

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра биологической химии

**В. В. Лелевич, В. М. Шейбак, Н. Э. Петушок**

**БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ  
ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

Пособие

Рекомендовано  
учебно-методическим объединением  
по высшему медицинскому, фармацевтическому образованию  
Республики Беларусь в качестве пособия  
для студентов учреждений высшего образования,  
обучающимся по специальностям 1-79 01 01 «Лечебное дело»,  
1-79 01 02 «Педиатрия», 1-79 01 04 «Медико-диагностическое  
дело», 1-79 01 05 «Медико-психологическое дело»

Под редакцией профессора В. В. Лелевича

Гродно  
ГРГМУ  
2021

УДК 557.1:616-092(075.8)

ББК 52.52я73

Л 43

Авторы: зав. каф. биологической химии, д-р мед. наук, проф.

В. В. Лелевич;

д-р мед. наук, проф. В. М. Шейбак;

канд. биол. наук, доц. Н. Э. Петушок.

Рецензент: проф. каф. фармакологии и физиологии

УО «Гродненский государственный аграрный университет», д-р мед. наук, проф. М. Г. Величко;

каф. общей, биоорганической и биологической химии

УО «Гомельский государственный медицинский университет».

**Лелевич, В. В.**

Л 43

Биохимические аспекты патологических процессов : пособие для студентов учреждений высшего образования, обучающимся по специальностям 1-79 01 01 «Лечебное дело», 1-79 01 02 «Педиатрия», 1-79 01 04 «Медико-диагностическое дело», 1-79 01 05 «Медико-психологическое дело» / В. В. Лелевич, В. М. Шейбак, Н. Э. Петушок; под ред. проф. В. В. Лелевича. – Гродно : ГрГМУ, 2021. – 212 с.

ISBN 978-985-595-633-5.

Пособие по биохимии патологических процессов для студентов учреждений высшего образования по медицинским специальностям включает основные сведения о биохимических механизмах развития патологических состояний, приведены сведения о современных методах молекулярной биологии и основах клинической биохимии.

УДК 557.1:616-092(075.8)

ББК 52.52я73

ISBN 978-985-595-633-5

© Лелевич В. В., Шейбак В. М., Петушок Н. Э., 2021

© Гродненский государственный медицинский университет, 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1 ДЕФЕКТЫ БЕЛКОВ НЕФЕРМЕНТНОЙ ПРИРОДЫ (ПРОТЕИНОПАТИИ) .....	5
ГЛАВА 2 ЭНЗИМОПАТИИ .....	16
ГЛАВА 3 НАРУШЕНИЯ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА.....	27
ГЛАВА 4 НАРУШЕНИЯ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА .....	52
ГЛАВА 5 НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА АМИНОКИСЛОТ .....	70
ГЛАВА 6 НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ЭНДОКРИННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ .....	86
ГЛАВА 7 МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СИНДРОМ.....	101
ГЛАВА 8 СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ ...	121
ГЛАВА 9 МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОСПАЛЕНИЯ .....	142
ГЛАВА 10 БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КАНЦЕРОГЕНЕЗА .....	168
ГЛАВА 11 ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ .....	183
ГЛАВА 12 ОТДЕЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПАТОНЕЙРОХИМИИ .....	195

## ВВЕДЕНИЕ

Биохимические процессы – основа существования любого организма, поэтому подготовка квалифицированного врача требует глубокого овладения знаниями о молекулярных основах жизнедеятельности человеческого организма и причинно-следственных связях происходящих в нем процессов. В основе развития всех патологических состояний лежат нарушения структуры и функционирования молекул, а также межмолекулярных взаимодействий. В клинической практике молекулярные нарушения обмена находят проявление в виде увеличения или снижения концентрации в биологических жидкостях тех или иных компонентов обмена. Это могут быть промежуточные продукты или конечные метаболиты. По изменению их концентраций и наличию характерных клинических признаков судят о нарушениях на том или ином участке метаболического пути.

В данном учебном пособии систематизированы основные сведения о патобиохимических механизмах возникновения и развития ряда заболеваний, связанных с нарушениями метаболизма белков, углеводов, липидов, аминокислот, патологией сердечно-сосудистой системы, крови, эндокринной системы, а также о биохимических аспектах воспаления, злокачественного роста, нейродегенеративных заболеваний и зависимостей, приведены сведения о современных методах молекулярной биологии и основах клинической биохимии.

Авторы надеются, что предлагаемый материал поможет повысить уровень теоретической подготовки студентов, позволит им использовать полученную информацию при изучении клинических дисциплин, а также послужит побудительным мотивом для повторения фундаментальной биохимии, без знания которой нельзя понять механизм развития патологии.

