проницаемость капилляров, что сопровождается внезапными кровоизлияниями, болью в конечностях, общей слабостью и быстрой утомляемостью. Установлено, что действие витаминов Р и С взаимосвязано: каждый из них в присутствии другого обладает более высоким терапевтическим эффектом.





**Пантотеновая кислота (витамин В<sub>3</sub>)** – содержится во всех животных и растительных объектах. Это вязкая, светло-желтая, маслянистая жидкость, хорошо растворимая в воде и уксусной кислоте. Она малоустойчивая, легко окисляется и гидролизуется. Суточная потребность витамина В<sub>3</sub> 5–10 мг. Источники: дрожжи, печень, куриные яйца, мясные и молочные продукты. При недостатке этого витамина в организме наступает поражение кожных покровов и слизистых оболочек внутренних органов, дегенеративные изменения, особенно страдают железы внутренней секреции. Наиболее ярким симптомом авитаминоза В<sub>3</sub> у человека является онемение пальцев ног с покалываниями, которое распространяется до голени.

### Вопросы для закрепления

1. Дайте определение понятию «витамины».
2. Какова классификация витаминов?
3. Перечислите источники витаминов.
4. Роль витамина А в процессе функционирования зрительного анализатора.
5. Каково участие витамина D в регуляции обмена веществ в организме?
6. Какое заболевание развивается в результате недостаточности витамина E?
7. Дайте характеристику жирорастворимым витаминам.
8. Какой витамин участвует в процессе свёртывания крови?
9. Недостаток какого витамина приводит к развитию синдрома 3-х «Д»: дерматит, деменция, диарея?

### 4.3. Гормоны

*Гормоны* – это биологически активные вещества желез внутренней секреции, которые выделяются непосредственно в кровь или лимфу. Они регулируют метаболизм в организме, являясь посредниками в переносе сигналов центральной нервной системы в клетки тканей. Их отличает высокая скорость образования, распада и специфичность действия.

Железы эндокринной системы делятся на *центральные* – гипоталамус, гипофиз, эпифиз и *периферические* – щитовидная железа, паращитовидные железы, поджелудочная железа, надпочечники, тимус, половые железы, плацента. Поджелудочная

железа и половые железы – это железы смешанной секреции, так как выполняют эндо- и экзокринные функции в организме.

### Роль гормонов в организме

1. Поддержание гомеостаза в организме.
2. Адаптация организма к изменяющимся условиям внешней среды.
3. Поддержание циклических изменений в организме (день – ночь, пол, возраст).
4. Поддержание морфологических и функциональных изменений в онтогенезе.

По химическому строению гормоны делятся на 2 группы.

1 группа – гормоны: белки, пептиды, производные аминокислот.

2 группа – стероид.

*Гормоны-белки:* инсулин, пролактин, соматотропин, фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ) и другие.

*Гормоны-пептиды:* глюкагон, адренокортикотропный гормон (АКТГ), вазопрессин и другие.

Гормоны – *производные аминокислот:* адреналин, тироксин, трийодтиронин.

*Гормоны-стероиды:* тестостерон, кортизол, кортизон, прогестерон и другие.

По биохимическим действиям различают 5 видов гормонов:

1. Гормоны, регулирующие обмен белков, углеводов, липидов: инсулин, глюкагон, адреналин, кортизол.
2. Гормоны, регулирующие водно-солевой обмен в организме: альдостерон, вазопрессин.
3. Гормоны, регулирующие обмен ионов кальция и фосфатов: паратгормон, кальцитонин, кальцитриол.
4. Гормоны, регулирующие репродуктивную функцию в организме: половые гормоны (мужские и женские).
5. Гормоны, регулирующие функции эндокринных желез: АКТГ, тиреотропный, ЛГ, ФСГ, соматотропный, меланотропный.

Гормоны действуют на клетки тканей избирательно. Если клетки имеют белок-рецептор, который взаимодействует с данным гормоном – это клетки-мишени. В зависимости от расположения белка-рецептора (на поверхности или внутри клетки) различают 2 механизма передачи гормонального сигнала в клетки-мишени.

1 механизм – мембранно-внутриклеточный. Гормоны никогда не проникают в цитозоль клетки.

2 механизм – цитозольный. Гормоны проникают через цитоплазматическую мембрану в цитозоль клетки и взаимодействуют с белками-рецепторами в цитоплазме и образованный комплекс проникает в ядро клетки.

### **Биологическое действие инсулина**

**Инсулин** синтезируется бета-клетками островков Лангенгарса поджелудочной железы. Влияние инсулина на углеводный обмен: ускоряет транспорт глюкозы в клетки, активирует гликолиз, активирует процесс биосинтеза гликогена, ингибирует распад гликогена.

Влияние инсулина на обмен липидов: активирует биосинтез и ингибирует распад высших жирных кислот, снижает биосинтез кетоновых тел – анаболическое влияние.

Влияние на обмен белков: повышает проницаемость аминокислот в клетки тканей, усиливает биосинтез белков в клетках тканей, снижает концентрацию аминокислот в крови.

Влияние на минеральный обмен: активирует работу натрий-калиевого насоса, что приводит к возрастанию проницаемости ионов калия через цитоплазматическую мембрану в клетки.

**Глюкагон** синтезируется альфа-клетками островков Лангенгарса поджелудочной железы в ответ на снижение концентрации глюкозы в крови. Механизм действия глюкагона – мембранно-внутриклеточный. Под влиянием глюкагона повышается содержание глюкозы в крови, он также оказывает катаболическое влияние на обмен липидов. Катаболизм глюкагона происходит в гепатоцитах печени.

### **Биологическое действие адреналина**

**Адреналин** – гормон мозгового вещества надпочечников. Его секреция резко повышается при состояниях физического или нервного стрессов. Клетками-мишенями являются клетки скелетных мышц, печени, сердца, сердечно-сосудистой системы и жировой ткани. Функционирует адреналин 1 минуту, механизм действия – мембранно-внутриклеточный. При влиянии на углеводный обмен он усиливает распад глюкозы в процессе гликолиза, усиливает гликогенолиз в печени, усиливает распад и ингибирует биосинтез гликогена.

При действии на обмен липидов адреналин усиливает распад триацилглицерина, усиливает распад ВЖК, повышает содержание ВЖК, холестерина и фосфоглицеридов в крови.

Адреналин подавляет секрецию инсулина, повышает секрецию глюкагона.

### **Биологическое действие тиреоидных гормонов**

Гормоны тироксин ( $T_4$ ) и трийодтиронин ( $T_3$ ) – синтезируются в щитовидной железе под влиянием тиреотропина, выделяемого гипофизом. Клетки-мишени: гепатоциты печени, клетки жировой ткани, мышечной ткани, в том числе миокарда. Механизм действия: 10% – мембранно-внутриклеточный, 90% – цитозольный.

Эти гормоны индуцируют биосинтез более 100 окислительно-восстановительных ферментов, активируя тканевое дыхание, протеолиз белков в тканях, работу натрий-калиевого насоса; усиливают теплопродукцию; оказывают пролиферативный эффект; влияют на дифференцировку тканей.  $T_4$  функционирует 15 дней,  $T_3$  функционирует 3 дня. В крови основная часть йодтиронинов связана с белками. Биосинтез белков, связывающих эти гормоны, активируются половыми гормонами. При климаксе или после удаления яичников снижается выделение половых гормонов и в крови увеличивается количество свободных форм йодтиронинов, что приводит к агрессивным состояниям.

### **Стероидные гормоны (глюкокортикоиды)**

К стероидным гормонам относятся гормоны коркового слоя надпочечников и половые гормоны.

**Биологическое действие глюкокортикоидов.** Механизм действия – цитозольный. Клетки-мишени: печень, мышцы, лимфоидная ткань, соединительная и жировая ткани, клетки ЦНС. Эндогенный ритм человека, эмоциональные и физические стрессы воздействуют на ЦНС, которая в ответ посылает нервные импульсы в гипоталамус, вырабатывающий кортиколиберин. Он воздействует на гипофиз, который выделяет АКТГ. Под его влиянием в корковом слое надпочечников вырабатываются глюкокортикоиды и минералокортикоиды. В сутки синтезируется 10–20 мг глюкокортикоидов. Содержание глюкокортикоидов в крови днем – 0,28–0,41 мкмоль/л, ночью 0,55–2,2 мкмоль/л.

Глюкокортикоиды на печень оказывают анаболическое влияние, на скелетные мышцы, жировую, соединительную, лимфоидную ткани – катаболическое действие.

Влияние глюкокортикоидов на обмен белков: усиливают протеолиз белков и выход аминокислот в кровь; обладают противовоспалительным свойством, антиаллергическим действием; снижают иммунитет в организме человека.

Влияние на обмен липидов: в мышечной, лимфатической, соединительной и жировой тканях глюкокортикоиды проявляют катаболическое действие и вызывают снижение проницаемости клеточных мембран и, соответственно, торможение поглощения глюкозы и аминокислот, а в печени оказывают противоположное действие.

### Гормоны половых желез

Половые железы являются железами смешанной секреции: в кровь выделяются половые гормоны, а наружу – половые клетки-гаметы. Половые гормоны – это стероидные гормоны. У мужчин гипофиз выделяет 2 гормона: *фоллитропин* – ФСГ и *лютропин* – ЛГ. ФСГ вызывает сперматогенез и созревание сперматозоидов. ЛГ вызывает биосинтез мужских половых гормонов – андрогенов, в основном тестостерона. Гормональной активностью обладают свободные андрогены.

Женские половые гормоны с 1 по 14 день овариального цикла называются *эстрогенами* и синтезируются в фолликулах яичников, а гормоны с 15 по 28 день овариального цикла (при беременности до начала родов), называются *прогестинами* (*прогестерон*) и синтезируются в желтом теле, образующемся на месте лопнувшего созревшего фолликула яичника, из которого вышла яйцеклетка. Гипофиз выделяет 2 гормона: ФСГ и ЛГ. Под влиянием ФСГ с 1-го дня овариального цикла в фолликуле яичника начинает созревать яйцеклетка, находящаяся в граафовом пузырьке. При этом созревающий фолликул выделяет в кровь гормоны – эстрогены, в основном, эстрадиол. При определенной концентрации ФСГ, ЛГ и эстрогенов в результате их совместного гуморального воздействия (на 12–14 день менструального цикла), происходит разрыв созревшего фолликула и выход зрелой яйцеклетки в брюшную полость (овуляция). Образуется желтое тело, которое под влиянием ЛГ разрастается и выделяет гормон прогестерон. При наступлении беременности этот гормон продуцирует. Во время беременности плацента секретует в

кровь следующие гормоны: прогестерон, хоригонадотропин, плацентарный лактоген, тиреотропин. Данные гормоны изменяют метаболизм в организме женщины, создавая условия для роста и развития плода, сохранения беременности, подготовки молочных желез к лактации.

### Вопросы для закрепления

1. Дайте определение понятию «гормоны».
2. Какую функцию выполняют гормоны в организме человека?
3. Назовите эндокринные железы, обладающие смешанной секрецией.
4. Какова химическая природа гормонов?
5. Перечислите биохимические действия гормонов.
6. Расскажите о влиянии инсулина на углеводный и минеральный обмен.
7. Где происходит катаболизм глюкагона?
8. Объясните влияние адреналина на процессы обмена.
9. Из чего синтезируются гормоны щитовидной железы?
10. Какие гормоны продуцирует корковый слой надпочечников?
11. Расскажите, как влияют глюкокортикоиды на организм человека.
12. Расскажите о биологическом влиянии половых гормонов на организм человека.
13. Где происходит синтез женских половых гормонов?

### 4.4. Обмен веществ и энергии

Организм человека – это открытая термодинамическая система, обменивающаяся с окружающей средой веществами и энергией. Эти два признака являются проявлениями жизнедеятельности организма человека. Жизнь на Земле протекает за счет энергии Солнца: солнечная энергия (электрохимическая энергия фотона) улавливается хлорофиллом зеленых растений и переводится в энергию химических связей органических соединений: белков, липидов, углеводов. Клетки организма человека не могут использовать энергию фотона, а получают его из внешней среды, в процессе питания. Из них идет построение специфических структур организма.

**Метаболизм.** Метаболизмом называют совокупность химических процессов, которым подвергаются различные сое-

динения с момента их поступления в организм до момента их выделения из организма. Таким образом, в метаболизме различают анаболизм и катаболизм и по гребню этих процессов, связанных с энергией, протекает процесс жизнедеятельности.

**В метаболизме выделяют несколько стадий:**

- поступление веществ извне – питание;
- переваривание – происходит в желудочно-кишечном тракте, в ходе которого чужеродные полимеры лишаются своей видовой и тканевой специфичности, распадаясь до мономеров;
- всасывание – прохождение мономеров через слизистую желудочно-кишечного тракта во внутреннюю среду организма;
- промежуточный (межуточный) обмен, обусловленный и регулируемый гормонально внутриклеточными процессами синтеза и распада;
- выделение конечных продуктов обмена.

#### **4.5. Водно-минеральный обмен**

Водно-минеральный обмен – совокупность процессов поступления, всасывания, распределения, выделения воды и солей в организме. Водно-солевой обмен обеспечивает постоянство ионного состава, кислотно-щелочного равновесия, объема жидкостей внутренней среды организма, осмотического давления.

**Функции воды в организме:**

- Является внутренней средой организма.
- Участвует в структурной организации мембран.
- Транспортная функция.
- Участвует в биохимических реакциях.
- Поддерживает гомеостаз в организме.
- Растворяет и осуществляет диссоциацию веществ.
- Выводит через почки из организма конечные продукты метаболизма.

Содержание воды изменяется с возрастом: у новорожденных – 80%, среднего возраста – 65%, пожилого – 57%. Наибольшее содержание воды найдено в сером веществе головного мозга, а наименьшее – в костной ткани.

Являясь универсальным растворителем для многих соединений и транспортируя их, вода обеспечивает связь всех органов и систем. Ее количество составляет 60–65% от мас-

сы тела. В биологических жидкостях вода содержится от 83 до 99,5%: в желудочном соке – 99,5%, в слюне – 99,4%, в плазме крови – 92%, в лимфе – 90%, в моче – 83%. Вода, попадающая в организм с пищей, называется *экзогенной*, а образовавшаяся при распаде в организме белков, жиров и углеводов – *эндогенной*.

Суточное потребление человеком воды составляет 2,0–2,5 л. За сутки почками выводится 1–1,5 л жидкости, кишечником – 0,2–0,3 л, с потом и испарением через кожу – 0,2–0,5 л, выдыхаемым воздухом – до 0,5 л. Внутриклеточная жидкость составляет 70% от общего количества воды в организме и 30% приходится на внеклеточную жидкость. Часть внеклеточной жидкости находится в сосудистом русле, большая часть – вне сосудистого русла.

Распределение воды между клеткой и внеклеточным пространством определяется осмолярностью. *Осмолярность* – концентрация катионов и анионов, выраженная в ммоль/л (мОсм/л) и характеризующая осмотический эффект разности концентрации электролита внутри- и внеклеточной жидкости. В норме осмолярность равна 285 мОсм/л. Соотношение объемов воды в плазме и тканях определяется концентрацией белков в плазме.

Различают следующие нарушения водного обмена:

**Дегидратация** (уменьшение объема жидкости в организме), которая может быть гипертонической, изотонической и гипотонической.

**Гипергидратация** (увеличение объема жидкости в организме). Она подразделяется на гипертоническую, изотоническую и гипотоническую.

Объем воды в организме тесно связан с обменом натрия, поэтому в водно-минеральном обмене выделяют:

1. Водно-электролитный обмен – обмен воды и ионов натрия.

2. Минеральный обмен – обмен кальция, фосфора и других минеральных веществ.

Регуляция водно-солевого обмена является одним из наиболее сложных механизмов гомеостаза. Регуляция всасывания воды в почечных канальцах осуществляется гормоном *вазопрессином*, который вырабатывается гипоталамусом. Данный обмен регулируется специальными системами, одна из которых реагирует на изменение объема жидкостей, другая на их осмотическую концентрацию. Осморорецепторы гипоталамуса регулируют синтез гормона вазопрессина, который



усиливает реабсорбцию воды из первичной мочи, что приводит к задержке воды в организме и снижению диуреза. Патология наблюдается при отсутствии или снижении биосинтеза, усиленном катаболизме. При избыточном поступлении воды в организм образование и выделение вазопрессина резко снижается, при этом уменьшается обратное всасывание воды в почках и увеличивается выделение ее из организма.

Другие рецепторы при повышении объема жидкости и снижении концентрации ионов натрия через гипоталамус и гипофиз активируют секрецию альдостерона в корковом слое надпочечников. Альдостерон способствует активации натриевого насоса и задержке в организме ионов натрия и ионов хлора.

Минеральные вещества в организме – это хлористые, фосфорнокислые и углекислые соли натрия, кальция, калия, магния. Соли присутствуют в жидкостях организма человека в виде ионов, минеральные вещества содержатся в виде нерастворимых соединений. Они присутствуют также в виде соединений с белками, нуклеиновыми кислотами и др. Минеральные вещества из желудочно-кишечного тракта всасываются в кровь и лимфу и связываются с транспортными белками. Выводятся они с мочой, калом и потом.

**Натрий** – основной внеклеточный катион. До 55% натрия содержится в костях, до 43% – во внеклеточной жидкости, около 2% в клетках. Концентрация ионов натрия в плазме составляет 135–150 ммоль/л, в эритроцитах – 16–36 ммоль/л. Суточная потребность натрия составляет 1 г. Физиологическая роль натрия:

- участвует в образовании электрохимического потенциала на мембранах клеток;
- регулирует состояние водно-солевого обмена;
- регулирует кислотно-щелочное равновесие.

**Калий** – внутриклеточный катион, содержание калия в мышцах и печени составляет – 98%. В плазме крови содержится от 3,8 до 5,1 ммоль/л. Суточная потребность калия составляет 2,5–5,0 г. Он необходим для синтеза протеинов, АТФ, гликогена, активации ферментов. Ионы калия участвуют в регуляции функции сердца, нервной системы, скелетной и гладкой мускулатуры.

**Магний** – внутриклеточный катион, в плазме его концентрация составляет от 0,8 до 1,5 ммоль/л. Главным органом регуляции концентрации магния являются почки, 30% магния выделяется с мочой. Магний входит в состав почти 300

ферментных комплексов, способствует синтезу протеинов, уменьшает проницаемость клеточных мембран. Нормальные показатели магния 0,8–1,0 ммоль/л. Повышение его концентрации в крови наблюдается при первичной гипофункции коры надпочечников, при почечной недостаточности, при остром диабетическом кетоацидозе. Снижение концентрации магния отмечается при голодании, хроническом панкреатите, хроническом алкоголизме, при гипофункции паращитовидных желез и гиперфункции щитовидной железы.

**Медь** входит в состав многих ферментов и биологически активных металлопротеинов. В крови содержится от 15,7 до 16 мкмоль/л (98% всей меди находится в составе церулоплазмина). Медь необходима для синтеза коллагена и эластина. При дефиците меди в пище у человека нарушаются окислительно-восстановительные процессы, пигментный обмен, обмен железа, фосфолипидов.

**Железо** всасывается из пищи в кишечнике в виде двухвалентного железа в количестве 1 мг в сутки. Концентрация железа в сыворотке крови – 12,5–30,4 мкмоль/л. В слизистой кишечника железо соединяется с белком апоферритином, превращая его в ферритин, который переносит железо в плазму крови. Транспорт трехвалентного железа осуществляет белок плазмы крови трансферрин. Трансферрин переносит железо в ткани, где оно используется для синтеза гемоглобина, миоглобина, каталазы, цитохромов, пероксидазы.

**Марганец** активизирует многие ферментативные системы; он необходим для синтеза антител, образования гемоглобина и регуляции эритропоэза. Марганец стимулирует синтез холестерина и жирных кислот.

**Цинк** входит в состав молекул ряда ферментов, также он обнаружен в гормоне инсулине. Цинк предотвращает жировую инфильтрацию печени, нормализует жировой обмен. Наибольшее количество цинка содержится в печени, поджелудочной железе, половых железах.

**Хлор** – главный анион внеклеточной жидкости. Обмен хлора тесно связан с обменом натрия, но в канальцах почек они могут выделяться и реабсорбироваться независимо друг от друга.

**Фосфаты** играют важную роль в обменных процессах, участвуют в регуляции транспорта кислорода, входят в состав клеточных мембран, выполняют важную роль в переносе и сохранении энергии. 50% общего фосфора находится в костях и 20% во внеклеточной жидкости.

**Кальций** – это внеклеточный ион: содержится до 90% в костях, в плазме крови его содержание составляет 2,29–2,99 ммоль/л. Большая часть кальция связана с белками или представлена солями. Кальций обеспечивает целостность клеточных мембран, участвует в свертывании крови, необходим для работы железистого аппарата, выполняет опорную функцию, участвует в нервно-мышечном возбуждении и сокращении, стимулирует выработку гастрина для образования пищеварительных соков.

Регуляция обмена кальция осуществляется гормонами паращитовидных желез – паратгормоном и кальцитонином. Паратгормон – гормон-полипептид, вызывает мобилизацию кальция из костей, увеличивает реабсорбцию его в почечных канальцах и всасывание в желудочно-кишечном тракте. На процесс всасывания кальция в кишечнике влияет витамин D. Активная форма витамина D находится в печени и почках, поэтому при заболеваниях этих органов нарушается процесс задержки кальция в организме.

Кальцитонин действует противоположно паратгормону. Он стимулирует отложение кальция в костях и оказывает влияние на способность почек образовывать активную форму витамина D.

### **Патология обмена натрия и калия**

Расстройство обмена натрия может сопровождаться уменьшением содержания натрия в организме (гипонатриемия) и увеличением (гипернатриемия).

**Гипонатриемия** отмечается при поносах, неукротимой рвоте, нарушении реабсорбции в почечных канальцах, при гипофункции надпочечников. Гипонатриемия приводит к задержке воды в тканях, что способствует развитию отеков; количество воды в плазме уменьшается, что приводит к сгущению крови, нарушению кровоснабжения почек и развитию почечной недостаточности.

**Гипернатриемия** возникает чаще всего при увеличении выработки надпочечниками гормона *альдостерона*. Натрий задерживается в организме, что приводит к повышению осмотического давления крови: возникает чувство жажды, полиурия, сдвиг реакции в щелочную сторону (алкалоз). Гипернатриемия может развиваться вследствие больших потерь воды при несахарном диабете и сморщенной почке.

**Гиперкалиемия** – увеличение содержания калия в плазме крови – отмечается при гипофункции надпочечников, усиленном распаде тканей и гемолизе эритроцитов. Гиперкалиемия может привести к нарушениям сердечной деятельности вплоть до остановки сердца.

**Гипокалиемия** – уменьшение содержания калия в плазме крови может наступить при гиперфункции надпочечников, при сахарном диабете, при приёме мочегонных препаратов (калийнесберегающие диуретики – фуросемид, тиазиды). Рвота и понос приводят к потере калия через желудочно-кишечный тракт.

### **Патология обмена кальция и фосфора**

Гипофункция паращитовидных желез приводит к снижению выделения гормонов и как следствие снижается уровень кальция в организме – *гипокальциемия*. Гипокальциемия сопровождается повышенной нервно-мышечной возбудимостью, тетаническими судорогами. При недостатке витамина D у детей развивается рахит.

Гиперфункция паращитовидных желез сопровождается *гиперкальциемией*. У больных наблюдается рассасывание минеральной основы костей, образование множества полостей в костях, что приводит к переломам. Повышается выделение кальция почками, что приводит к образованию мочевых камней.

Между содержанием фосфора и кальция в сыворотке крови обычно наблюдается обратная зависимость: когда снижен фосфор, повышен кальций, и наоборот. Костная ткань служит резервуаром фосфора. При избытке его в крови он откладывается в костях, при недостатке – поступает из костей в кровь. Увеличение содержания фосфора в сыворотке наблюдается при гипофункции паращитовидных желез, передозировке витамина D, заболевании почек, когда нарушается выделение фосфатов с мочой. Уменьшение содержания фосфора в сыворотке крови отмечается при гиперфункции паращитовидных желез, при рахите, на ранних стадиях заболевания.

### **Нарушения обмена хлора и железа**

Ионы хлора в организме тесно связаны с ионами натрия и обеспечивают осмотическое давление крови, содержатся в составе желудочного содержимого и в моче. Нормаль-

ное содержание ионов хлора в сыворотке крови составляет 95–110 ммоль/л.

Увеличение содержания хлоридов в крови – *гиперхлоремия* наблюдается при недостаточном поступлении воды в организм и избыточном поступлении соли, при нефритах, нефрозах, нефросклерозах.

*Гипохлоремия* – уменьшение содержания хлоридов в сыворотке крови отмечается при рвотах и поносах, образовании выпотных жидкостей, пневмонии и других.

Диагностическая ценность определения железа особенно велика с его участием в образовании гемоглобина. Снижение содержания железа в сыворотке крови наблюдается при железодефицитных анемиях, воспалительных, гнойных, септических инфекциях и интоксикациях, ревматизме. Высокое содержание железа в крови отмечается при недостаточном использовании железа либо при его повышенном поступлении в организм.

### **Определение кальция в сыворотке крови с применением мурексида (метод Моизиса и Зака)**

Свободный мурексид в щелочной среде имеет сине-фиолетовый цвет, а связанный в комплексе с кальцием – розово-оранжевый. При титровании раствором более сильного комплексобразователя этот комплекс разрушается и связанный с кальцием мурексид освобождается. Проба приобретает фиолетовый цвет

Реактивы: раствор комплексона III, 9 – нормальный раствор едкого натра и мурексид, смешанный с хлоридом натрия в соотношении 1:50.

#### **Ход определения**

*В маленькую коническую колбу вносят 50 мл дистиллированной воды, 0,4 мл 9 – нормального раствора щелочи и прибавляют на кончике ножа смесь мурексида. Появляется сине-фиолетовое окрашивание свободного мурексида. Жидкость делят пополам: одна часть служит эталоном, другая опытная. К опытной добавляют 1 мл сыворотки крови, появляется розово-оранжевое окрашивание. Раствор титруют комплексом до сине-фиолетового окрашивания, сравнивают с эталоном и делают по формуле расчет.*

## **Определение ионов хлора в сыворотке крови, моче и спинномозговой жидкости**

Ионы хлора в биологических жидкостях титруют нитратом ртути, образующаяся каломель выпадает в осадок. Когда весь хлор связан, избыток ионов ртути образует с индикатором дифенилкарбазоном темное, сине-лиловое окрашивание, что служит признаком конца титрования.

Реактивы: 1) раствор нитрата ртути, 2) раствор индикатора дифенилкарбазона, 3) 2 – нормальный раствор азотной кислоты, 4) 0,01 – нормальный раствор хлора.

### **Ход определения**

*В стакан отмеривают 1,8 мл дистиллированной воды, добавляют 0,2 мл исследуемой биологической жидкости, 4 капли индикатора и титруют нитратом ртути из микробюретки до появления сине-фиолетового окрашивания. Ставится и опытная проба. Расчет ведется по формуле. В норме содержание ионов хлора в сыворотке крови составляет 95–110 ммоль/л, в спинномозговой жидкости 120–130 ммоль/л, в моче 170–210 ммоль/л.*

В данной работе описаны наиболее доступные в постановке реакции по определению минеральных веществ. В настоящее время в лабораториях часто используются готовые наборы от различных фирм-производителей, что значительно облегчает работу.

### **Вопросы для закрепления**

1. Дайте определение понятию «гомеостаз».
2. Какое значение имеет вода для организма?
3. Что представляет собой вне- и внутриклеточная вода? Каков их состав?
4. Как изменяется состав воды в организме человека с возрастом?
5. Какие органы принимают участие в регуляции водного обмена?
6. В организме снижена выработка гормона вазопрессина, будет ли данное состояние влиять на величину диуреза?
7. В организме повышен синтез альдостерона, какие процессы при этом наблюдаются в организме?

8. Какова суточная потребность организма в солях калия и натрия?
9. Какова роль магния, меди, железа, марганца, цинка в организме человека?
10. Какой гормон осуществляет регуляцию обмена кальция в организме?
11. К каким изменениям приводит нарушение обмена натрия в организме?
12. Каково значение минеральных веществ для организма?

---

---

## **5. ОБРАЗОВАНИЕ КРОВИ В ОРГАНИЗМЕ (ГЕМОПОЭЗ). МЕТОДЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ КРОВИ**

Кровь – это жидкая подвижная ткань, заполняющая разветвленную сеть кровеносных сосудов. Кровь – внутренняя среда организма, осуществляющая постоянную связь между органами и системами и обеспечивающая нормальную жизнедеятельность организма. Кровь состоит из жидкой части – плазмы (55–58%) и взвешенных в ней форменных элементов: эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов (45–42%). Форменные элементы и плазма осуществляют все функции крови – обеспечение всех органов и тканей продуктами питания, кислородом, удаление из них углекислого газа. Через кровь осуществляется гуморальная регуляция функций организма, выведение конечных продуктов обмена веществ, защита организма от инфекционных заболеваний. Способность крови свертываться предотвращает кровопотери. Состав крови здорового человека относительно постоянен. Количественные изменения клеток крови наблюдаются не только при патологии, но и при физиологических состояниях организма. На показатели крови влияют климатические, сезонные, метеорологические условия, время суток, возрастные, гормональные и другие факторы, физическая нагрузка и прочее. Оценка гематологических показателей должна проводиться с учетом всех этих факторов. Изменения крови при патологических процессах крайне разнообразны. В то же время при одних и тех же заболеваниях они могут варьировать от нормальных значений до существенных сдвигов. Эти изменения зависят не только от тяжести патологического процесса, его активности, стадии, но и от сопутствующих заболеваний, осложнений, реактивности организма. Кроме того, на показатели крови существенно влияют различные лечебные мероприятия: медикаментозные воздействия, оперативные вмешательства, лучевое лечение, физиотерапия и прочее. Интерпретацию гематологических сдвигов следует проводить с учетом и этих факторов. Следует иметь в виду, что при многих заболеваниях изменения крови далеко не обязательны и нормальные гематологические показатели не дают основания отрицать



предполагаемый диагноз. Изменения в крови при многих процессах неспецифичны, их используют в прогностических целях, оценивая гематологические сдвиги в динамике.

### 5.1. Кроветворение (гемопоз)

*Кроветворение – гемопоз* – это процесс развития клеточных элементов, который приводит к образованию зрелых клеток периферической крови. Согласно современным представлениям о кроветворении все клетки крови происходят из одной, которая дает начало трем росткам кроветворения: лейкоцитарному, эритроцитарному и тромбоцитарному.

В схеме кроветворения клетки крови разделены на 6 классов. Первые четыре класса составляют клетки-предшественники, пятый класс – созревающие клетки и шестой – зрелые.

**1 класс** – представлен полипотентными стволовыми клетками, количество которых в кроветворной ткани составляет доли процента. Они способны к неограниченному самоподдержанию, большая часть из них находится в состоянии покоя и только 10% из них делятся.

**2 класс** – представлен ограниченно полипотентными клетками, то есть они могут дать начало либо лимфопозу, либо миелопозу и обладают частичной способностью к самоподдержанию.

**3 класс** – образуются клетки унипотентные предшественники и дают начало строго определенному ряду клеток: лимфоцитам, моноцитам и гранулоцитам. В этом классе обнаруживаются две категории лимфоцитов, из которых образуются Т- и В-лимфоциты. Они созревают в костном мозге, а затем током крови заносятся в лимфоидные органы. Из В-лимфоцитов образуются плазмциты, а в вилочковую железу попадают Т-лимфоциты.

**4 класс** – представлен молодыми, способными к делению клетками, образующими отдельные ряды миело- и лимфопоза. Все элементы этого ряда имеют окончание «бласт»: плазмбласт, лимфобласт, монобласт, миелобласт, эритробласт, мегакариобласт.

**5 класс** – представлен созревающими клетками, названия которых имеют общее окончание «цит».

**6 класс** – представлен зрелыми клетками, неспособными к дальнейшей дифференцировке с ограниченным жизненным циклом. К ним относятся: плазмцит, лимфоцит, моноцит,

сегментоядерные гранулоциты (эозинофил, базофил, нейтрофил), эритроцит, тромбоцит.

Зрелые клетки из костного мозга поступают в периферическую кровь.

Окрашивание клеток и микроскопия позволяют выявлять особенности в их строении и отличительные признаки.

Клетки первых трех классов внешне неотличимы друг от друга. Начиная с 4-го класса появляются характерные различия и особенности.

Клетки гранулоцитарного ряда: миелобласт, промиелоцит, миелоцит, метамиелоцит, палочкоядерные и сегментоядерные гранулоциты.

Клетки лимфатического ряда: лимфобласт, плазмобласт, пролимфоцит, проплазмоцит, лимфоцит и плазмоцит.

Клетки моноцитарного ряда: монобласт, промоноцит, моноцит.

Клетки эритроцитарного роста: эритробласт, пронормоцит, нормоцит, ретикулоцит и эритроцит.

Клетки мегакариоцитарного роста: мегакариобласт, промегакариоцит, мегакариоцит и тромбоцит.

Каждая из клеток частично пятого и все клетки шестого классов выполняют определенные функции, совокупность которых обеспечивает нормальную жизнедеятельность организма.

**Эритроциты** составляют основную массу форменных элементов крови. В их состав входит пигмент гемоглобин, состоящий из железосодержащей части – гема и белка – глобина. Важнейшая функция эритроцитов – участие в тканевом дыхании, осуществляя энергетические процессы в организме. Переносчиком является гемоглобин, который насыщается кислородом в легочных капиллярах, переносит его в ткани. В тканевых капиллярах он соединяется с углекислотой и доставляет ее в легкие. Так осуществляется газообмен. Эритроциты участвуют в свертывании крови, осуществляют питательную и защитную функции. В них содержатся различные ферменты, участвующие в биохимических процессах: синтез гемоглобина, выработка АТФ и другие. Жизненный цикл эритроцитов от 90 до 120 дней. Количество эритроцитов здорового человека составляет для женщин 3,7–4,7 умноженное на 10 в 12-ой степени в 1 л крови, для мужчин 4,5–5,0 умноженное на 10 в 12-ой степени в 1 л крови.

Количество гемоглобина в норме у женщин 120–130 г/л, у мужчин 130–150 г/л.

Повышение числа эритроцитов называется *полицитемией*, различают истинную и симптоматическую. Уменьшение числа эритроцитов – *анемия* (может быть постгеморрагическая, гемолитическая и вследствие нарушения кроветворения). Изменение величины эритроцитов называется *анизоцитозом*, изменение формы – *пойкилоцитозом*.

**Ретикулоциты** – молодые незрелые формы эритроцитов при обычных методах окраски в мазке не выявляются, при специальной окраске в ретикулоцитах обнаруживается нежная сеточка или зернистость. Повышение количества ретикулоцитов наблюдается после кровопотери, при гемолитических анемиях. Снижение количества ретикулоцитов отмечается при гипопластической анемии и рецидиве анемии Аддисона – Бирмера.

**Лейкоциты.** Их основная функция – защита организма от воздействия вредоносных агентов. Группа лейкоцитов неоднородна и функции распределены по-разному. Так, *нейтрофилы* участвуют в фагоцитозе и способны переваривать с помощью ферментов бактерии, вирусы, грибы и другие частицы. Эти клетки подвижные и передвигаются к очагу воспаления, участвуя во всех этапах воспалительного процесса.

*Эозинофилы* обладают фагоцитарной активностью, участвуют в аллергических процессах, в обмене гистамина, адсорбируют на своей поверхности продукты распада белков, способствуя выработке антител, образуют антитоксины.

*Базофилы* содержат в своих гранулах гистамин и участвуют в аллергических и воспалительных реакциях. Кроме того, в гранулах базофилов содержится гепарин, который обладает противосвертывающим действием.

*Лимфоциты* выполняют иммунологические функции. Им принадлежит важная роль в процессах клеточного иммунитета и в выработке антител, которые нейтрализуют действие попавших в организм человека чужеродных веществ.

*Моноциты* – подвижные клетки и участвуют в фагоцитозе и в развитии клеточного иммунитета.

Различные виды лейкоцитов имеют неодинаковую продолжительность жизни – от нескольких дней (гранулоциты) до нескольких лет (лимфоциты). Нормальное количество лейкоцитов у здорового человека колеблется от 4 до 8 умноженное на 10 в 9-ой степени на литр крови.

**Тромбоциты** (кровяные пластинки) обладают рядом важных функций, они являются осколками цитоплазмы мегакариоцитов. Наиболее известна их роль в процессе гемостаза.

- кровь берут из концевой фаланги 4-го пальца левой руки (в особых случаях можно брать из мочки уха или из пятки – у новорожденных и грудных детей);
- место прокола предварительно протирают ватным тампоном, смоченным в 70° спирте: кожа должна высохнуть, иначе капля крови будет растекаться;
- для прокола кожи пользуются одноразовой стерильной иглой-скарификатором;
- прокол следует делать на боковой поверхности пальца, где капиллярная сеть гуще, на глубину 2–3 мм: разрез (прокол) рекомендуется производить поперек тактилоскопических линий пальца, так как в этом случае кровь идет легко и обильно;
- первую каплю крови следует удалить, так как она содержит большое количество тканевой жидкости;
- после каждого взятия крови ее остатки на пальце вытирают и последующее взятие производят из вновь выступающей капли;
- после взятия крови к раневой поверхности прикладывают новый стерильный тампон, смоченный 70° спиртом.

### Определение содержания гемоглобина

Для количественного определения гемоглобина пользуются обычно колориметрическим методом. Определение основано на превращении гемоглобина в солянокислый гематин. При этом сравнивают цвет полученного раствора с имеющимся в приборе стандартом.

Прибором служит гемометр Сали. Он состоит из двух запаянных пробирок со стандартной цветовой жидкостью. Между ними расположена градуированная пробирка со шкалой от 0 до 23 (в граммах). К гемометру придается капилляр с отметкой 0,02 мл, резиновая трубочка со стеклянным накопчиком, тонкая стеклянная палочка и глазная пипетка.

*Реактивами служат: 0,1 н. раствор соляной кислоты и дистиллированная вода. В среднюю градуированную пробирку до нижней метки наливают 0,1 н. раствор соляной кислоты затем из пальца капилляром набирают кровь 0,02 мл и опускают в пробирку с соляной кислотой, осторожно выдувают содержимое без пузырьков воздуха. Капилляр промывают 2–3 раза кислотой из верхнего прозрачного слоя жидкости, тщательно перемешивают и оставляют на 5 минут для*

образования солянокислого гематина. По истечении этого времени доливают в пробирку по каплям дистиллированную воду, размешивая ее стеклянной палочкой до тех пор, пока цвет раствора исследуемой крови полностью не сравняется с цветом стандартной жидкости. Отмечают, на каком делении находится нижний мениск раствора крови, показывающий содержание гемоглобина в г/%, а чтобы выразить в г/л, нужно полученный показатель умножить на 10.

**Наиболее точным является цианметгемоглобиновый метод.** Принцип метода заключается в превращении гемоглобина в цианметгемоглобин, концентрация которого измеряется фотометрическим методом на спектрофотометре СФ-4 или фотоэлектроколориметре ФЭК ПМ-56, КФК. Имеются также колориметры, специально разработанные для непосредственного определения гемоглобина (гемоглобинометры ГФ-Ц-4).

**Портативные гемоглобинометры** – миниатюрные приборы массой не более 400 г. Используется унифицированный гемиглобинцианидный метод с фотометрированием пробы на длине волны 540 нм в кварцевой кювете. Для подготовки пробы необходимо перенести 20 мкл капиллярной крови с помощью пипетки Сали или высокоточного стеклянного капилляра в пробирку с 2 мл 0,04%-го раствора аммиака в дистиллированной воде. Время лизирования – от 1 до 2-х сек. Циклы измерения повторяются с интервалом 4 сек, пока кювета не будет извлечена из прибора. Результат сохраняется на цифровом табло в течение минуты.

### **Подсчет эритроцитов**

В чистую, сухую пробирку наливают 4 мл 2–3% раствора хлористого натрия и 0,02 мл крови пипеткой от гемометра. Разведенную кровь энергично встряхивают и заполняют счетную камеру Горяева. Подсчет ведут в 5 больших квадратах, разделенных на 16 малых и расположенных по диагонали, найденное число умножают на 10000. Подсчет производят под малым увеличением микроскопа (объектив 8, окуляр 10 или 15), конденсор должен быть опущен, а диафрагма закрыта.