Книга предназначена для студентов, обучающихся по медицинским специальностям, магистрантов, аспирантов и клинических ординаторов, восполняет существующие в учебной литературе пробелы при изучении патологической и клинической биохимии в медицинских вузах.

## Глава 1

### **ДЕФЕКТЫ БЕЛКОВ НЕФЕРМЕНТНОЙ ПРИРОДЫ (ПРОТЕИНОПАТИИ)**

Протеинопатии – это группа заболеваний, вызванных нарушением структуры ферментного белка. Белок при этом может утратить свою функцию или даже стать токсичным.

К настоящему времени идентифицировано более 200 протеинопатий белков ферментной природы, которые обнаруживаются в плазме крови, биологических жидкостях и тканях. Отсутствие одного из таких белков или содержание ниже физиологических величин ведет к нарушению функционирования ткани, органа и организма в целом. Как правило, снижение количества ферментативного белка проявляется изменением функционирования одной или более систем организма. В отдельных случаях возможны множественные дефекты, включающие не только отсутствие или дефицит ферментативного белка, но нередко и белков, обладающих каталитическими свойствами. Врожденные дефекты ферментативных белков (протеинопатии) подразделяются следующим образом:

- 1) дефекты индивидуальных белков плазмы крови;
- 2) дефекты белков системы свертывания крови;
- 3) дефекты гемоглобина (гемоглинопатии);
- 4) дефекты белков системы комплемента;
- 5) нарушения белков калликреин-кининовой системы.

#### **Изменения содержания общего белка в сыворотке крови**

Плазма крови человека содержит более 1 000 разных белков. Основными белками плазмы крови выступают альбумины, разные фракции глобулинов, фибриноген, липопротеины, гликопротеины и металлопротеины. Большинство белков плазмы – гликопротеины (с содержанием углеводов 10-25%). Исключение – альбумин, который не содержит углеводных компонентов. Вместе с неорганическими ионами, глюкозой и другими низкомолекулярными веществами белки плазмы в целом образуют специфическую коллоидную систему с особыми физико-химическими свойствами.

Концентрация общего белка сыворотки крови у здоровых взрослых людей составляет 65-85 г/л, в плазме эта величина в среднем больше на 3 г/л за счет фибриногена и белков свертывания крови. Изменение количества белка в сыворотке крови может быть относительным (вследствие колебания объема внутрисосудистой жидкости) и абсолютным (связанным с нарушением поступления, снижением синтеза или увеличением потери белка).

**Гиперпротеинемия** – увеличение концентрации общего белка >85 г/л. Абсолютная гиперпротеинемия чаще всего обусловлена увеличением  $\gamma$ -глобулиновой фракции и наблюдается при ревматоидном артрите, коллагенозах, миеломной болезни, хронической обструктивной болезни лёгких. Относительная гиперпротеинемия наблюдается при гипогидратации организма (рвота, понос), венозном стазе.

**Гипопротеинемия** – снижение концентрации общего белка ниже 65 г/л. Абсолютная гипопротеинемия наблюдается при недостаточном поступлении белков с пищей (голодание), потере белка через кожные покровы (ожоги), с мочой (гломерулонефрит, нефротический синдром), через желудочно-кишечный тракт (гастроэнтеропатии), нарушениях биосинтеза белка в печени (гепатиты, цирроз печени), повышенном катаболизме белков (септические состояния, раковая кахексия). Снижение общего белка в сыворотке крови ниже 45 г/л при концентрации альбумина ниже 20 г/л опасно для жизни.

### **Первичные гипопротеинемии**

Эти состояния обусловлены генетическими дефектами, приводящими к полному прекращению или замедлению синтеза определенных белковых фракций, а также к синтезу белков с измененными свойствами. К ним относятся анальбуминемия и бисальбуминемия.

Общее содержание альбумина составляет около 280 г, примерно 3% от общего содержания белка в организме (10 кг). Около 40% альбумина находится в плазме крови, остальные 60% распределены в интерстициальном пространстве разных органов (главным образом – скелетных мышц, жировой ткани, соединительной ткани и кожи) со средней концентрацией около 60-70% от значений в плазме. Абсолютная скорость синтеза составляет около 150 мг/кг/сутки или 10,5 г/сутки. Таким образом, примерно 8,5% альбумина плазмы и 4% от общего количества альбумина в организме синтезируются каждый

день, что соответствует общему времени оборота альбумина в организме, равному примерно 25 суткам. По сравнению с другими циркулирующими белками это время оборота короче, чем у гемоглобина (продолжительность жизни 120 дней), аналогично гамма-глобулину, и намного дольше, чем у многих сывороточных ферментов (липазы, амилазы и т. д.).