### **Подсчет эритроцитов с помощью камеры Горяева**

*Счетная камера Горяева состоит из 225 больших квадратов. Часть этих квадратов разделена на 16 маленьких*

квадратов. Сторона маленького квадрата равна  $1/20$  мм, площадь –  $1/400$  мм<sup>2</sup>, высота камеры –  $1/10$  мм, поэтому объем пространства над этим квадратом –  $1/4000$  мм<sup>3</sup>.

В настоящее время широкое распространение получил более простой пробирочный метод взятия крови для подсчета форменных элементов:

- в сухие чистые пробирки заранее наливают разводящую жидкость, для эритроцитов – 4 мл 2% раствора хлористого натрия;
- кровь набирают в капиллярную пипетку от гемометра Сали немного выше метки 20 мкл, а затем, протирая кончик капилляра сухой ватой, доводят столбик до метки;
- кровь выдувают на дно пробирки; пипетку тщательно промывают в верхнем слое жидкости. Содержимое пробирки перемешивают. При внесении 20 мкл крови в 4 мл раствора хлористого натрия получается разведение в 200 раз, что необходимо для подсчета эритроцитов;
- подсчет эритроцитов производится далее в счетной камере Горяева; чистое и сухое покровное стекло притирают к камере так, чтобы в местах их соприкосновения образовались радужные кольца;
- перед заполнением камеры содержимое пробирки несколько раз перемешивают, затем концом круглой стеклянной палочки отбирают из пробирки, наклоняя ее, каплю крови и подносят к краю шлифованного стекла камеры; если одной капли недостаточно для полного заполнения камеры, то дополняют ее другой каплей;
- после заполнения камеру оставляют на 1–2 мин в покое для оседания форменных элементов крови, а затем помещают ее под микроскоп;
- подсчитывают форменные элементы при малом увеличении микроскопа (объектив  $\times 8$  или  $\times 9$ , окуляр  $\times 10$  или  $\times 15$ ) при затемненном поле зрения с прикрытой диафрагмой и при опущенном конденсоре;
- считают эритроциты в 80 малых квадратах, что соответствует 5 большим квадратам, расположенным по диагонали;
- по правилам, подсчету подлежат эритроциты, лежащие внутри маленького квадрата, и те, которые находятся на левой и верхней его границах.

*Подсчитав количество эритроцитов в 80 малых квадратах, рассчитывают по формуле количество эритроцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови и в 1 литре крови:*

$$X = A \times 4000 \times \Pi / 80;$$
$$X = A \times 4000 \times 200 / 80 = A \times 10000 \text{ в } 1 \text{ мм}^3 \text{ крови,}$$

где  $A$  – количество эритроцитов в 80 малых квадратах;  
 $\Pi$  – степень разведения 200.

*Пример. В 5 больших квадратах найдено 420 эритроцитов, тогда в 1 малом = 420 умножаем на 4000 и на 200, затем делим на 80, где 200 – степень разведения крови; 80 – количество малых квадратов (5 умноженное на 16=80); 4000 – объем жидкости над малым квадратом.*

### **Цветной показатель**

– это среднее содержание гемоглобина в одном эритроците. Его условно принимают за единицу и обозначают ЦП. Он вычисляется по формуле:  $\text{ЦП} = \text{З}$  умноженное на количество гемоглобина и деленное на три первых числа количества эритроцитов.

Увеличение ЦП выше единицы называется гиперхромией, снижение ЦП ниже 0,8 – гипохромией.

### **Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ)**

Используется аппарат Панченкова, состоящий из штатива с капиллярами диаметром 1 мм, которые градуированы, имеют деления от 0 (сверху) до 100 (снизу). Возле деления 0



имеется буква К (кровь), а на отметке 50 – буква Р (реактив). Смесь крови с цитратом натрия, набранная в капилляр, при вертикальном расположении разделяется на два слоя (нижний – эритроциты, верхний – плазма). При этом СОЭ, то есть величина столбика плазмы, бывает различной в зависимости от изменений физико-химических свойств крови.

*В капилляр Панченкова набирают 5% раствор лимоннокислого натрия до метки 50-Р и выдувают в пробирку. Из предварительно проколотого пальца дважды набирают кровь – при этом капилляр следует держать горизонтально. Кровь набирают от метки 0 до метки К и выпускают дополнительно к первой порции. Следовательно, в пробирке имеется соотношение цитрата натрия и крови 1:4. Кровь перемешивают концом капилляра, набирают ее до метки 0-К и ставят в аппарат Панченкова строго вертикально на 1 час. Через час отмечают число миллиметров столбика плазмы. СОЭ в норме для мужчин 4–10 мм/час, а для женщин 2–15 мм/час.*

**Повышение (ускорение) СОЭ** наблюдается при:

- острых и хронических инфекциях;
- воспалении и некрозе тканей;
- заболеваниях соединительной ткани;
- анемии;
- туберкулезе;
- болезни почек;
- хроническом активном гепатите, циррозе печени;
- шоке, травмах, операционных вмешательствах;
- интоксикациях, отравлениях химическими соединениями;
- злокачественных новообразованиях;
- гипертиреозе, гипотиреозе;
- беременности, послеродовом периоде, менструации;
- действии лекарственных препаратов (морфин, метилдопа, витамин А, пероральные контрацептивы).

**Понижение (замедление) СОЭ** наблюдается при:

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

### **Подсчет лейкоцитов**

Для подсчета лейкоцитов кровь разводят в пробирках, смешивая 0,4 мл 3–5%-го раствора уксусной кислоты (для



разрушения эритроцитов), подкрашенной метиленовой синью и 0,02 мл крови. Лейкоциты считают в 100 больших квадратах камеры Горяева. Найденное число умножают на 50, учитывая разведение крови в 20 раз и объем жидкости над квадратами.

### Подсчет лейкоцитов с помощью камеры Горяева

*При пробирочном методе взятия крови для подсчета лейкоцитов:*

- *в пробирку наливают 0,4 мл раствора 3–5% уксусной кислоты, подкрашенной метиленовой синью. Капиллярной пипеткой набирают из свежей капли 20 мкл крови (разведение в 20 раз), осторожно выдувают ее в пробирку с реактивом и ополаскивают пипетку. Смесь хорошо перемешивают;*
- *чистое и сухое покровное стекло притирают к камере так, чтобы в месте соприкосновения образовались радужные кольца;*
- *кровь, разведенную в пробирке, хорошо перемешивают. Концом круглой стеклянной палочки отбирают каплю крови и подносят к краю шлифованного стекла камеры;*
- *после заполнения камеры ее оставляют на 1 мин в покое для оседания лейкоцитов;*
- *считают лейкоциты при малом увеличении (объектив  $\times 8$  или  $\times 9$ , окуляр  $\times 10$  или  $\times 15$ ) при затемненном поле зрения (при опущенном конденсоре или суженной диафрагме);*
- *для получения удовлетворительных результатов подсчитывают лейкоциты в 100 больших квадратах, найденное число умножают на 50, учитывая разведение крови в 20 раз и объем жидкости над квадратами.*

*Зная объем большого квадрата и степень разведения крови, находят количество лейкоцитов в 1 мкл и 1 л крови. Строна большого квадрата равна  $1/5$  мм, площадь —  $1/25$  мм<sup>2</sup>, объем пространства над этим квадратом —  $1/250$  мм<sup>3</sup>.*

$$X = B \times 250 \times \Pi / 100; \quad X = B \times 250 \times 20 / 100 = B \times 50 \text{ в 1 мкл крови,}$$

где  $B$  — количество лейкоцитов в 100 больших квадратах;  
 $\Pi$  — степень разведения 20.

Для подсчета форменных элементов крови, в том числе лейкоцитов, используется электронный прибор Пикоскель, работа которого основана на подсчете электрических импульсов, вызванных исследуемыми частицами. Из пальца забирают 0,02 мл крови, которая смешивается с 12,5 мл физиологического раствора. Для гемолиза эритроцитов в кровь добавляют 3 капли сапонины. Определение проводится согласно инструкции.

**Увеличение числа лейкоцитов** называется *лейкоцитозом*. Он может быть:

- перераспределительный (при пищевой, физической, психоэмоциональной нагрузке; беременности);
- реактивный с гиперплазией (воспалительный, инфекционный, некротический, токсический; при кровопотерях);
- бластомный с гиперплазией (при лейкозах).

**Уменьшение числа лейкоцитов** – *лейкопения* наблюдается при лучевой болезни; в разгар таких заболеваний, как брюшной тиф, бруцеллез, вирусные заболевания; после приема ряда медикаментов (салицилаты, цитостатики и другие).

### Лейкоцитарная формула

Её подсчитывают в окрашенных мазках крови. Для приготовления мазка крови: концом предметного стекла прикасаются к свежеснятой крови из пальца и без промедления шлифовальным стеклом под углом 45 градусов и размазывают ее по предметному стеклу. Мазок высушивают на воздухе и фиксируют погружением на 30 минут в смесь этилового спирта с эфиром. Высушенный после фиксации мазок на 15–20 минут заливают красителем по методу Романовского–Гимза. После окраски краситель смывают струей воды, а мазки высушивают в вертикальном положении. Подсчитывают формулу под микроскопом с иммерсионной системой (объектив 90, окуляр 7, иммерсионное масло). Для подсчета используется счетная машинка СЛ-1.

Качественные изменения в лейкоцитарной формуле могут выражаться в увеличении или уменьшении отдельных форм лейкоцитов.

**Увеличение нейтрофилов** – *нейтрофилия* наблюдается при острых воспалительных, нагноительных и септических

процессах. Может быть нейтрофильный лейкоцитоз без сдвига и со сдвигом влево и вправо. Появление молодых форм нейтрофилов называется сдвигом влево, появление гиперсегментированных форм нейтрофилов – сдвигом вправо.

**Уменьшение количества нейтрофилов** называется *нейтропенией*.

**Эозинофилия** – повышение содержания эозинофилов в крови, наблюдается при аллергических проявлениях.

**Уменьшение числа эозинофилов** – *эозинопения*, отсутствие – *анэозинофилия* наблюдаются при тяжелом течении инфекционных и воспалительных процессов.

**Лимфоцитоз** – увеличение числа лимфоцитов наблюдается при инфекционных заболеваниях, тиреотоксикозе, микседеме, хроническом лимфолейкозе.

**Лимфоцитопения** – уменьшение количества лимфоцитов наблюдается в начальном периоде многих инфекционных заболеваний, при разрушении лимфоидной ткани (рак, туберкулез лимфатических узлов).

**Моноцитоз** – увеличение числа моноцитов является признаком раздражения ретикуло-эндотелиальной системы (наблюдается при таких заболеваниях, как ревматизм, малярия, корь, бруцеллез, септический эндокардит, скарлатина, коклюш, глистные инвазии, тиреотоксикоз).

**Базофилия** – увеличение базофилов наблюдается при хронических миелозах, полицитемии, гемофилии, гемолитических анемиях, при вакцинации чужеродными сыворотками.

### ***5.2.б. Свертывающая система крови***

При нарушении целостности стенок сосудов, во избежание потери крови на пораженном участке сосуда образуется сгусток, закрывающий место повреждения и приводящий к остановке кровотечения. В процессе свертывания участвуют клетки и вещества тканей и крови. В основе гемокоагуляции (свертывание крови) задействованы три фазы:

- фаза I – образование тромбодиназы;
- фаза II – образование тромбина;
- фаза III – образование фибрина, составляющего основу сгустка.

Все эти процессы протекают в присутствии ионов кальция. Исследования показали, что свертывание крови – сложный ферментативный процесс, в котором участвуют факторы плазмы крови, клеток крови и тканей. Все эти факторы

являются активаторами свертывания крови. Большинство из них ферменты, синтезируемые в печени.

Все факторы свёртывающей системы крови находятся в неактивном состоянии, но при повреждении сосудистой стенки происходит их быстрая и последовательная активация. Таким образом, процесс свертывания крови представляет цепь последовательных реакций – ферментативный каскад, в котором активизированные ферменты предыдущей реакции служат катализаторами для активации последующих факторов. Процесс взаимодействия факторов свертывания очень сложный. Различные плазменные факторы действуют не изолированно, а в комплексе с фосфолипидами тромбоцитов и ионами кальция.

Существует два основных механизма свертывания крови: внутренний и внешний.

- внутренний механизм включается при изменении состояния сосудистой стенки и протекает 5–10 минут.
- внешний механизм свертывания включается при повреждении тканей и протекает быстро около 20 секунд, служа пусковым для внутреннего механизма свертывания крови. Образующееся при этом небольшое количество тромбина стимулирует агрегацию тромбоцитов и освобождение клеточных факторов гемостаза.

Внутренний и внешний механизмы гемостаза не изолированные, а тесно взаимосвязанные процессы. Связь осуществляется с помощью калликреин-кининовой системы. Калликреины и кинины – это белковые вещества, предшественники которых синтезируются в печени и циркулируют в крови.

В результате процесса свертывания образуется сгусток крови. Через 15–20 мин начинается его ретракция, т.е. сокращение. Ретракция продолжается от 30 мин до 30 часов.

*Свертывание крови* – защитный механизм, предохраняющий организм от кровопотерь. Сохранение крови в сосудистом русле в жидком состоянии обеспечивается равновесием между свертывающей и противосвертывающей системами крови. Противосвертывающая система представлена двумя группами: физиологическими, которые образуются независимо от свертывания крови и растворения сгустка, а также антикоагулянтами, образующимися в процессе свертывания крови и фибринолиза (растворение сгустка). Эти вещества состоят из белков, липидов, фосфатидов, мукополисахаридов.

*Фибринолиз* – это ферментативный процесс, в нем участвуют активаторы и ингибиторы, которые составляют фибри-

нолитическую систему. Она работает при взаимодействии плазменных, тканевых и микробных факторов и связана со свертывающей системой. Ее активация происходит одновременно с началом свертывания крови. Эта система обеспечивает восстановление кровотока, проходимость протоков желез, нормальное мочеотделение.

## **Методы исследования**

### **Время свертывания крови (метод Мас и Магро)**

*На предметное стекло, покрытое тонким слоем парафина, наносят каплю вазелинового масла. Скарификатором делают прокол мякоти пальца, первую выступающую каплю крови снимают ваткой, вторую набирают в пипетку от гемометра (через которую предварительно пропускают вазелиновое масло) и выдувают на каплю вазелинового масла. Засекают время и далее каждые две минуты набирают в капилляр кровь и выдувают ее обратно. Если кровь свернулась, набрать ее в капилляр невозможно. Кровь здорового человека свертывается через 8–12 мин при температуре воздуха в лаборатории 15–20°С.*

*Наиболее резкое замедление скорости свертывания наблюдается при гемофилиях.*

### **Определение длительности кровотечения (по Дюке)**

*Кончик пальца или мочку уха прокалывают скарификатором на глубину 3 мм. Засекают время, а самопроизвольно выпущенную кровь снимают через каждые 30 секунд прикосновением фильтровальной бумаги. Нормальная продолжительность кровотечения 2–3 минуты и не должна превышать 4 минут. Превышение этих показателей характерно для разных видов тромбоцитопений.*

### **Время свертывания капиллярной крови (метод Сухарева)**

*Кровь берут из пальца в чистый, сухой капилляр от аппарата Панченкова. Первую каплю крови не используют. В капилляр набирают столбик крови высотой 25–30 мм и переводят ее в середину капилляра. Включают секундомер и через каждые 30 сек наклоняют капилляр вправо и влево под углом 30–45 градусов. Кровь свободно двигается внутри капилляра. С началом свертывания ее движение замедляется. При полном свертывании кровь не двигается. По секундомеру отме-*

*чают моменты начала и конца свертывания. В норме начало свертывания от 30 секунд до 2 мин, конец от 3 до 5 мин.*

### **5.2.в. Исследование крови для выявления малярийных паразитов**

Малярия является серьезной проблемой во многих регионах мира, особенно в странах с тропическим и субтропическим климатом. Эта проблема имеет возрастающее значение в некоторых странах Центральной Азии. Контроль изучения распространения и лечения малярии становится все более сложной задачей из-за несостоятельности программ по контролю за насекомыми (комарами) и устойчивости насекомых к антималярийным препаратам. Существует четыре вида паразитов, вызывающих малярию у человека:

1. Плазмодиум фальципарум – широко распространен,
2. Плазмодиум вивакс – широко распространен,
3. Плазмодиум овале – менее распространен,
4. Плазмодиум маляриа – менее распространен.

Симптомы малярии схожи для всех видов: у больных наблюдается вялость, лихорадка, потливость, озноб, головная боль и тошнота. Наиболее опасной считается малярия, вызванная первым видом. Паразиты первого вида являются наиболее патогенными, интенсивно размножаются и имеют высокую концентрацию. Даже легкие случаи малярии этого вида необходимо незамедлительно и эффективно лечить, чтобы избежать осложнений и летальных исходов. Человек является единственным важным резервуаром малярийных паразитов. Паразиты переносятся через укус инфицированной самки комара Анофелес.

Методы исследования крови для диагностики малярии:

1. Микроскопическое исследование толстого и тонкого мазков капиллярной крови, окрашенных по Романовскому–Гимза.
2. Микроскопическое исследование венозной крови с применением техники концентрации и окрашивания лейкоцитарной пленки.
3. Микроскопическое исследование с применением флюоресцентного метода.
4. Экспресс-анализ с применением индикаторных иммунодиагностических полосок.

Микроскопическое исследование толстых и тонких мазков крови широко используются в учреждениях медико-

санитарной помощи, поскольку другие перечисленные методы не экономичны и требуют больших затрат. Использование индикаторных полосок является удобным методом, но его стоимость намного выше, чем стоимость микроскопического исследования мазков крови.

### **Приготовление толстой капли крови**

*Кровь берется из мякоти пальца скарификатором, первая капля крови удаляется, а к вновь выступившей капле прикладывают поверхность сухого, обезжиренного предметного стекла. Затем краем другого стекла размазывают кровь, описывая круги с 10-копеечную монету. Слой крови не должен быть очень толстым, но и не очень тонким. На одном стекле можно приготовить две толстые капли. Препарат высушивают на воздухе, не фиксируют, окрашивают краской Романовского–Гимза. В том случае, если толстые капли сохранялись больше недели не окрашенными, то предварительно на препарат нужно налить дистиллированную воду на 10 мин, затем воду сливают и осторожно наливают краску. Просмотр мазка и толстой капли крови проводят с использованием иммерсионной системы.*

### **5.2.2. Группы крови**

На основании реакции изогемагглютинации определяют групповую принадлежность крови людей. В зависимости от наличия или отсутствия агглютиногенов А и В и агглютининов альфа и бета, от их комбинаций в крови все человечество разделяют на четыре группы. В крови человека никогда не встречаются одноименные агглютиногены и агглютинины.

Эритроциты людей с первой группой крови не содержат агглютиногенов, а в сыворотке имеются оба агглютинина альфа и бета.

Группа крови I обозначается как 0 (I).

У людей с группой крови II на эритроцитах находится агглютиноген А, а в сыворотке присутствует агглютинин бета. Обозначение А (II).

III группа крови на эритроцитах имеет агглютиноген В, а в сыворотке содержится агглютинин альфа. Принятое обозначение В (III).

Эритроциты у людей с IV группой крови на своей поверхности несут сразу два агглютиногена А и В, но в их сыворотке нет агглютининов. Обозначение АВ(IV).

### Схема групповой принадлежности людей по системе АВ0

Группа крови	Агглютиноген	Агглютинины	Обозначение
0	–	альфа, бета	0 (I)
II	A	бета	A (II)
III	B	альфа	B (III)
IV	AB	–	AB (IV)

Определение групп крови системы АВ0 с использованием стандартных сывороток.

Этой реакцией определяют групповые агглютиногены эритроцитов, что дает возможность судить о групповой принадлежности исследуемой крови.

Реагенты: стандартные сыворотки 0(I), A(II), B(III), AB(IV) групп двух различных серий, физиологический раствор (0,9% раствор хлорида натрия). Сыворотки хранятся в холодильнике, срок годности указан на этикетках. Кровь для исследования используют капиллярную (после прокола мякоти пальца) или венозную с цитратом натрия в количестве 1 мл.

Посуда и оборудование: стандартные эмалированные тарелки от специального набора или белые пластинки со смачиваемой поверхностью, песочные часы на 5 мин, стеклянные палочки, глазные пипетки для каждой сыворотки и физиологического раствора, карандаши, пишущие по стеклу, специальные штативы от набора или небольшие штативы с 4 или 7 гнездами, скарификатор, вата, пастеровские пипетки.