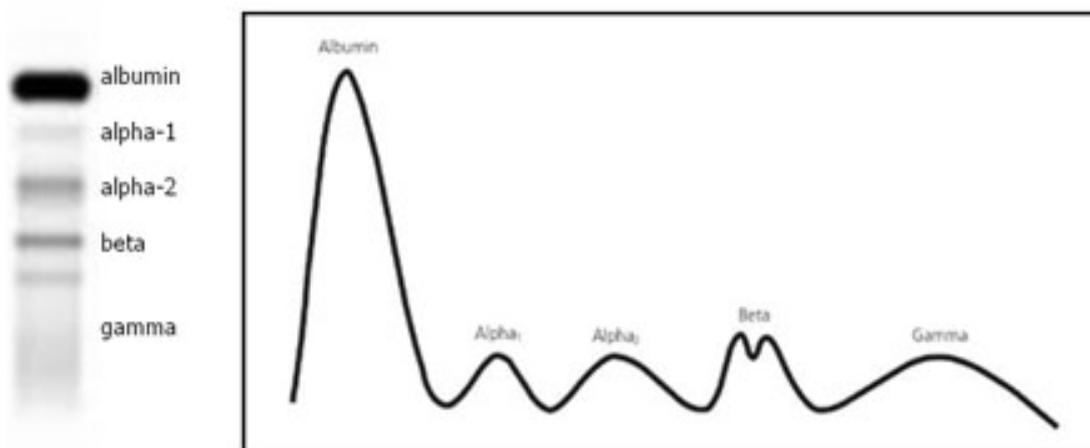


Рисунок 1. – Протеинограмма белков сыворотки крови

**Анальбуминемия** вызвана мутацией гена, контролирующего синтез альбумина в гепатоцитах. Клинически проявляется повышенной утомляемостью, отеками стоп, умеренной артериальной гипотонией. На протеинограмме отсутствуют или определяются в малом количестве (до 3%) альбумины. Процентное содержание  $\alpha$  и  $\beta$ -глобулинов пропорционально увеличивается (до 30%), умеренно повышается количество  $\gamma$ -глобулинов. Компенсаторное увеличение глобулинов и других белков плазмы повышает коллоидное осмотическое давление до приблизительно 50% от нормального. Обнаружение минимально выраженных отеков или их отсутствие у пациентов с анальбуминемией указывает на то, что 50% от нормального коллоидного осмотического давления достаточно для ограничения образования отеков, и другие факторы, помимо коллоидного осмотического давления, способны его компенсировать. Учитывая, что альбумин свободно проникает через синусоиды печени, он не оказывает осмотического влияния на транс-синусоидальное движение жидкости; следовательно, при анальбуминемии не будет склонности к асцитам. Связывание альбумина с билирубином обычно рассматривается как критический фактор в профилактике

ядерной желтухи у новорожденных, однако при данной патологии дефицит альбумина может компенсироваться за счет связывания липопротеинов с билирубином.

**Бисальбуминемия** – качественная аномалия сывороточных альбуминов генетического характера (семейная аутосомно-рецессивная аномалия, мутация гена, контролирующего синтез альбуминов). Протекает почти бессимптомно и обнаруживается при скрининговых исследованиях или случайно. Наличие бисальбуминемии констатируется по изменениям на электрофореграмме.

### **Вторичные гипопропротеинемии**

В зависимости от причины вторичные гипопропротеинемии могут быть обусловлены:

- 1) недостаточностью белка в питании, нарушением переваривания и всасывания белков в ЖКТ;
- 2) приобретенными дефектами переваривания и всасывания белков (мальабсорбция);
- 3) нарушением синтеза белков (например при поражении печени);
- 4) усиленной потерей белка (острые и хронические кровопотери, большие раневые поверхности, синдром длительного сдавливания, обширные ожоги, потери через желудочно-кишечный тракт);
- 5) ускоренным распадом белков (гипертиреоз, острые инфекции, рабдомиолиз);
- 6) повышенным использованием белков, особенно альбуминов, в условиях белково-энергетической недостаточности (послеоперационные состояния, хронический стресс, лейкемия).

### **ДИСПРОТЕИНЕМИИ**

При нормальном уровне общего белка в сыворотке крови может наблюдаться **диспротеинемия** – изменение качественного и количественного состава отдельных белковых фракций.

### **Изменения во фракции глобулинов**

Содержание отдельных представителей глобулинов изменяется при самом разном воздействии и патологических процессах.

**$\alpha_1$ -Глобулины.** К этой группе глобулинов относятся  **$\alpha_1$ -серомукоиды.** Прирост их содержания наблюдается при значительном распаде клеток (инфекционные, гнойные и некротические процессы), злокачественных новообразованиях, связанных с клеточным размножением. Снижается содержание серомукоидов в качестве вторичного явления при болезни Боткина, портальном циррозе, токсических гепатитах, химических интоксикациях, гломерулонефритах и нефрозах, а также при некоторых эндокринных нарушениях (гипофизарная и надпочечниковая недостаточность, сахарный диабет).