В специальных наборах для определения групповой и резус-принадлежности предусмотрена посуда и оборудование с водяной баней и термометром. Специальная тарелочка имеет два ряда, в каждой по три выемки для исследования, а снизу отдельная выемка для АВ (IV) группы. Все углубления промаркированы, отмечены и серии сывороток. В наборе имеются и штативы, гнезда в них промаркированы для сывороток и исследуемой крови.

### Ход определения

*Определение группы крови и резус-фактора производят в помещении с хорошим освещением при температуре 15–25 °С.*



*В каждый флакон с сывороткой помещают отдельную глазную пипетку, предварительно промыв каждую в физиологическом растворе. Сыворотки накапывают по одной большой капле в соответствующее углубление на тарелочке, а пипетки возвращают только в свой флакон, из которого взята сыворотка. Исследуемую кровь пастеровской пипеткой, по одной маленькой капле, наносят рядом с каждой каплей стандартной сыворотки. Перемешивают капли стандартной сыворотки с находящимися рядом с ними каплями исследуемой крови (каждую отдельной палочкой). После этого тарелочку покачивают и оставляют на 1–2 мин и снова периодически покачивают. Наблюдение за ходом реакции проводят не менее 5 мин, так как возможна поздняя агглютинация. В те капли, в которых наступила агглютинация, не раньше 3 мин, добавляют по 1 капле физиологического раствора, продолжают покачивание до истечения 5 мин. после чего оценивают результат.*

*Оценка результатов. Реакция в каждой капле может быть положительной и отрицательной. При положительной реакции в смеси появляются видимые невооруженным глазом мелкие красные зернышки, состоящие из склеенных эритроцитов. В случае отрицательной реакции на протяжении всего времени наблюдения жидкость остается равномерно окрашенной в красный цвет, агглютинация не наступает. Результаты реакций в каплях с сыворотками одной группы обеих серий должны быть одинаковыми. Возможны четыре комбинации реакций:*

*1. Сыворотки всех трех групп дали отрицательную реакцию, они остались окрашенными в красный цвет без признаков агглютинации. Эта кровь 0(I) группы;*

*2. Сыворотки групп 0(I) и B(III) дали положительную реакцию, а сыворотка A(II) – отрицательную: испытуемая кровь принадлежит к группе A(II);*

*3. Сыворотки групп 0(I) и A(II) дали положительную реакцию, а сыворотка группы B(III) – отрицательную: испытуемая кровь принадлежит к группе B(III);*

*4. Сыворотки всех трех групп дали положительную реакцию. В этом случае для исключения неспецифической агглютинации проводится дополнительное контрольное исследование со стандартной сывороткой AB(IV). Отсутствие агглютинации в этой капле, при наличии ее во всех остальных, позволяет считать реакцию специфической и отнести исследуемую кровь к AB(IV).*

## Определение резус-фактора с применением желатина

Исследуемые эритроциты, содержащие неполные анти-тела-резус, инкубируют со стандартной антирезусной сывороткой в коллоидной среде – растворе желатина. Если эритроциты резус-положительны, происходит их склеивание – конглоутинация, которая обнаруживается после добавления в инкубационную смесь физиологического раствора. Резус-отрицательные эритроциты не склеиваются.

Реагенты: стандартные антирезусные сыворотки двух различных серий (группа стандартной сыворотки должна быть совместима с группой исследуемой крови); 10% раствор желатина в ампулах заводского изготовления (вскрытые ампулы должны храниться в холодильнике не более 2–3 дней); физиологический раствор; 3,8% раствор цитрата натрия; стандартные эритроциты для контроля (стандартные резус-положительные эритроциты 0(I) группы).

Кровь берут в количестве 1–3 мл с цитратом натрия и эритроциты отмывают физиологическим раствором.

### Ход определения

*В штатив устанавливают 3 ряда пробирок: в каждом ряду по количеству исследуемых лиц и образцов эритроцитов для контроля. На каждой трех пробирках надписывают фамилию и инициалы лица, кровь которого будут исследовать. В одинаково обозначенные три пробирки каждого ряда вносят по 1 капле исследуемых эритроцитов. В три контрольные пробирки помещают по 1 капле стандартных резус-положительных эритроцитов группы 0(I). В другие три контрольные пробирки по 1 капле резус-отрицательных эритроцитов той же группы, что и исследуемая кровь. Затем во все пробирки добавляют по 2 капли 10% раствора желатина, встряхивают и во все пробирки добавляют по 2 капли антирезусной сыворотки одной и другой серий. В пробирки третьего ряда не вносят антирезусную сыворотку. Пробирки встряхивают и помещают в водяную баню при температуре 45°С на 5 мин. После экспозиции в пробирки добавляют по 8–10 мл физиологического раствора. Результаты могут быть положительными и отрицательными. При резус-положительной крови в пробирке наблюдается легко различимые красные зерна или хлопья, состоящие из склеенных эритроцитов. При*

*резус-отрицательных эритроцитах в пробирке появляется равномерно окрашенная в розовый цвет, слегка опалесцирующая жидкость.*

### **Экспресс-метод определения резус-фактора стандартным универсальным реагентом**

**Оснащение.** Специально приготовленный универсальный антирезус-реагент, стандартные резус-положительные и резус-отрицательные эритроциты для контроля, пробирки, пастеровская пипетка, физиологический раствор, водяная баня, термометр, резиновые перчатки, резиновая груша, исследуемая кровь.

#### **Ход определения**

*На дно пробирки внести каплю универсального стандартного реагента и каплю исследуемой крови или эритроциты. Содержимое пробирки встряхиваем, медленно поворачиваем, наклоняем, чтобы жидкость растеклась по стенкам пробирки. Агглютинация наступает в течение первой минуты, пробирку помещаем в водяную баню, нагретую до 45°С на 5 мин. Затем в пробирку добавляют по 3–4 мл физиологического раствора и перемешивают, не взбалтывая, путем 2–3-кратного перевертывания пробирки. Результат оценивают визуально. Одновременно с исследованием крови больных или доноров производится контрольное исследование стандартных резус-положительных эритроцитов той же группы и стандартных резус-отрицательных эритроцитов, обязательно одноклассных с исследуемой кровью.*

**Оценка результатов.** Наличие агглютинации в виде крупных хлопьев из эритроцитов на фоне просветленной жидкости указывает на резус-положительную принадлежность исследуемой крови. Отсутствие агглютинации (в пробирке гомогенно окрашенная жидкость) указывает на резус-отрицательную принадлежность исследуемой крови. Результат учитывается как истинный после проверки контрольных образцов.

## **5.3. Заболевания крови**

### **5.3.а. Анемии**

**Анемией**, или **малокровием**, называется уменьшение количества эритроцитов и гемоглобина в единице объема крови. Анемии чаще всего служат симптомом какого-либо основного

заболевания. В зависимости от причин, вызывающих анемию, они подразделяются на несколько групп:

- анемии вследствие кровопотери;
- анемии вследствие нарушения кроветворения;
- анемии вследствие усиленного кроветворения.

При анемиях происходят не только количественные, но и качественные изменения эритроцитов. Меняется величина, форма и окраска эритроцитов, в их составе появляются патологические включения.

### **Анемии вследствие кровопотери**

Анемии вследствие кровопотери бывают острыми и хроническими. Острая постгеморрагическая анемия возникает при быстрой потере большого количества крови. Наблюдается при разрыве крупных сосудов, травмах, маточных, легочных, почечных, желудочных кровотечениях.

Хроническая постгеморрагическая анемия развивается в результате небольших, но часто повторяющихся кровопотерь (при геморрое, язве желудка и двенадцатиперстной кишки, опухолях ЖКТ, носовых кровотечениях и так далее).

### **Анемии вследствие нарушения кроветворения**

- Железодефицитная анемия развивается вследствие нарушения кроветворения. Причиной возникновения такой анемии могут быть: недостаточное поступление железа с пищей; повышенные потери железа при хронических постгеморрагических анемиях; повышенное потребление железа в периоды роста, беременности, лактации; недостаточное усвоение железа при хронических энтеритах, резекции части тонкого кишечника и желудка.
- В<sub>12</sub> (фолиево)-дефицитные анемии развиваются при нарушении кроветворения. При этом виде анемии процессы разрушения клеток красного ростка в костном мозге преобладают над процессами кроветворения, в котором принимают участие витамин В<sub>12</sub> и фолиевая кислота. В результате в периферическую кровь поступает малое количество эритроцитов.

### **Анемии вследствие усиленного кроветворения**

- Апластические анемии возникают в результате нарушения кроветворения. Они могут возникнуть пос-

ле приема некоторых лекарственных препаратов; в результате токсического воздействия на костный мозг ряда химических веществ; при хронических заболеваниях (туберкулез, сифилис); при вирусных инфекциях; ионизирующей радиации. Апластические состояния могут передаваться по наследству.

- Гемолитические анемии развиваются при повышенном кроворазрушении – гемолизе. В данном случае процессы кроворазрушения преобладают над процессами кроветворения. Гемолитические анемии могут быть наследственными и приобретенными. Наследственные гемолитические анемии развиваются в результате дефекта структуры мембраны эритроцитов, нарушения активности их ферментов и нарушения синтеза гемоглобина. Приобретенные гемолитические анемии возникают при появлении антиэритроцитарных антител, которые вызывают повреждение и повышенный гемолиз эритроцитов. Это иммунные гемолитические анемии. В зависимости от характера антигена различают изоиммунные (антитела и антигены попадают в организм извне), гетероиммунные (появление антигена на поверхности эритроцита), аутоиммунные (антитела вырабатываются против собственных эритроцитов) гемолитические анемии.

Гемолиз эритроцитов может произойти и при их механическом повреждении во время операции на сосудах, сердце или при значительной, длительной физической нагрузке.

### *5.3.б. Лейкозы*

Это опухолевые заболевания кроветворной системы. Термин *лейкозы* – собирательный, включает многочисленные новообразования кроветворных клеток. При данных заболеваниях поражается костный мозг. Единой причины возникновения лейкозов нет. Существуют различные теории развития заболеваний: воздействие вирусов, ионизирующей радиации, химических веществ и т. д. Они повреждают и изменяют свойства генетического аппарата кроветворных клеток, в результате из такой поврежденной клетки возникает опухоль. Опухолевый рост начинается с клеток-предшественников цикла кроветворения. Изменённые клетки попадают в кровеносное русло, поэтому опухоли крови быстро метастазируют. В костном мозге изменённые, патологические клетки быстро

разрастаются и вытесняют клеточные элементы нормального кроветворения. Заболевание носит системный характер.

По клеточному составу опухолей все лейкозы делятся на острые и хронические. При острых лейкозах субстрат опухоли состоит из самых молодых клеток. Это либо клетки-предшественники кроветворения, либо бластные формы, которые являются родоначальниками отдельных рядов гемопоэза. При хронических лейкозах субстрат опухоли составляют созревающие или зрелые клетки.

Внутри групп острых и хронических лейкозов классификация проводится по названиям тех клеток, из которых возникла опухоль.

### *5.3.в. Геморрагические диатезы*

Геморрагические диатезы – заболевания, общим признаком которых является склонность к кровоточивости. Различают наследственно-семейные и приобретенные формы. В зависимости от механизмов возникновения геморрагических диатезов их разделяют на несколько групп.

1 группа – заболевания, связанные с количественными и качественными изменениями тромбоцитов.

2 группа – заболевания, связанные с нарушениями в свертывающей системе крови.

3 группа – заболевания, связанные с изменением сосудистой стенки.

Наследственные заболевания первой группы связаны с нарушением функциональных свойств тромбоцитов. При приобретенных заболеваниях данной группы угнетается тромбоцитопоз в костном мозге.

Заболевания второй группы возникают при недостатке любого из плазменных факторов свертывания крови.

К наследственным заболеваниям данной группы относится гемофилия А, реже встречается гемофилия В. Заболевают данными заболеваниями преимущественно мужчины.

Приобретенные заболевания в этой группе возникают при поражении печени, в которой синтезируются большинство факторов свертывания, а также при недостатке витамина К.

К наследуемым геморрагическим диатезам третьей группы относятся различные кровоточащие сосудистые опухоли. Из приобретенных заболеваний третьей группы наиболее часто встречается геморрагический васкулит, или болезнь Шенлейна–Геноха, при которой поражаются мельчайшие ка-

пилляры. Под воздействием аллергена, инфекции, холода поражаются сосуды кожи, почек и других внутренних органов. Развиваются тромбозы и кровотечения.

### Вопросы для закрепления

1. Какова физиологическая роль крови в организме?
2. Каков состав крови в норме?
3. По какому принципу классифицированы клетки крови?
4. Какие функции выполняют в организме гемоглобин и эритроциты?
5. Как проводится определение гемоглобина? Назовите его нормальные показатели.
6. Расскажите, как проводится определение СОЭ.
7. Каким методом проводится определение цветного показателя крови?
8. Как проводится подсчёт эритроцитов? Назовите нормальные показатели эритроцитов в организме.
9. Как проводится подсчёт лейкоцитов? Назовите нормальные показатели лейкоцитов в организме.
10. Перечислите функции лейкоцитов в организме.
11. Что представляет собой лейкоцитарная формула?
12. Какими терминами обозначают увеличение и уменьшение количества лейкоцитов и отдельных их видов?
13. При каких состояниях наблюдаются лейкоцитоз и лейкопения?
14. Какова диагностическая ценность изменений количества эозинофилов и базофилов в крови?
15. Какие функции выполняют тромбоциты?
16. Каковы нормальные показатели тромбоцитов в крови?
17. Как определяется длительность кровотечения?
18. Расскажите о методах определения времени свёртывания капиллярной крови.
19. Какие методы определения малярийных паразитов в крови имеются?
20. Что представляют собой антигены эритроцитов?
21. Каковы антигенные свойства агглютиногенов А и В?
22. Каковы по характеру агглютинины?
23. Что положено в основу деления крови на группы?
24. Каково клиническое значение определения групп крови?
25. Дайте определение понятия «резус-фактор».
26. Какая кровь называется резус-положительной и какая резус-отрицательной?

27. Каково клиническое значение определения резус-фактора крови?
28. Что называется анемией? На какие группы делятся анемии?
29. Каковы морфологические изменения эритроцитов при анемиях?
30. Перечислите причины возникновения постгеморрагических анемий.
31. Какова картина крови при острой постгеморрагической анемии?
32. Какие характерные изменения в крови наблюдаются при железодефицитных анемиях?
33. Чем характеризуется картина крови при  $B_{12}$ -дефицитной анемии?
34. Назовите причины развития гемолитических анемий.
35. Какова картина крови при гемолитической анемии?
36. Что называется лейкозом? Каков механизм возникновения лейкозов?
37. Какими гематологическими признаками характеризуются острые лейкозы?
38. Какова картина крови при хронических лейкозах?
39. Что обозначает термин «геморрагические диатезы»?
40. Как изменяется состав и свойства крови при тромбоцитопениях?
41. Какими причинами обусловлено возникновение гемофилий?



---

---

## 6. КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

*Мокрота* – это патологическое отделяемое легких и дыхательных путей: бронхов, трахеи, гортани. Она выделяется во время кашля или отхаркивания при таких заболеваниях, как трахеит, бронхит, бронхиальная астма, бронхоэктатическая болезнь, а также при туберкулезе, абсцессе, раке, гангрене легкого и других заболеваниях органов дыхания.

У здоровых людей мокрота не выделяется, однако при работе в запыленной атмосфере мокрота появляется у практически здоровых людей. Выделяют мокроту и люди, чей труд связан с напряжением голосового аппарата и дыхательных путей (лекторы, педагоги, певцы, стеклодувы, музыканты духовых оркестров). Обильно выделяется мокрота у курильщиков, от постоянного раздражения дыхательных путей дымом и никотином.

Клиническое исследование мокроты включает ее осмотр, измерение количества, изучение физических и химических свойств, микроскопическое, бактериоскопическое, бактериологическое и цитологическое исследования. При макроскопическом изучении обращают внимание на характер мокроты, ее количество, цвет, запах, консистенцию, слоистость, наличие различных включений. Характер мокроты определяется ее составом:

а) слизистая – состоит из слизи и выделяется при бронхитах, острых трахеитах, при разрешении приступа бронхиальной астмы;

б) слизисто-гнойная с преобладанием слизи – выделяется при хронических бронхитах, трахеитах, бронхопневмониях;

в) гнойно-слизистая с преобладанием гноя – появляется при хронических бронхитах, бронхоэктатической болезни, абсцедирующей пневмонии;

г) гнойная мокрота – появляется при прорыве эмпиемы плевры или абсцесса в полость бронха;

д) слизисто-кровянистая, – состоящая из слизи с прожилками крови, наблюдается при острых трахеитах, бронхитах, пневмониях, бронхогенном раке;

е) кровавая мокрота – выделяется при легочных кровотечениях (ранение легкого, туберкулезе, актиномикозе, злокачественных новообразованиях лёгкого, застойных явлениях в малом кругу кровообращения);

ё) серозная мокрота – представляет собой проникшую в полость бронхов плазму крови; выделяется при отеке легкого, отравлении боевыми отравляющими веществами.

**Количество мокроты** может варьировать в широких пределах и определяется в градуированной посуде. Скudное количество мокроты выделяется при воспалении дыхательных путей (ларингит, трахеит, бронхит, бронхиальная астма вне приступа, бронхопневмония). Обильное количество (от 0,5 до 2 л) выделяется обычно из полостей легочной ткани, бронхов (бронхоэктатическая болезнь, гангрена, абсцесс легкого, кровенаполнение легких, отек легких).

**Цвет и прозрачность** мокроты зависят от ее характера; количества эритроцитов, лейкоцитов, кровяного пигмента, билирубина; наличия в ней примесей пыли, кофе, вина, лекарственных препаратов. Бесцветная, прозрачная (стекловидная) мокрота бывает слизистой; серый оттенок мокроты – от примеси пыли; зеленоватый цвет характерен для гнойной мокроты; «ржавая мокрота» наблюдается при крупозной пневмонии; мокрота в виде «малинового желе» – при раке легкого; бурый оттенок отмечается при гангрене легкого; шоколадный (коричневый) цвет – при абсцессе легкого.

**Запах.** Свежевыделенная мокрота без запаха. При гнойных и гнилостных процессах в легких мокрота имеет запах. Зловонный запах имеет мокрота при гангрене легкого.

**Слоистость.** При стоянии мокрота может разделиться на 2–3 слоя. Нижний слой состоит из более тяжелых комочков гноя и обрывков ткани легкого, второй слой жидкий (плазма), в трехслойной мокроте образуется верхний пенистый слой из слизи и гноя. Двухслойная мокрота характерна для абсцесса легкого и бронхоэктатической болезни, а трехслойная – для гангрены легкого.

**Консистенция** мокроты тесно связана с ее характером: жидкая, тягучая, студенистая, умеренно-вязкая, вязкая, неоднородная, стекловидная.

Наличие различных включений удобнее выявить, если рассматривать мокроту в чашке Петри на белом или черном фоне под лупой.

В мокроте можно обнаружить:

а) спирали Куршмана – беловатые, прозрачные, извитые штопорообразные трубчатые тела; встречаются при бронхиальной астме;

б) гнойные пробки Дитриха – комочки беловатого или желтовато-серого цвета величиной с булавочную головку со зловонным запахом, встречающиеся при бронхоэктазах, гангрене легкого;

в) рисовидные тельца (линзы Коха) – зеленовато-желтоватые, плотные образования творожистой консистенции величиной до горошины, состоящие из детрита, туберкулезных палочек и эластических волокон. Обнаруживаются при кавернозном туберкулезе легких;

г) друзы актиномикоза, пузыри эхинококка.

### **6.1. Методы исследования**

**Сбор мокроты.** Рекомендуется использовать одноразовые контейнеры. Они должны быть чистыми, прочными, непромокаемыми, с широким горлышком. Перед процедурой медработник должен объяснить больному цель данного исследования. Больной должен прополоскать рот водой для удаления остатков пищи. Сбор мокроты должен проводиться на открытом воздухе, ветер должен дуть больному в спину, никто не должен стоять перед ним. При отделении мокроты в большом количестве ее можно собирать в любое время суток; если мокрота отделяется с трудом и в небольших количествах, ее лучше собирать в ранние утренние часы. Для обеспечения безопасности в лаборатории необходимо подготовить ёмкость для сбора и стерилизации зараженного материала, а также дезинфицирующий раствор для проведения обеззараживания при случайных происшествиях.

### **6.2. Микроскопическое исследование мокроты**

При микроскопическом исследовании обнаруживают слизь, клеточные элементы, волокнистые и кристаллические образования, грибы, бактерии и паразиты. Наличие большого количества лейкоцитов, клеток цилиндрического эпителия в мокроте характерно для воспалительных заболеваний дыхательных путей. Эритроциты в большом количестве встречаются при легочном кровотечении, инфаркте легкого, застойных явлениях в легких. Опухолевые клетки обнаруживаются при

бронхогенном раке, опухоли легких. Макрофаги встречаются при различных воспалительных процессах в бронхах и легочной ткани. «Клетки сердечных пороков» – макрофаги, содержащие гемосидерин, встречаются при застое в малом кругу кровообращения. Эозинофилы в мокроте можно обнаружить только в окрашенных мазках. В большом количестве эозинофилы встречаются в мокроте больных бронхиальной астмой.

Волокнистые образования: эластические волокна имеют вид блестящих, извитых, тонких нитей, складывающихся в пучки. Они указывают на распад легочной ткани и обнаруживаются при туберкулезе, абсцессе, новообразованиях в легких.

Спиральи Куршмана встречаются при легочной патологии, сопровождающейся бронхоспазмом (бронхиальная астма, астматические бронхиты).

Кристаллические образования: кристаллы гематоидина, кристаллы холестерина, кристаллы жирных кислот, кристаллы Шарко–Лейдена. Кристаллы Шарко–Лейдена встречаются в мокроте вместе с эозинофилами и имеют вид блестящих, бесцветных ромбов, иногда с тупо обрезанными углами. Их считают продуктами кристаллизации белков. Они появляются в мокроте при бронхиальной астме, эозинофильном бронхите, глистных поражениях легких, реже при крупозной пневмонии.

Наличие эозинофилов, кристаллов Шарко–Лейдена и спиралей Куршмана носит название триады Габричевского, появляющихся в мокроте больных после приступа бронхиальной астмы.

### **6.3. Окраска препаратов для бактериоскопического исследования**

#### ***Техника приготовления препаратов***

Для бактериоскопического исследования готовят одновременно 2 препарата: один для обнаружения микобактерий туберкулеза, другой — для обнаружения прочих микроорганизмов. Для первого препарата отбирают те же частицы, что были предназначены для микроскопии, для второго — гнойные частицы. Взятый материал распределяют по предметному стеклу до получения достаточно ажурной сеточки (материал на первом стекле распределяют на 2/3 его поверхности, на втором — в центре). Затем оба препа-

## Окраска по Граму

### 1. Краски и реактивы:

10% раствор карболового фуксина: 1 часть карболового фуксина (фуксина Циля) + 9 частей дистиллированной воды; реактив Люголя: 2 г йодида калия растворяют в 300 мл дистиллированной воды, в полученном растворе растворяют 1 г кристаллического йода; реактив хранят в посуде из темного стекла;

карболовый раствор генцианового фиолетового (генциан-виолета): 1 г красителя растирают в ступке с 2 г карболовой кислоты, прибавляя небольшими порциями 10 мл 96% этанола; смесь сливают в градуированный цилиндр, смывая ее порциями дистиллированной воды, доводят дистиллированной водой до метки 100 мл; оставляют на сутки, затем фильтруют.

### 2. Техника окраски:

На фиксированный препарат накладывают фильтровальную бумагу и поверх наливают карболовый раствор генцианового фиолетового на 1–2 мин. Снимают фильтровальную бумагу, опускают в раствор Люголя на 2 мин, обесцвечивают в 96% спирте до сероватого цвета, промывают в воде, затем докрашивают 10% раствором карболового фуксина в течение 10–15 сек. После этого препарат опять промывают водой, высушивают и микроскопируют с иммерсионным объективом.

В препаратах мокроты, окрашенных по Граму, могут быть обнаружены стрептококки, стафилококки, диплобациллы (палочки Фридендера), диплококки Френкеля и другие микроорганизмы.

Для подтверждения правильности нахождения этих бактерий и определения чувствительности их к антибиотикам производится посев мокроты на питательные среды.

## 6.4. Мокрота при различных заболеваниях

**Острый бронхит.** В начале заболевания выделяется небольшое количество слизистой, вязкой мокроты. В дальнейшем течении болезни количество мокроты увеличивается, она становится слизисто-гнойной. Под микроскопом обнаруживаются в большом количестве лейкоциты, цилиндрический эпителий и эритроциты.

**Хронический бронхит.** Выделяется в большом количестве слизисто-гнойная мокрота, иногда с прожилками крови. Микроскопия мокроты дает большое количество лейкоцитов, эритроцитов, макрофагов разнообразной микрофлоры.

**Бронхиальная астма.** Отмечается выделение скудного количества слизистой, вязкой, стекловидной мокроты. Визуально можно увидеть спирали Куршмана. Микроскопия указывает на наличие значительного количества эозинофилов, кристаллов Шарко-Лейдена и цилиндрического эпителия.

**Крупозная пневмония.** Начальный период болезни характеризуется выделением небольшого количества вязкой (клейкой) ржавой мокроты. В ржавой мокроте содержатся пленки фибрина и измененная кровь, которая и дает буроватый оттенок. Под микроскопом просматриваются эритроциты, зерна гемосидерина, кристаллы гематоидина, небольшое количество лейкоцитов и много пневмококков. В период разрешения болезни отмечается обильное отделение слизисто-гнойной мокроты. Микроскопически количество лейкоцитов увеличивается, а эритроцитов уменьшается, много макрофагов.

**Бронхоэктатическая болезнь.** Выделяется в большом количестве по утрам гнойная, зеленовато-сероватая мокрота (до 1 литра). При стоянии мокрота делится на 3 слоя: слизистый, серозный и гнойный. В гное обнаруживаются пробки Дитриха. Под микроскопом в мокроте находят большое количество лейкоцитов, кристаллы жирных кислот, холестерина и большое количество разнообразной микрофлоры.

**Абсцесс легкого.** При прорыве абсцесса в бронхах выделяется до 600 мл гнойной, зловонной мокроты. При стоянии жидкая мокрота становится двухслойной. Микроскопия обнаруживает большое количество лейкоцитов, эластические волокна, обрывки легочной ткани, кристаллы жирных кислот, холестерина и разнообразную микрофлору.

**Туберкулез легких.** Количество мокроты зависит от стадии заболевания. При наличии каверн в легких скапливается большое количество мокроты. Ее характер слизисто-гнойный, нередко с примесью крови. Визуально можно увидеть рисовидные тельца, состоящие из элементов распада легочной ткани. Под микроскопом обнаруживаются эластические волокна, кристаллы жирных кислот, гематоидина.

**Рак легкого.** Количество мокроты может быть различным, при распаде опухоли – значительным. Характер мокроты слизисто-гнойно-кровянистый. При просмотре могут быть об-

наружены обрывки ткани. Микроскопически обнаруживаются атипические клетки и их комплексы.

### **Вопросы для закрепления**

1. Каково диагностическое значение исследования мокроты?
2. Каков состав мокроты?
3. Что входит в понятие физические свойства мокроты?
4. От чего зависят характер и консистенция мокроты?
5. Чем обуславливается цвет мокроты?
6. Каково диагностическое значение клеточных элементов, встречающихся при микроскопии мокроты?
7. Расскажите о методах приготовления препаратов для бактериоскопического исследования мокроты.
8. Как производится окраска препаратов по Граму?
9. Как производится окраска препаратов по Цилю–Нильсену?
10. Какие бактерии могут быть обнаружены при микроскопическом исследовании мокроты?
11. Каков состав мокроты при различных легочных заболеваниях?

---

---

## 7. КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ

### 7.1. Исследование желудочного содержимого

Для изучения желудочной секреции используют зондовые исследования:

– одномоментный, фракционный способы, метод непрерывной аспирации, электрометрическое определение РН желудка;

беззондовые методы:

– метод ионообменных смол, эндорадиозондирование, гастроацидотесты, десмоидная проба Сали, определение уропепсина.

При зондировании желудка необходимо учитывать противопоказания к проведению исследований: повышенное АД, коронарная недостаточность сосудов сердца, декомпенсация сердечной деятельности, портальная гипертензия, склонность к кровотечениям, острые отравления, ожоги слизистой пищевода и желудка, беременность, аневризма аорты.

Желудочный сок – это секрет многочисленных желез слизистой оболочки желудка. Он участвует в процессе пищеварения и выделяется через 5–10 мин после приема пищи. Вне пищеварения желудочный сок не выделяется. Желудок здоровых людей натощак содержит от 5 до 50 мл жидкости, состоящей из секрета слизистой оболочки желудка, слюны и слизи глотки. Желудочный сок – это бесцветная жидкость без запаха, имеющая резко кислую реакцию (РН 1,5–2,5). В состав желудочного сока входят различные органические и неорганические соединения. Неорганические соединения – это соляная кислота и соли (хлориды, сульфаты, фосфаты и бикарбонаты). Соляная кислота обеспечивает кислую реакцию желудочного сока. Она содержится в виде диссоциированных ионов водорода и хлора (свободная соляная кислота) и в форме недиссоциированных молекул, соединённых с белками (связанная соляная кислота). Соляная кислота имеет большое значение в процессе пищеварения: создаёт оптимальные условия для действия ферментов желудка, способствует



набуханию соединительной ткани и растительной клетчатки, что облегчает их дальнейшее переваривание.

Органическими соединениями в желудочном соке являются протеолитические и непротеолитические ферменты. Протеолитические ферменты (пепсин, гастрин, ренин) расщепляют белки. Пепсин выделяется в неактивном состоянии в виде пепсиногена и активируется соляной кислотой. Гастрин осуществляет гидролиз белков; стимулирует кислотообразующую функцию желудка; стимулирует секрецию поджелудочной железы и печени, вырабатывающую желчные кислоты.

К непротеолитическим ферментам относится липаза, расщепляющая эмульгированные жиры молока и поэтому имеющая большое значение в пищеварении грудных детей.

Органические соединения желудочного сока представлены также незначительным количеством органических кислот (молочной и АТФ кислотой), гастромукопротеином и слизью. Слизь предохраняет слизистую оболочку желудка от механических и химических повреждений. Гастромукопротеин помогает в усвоении пищевого витамина В<sub>12</sub>, необходимого для нормального кроветворения. При обычном пищевом режиме у человека за сутки выделяется 2–2,5 л желудочного сока.

При фракционном зондировании, которое продолжается не менее 2 часов, получают 9–11 порций желудочного сока. В доставленном материале определяют количество, цвет и отмечают наличие примесей. Количество желудочного сока измеряют в каждой порции и добавляют объем содержимого желудка в порции, полученной натошак. На количество желудочного сока может влиять примесь слюны, остатки пробного завтрака, желчи.

**Цвет.** В норме желудочное содержимое мутно-белое с заметной опалесценцией. Изменение цвета может зависеть от примеси в нём крови и желчи. Примесь крови придает соку алый или бурый цвет, примесь желчи – зеленовато-желтый цвет.

**Запах** нормального желудочного содержимого немного кисловатый.

**Слизь.** У здоровых людей отмечается в небольшом количестве. Учитывается слизь, перемешанная с пробным завтраком. Слизь, плавающая на поверхности, попадает из полости рта или носоглотки. Большое количество слизи наблюдается при гипертрофическом гастрите и ахилии. При повышенной секреции желудочного сока слизь почти не обнаруживается, так как она переваривается.

## **При химическом исследовании желудочного сока определяют кислотообразующую и ферментативную функции желудка**

Исследование кислотообразующей функции желудка заключается в определении общей кислотности, а также содержания свободной соляной кислоты. Под общей кислотностью понимают сумму всех кислотореагирующих факторов, находящихся в желудочном содержимом. Этими факторами являются: свободная соляная кислота, связанная соляная кислота, кислые фосфаты, органические кислоты.

### **Метод Лепорского**

Данный метод является фракционным исследованием желудочной секреции тонким зондом, который представляет собой тонкостенную резиновую трубку длиной 1,2–1,5 м и диаметром 5 мм, диаметром просвета 2–3 мм. На закругленном конце зонда, вводимом в желудок, имеются боковые отверстия, а на поверхности зонда имеются 2 метки. Первая метка (50–55 см) указывает нахождение зонда в области дна желудка, а вторая метка (70–75 см) – о нахождении его в области привратника желудка. Зондирование производится утром, натощак.

В течение предыдущих 12 часов больной не должен принимать пищу, пить, курить и использовать жевательную резинку. Больного усаживают на стул, слепой конец стерильного зонда вводится в глубину зева строго по средней линии. Больной делает глотательное движение и зонд легко проходит в пищевод. Повторные глотательные движения продвигают зонд в желудок (метка на уровне зубов). На свободный конец зонда надевают 20-граммовый шприц и отсасывается желудочное содержимое, которое помещают в чистую пробирку. После получения первой порции желудочная секреция стимулируется пробными завтраками. Наиболее распространенные следующие:

– завтрак Боас–Эвальда, состоящий из 35 г черствого белого хлеба без корки и 400 мл теплого жидкого чая без сахара;

– алкогольный завтрак Эрмана – 300 мл 5%-го раствора этилового спирта;

– кофейный завтрак Кача состоит из 0,2 г чистого кофеина на 300 мл воды, с подкраской метиленовой синью (2–3 капли);

- мясной бульон Зимницкого – 400 мл мясного бульона после варки 1 кг обезжиренной говядины в 2 л воды;
- капустный завтрак Лепорского – 300 мл капустного сока или отвара;
- гистамин, вводимый подкожно в дозе из расчета 0,008 или 0,025 мг/кг.

После введения пробного завтрака каждые 15 мин откачивают содержимое желудка шприцом в течение 2-х часов, получают 9 порций. В каждой порции определяют кислотность в титрационных единицах.

#### Ход исследования

*К 5 мл профильтрованного желудочного сока прибавляют 1–2 капли раствора диметиламиноазобензола и 1 каплю раствора фенолфталеина. Желудочный сок титруют 0,1 нормальным раствором едкого натрия до желтовато-оранжевого окрашивания. Отмечают количество щелочи, пошедшее на первое титрование. Эту цифру умножают на 20 и высчитывают величину свободной соляной кислоты. Затем титруют до стойкого розового цвета и вновь отмечают результат. Количество щелочи, использованное на все титрование, умноженное на 20, соответствует общей кислотности.*

Более точные данные об истинной кислотности желудка дает измерение концентрации свободных водородных ионов с помощью интрагастральной РН-метрии.

*Для этой цели используется РН-метрический зонд. Электрометрическое измерение РН желудка позволяет оценить кислотообразующую функцию желудка, ощелачивающую способность двенадцатиперстной кишки, и позволяет использовать любой раздражитель. 20–40 титрационным единицам соляной кислоты соответствует РН=1,3–1,7. О нормоцидном состоянии говорят при РН от 1,5 до 2,5, о гипоацидном – при РН более 2,5, о гиперацидном – при РН менее 1,5.*

Количество желудочного сока и его состав меняются при органических заболеваниях желудка, печени, кишечника. Повышенное отделение желудочного сока – *гиперсекреция* – наблюдается при язве желудка, желчнокаменной болезни. Обычно гиперсекрецию сопровождает увеличение содержания соляной кислоты в содержимом желудка – *гиперхлоргидрия*.

Пониженное отделение желудочного сока – *гипосекреция* – сопровождается уменьшением содержания соляной кислоты и называется *гипохлоргидрия*. Такое состояние наблюдается при гастрите, раке желудка, злокачественном малокровии.

Полное отсутствие соляной кислоты в желудочном соке – *ахлоргидрия* может сопровождаться снижением содержания пепсина, но чаще содержание его остается нормальным. Отсутствие в желудочном соке соляной кислоты и пепсина называется *ахилией*. Она чаще всего наблюдается при раке желудка и некоторых формах анемий.

При исследовании ферментативной функции желудка определяют активность пепсина. Наиболее распространенным методом является метод Туголукова. В основе метода лежит протеолитическое действие ферментов желудочного сока на плазму крови. По количеству переваренного белка судят о количестве пепсина и его активности.

#### Ход исследования

*Используются: дистиллированная вода, 2% раствор сухой плазмы крови в 0,1 н. растворе соляной кислоты и 10% раствор трихлоруксусной кислоты. Для вычисления показателей используют специальную таблицу пересчета показателей белкового субстрата на содержание пепсина в желудке и пепсиногена в моче. Используются показатели в опытной и контрольной пробирках и по формуле вычисляют показатель переваривания. В норме содержание пепсина в желудочном соке после завтрака Лепорского 0,21–0,45 г/л, после гистаминового – 0,5–0,65 г/л. Определение активности пепсина можно производить беззондовым методом по концентрации уропепсиногена в моче.*

#### Микроскопическое исследование желудочного сока

Все элементы, встречающиеся при микроскопии желудочного сока, принято делить на элементы слизистой, остатки пищи и микроорганизмы. Готовят нативный и окрашенный препараты. Для окраски крахмала используют раствор Люголя, для окраски капель жира – Судан III.

Элементы слизистой состоят из слизи, лейкоцитов, эпителия, эритроцитов слизистой желудка. Эритроциты появляются при кровотечении; резкое увеличение количества

лейкоцитов отмечается при флегманозном гастрите; клетки цилиндрического эпителия выявляются при гастрите.

Среди остатков пищи встречается растительная клетчатка: неперевариваемая и перевариваемая; мышечные волокна с поперечной исчерченностью; нейтральный жир (при нарушении эвакуаторной функции желудка); крахмальные зерна обнаруживаются только при нормальной и повышенной кислотности. При застое желудочного содержимого в желудочном соке обнаруживается микрофлора: сарцины – кокки, дрожжевые грибы, палочки молочнокислого брожения. При желудочном кровотечении выявляется слизь, окрашенная кровавым пигментом и бурые кровавые массы.

## 7.2. Исследование дуоденального содержимого

Целью дуоденального зондирования является определение состояния желчевыводящих путей, желчного пузыря, печени, поджелудочной железы, в определенной степени желудка и двенадцатиперстной кишки. Изучение содержимого двенадцатиперстной кишки имеет большое значение для диагностики заболеваний органов пищеварения. Метод предусматривает получение трех порций желчи с последующим изучением физических, химических свойств, микроскопического и бактериологического исследования состава осадка.

### Ход исследования

*Для дуоденального зондирования используется дуоденальный зонд, который представляет собой эластичную резиновую трубку длиной 150 см и диаметром 3–5 мм с оливой, размером 2 см, снабженной многочисленными мелкими отверстиями. На поверхности зонда нанесены 3 метки: первая – на расстоянии 45 см от оливы, что соответствует расстоянию от полости рта больного до желудка, вторая – на расстоянии 70 см (вход в привратник) и третья – на расстоянии 80 см, что соответствует расстоянию от оливы до двенадцатиперстной кишки.*

*Дуоденальное зондирование проводится утром натощак. Больной сидит на стуле. Исследователь берет стерильный зонд правой рукой у конца с оливой и кладет ее на язык больного, строго по средней линии. Больной дышит носом, продвигая оливу к концу языка, затем он должен делать глотательное движение и зонд проходит в пищевод. Повторные*

*глотательные движения продвигают зонд в желудок. Больного укладывают на правый бок на кушетку без подушки. На область проекции печени подкладывают теплую грелку и валик, чтобы нижняя часть туловища была приподнята. В таком положении больной продолжает заглатывать зонд до проникновения оливы в двенадцатиперстную кишку. На этот процесс затрачивается обычно 1–1,5 часа. Свободный конец зонда помещают в пробирку, находящуюся в штативе, помещенном ниже больного. Пробирки меняют каждые 5–10 минут.*

*При проникновении оливы в двенадцатиперстную кишку в пробирку поступает дуоденальное содержимое светло-желтого цвета щелочной реакции, которое носит название желчи порции «А» – содержимое двенадцатиперстной кишки. Порцию «А» собирают 20–40 минут.*

*Для получения второй порции в зонд вводят 30–50 мл 33%-го раствора сернокислой магнезии при температуре 37–38°С (с целью сокращения желчного пузыря) и зажимают зонд на 5–7 мин. Через 7–17 мин после введения раздражителя из зонда начинает вытекать темно-оливковая желчь порции «В».*

*Спустя 25–30 мин отделение пузырьной желчи прекращается и из зонда вновь поступает золотисто-желтая жидкость – это печеночная желчь, порции «С».*

Данный метод называется трехфазным методом получения желчи, существует еще фракционный метод – многомоментное дуоденальное зондирование.

### **Физические свойства желчи**

Желчь – это коллоидный раствор, содержащий органические и неорганические вещества. Количество выделенной желчи составляет 1 мл в минуту в порциях «А» и «С» и 2 мл в минуту в порции «В».

**Цвет.** Желчь порций «А» и «С» золотисто-желтого цвета, а порции «В» – коричневого или темно-оливкового цвета. Интенсивность окраски отдельных порций зависит от содержания в них билирубина. Изменение цвета порции «А» из-за примеси крови отмечается при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, геморрагическом диатезе, опухоли фатерова соска. Зеленоватый цвет желчи порции «В» указывает на застой или инфекцию в желчном пузыре, порции «С» – на наличие холангита. Очень темная окраска желчи порции «В» бывает при

застойных явлениях в желчном пузыре. Светлые тона желчи отмечаются после перенесенного гепатита. Наличие хлопьев в порциях говорит о дуодените, холецистите, холангите.

**Прозрачность.** В норме все порции желчи прозрачные. Помутнение порции «А» может быть от примеси желудочного сока или элементов воспаления.

**Консистенция желчи** порций «А» и «С» слегка вязкая, а порции «В» – густая, что связано со значительной концентрацией желчи в желчном пузыре.

**Удельный вес желчи** порций «А» и «С» равен 1008–1016, а порции «В» – 1016–1032 и зависит от содержания в желчи плотных веществ.

**Реакция желчи** в норме бывает слабощелочной: РН порции «А» – 8,1–9,0; РН порции «В» – 6,5–7,3; РН порции «С» – 7,5–8,2. При наличии воспалительного процесса в желчном пузыре реакция желчи смещается в кислую сторону.

### **Микроскопическое исследование**

Микроскопическое исследование желчи проводят сразу после дуоденального зондирования, так как ферменты желчи быстро разрушают форменные элементы. Все элементы микроскопического исследования делятся на клеточные, кристаллические образования и паразиты.

*Клеточные элементы* представлены лейкоцитами и эпителиальными клетками. В норме и те и другие встречаются в единичном количестве. Увеличение количества лейкоцитов может указывать на воспаление желчевыводящей системы. Они чаще располагаются в слизи с большим количеством цилиндрического эпителия.

*Кристаллические образования* представлены билирубинатом кальция в виде аморфных крупинок золотисто-желтого цвета. При их увеличении говорят о «желчном песке». Они могут встречаться вместе с кристаллами холестерина. При предрасположенности к камнеобразованию в желчи можно увидеть микроскопические камни (микролиты) – компактные, многогранные образования, состоящие из холестерина, слизи и извести.

*Паразиты.* В желчи могут быть обнаружены простейшие: бесцветные, снабженные жгутиками лямблии, которые в свежем дуоденальном содержимом подвижны. Реже в желчи обнаруживаются личинки угрицы, яйца сибирской двуустки и аскариды.

### 7.3. Копрологическое исследование

Кал – содержимое кишечника, выделяющееся при акте дефекации. В норме кал состоит из 80% воды и 20% плотного остатка, состоящего из клеток желудочно-кишечного тракта, мертвой бактериальной флоры и остатков пищи. Изучение состава кала помогает при диагностике кишечных инфекций, язвенных и воспалительных процессов, нарушении функции печени и поджелудочной железы, инвазии кишечными паразитами. Для исследования кал собирают в чистую, сухую, лучше стеклянную посуду, желателно утреннюю порцию. Особенно важно исследовать свежие фекалии для обнаружения простейших и личинок гельминтов. Специальную подготовку больного не проводят, однако рекомендуется за 2–3 дня до исследования не применять лекарственные препараты, меняющие характер кала и вызывающие функциональные нарушения желудочно-кишечного тракта (препараты железа, висмута, слабительные препараты и так далее).

Клинический анализ кала включает: макроскопическое, химическое и микроскопическое исследования.

Физические свойства, или макроскопическое исследование, определяют: при осмотре на глаз, а также количество, форму, консистенцию, цвет, запах, реакцию, примеси.

**Количество кала** у здорового человека при смешанном питании составляет 100–200 г. Увеличение суточного количества отмечается при обильной растительной пище, повышенной перистальтике кишечника, нарушении кишечного переваривания и всасывания. Уменьшение суточного количества кала связано с замедленной эвакуацией, голоданием или ограничением приема пищи.

**Форма и консистенция** фекалий зависит от содержания воды. Нормальный кал имеет колбасовидную форму и однородную плотноватую консистенцию. «Овечий кал» отмечается при спастических колитах. Жидкая, водянистая консистенция кала наблюдается при недостаточности кишечного переваривания, всасывания и ускоренной эвакуации из тонких кишок. Жидкий, пенистый кал отмечается при преобладании бродильных процессов в кишечнике. Жидкий, белесоватый с комками слизи в виде «рисового отвара» – при холере. Жидкий в виде «горохового супа» – при брюшном тифе; желеобразный, скудный («ректальный плевок») – при дизентерийном колите.



**Цвет кала** имеет различные оттенки коричневого цвета и зависит от присутствия в кале стеркобилина, образующегося из билирубина под влиянием кишечных бактерий. Цвет кала зависит от характера пищи, приёма лекарственных препаратов и наличия примесей. При употреблении молочной пищи цвет кала приобретает светло-коричневый или желтый цвет; при мясной диете – темно-коричневый; при растительной – может быть зеленоватым; красноватый цвет кала наблюдается при употреблении в пищу свеклы. Карболен, висмут, железо придают калу черный цвет.

Черный, дегтеобразный кал бывает при кровотечениях из верхних отделов желудочно-кишечного тракта; белый, обесцвеченный – при недостаточном поступлении желчи в кишечник; желтый с зеленоватым оттенком – при бродильной диспепсии; красный цвет кала может быть при кровотечениях из дистальных отделов кишечника; темно-коричневый – при гнилостной диспепсии.

**Запах кала** зависит от присутствия в нём индола, скатола, фенола; обычно запах кала неприятный, но не резкий. При преобладании мясной пищи запах кала усиливается, при растительной и молочной диете становится слабее, при запоре и голодании – почти отсутствует. При патологических процессах в кишечнике запах может быть: гнилостный – при гнилостной диспепсии, гнилостном колите, распаде опухоли; острый, кислый – при бродильной диспепсии за счет образования органических кислот.

**Реакция.** В норме при смешанном питании реакция кала нейтральная или слабощелочная. Резкощелочная реакция отмечается при усилении гнилостных процессов в кишечнике, а резкокислая – при преобладании бродильных процессов.

**Примеси пищевого происхождения.** В норме с калом выделяются непереваренные частицы растительной пищи (огурцов, помидоров, лука, орехов, салата, кожицы фруктов), а также сухожилия, кусочки хрящей.

**Примеси непищевого происхождения** встречаются при патологических процессах. Алая кровь в кале наблюдается при кровотечении из нижних отделов кишечника. При воспалительных процессах кишечника в кале появляется слизь; чем выше расположен пораженный отдел, тем больше слизь перемешана с калом. Гной в кале появляется при тяжелых воспалительных поражениях кишечника (дизентерия, туберкулез кишечника); а также при прорыве париентального абсцесса в кишечник; при наличии нагноившейся опухоли. В кале мо-

гут быть обнаружены гельминты – особи круглых червей и членики ленточных червей.

### **Химическое исследование кала**

Результаты химического исследования кала могут дать представление о поражении слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, о нарушении желчевыделительной функции и некоторое представление о ферментообразующей функции кишечника. В фекалиях определяют скрытую кровь, стеркобилин, белок и муцин.

При проведении исследования на скрытую кровь, больному за 2–3 дня до проведения анализа назначают безмясную и безхлорофильную диету. На это время из пищи больного исключают рыбу, мясо, зеленые части растений, так как эти пищевые вещества могут катализировать реакции, которые применяются для обнаружения крови.

Принцип реакций на обнаружение скрытой крови основан на пероксидазном действии гемоглобина, который отнимает водород от некоторых органических соединений (бензидин, амидопирин, гваяковая смола и другие) и передает его перекиси водорода. Получаются окрашенные или флуоресцирующие соединения.

#### **Бензидиновая проба (проба Грегерсена)**

**Реактивы:** раствор ацетата бензидина растворяют в 5 мл 50% уксусной кислоты и добавляют 5 мл 3% раствора перекиси водорода. Реактив готовят перед употреблением.

#### **Ход исследования**

*На предметном стекле готовят толстый мазок кала, прибавляют 2–3 капли свежеприготовленного реактива и тщательно перемешивают. При положительной реакции – наличие скрытой крови – через 1–2 мин на мазке появляется зеленое или сине-зеленое окрашивание. Окрашивание, появившееся позднее этого срока, не учитывают. Проба очень чувствительна. Реакцию оценивают на белом фоне.*

#### **Амидопириновая проба**

**Реактивы:** 5% спиртовой раствор амидопирина, 30% раствор уксусной кислоты и 3% раствор перекиси водорода.

## Ход исследования

*Готовят каловую эмульсию в разведении 1:10. Наливают в пробирку в равных количествах (по 2–3 мл) приготовленной эмульсии и раствор амидопирина, сверху добавляют по 10–12 капель уксусной кислоты и перекиси водорода. В присутствии крови появляется сине-фиолетовое окрашивание. Отрицательный ответ дают через 2–3 мин.*

При проведении реакции на скрытую кровь посуда и реактивы должны быть химически чистыми, в противном случае можно получить ложные положительные результаты. Положительные реакции на скрытую кровь обнаруживают при язвенных, воспалительных и опухолевых процессах в желудочно-кишечном тракте.

## Микроскопическое исследование кала

Исследование дает возможность диагностировать нарушение ферментативной деятельности пищеварительной системы. Для микроскопического исследования кала готовят три мазка.

Первый мазок – нативный препарат: на предметное стекло наносят небольшой кусочек кала, растирают его тонким слоем, покрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом. Под микроскопом видны мышечные волокна, соединительная ткань, растительная клетчатка. При патологических процессах в кишечнике в мазке обнаруживается большое количество лейкоцитов (при воспалительных, некротических и язвенных процессах в кишечнике, туберкулезе); эритроциты (при кровотечениях из нижних отделов кишечника); эпителиальные клетки (цилиндрический эпителий в большом количестве указывает на воспаление слизистой оболочки толстой кишки); эозинофилы (при амебной дизентерии, гонорее прямой кишки). С целью обнаружения вегетативных форм простейших рекомендуется исследовать «теплый» кал. Диагностическое значение имеет обнаружение патогенных простейших: дизентерийной амебы, кишечного балантидия, лямблий. Грибы рода Кандида размножаются при подавлении нормальной микрофлоры кишечника и развитии дисбактериоза.

Второй мазок готовят с добавлением нескольких капель Судана III, который окрашивает непереваренный жир в оранжево-желтый цвет. Повышенное содержание в кале непереваренного жира (нейтрального жира, жирных кислот,

мыл) называется *стеаторея* и наблюдается при нарушении поступления желчи в кишечник, при повышенной моторной функции тонкой кишки, при нарушении переваривания жиров в тонкой кишке, амилоидозе кишечника, туберкулезе мезентериальных узлов.

К третьему мазку добавляют несколько капель люголевского раствора, в присутствии которого крахмальные зерна и йодофильные бактерии окрашиваются в синий и черный цвета. Наличие в мазке большого количества крахмальных зерен (амилорея) встречается при понижении внешнесекреторной функции поджелудочной железы, энтеритах. Йодофильная флора (кокки, палочки, клостридии) появляются в кале при бродильной диспепсии, дисбактериозе.

Инвазии людей паразитическими червями распространены довольно широко. Гельминты – это паразитические многоклеточные организмы, относящиеся к низшим червям. Гельминтов, паразитирующих в организме человека, относят к следующим классам:

1. Трематоды, или сосальщики.
2. Цестоды, или ленточные черви.
3. Нематоды, или круглые черви.

К классу сосальщиков относятся: описторх, клонорх, ланцетовидный сосальщик, печеночный сосальщик, легочной сосальщик, кровяные сосальщики, метагоним.

К классу ленточных червей относятся: широкий лентец, бычий цепень, свиной цепень, карликовый цепень, эхинококк, альвеококк.

К классу круглых червей относятся: острица, аскарида, власоглав, анкилостома, некатор, стронгилоид, трихинелла.

С целью обнаружения яиц глистов кроме микроскопического исследования нативного препарата пользуются методами обогащения. Наиболее распространенные методы: Калантаряна с использованием насыщенного раствора селитры, Фюллеборна – с насыщенным раствором поваренной соли. Широко используется метод перианального соскоба шпательом для диагностики энтеробиоза.

### Вопросы для закрепления

1. Каков состав желудочного сока в норме?
2. Как меняется количество и кислотность желудочного сока при различных состояниях?
3. Расскажите о видах раздражителей желудочной секреции.

4. В чём диагностическая ценность фракционного метода исследования желудка?
5. Как получают желудочное содержимое при фракционном зондировании?
6. Расскажите о методах беззондового исследования функций желудка.
7. Дайте характеристику физическим свойствам желудочного содержимого.
8. Что определяют при химическом исследовании содержимого желудка?
9. Что определяют при макроскопическом исследовании желудочного сока?
10. Расскажите о методах получения дуоденального содержимого.
11. Какие исследования проводятся с полученными порциями желчи?
12. Дайте характеристику физическим свойствам желчи.
13. Что определяют при макроскопическом исследовании желчи?
14. Какое диагностическое значение имеет исследование испражнений?
15. Каковы физические свойства кала?
16. Какие химические реакции проводятся при исследовании кала и каково их диагностическое значение?
17. В чем заключается метод определения наличия в кале скрытой крови (бензидиновая проба)?
18. В чем заключается метод определения наличия в кале скрытой крови (амидопириновая проба)?
19. Какие группы элементов обнаруживаются при микроскопическом исследовании испражнений?
20. В чем заключается метод приготовления мазка с целью обнаружения яиц гельминтов?
21. Как осуществляется диагностика энтеробиоза?

---

---

## 8. КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ МОЧЕВЫДЕЛЕНИЯ

Моча – это биологическая жидкость, вырабатываемая почками и выводимая из организма через систему мочевыводящих путей. Она удаляет из организма продукты обмена, избыток воды и солей, а также посторонние вещества, в том числе токсические, поступающие через желудочно-кишечный тракт или образующиеся в нем. Благодаря отделению мочи поддерживается постоянство внутренней среды организма. Образование ее происходит путем фильтрации плазмы крови в почечных клубочках и обратного всасывания большинства растворенных в ней веществ и воды в канальцах. Составные части мочи доставляются к почкам в готовом виде кровью. Сами почки их не вырабатывают. В них образуются только аммиак и гиппуровая кислота.

Состав мочи: продукты белкового обмена – мочевины, мочевая кислота, креатинин, индикан; минеральные вещества – ионы калия, натрия и других металлов; соли – хлориды, сульфаты, фосфаты и другие; пигменты – урохром, уробилин; ферменты – пепсин, амилаза; гормоны – половые, коры надпочечников; витамины – комплекс В и С и многие другие вещества, всего около 150 различных компонентов. Состав мочи может меняться в зависимости от употребляемой пищи и выпитой жидкости. Клинический анализ мочи имеет важное значение для диагностики многих заболеваний и не требует сложного лабораторного оборудования и дорогих расходных материалов. Изучение состава мочи, ее физических свойств, элементов мочевого осадка дает сведения о процессах, происходящих в организме, обмене веществ, действии лекарственных препаратов.

На практике различают:

- клинический анализ мочи, включающий микроскопию мочевого осадка, измерение плотности мочи, определение цвета, запаха;
- биохимический анализ, то есть проведение качественного и количественного определения различных веществ.

Помимо клинического анализа, производят цитологическое исследование мочевого осадка, оценку бактериурии, а

также исследование токсических веществ (токсикологический анализ).

При условии правильного сбора мочи и точного выполнения методик этот анализ имеет большую диагностическую ценность.

### **8.1. Правила сбора мочи**

Для клинического анализа желательно брать первую утреннюю порцию, так как она наиболее концентрирована и с ней вымываются патологические элементы, скопившиеся в почках и мочевыводящих путях за ночь. Перед сбором мочи необходим тщательный туалет наружных половых органов, чтобы в мочу не попали выделения из них. Для удобства пациента сбор мочи производится в чистую, сухую, не протекающую посуду с широким горлом из светлого стекла. На посуде укрепляют направление с указанием фамилии, имени, отчества больного, даты, предполагаемого диагноза, названия посылаемого материала и исследования, которые требуется произвести.

При необходимости мочу берут катетером, это должно быть отмечено в направлении.

Суточную мочу собирают в 2–3 литровую емкость. Первую, после сна, порцию сливают в унитаз и начинают сбор со второй порции – весь день и всю ночь, захватывая утреннюю порцию следующего дня. Суточную мочу необходимо оберегать от брожения и загнивания, поэтому ее хранят на холоде.

Специальные виды исследований требуют четкого выполнения требований по сбору материала. Так, мочу для исследования осадка по Нечипоренко берут не более 15–20 мл и обязательно в середине мочевого струи первой утренней порции. При исследовании на диастазу – моча должна быть теплая, свежевыделенная для сохранения активности фермента.

Обычно производят общий или клинический анализ мочи, включающий следующие определения: 1) описание физических свойств мочи; 2) химическое исследование мочи на белок и глюкозу; 3) микроскопическое исследование осадка. Исследования, не относящиеся к клиническому исследованию, следует производить только по специальному требованию врача, что должно быть отражено в направлении.

выделительной функции почек (острая почечная недостаточность, тяжелые формы острого гломерулонефрита).

**Изурия** – одинаковое соотношение ночного и дневного диуреза наблюдается при заболеваниях почек (хронический гломерулонефрит, нефросклероз).

Частота мочеиспускания колеблется в пределах 3–6 раз в сутки.

**Поллакиурия** – частое мочеиспускание отмечается при приеме большого количества жидкости, при воспалении мочевого пузыря (цистит).

**Оллакиурия** – редкое мочеиспускание наблюдается при ограниченном приеме жидкости и при нервно-рефлекторных нарушениях.

**Дизурия** – расстройство мочеиспускания. Различают острую задержку мочеиспускания; недержание мочи; неудержание мочи; учащенное и затрудненное мочеиспускание.

### Цвет мочи

Цвет мочи определяют простым осмотром после предварительного отстаивания в проходящем свете на белом фоне. Цвет мочи колеблется от светло-желтого (соломенно-желтого) до насыщенно желтого, обусловлен содержащимися в ней пигментами (урохромов) и тесно связан с ее количеством и плотностью. При полиурии моча светло-желтая, а при олигурии – насыщенно-желтая. Цвет мочи меняется при различных патологических состояниях и приеме некоторых лекарственных веществ. Моча цвета «мясных помоев» свидетельствует о примеси в моче измененной крови и наблюдается при остром нефрите. Красный цвет мочи наблюдается при почечной колике, инфаркте почки, розовая окраска – при приеме различных лекарственных средств (ацетилсалициловая кислота). Моча цвета «пива» наблюдается при паренхиматозной желтухе за счет наличия в ней желчных пигментов. Цвет мочи в виде «крепкого чая» обусловлен уробилинурией при гемолитической анемии. Темный, почти черный цвет мочи отмечается при гемолитической почке за счет развития гемоглобинурии. Зеленовато-желтый цвет мочи характерен для механической желтухи за счет появления в ней билирубина.

На цвет мочи влияет прием пищи: свекла, морковь, черноплодная рябина, ревен, александрийский лист придают моче необычную окраску.



## Прозрачность

Свежевыделенная моча в норме прозрачна. Мутность может быть обусловлена присутствием в ней большого количества солей, клеточных элементов, бактерий, белка, слизи и капель жира. Мутность, зависящая от мочекислых солей, исчезает при нагревании. Мутность, зависящая от фосфатов, исчезает при прибавлении к ней нескольких капель кислоты. Мутность, обусловленная присутствием клеточных элементов, слизи, удаляется фильтрованием, центрифугированием. Мутность, обусловленная бактериями, исчезает после фильтрования через бактериальный фильтр. Мутность, обусловленная присутствием жира, исчезает при смешивании мочи с эфиром. Прозрачность мочи обозначают как полную или неполную. Если моча мутная, то определяют степень помутнения (слабомутная, мутная).

## Запах

Свежевыделенная моча здорового человека имеет своеобразный слабый ароматический запах. При наличии в моче ацетоновых тел появляется фруктовый запах. Гнилостный запах появляется при распаде белка, гноя, крови. Каловый запах может указывать на наличие пузырьно-ректального свища. Аммиачный запах при мочеиспускании свидетельствует о тяжелом цистите или распаде раковой опухоли. Резко зловонный запах приобретает моча при употреблении в пищу больших количеств чеснока, спаржи, хрена.

## Удельный вес мочи

Удельный вес мочи (относительная плотность) зависит от количества растворенных в ней плотных веществ, выпитой жидкости и от количества выведенной мочи. Относительная плотность отражает концентрационную способность почек и в норме при обычном пищевом режиме в течение суток колеблется от 1008 до 1025. Измеряют удельный вес мочи с помощью урометра.

## Ход исследования

*Используется стеклянный цилиндр, в который наливают по стенкам мочу и погружают в нее урометр. Уровень нижнего мениска указывает величину удельного веса.*

## Реакция мочи

Реакция мочи зависит от характера приёма пищи исследуемого. В норме свежесвыделенная моча имеет слабокислую реакцию при смешанном рационе питания. Ориентировочным является способ определения реакции мочи с использованием индикаторной универсальной бумаги.

### Ход исследования

*Полоску индикаторной бумаги погружают в мочу и сразу же сравнивают полученную окраску со шкалой, цвета которой соответствуют определенному значению РН.*

Реакция сдвигается в щелочную сторону при преобладании в рационе растительной пищи, при бактериальных воспалениях, вследствие распада новообразований мочевых органов, при застое мочи в мочевом пузыре, при значительной гематурии. Кислая реакция мочи наблюдается при преобладании в рационе белковой пищи, при тяжелой физической нагрузке, при лихорадочных состояниях, голодании, диабете, молочнокислом диатезе. При длительном стоянии реакция мочи сдвигается в щелочную сторону.

## Осадок

Описывают осадок, видимый на глаз. Отмечается характер осадка, цвет, объем. Осадок может быть аморфный и кристаллический; белый, розовый или красный; значительный (обильный) или незначительный.

### 8.3. Химическое исследование мочи

#### Определение белка в моче

Перед проведением химического исследования необходимо профильтровать мочу. Каждый клинический анализ мочи включает качественное определение белка. При положительной качественной пробе обязательно определяют количество белка в моче. Все качественные пробы основаны на способности белка коагулировать под действием кислот и температуры. В результате реакции свернувшийся белок дает мутность и обнаружить его можно только в прозрачной моче.

## Проба с сульфосалициловой кислотой

### Ход исследования

*В две пробирки наливают по 3–4 мл мочи, затем в одну из пробирок добавляют 5–7 капель 20% раствора сульфосалициловой кислоты, хорошо перемешивают. Обе пробирки рассматривают рядом на черном фоне. Одна пробирка только с мочой без реактива используется для сравнения как контроль. Появление во второй пробирке мутности свидетельствует о наличии белка.*

## Кольцевая проба Геллера с азотной кислотой или реактивом Ларионовой

### Ход исследования

*В пробирку наливают 1–2 мл азотной кислоты или реактив Ларионовой (1% раствор азотной кислоты в насыщенном растворе хлорида натрия), затем осторожно по стенке пробирки наслаивают профильтрованную мочу. При наличии белка в моче на границе двух жидкостей образуется белое кольцо, которое лучше просматривается на темном фоне. Учитывается время появления нитевидного кольца. Чувствительность пробы 0,033 г/л. При таком содержании белка на границе двух жидкостей появляется белое нитевидное кольцо между 2-й и 3-й минутами.*

Выделение белка с мочой называется протеинурией. У здоровых людей содержание белка в моче не превышает 50 мг. Протеинурия может быть ложная (внепочечная) и истинная (почечная). *Ложная протеинурия* обусловлена форменными элементами крови и воспалительным экссудатом. *Истинная протеинурия* может быть физиологическая – при обильном приеме белковой пищи, физических нагрузках, переохлаждении; функциональная – за счет стаза крови и замедления кровотока в клубочках: ортостатическая, застойная, лихорадочная, протеинурия при беременности. По количеству выделенного с мочой белка протеинурию подразделяют на массивную (3 г/сутки и выше), умеренную (от 1 до 3 г/сутки) и малую (до 1 г/сутки).

## Определение глюкозы в моче

При проведении общеклинического анализа мочи обязательным является определение глюкозы, которое проводится

различными методами. Наличие сахара в моче носит название *глюкозурии*. В нормальной моче содержатся следы глюкозы 0,03–0,05 г/л. Временная глюкозурия возникает при употреблении большого количества углеводов, при волнении, введении больших доз адреналина, у беременных, у пожилых людей, при эпилепсии и сотрясении головного мозга. Патологическая – связана с нарушением фосфорилирования глюкозы в канальцах в результате недостатка инсулина (сахарный диабет; гиперсекреции АКТГ, тироксина, глюкокортикоидов).

Качественные реакции на сахар основаны на редукционных свойствах глюкозы. Глюкоза способна восстанавливать гидрат окиси меди в гидрат закиси меди желтого цвета или в закись меди красного цвета.

### **Проба Троммера**

Ход исследования

*В пробирку наливают 4–5 мл мочи, добавляют 1–1,5 мл 10% раствора едкого натра и 8–10 капель 10% раствора медного купороса, затем кипятят. При наличии сахара в моче синий цвет содержимого пробирки окрашивается в кирпично-красный или оранжевый цвет.*

### **Проба Гайнеса**

Ход исследования

*В пробирку наливают 3–4 мл реактива Гайнеса (состоящего из сульфата меди, едкого натра и глицерина) и добавляют к нему 8–12 капель мочи, кипятят. В присутствии глюкозы появляется желтое или оранжевое окрашивание жидкости и осадок.*

Для оценки наличия сахара в моче следует принимать во внимание не процент его в отдельной порции, а количество сахара в граммах, выделяемое за сутки. Для этого необходимо вычислять абсолютное содержание глюкозы в суточной моче.

**Количественное содержание глюкозы в моче определяется:**

1. Поляриметрическим методом, основанным на способности глюкозы вращать плоскость поляризованного луча вправо.

2. Анализатором «ЭКСАН – Г», предназначенным для экспресс-анализа глюкозы в биологических жидкостях. Принцип действия анализатора основан на электрохимическом амперометрическом определении продуктов ферментативной реакции окисления глюкозы, катализируемой ферментом глюкозооксидазой, с последующим преобразованием в постоянное напряжение и фиксацией аналого-цифровым преобразователем.

3. Глюкотестом – экспресс-методом, основанным на ферментативном окислении глюкозы высокоспецифичным ферментом глюкозооксидазой.

4. Индивидуальным глюкометром – экспресс-метод.

5. Определение глюкозы в моче по цветной реакции с ортотолуидином. При этом исследуемую мочу разводят дистиллированной водой от 2 до 10 раз, в зависимости от характера качественной реакции. Используется аппарат фотоэлектроколориметр (ФЭК).

### Определение ацетона в моче

Ацетоновые, или кетоновые, тела. Этим названием объединяют ацетон, ацетоуксусную и бета-оксимасляную кислоты, которые являются продуктами неполного окисления белков и жиров. У здорового человека углеводы, жиры, часть белков окисляются до углекислого газа и воды, освобождая при этом значительное количество энергии. При некоторых патологических состояниях, в частности при сахарном диабете, снижается выработка инсулина. В печени сокращаются запасы гликогена, многие ткани организма испытывают энергетический голод. И тогда активизируются процессы окисления белков и жиров в печени, но недостаток гликогена ведет к неполному их окислению и накоплению в крови недоокисленных продуктов жирового и белкового обмена – кетоновых тел. Накопление их в крови приводит к сдвигу реакции крови в кислую сторону. Это состояние называется *ацидозом*. Моча такого больного имеет резко кислую реакцию и пахнет ацетоном. Ацетонурия наблюдается в тяжелых случаях сахарного диабета как результат нарушения жирового обмена; реже встречается при голодании; при токсикозе беременности; при раке желудка; диарее; упорной рвоте; при отравлении свинцом, окисью углерода; при тиреотоксикозе, в связи с усиленным расходом углеводов.

## Определение ацетона в моче

### Ход исследования

*В пробирку наливают 8–10 мл профильтрованной мочи и добавляют 1–1,5 мл уксусной кислоты и 0,5 мл свежеприготовленного раствора нитропруссид натрия. После этого осторожно по стенке наливают аммиак. Появление фиолетового кольца на грани соприкосновения жидкостей свидетельствует о наличии в моче ацетона. В зависимости от интенсивности фиолетового кольца реакция обозначается как резко положительная, положительная и слабоположительная.*

## Определение билирубина (желчных пигментов) в моче

Нормальная моча желчных пигментов не содержит. С мочой может выделяться при патологических состояниях только прямой билирубин (билирубинурия). Непрямой билирубин не проходит через неповрежденный почечный фильтр. Билирубинурия появляется при увеличении прямого билирубина в крови выше 3,4 мкмоль/л при заболеваниях, связанных с поражением паренхимы печени (гепатиты, циррозы печени, сердечная недостаточность) и обтурации желчных путей.

### Ход исследования

*Желчные пигменты в моче определяют с помощью пробы Розина. В пробирку наливают 4–5 мл нефилтрованной мочи и по стенке пробирки наслаивают 1% спиртовой раствор йода или раствор Люголя. При наличии желчных пигментов на границе жидкостей образуется зеленое кольцо.*

## 8.4. Микроскопическое исследование мочи

Моча является экскретом, в котором находятся в виде водного, а отчасти и коллоидного раствора различные органические и неорганические вещества. Кроме растворенных составных частей, в моче имеются также нерастворенные вещества в кристаллическом и аморфном состоянии, называемые *неорганизованными осадками*, и форменные элементы, получившие название *организованных осадков*.

К организованным осадкам относятся все соли, органические соединения и лекарственные вещества, осевшие в моче в виде кристаллов или аморфных тел. К организованным осад-

ние содержания лейкоцитов в моче наблюдается при воспалительных процессах в мочевыводящих путях и почках, нефролитиазе, опухолях, инфаркте почек, травмах, туберкулезе, лихорадке. Наличие в моче большого количества лейкоцитов (более 50 в поле зрения) носит название *пиурии* и характерно для острой инфекции.

**Эритроциты** у здорового человека могут встречаться единичные – 0–2 в поле зрения. При исследовании мочи у женщин необходимо исключить попадание крови из гениталий (менструальная кровь, гинекологические заболевания). По интенсивности эритроцитурии различают *макрогематурию* (моча цвета «мясных помоев», темно-коричневая, черная) и *микрогематурию* (цвет мочи не изменен, эритроциты обнаруживаются при микроскопии осадка). Эритроциты могут быть свежими и выщелоченными. Свежие эритроциты встречаются при мочекаменной болезни, опухолях, травмах мочевыводящих путей, инфекциях (туберкулез, лептоспироз), нефроптозе, тромбозе почечных сосудов, поликистозе, инфаркте почки. Выщелоченные эритроциты встречаются при гломерулонефритах, нефропатиях, лекарственном поражении почек. Кратковременная макрогематурия наблюдается у практически здоровых лиц после длительной тяжелой физической нагрузки (у спортсменов).

**Эпителиальные клетки** в норме – единичные в поле зрения. Эпителий разделяют на плоский, переходный и почечный. Плоский эпителий попадает в мочу из влагалища и наружных половых органов. Это большие овальные или полигональные клетки с маленьким ядром, расположенным в центре. В моче у женщин этих клеток встречается больше, чем у мужчин и они не имеют диагностического значения.

Переходный эпителий – это эпителий мочевого пузыря, мочеточников и почечных лоханок. Они различной величины и формы, окрашены в желтоватый цвет урохромом. В норме встречаются единичные клетки. Увеличение их количества отмечается при циститах, пиелитах, новообразованиях в мочевыводящих путях.

Почечный эпителий выделяется из канальцев почки, в моче здорового человека не встречается. Это небольшие, неправильно округлой формы клетки: с цитоплазмой желтоватого цвета, с мелкими зернами, чаще безъядерные. Появление их в сочетании с протеинурией и цилиндрами указывает на воспалительный процесс в почечных канальцах, а также на дегенеративные изменения в почечной ткани,

встречающиеся при гломерулонефрите и нефротическом синдроме.

**Цилиндры** – белковые образования, которые образуются в канальцах нефрона: имеют цилиндрическую форму с закругленными концами. В норме в моче не обнаруживаются, появляются при патологических состояниях. Они бывают гиалиновые, зернистые, восковидные, лейкоцитарные, эритроцитарные и другие.

*Гиалиновые* – нежные, стекловидные, гомогенные, клейкие, к ним легко прилипают клетки и соли. Гиалиновые цилиндры появляются при всех видах протеинурии и при лихорадочных состояниях.

*Зернистые* – с клеточными элементами в стадии дегенеративного распада. Появляются при гломерулонефрите, пиелонефрите, нефротическом синдроме.

*Восковидные* – серо-желтого цвета, матовые, с четкими контурами. Появляются при нефротическом синдроме различного происхождения, амилоидозе, липоидном нефрозе.

*Лейкоцитарные* цилиндры состоят из лейкоцитов и встречаются при пиелонефрите; нефрите, развившемся при «красной волчанке».

*Эритроцитарные* цилиндры состоят из эритроцитов и выявляются при остром гломерулонефрите, инфаркте почки, злокачественной гипертензии. Фибринные цилиндры в норме не встречаются, появляются при геморрагической лихорадке с почечным синдромом.

От цилиндров следует отличать цилиндроиды, которые похожи на гиалиновые цилиндры, но более длинные с вытянутым в виде нити, одним концом. Считают, что они образуются из слизи и встречаются в нормальной моче.

**Бактериурия** – выделение микробов с мочой, обнаруживается при инфекции мочевых путей.

**Неорганизованный осадок мочи** состоит из солей и кристаллических образований, встречающихся в нормальной и патологической моче. Этот осадок зависит от реакции мочи (РН). К солям мочи с кислой реакцией относятся: кристаллы мочевой кислоты, ураты, оксалаты. К солям мочи с щелочной реакцией относятся трипельфосфаты, аморфные фосфаты, мочекислый аммоний, углекислый кальций.

Кристаллы мочевой кислоты имеют разнообразную форму: в виде гребней, бочонков, ромбических табличек и окрашены они в ярко-желтый цвет. Кристаллы мочевой кислоты



концентрированной моче с низким удельным весом и дольше сохраняются в кислой и концентрированной моче с высоким удельным весом. Обычно мочу собирают за 10–12 часов.

#### Ход исследования

*Перед сном больной опорожняет мочевой пузырь и отмечает время, затем собирает мочу за 10–12 часов в один сосуд (для предотвращения разрушения клеточных элементов в сосуд добавляют кристаллик тимола). Мочу тщательно перемешивают, измеряют и отбирают для исследования 1/5 часть. Мочу центрифугируют при скорости центрифуги 2000 об/мин в течение 5 мин. Камеру Горяева заполняют, приготовленным осадком, определённого объёма; подсчитывают количество форменных элементов и цилиндров, выделенных с мочой за сутки по упрощенной формуле. В норме за сутки выделяется до 1 000 000 эритроцитов, 2 000 000 лейкоцитов и 100 000 цилиндров.*

При гломерулонефритах преобладают эритроциты над лейкоцитами, количество цилиндров увеличивается. При пиелонефритах и воспалении мочевых путей имеется общее увеличение форменных элементов, но с преобладанием количества лейкоцитов над эритроцитами. Число цилиндров не увеличивается

#### Метод Нечипоренко

В 1961 году А.З. Нечипоренко описал метод определения форменных элементов в 1 мл мочи. Метод прост, доступен любой лаборатории и удобен в амбулаторной практике. Данный метод имеет ряд преимуществ перед другими, ранее известными количественными методами. Он не обременителен для обследуемого и персонала, так как не требует сбора мочи за строго определенное время. Для исследования может быть использована средняя порция мочи (желательно утренняя).

#### Ход исследования

*После тщательного перемешивания в центрифужную пробирку набирают 10 мл мочи и центрифугируют при скорости центрифуги 1500 об/мин в течение 5 мин. В пробирке оставляют осадок и 1 мл надосадочной жидкости, тщательно перемешивают и заполняют счетную камеру Горяева. Подсчитывают отдельно лейкоциты, эритроциты и цилиндры*

в 100 больших квадратах камеры по специальной формуле на 1 мл мочи. Находят по формуле число  $X$  – это число форменных элементов в 1 мл мочи и проведя вычисления и сокращения, умножают найденное количество клеток в 100 больших квадратах (число  $Y$ ) на 250. В 1 мл мочи здорового человека определяется не более 1000 эритроцитов, 4000 лейкоцитов и 50 цилиндров.

## 8.6. Функциональные методы исследования почек

### Проба Зимницкого

У здорового человека почки обладают замечательным свойством приспосабливаться к суточным колебаниям жидкости, поступающей в организм. Способность почки концентрировать и выводить мочу определяется пробой Зимницкого. Во время выполнения этой пробы больной находится в условиях стандартного пищевого и водного режима (потребляет около 1,2 л жидкости в сутки). Диуретики отменяются за 3 дня до проведения пробы.

#### Ход исследования

В течение суток каждые 3 часа моча собирается в отдельную посуду. В полученных 8 порциях мочи определяют ее количество, удельный вес, отдельно вычисляют ночной диурез (НД) и дневной диурез (ДД). У здоровых людей удельный вес в отдельных порциях мочи колеблется в пределах 1005–1025. Количество мочи в каждой последующей порции в 2 раза больше или меньше предыдущей, дневной диурез превышает ночной.

При заболеваниях почек, протекающих с нарушением их концентрационной способности (хронический гломерулонефрит, нефросклероз), удельный вес мочи понижается и может не превышать 1009–1012. Иногда отмечается снижение амплитуды колебания удельного веса в отдельных порциях мочи (монотонный удельный вес); имеют место никтурия и изурия.

При нарушении функции почек отмечаются низкие величины удельного веса мочи – *гипостенурия* (до 1008–1012) и незначительные колебания её показателей в течение суток. При потере канальцами почек способности концентрировать мочу, относительная плотность последней колеблется в течение суток в очень узких пределах и составляет 1010–1011 – это опасный признак почечной патологии и называется *изостенурия*.

### Вопросы для закрепления

1. Что представляет собой моча, каков ее состав?
2. Расскажите о правилах сбора мочи.
3. Что входит в понятие физические свойства мочи?
4. Каково диагностическое значение определения физических свойств мочи?
5. Что такое диурез? Какие изменения диуреза наблюдаются при различных заболеваниях?
6. Как изменяется цвет мочи при различных заболеваниях?
7. Какую функцию почки отражает относительная плотность мочи? Как она определяется?
8. Расскажите о методах качественного определения белка в моче:  
А) проба с сульфосалициловой кислотой;  
Б) кольцевая проба Геллера с азотной кислотой или реактивом Ларионовой.
9. Расскажите о методах качественного определения глюкозы в моче:  
А) проба Гайнеса–Акимова;  
Б) экспресс-методами с помощью тест-полосок.
10. Как производится микроскопическое исследование осадка мочи?
11. Каковы компоненты организованного осадка мочи?
12. Что представляет собой неорганизованный осадок мочи и его диагностическое значение?
13. Расскажите о методах количественного микроскопического исследования мочи и их диагностическом значении:  
А) метод Каковского–Аддиса;  
Б) метод Нечипоренко.
14. Дайте понятие функциональным методам исследования почек: проба Зимницкого и ее диагностическое значение.

---

---

## 9. КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ

### 9.1. Краткие сведения об анатомо-физиологических особенностях женских половых органов

Половые органы принято делить на наружные и внутренние. К наружным половым органам относятся лобок, большие и малые половые губы, клитор, преддверие влагалища и промежность. К внутренним половым органам женщины относятся влагалище, матка, придатки матки (яичники и маточные трубы).

Влагалище представляет собой фиброзно-мышечную, хорошо растяжимую трубку, длиной 8–10 см, которая располагается в малом тазу от преддверия влагалища до шейки матки. Стенка влагалища имеет толщину 3–4 мм и состоит из 3-х слоёв: внутреннего – слизистой оболочки, среднего – мышечного, поверхностного – соединительно-тканной оболочки. Слизистая оболочка покрыта многослойным плоским эпителием и не имеет желез. Мышцы влагалища представлены двумя пластами гладких мышц: внутренним циркулярным и наружным продольным. Поверхностный слой стенки влагалища состоит из соединительной ткани, переходящей в соединительно-тканые прослойки, отделяющие влагалище от соседних органов.

Циклические изменения во влагалище отчётливо выражены у половозрелых женщин, особенно в слизистой оболочке. В последней выделяют три слоя эпителия: функциональный – поверхностный, базальный – глубокий и между ними промежуточный. В разные фазы менструального цикла происходит отторжение различных слоев эпителия. По мазкам из влагалища и характеристике отторгнувшихся клеток (поверхностные, промежуточные, парабазальные, базальные) определяется фаза менструального цикла, что имеет важное диагностическое значение. Циклические изменения во влагалище обусловлены ритмической продукцией и выделением половых гормонов (эстрогенов, гестагенов, андрогенов) в яичниках.

В состав микрофлоры влагалища в норме входят лактобациллы, бифидобактерии, коринебактерии, различные

форм: сифилис, гонорею, шанкроид, венерическую лимфогранулёму, паховую гранулёму, которые называют венерическими заболеваниями. Половой путь передачи инфекции при указанной патологии является основным. Возбудители этих заболеваний, как правило, очень чувствительны к высушиванию, колебаниям температуры и не способны в течение длительного времени существовать вне организма человека. Возбудители венерических болезней могут внедриться в организм человека не только в области половых органов, но и в других местах.

**Сифилис** – венерическое заболевание, вызываемое бледной трепонемой, склонное к хроническому и рецидивирующему течению, способное поражать все органы и системы. Возбудитель сифилиса бледная трепонема плохо окрашивается анилиновыми красками и поэтому названа бледной трепонемой (спирохетой). Бледная спирохета очень подвижна. При высушивании на воздухе быстро теряет свою подвижность. Во влажной среде вне организма продолжительность жизни до 4 дней. При температуре  $-16...-18^{\circ}\text{C}$  она сохраняет свою патогенную активность, при температуре  $+60^{\circ}\text{C}$  погибает в течение 20 минут.

**Гонорея** – возбудителем является гонококк. Его впервые обнаружил и описал в 1897 году Нейссер. Его патогенетическая особенность в том, что он паразитирует только у человека в слизистый оболочке, выстланной цилиндрическим эпителием. Гонококк похож на кофейные зерна, состоит из парных кокков неправильной формы. В острой стадии инфекции гонококки располагаются в протоплазме лейкоцитов. Их количество внутри одного лейкоцита варьирует от 20 – 30 до нескольких сот кокков. В некоторых случаях клетка полностью заполнена гонококками. Другая особенность гонококков состоит в том, что фагоцитированные гонококки не погибают, а наоборот продолжают размножаться в лейкоцитах. Гонококки – неподвижные, грамотрицательные микроорганизмы.

Лечение антибиотиками и сульфаниламидными препаратами резко изменяет морфологию гонококков. После однократной инъекции их количество резко сокращается. Вначале исчезают внеклеточные, а затем и внутриклеточные кокки. В конечном итоге изменяется и форма гонококков, появляются круглые, вытянутые, мелкие, сморщенные, палочковидные диплококки. Среди грамотрицательных кокков появляются грамположительные кокки.

У мужчин заболевание начинается внезапно. В процесс вовлекается вначале уретра, затем простата и семенники. У

женщин заболевание протекает в скрытой форме, так как в патологический процесс вовлекаются вначале бартолиновые железы, чуть позже влагалище и уретра, а затем слизистая оболочка шейки матки и фаллопиевы трубы. Инфекция может распространяться на прямую кишку. У детей возможны поражения конъюнктивы глаз; наблюдаются гонорейные вагиниты, уретриты, ректит.

Диагноз гонореи должен быть обязательно подтверждён обнаружением гонококков, так как имеется ряд заболеваний клинически совершенно неотличимых от гонореи, так называемых негонококковых уретритов.

**Трихомоноз** – в патологии мочеполовой системы, особенно у женщин, наблюдается заражение вагинальной трихомонадой. Основными симптомами заболевания, которое называется мочеполовым трихомонозом, является: зуд, боли, жжение, серозно-гнойные выделения. Вагинальные трихомонады передаются половым путём.

### 9.3. Диагностика венерических заболеваний

**Диагностика сифилиса.** Возбудителем сифилиса является бледная трепонема (спирохета). С диагностической целью берут отделяемое из язв, тканевую жидкость, жидкость из регионарных лимфатических узлов и кровь из вены в количестве 4 мл для постановки серологической реакции Вассермана.

*Для обнаружения бледной спирохеты в тканевой жидкости одним из вышеописанных способов используется тёмное поле зрения микроскопа. На предметное стекло капают маленькую каплю физиологического раствора, а рядом в таком же объёме тканевую жидкость. Обе капли смешивают и закрывают покровным стеклом (без образования воздушных пузырьков). На верхнюю линзу конденсора капают кедровое масло. Между линзами конденсора размещают круглую чёрную бумагу. В тёмном поле зрения бледная спирохета – светящаяся, блестящая, тонкая, подвижная спираль. В поле зрения препарата различают также блестящие тёмно-синие лимфоциты и светящиеся нейтрофилы. Эритроциты различают как светящиеся клетки в чёрной оболочке, а клетки эпителия представляют собой светящиеся структуры округлой формы.*

Окрашенные препараты используются только при изучении морфологических особенностей бледной спирохеты. Существуют два метода окраски:

1. *Негативный метод окраски:* когда окрашивается фон, а бледная спирохета остаётся бесцветной. При данном методе используется 2% раствор колларгола с китайской тушью – метод Бури. Окрашивают в течение 5 минут. При этом методе фон препарата – золотистый или тёмно-синий, а сами бледные спирохеты не окрашиваются.

2. *Позитивный метод окраски:* когда окрашивается сама бледная спирохета.

При позитивной окраске наиболее часто используется метод окраски по Романовскому–Гимза и метод Шершевского. При окраске методом Романовского–Гимза бледная спирохета окрашивается в розово-фиолетовый цвет, а другие сапрофиты – в синий цвет. Время окраски: 12–15 часов.

Метод окраски по Шершевскому – более быстрый метод, в течение 8–10 минут. При данном методе краска Романовского–Гимза подогревается и смешивается с раствором глицерина. Необходимо красить непременно 2 раза.

**Диагностика гонореи.** Возбудителем является гонококк. Для постановки диагноза у мужчин берут отделяемое из уретры до мочеиспускания, делают мазок на предметном стекле, красят по Граму или метиленовым синим. У женщин берут мазки из влагалища, со слизистой толстой кишки, из уретры, с шейки матки, из бартолиновых желез. Мазки окрашивают по Граму. При этом используются различные реактивы: карболовый раствор генцианового фиолетового, раствор Люголя, 96% этиловый спирт и фуксин Пфейффера.

При бактериоскопическом обнаружении грамотрицательных внутриклеточных диплококков считают, что диагноз подтверждён.

У мужчин для обнаружения гонококков берётся уретральная жидкость рано утром до мочеиспускания. Перед этим уретру протирают физиологическим раствором или смоченным водой тампоном. Взятая капля растирается по предметному стеклу. При недостаточном количестве материала сдавливаются задняя стенка уретры. При необходимости исследования сока простаты и эякулята делается массаж простаты. Полученный материал немедленно направляется в лабораторию на исследование.

Для исследования на гонорею у женщин делается забор сразу нескольких мазков. Одновременно делается мазок из шейки матки и слизистой оболочки прямой кишки. Материал из бартолиновых желез берётся по специальным пока-

заниям. Уретральную жидкость получают при вагинальном пальцевом осмотре влагалища и сразу же делается мазок из влагалища. Для лучшего изучения секрета шейки матки предлагается делать забор мазка в течение 2-х дней (в этот период не проводится туалет половых органов). Забор производится стерильным тампоном.

Взятие секрета из бартолиновых желез производится после их обработки и подлежащих тканей физиологическим раствором. Железу осторожно сжимают и выдавливают её содержимое на предметное стекло для приготовления препарата.

Полученные из уретры, влагалища, шейки матки препараты на предметных стёклах осторожно фиксируют над пламенем горелки. Для обнаружения гонококков может быть использована окраска по Граму и раствор метиленовой сини.

*Диагностика влагалищной трихомонады. Возбудителем является жгутиковое простейшее – трихомонас вагиналис. У мужчин на анализ берут мазок из уретры и сок простаты. У женщин берут из влагалища, уретры, бартолиновых желез, шейки матки, со слизистой толстой кишки и делают мазки на предметных стеклах. Патологические выделения у женщин берут с помощью тампона и влагалищных зеркал со слизистой оболочки влагалища или из её заднего свода, а при обилии выделений – с наружных половых органов после осмотра больной с пальца резиновой перчатки. Из уретры получают материал с помощью тупой ложечки.*

*Рекомендуют готовить препарат по типу «висячей капли». С этой целью каплю тёплого физиологического раствора наносят на покровное стекло и сюда же вносят равное количество исследуемого материала. Покровное стекло осторожно переворачивают каплей вниз и накладывают на специальное предметное стекло с лункой. Предварительно края покровного стекла и лунки смазывают вазелиновым маслом. «Висячая капля» не должна касаться стенок и дна лунки. В полученной таким образом влажной камере, где благодаря вазелиновой прокладке создаётся герметичность и замедляется высыхание препарата, подвижность трихомонад может наблюдаться в течение часа.*

*Рекомендуется достаточно эффективный и удобный метод исследования центрифугата. В центрифужные пробирки разливают по 1–1,5 мл тёплого (37°С) физиологического раствора. Выделения или со скобы из уретры, влагалища и цервикального канала матки вносят петлёй, зондом или ло-*



лочки, сплошь слущенный эпителий, много гноеробной, аэробной и анаэробной флоры, лейкоцитов.

Четвертая степень – характеризуется наличием гнойного секрета, состоящего из патогенной флоры, лейкоцитов, с преобладанием нейтрофилов и отсутствием влагалищной палочки. В таком мазке можно обнаружить гонококки и вагинальную трихомонаду.

### **Вопросы для закрепления**

1. Дайте понятие анатомо-физиологических особенностях женских половых органов.
2. Дайте характеристику венерическим заболеваниям.
3. Как происходит заражение сифилисом?
4. Какие органы поражаются при гонорее?
5. Что представляет собой трихомоноз?
6. Какие диагностические исследования проводятся при сифилисе?
7. Расскажите о методах получения материала для диагностики сифилиса.
8. Как осуществляется негативная окраска препарата для обнаружения спирохет?
9. Как осуществляется позитивная окраска препарата для обнаружения спирохет?
10. Расскажите о методах получения материала для диагностики гонореи у мужчин.
11. Расскажите о методах получения материала для диагностики гонореи у женщин.
12. Как диагностируют гонорею?
13. Как проводится забор материала при трихомонозе?
14. Дайте понятие степеней чистоты вагинального содержимого.

---

---

## ГЛОССАРИЙ

**Агглютинины** – антитела сыворотки крови.

**Агглютиногены** – антигены эритроцитов.

**Анурия** – полное прекращение выделения мочи.

**Апластическая анемия** – панцитопения в периферической крови.

**ВЖК** – высшие жирные кислоты.

**Дизурия** – нарушения в выделении мочи.

**Диурез** – отделение мочи.

**Изоферменты** – ферменты, выполняющие одинаковые биологические функции.

**Гастротест, ацидотест** – драже для определения желудочной кислотности.

**Гематокрит** – соотношение между объемом клеток крови и плазмы.

**Гемолиз эритроцитов** – разрушение эритроцитов.

**Гемопоз** – кроветворение.

**Гемостатика** – свертывание крови.

**Глюконеогенез** – поддержание концентрации глюкозы на достаточном уровне.

**Гомеостаз** – внутренняя среда организма.

**Гомеостатика** – поддержание гомеостаза.

**Кристаллы Шарко–Лейдена** – кристаллы в мокроте при бронхиальной астме.

**Лейкозы** – опухолевые заболевания кроветворной системы.

**Метаболизм** – обмен веществ и энергии.

**Олигурия** – уменьшение выделения мочи.

**Панцитопения** – уменьшение или отсутствие клеток крови.

**Пикоскаль** – автоматический счетчик форменных элементов крови.

**Полиурия** – увеличение количества мочи.

**Поллакиурия** – частое мочеиспускание.

**Проба Грегерсена** – реакция на скрытую кровь в испражнениях.

**Реакция Вассермана** – серологическая реакция для диагностики сифилиса.

**Спирали Куршмана** – слепки со слизистой бронхов.

**Стволовые клетки** – родоначальники кроветворения.

**Тромбоцитопения** – уменьшение количества тромбоцитов.

**Трихомониаз** – венерическое заболевание, вызванное вагинальной трихомонадой.

**ФЭК** – электроприбор с фотоэлементами.

**Фосфолипиды** – сложные жиры.

**Холестерин** – одноатомный циклический спирт.

**Электрофорез** – разделение белков в постоянном электрическом поле.

**Энзимопатия** – заболевания от нарушения содержания определённого фермента.

---

---

## ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Указ Президента Республики Узбекистан от 28 ноября 2011 г. «О дальнейших мерах по реформированию системы здравоохранения».

2. Постановление, утверждённое письмом Кабинета Министров Республики Узбекистан №07-15-13 от 9 февраля 2009 года и Приказом Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №40 от 16 февраля 2009 года «Мероприятия по претворению программы совершенствования учебно-воспитательного процесса в медицинских колледжах Республики Узбекистан».

3. Приказ Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №5 от 05.01.2012 г. «О мерах по совершенствованию борьбы с вирусными гепатитами в республике».

4. Приказ Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №80 от 28.03.2012 г. «О совершенствовании профилактических мероприятий и организации медико-социальной помощи в связи с ВИЧ-инфекцией в Республике Узбекистан».

5. Приказ СанПиН №0304-12 от 15.05.2013 года «Профилактика внутрибольничных инфекций».

6. *Н.С. Назарова*. «Методы клинико-лабораторных исследований». Ташкент: Абу Али Ибн Сино, 2007 г. (на узб. яз.).

7. *Н.Х. Абдуллаев, Х.Ё. Каримов, Т.Ю. Умарова, А.Х. Усмонхужаев*. «Функционал ва клиник лаборатория ташхиси бўйича текшириш усуллари». Ташкент: Абу Али Ибн Сино, 2007 г. (на узб. яз.).

8. *М.А. Хошимова, А.Н. Максудова, А.А. Нурмухамедов, М.У. Мирзаулукова*. «Биокимё ва биокимёвий текшириш усуллари». Ташкент: Фан ва технология, 2012 г. (на узб. яз.).

9. «Сборник методов клинических лабораторных исследований» / Под общей редакцией А.Н. Юнусходжаева. Ташкент: Абу Али ибн Сино, 2000 г.

10. *В.С. Ронин, Г.М. Старобинец*. «Руководство к практическим занятиям по методам клинических лабораторных исследований». Москва: Медицина, 1989 г.

11. *Вл.И. Дуда, В.И. Дуда, О.Г. Дrajина.* «Акушерство». Москва: Оникс 21 век, 2005 г.

12. *Аманда Купер.* «Руководство по основным клиническим лабораторным исследованиям», Программа Здрав Реформ в ЮСАИД/ ЦАР – 1999 г.

13. *Я.М. Вахрушев.* «Клинические методы исследования» Ростов-на-Дону: Феникс – 2007 г.

14. «Методы клинических лабораторных исследований» / Под редакцией профессора В.С. Камышникова. Москва: МЕД прес-информ, 2013 г.

15. «Клиническая лабораторная диагностика: методы исследования» / Под редакцией профессора И.А. Зупанца. Харьков: НфаУ, 2005 г.

#### Материалы Интернет-сайтов

<http://www.minzdrav.uz/documentation/. PAGEN 1=25>

[http://www.mcs.kiev.ua/clients/mcs/mcs.nsf/all/serv08\\_01\\_20](http://www.mcs.kiev.ua/clients/mcs/mcs.nsf/all/serv08_01_20)

<http://astana-aids.kz/ru/provich/2012-06-11-03-47-43.html>

<http://akusherstvo.policlinica.ru/acu4.html>

---

---

## СОДЕРЖАНИЕ

1. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ ПРЕДМЕТА «ТЕХНИКА КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ». ОБМЕН БЕЛКОВ В ОРГАНИЗМЕ	
1.1. Краткий исторический очерк .....	3
1.2. Обязанности лаборанта .....	5
1.3. Соблюдение техники безопасности в клинико-диагностических лабораториях .....	6
1.4. Приказы Министерства здравоохранения Республики Узбекистан .....	8
1.5. Введение в предмет «Биохимические исследования» .....	9
1.6. Обмен белков в организме.....	11
1.7. Методы исследования.....	18
2. ОБМЕН УГЛЕВОДОВ. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ УГЛЕВОДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ	
2.1. Роль углеводов в организме .....	22
2.2. Патология углеводного обмена .....	26
2.3. Методы исследования.....	28
3. ОБМЕН ЖИРОВ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРОВ (ЛИПИДОВ) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ	
3.1. Роль жиров в организме .....	32
3.2. Роль печени в обмене липидов .....	35
3.3. Нарушение метаболизма кетоновых тел .....	36
3.4. Методы исследования.....	37
4. ФЕРМЕНТЫ. ГОРМОНЫ. ВИТАМИНЫ. ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ	
4.1. Ферменты .....	40
4.2. Витамины .....	45
4.3. Гормоны .....	49
4.4. Обмен веществ и энергии.....	54
4.5. Водно-минеральный обмен.....	55

5. ОБРАЗОВАНИЕ КРОВИ В ОРГАНИЗМЕ (ГЕМОПОЭЗ). МЕТОДЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ КРОВИ	
5.1. Кровотворение (гемопоэз).....	65
5.2. Исследование крови .....	68
5.3. Заболевания крови.....	84
6. КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ	
6.1. Методы исследования.....	92
6.2. Микроскопическое исследование мокроты .....	92
6.3. Окраска препаратов для бактериоскопического исследования.....	93
6.4. Мокрота при различных заболеваниях .....	95
7. КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ	
7.1. Исследование желудочного содержимого .....	98
7.2. Исследование дуоденального содержимого.....	103
7.3. Копрологическое исследование .....	106
8. КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ МОЧЕВЫДЕЛЕНИЯ	
8.1. Правила сбора мочи .....	113
8.2. Физические свойства мочи.....	114
8.3. Химическое исследование мочи.....	117
8.4. Микроскопическое исследование мочи .....	121
8.5. Количественные методы микроскопического исследования.....	125
8.6. Функциональные методы исследования почек .....	127
9. КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ	
9.1. Краткие сведения об анатомо-физиологических особенностях женских половых органов .....	129
9.2. Понятие о венерических заболеваниях .....	130
9.3. Диагностика венерических заболеваний .....	132
9.4. Определение степени чистоты вагинального содержимого .....	135
ГЛОССАРИЙ.....	137
ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА .....	139

НАЗИРОВА ДОЛОРЕС РУСТАМОВНА,  
НАЗАРОВА САЛИМА КАЮМОВНА,  
ГАНИЕВА НИЛУФАР САЙДМАЪМУРОВНА

**ТЕХНИКА КЛИНИКО-  
БИОХИМИЧЕСКИХ  
ИССЛЕДОВАНИЙ**

**Учебное пособие для  
профессиональных колледжей**

Издательский дом «ILM ZIYO»  
ТАШКЕНТ – 2015

Редактор *О. Вульф*  
Художественный редактор *М. Бурхонов*  
Компьютерная верстка *К. Голдобина*

Издательская лицензия АІ №275, 15.07.2015 г.  
Подписано в печать с оригинала-макета 19.12.2015.  
Формат 60×90<sup>1/16</sup>. Кегль 10,6 н/шпон. Гарнитура SchoolBookC.  
Печать офсетная. Печатных листов 9,0. Издательских листов 8,0.  
Тираж 467. Заказ № 17

Издательский дом «ILM ZIYO», 100129, Ташкент, ул. Навои, 30.

Отпечатано в типографии ЧП «PAPER MAX»  
Ташкент, ул. Навои, 30.



**Н 19 Назирова Д.** Техника клинико-биохимических исследований. Учебное пособие для профессиональных колледжей / Д. Назирова. – Т.: «ILM ZIYO», 2015. 144 с.

ISBN 978-9943-16-203-7

УДК: 615.47(075)

ББК 52,5