**$\alpha_1$ -Антитрипсин.** Содержание данного белка увеличивается при большинстве воспалительных процессов и интенсивном клеточном некрозе, уменьшается при интенсивной экскреции глобулинов с мочой (нефротический синдром) и тяжелых поражениях печени (нарушение синтеза).  $\alpha_1$ -Антитрипсин – основной ингибитор трипсина и других протеаз, которые из клеток поджелудочной железы могут попасть в кровь. Недостаточность  $\alpha_1$ -антитрипсина делает возможным расщепление компонентов соединительной ткани под действием трипсина, причем особо интенсивно поражается соединительная ткань лёгких, где прежде всего разрушаются межальвеолярные структуры. Дефицит  $\alpha_1$ -анти-трипсина может стать причиной раннего развития эмфиземы у людей в возрасте 20-40 лет.

### **$\alpha_2$ -Глобулины**

**Гаптоглобины.** Содержание данной белковой фракции связано с интенсивностью деполимеризации гликопротеинов в основном веществе соединительной ткани и зависит от активности гиалуронидазы. Повышение уровня гаптоглобинов наблюдается при воспалительных процессах, коллагенозах, сепсисе, некрозе тканей. Уменьшение количества характерно для новорожденных, наблюдается при гемолизе, паренхиматозных поражениях печени.

**Церулоплазмин** относится к белкам острой фазы. Этот гликопротеин связывает более 90% меди сыворотки крови. Он содержится в относительно малом количестве, в связи с этим изменения его уровня диагностируются лишь с помощью электрофореза. Прирост содержания церулоплазмينا наблюдается у беременных, при инфаркте миокарда, острых и хронических инфекциях. Недостаточность церулоплазмينا вызывает

заболевание – болезнь Вильсона. При этом заболевании возрастает концентрация ионов меди во внесосудистом пространстве. Они проходят через базальные мембраны почек в гломерулярный фильтрат и выводятся с мочой или накапливаются в соединительной ткани, где связываются с протеогликанами. Болезнь Вильсона рассматривают как генетически обусловленную ацерулоплазминемию.

### **β-глобулины**

**Врожденная абеталипопротеинемия** – генетически обусловленное заболевание, при котором отмечается полное отсутствие β-липопротеинов, уменьшение количества β-глобулинов, снижение содержания холестерина (до 0,5 ммоль/л). Клинические проявления: атаксия, стеаторея, неправильная форма эритроцитов (акантоцитоз).

**Атрансферринемия** – редкое заболевание с признаками железодефицитной анемии, гепатоспленомегалии, плохо поддающееся лечению препаратами железа. Отсутствие трансферрина приводит к тому, что несвязанное железо откладывается в тканях и вызывает картину гемосидероза с гепатоспленомегалией. Лабораторно выявляется резкое снижение содержания железа в сыворотке крови (в 20-30 раз ниже нормы).

### **γ-глобулины (иммуноглобулины)**

Иммуноглобулины – это белки плазмы крови, которым свойственна функция антител. Различают пять основных классов иммуноглобулинов: IgG, IgA, IgM, IgD и IgE. IgG составляют 70-80% общего количества иммуноглобулинов. Они играют ключевую роль в защитных реакциях организма. Относительное содержание остальных классов иммуноглобулинов следующее: IgA – 10-15%; IgM – 5-10%; IgD – 1%; IgE – 0,01% от общего их количества.

**Гипериммуноглобулинемия** возникает при следующих состояниях:

1. В ходе разных патологических процессов (содержание IgG возрастает при подостром гепатите, дифтерии, кори; IgA – при циррозах, заболеваниях кишечника и дыхательных путей; IgM – при инфекционном мононуклеозе, остром и хроническом персистирующем гепатите).

2. При аутоиммунных заболеваниях.
3. При аллергических состояниях (IgE – при бронхиальной астме, сенной лихорадке, атонической экземе, повышенной чувствительности к лекарственным препаратам).
4. При паразитарных заболеваниях (IgE – при аскаридозе, трипаносомозе).

**Синдром дефицита антител** обусловлен врожденным дефектом образования В-лимфоцитов. Приобретенные формы часто являются следствием злокачественных заболеваний лимфоретикулярной системы, побочными эффектами назначения иммунодепрессантов (цитостатики, кортикостероиды, антибиотики широкого спектра действия).

К первичным дефектам системы В-лимфоцитов относятся:

1. Инфантальная агаммаглобулинемия (болезнь Брутона). Отличается чрезвычайно низким содержанием Ig в сыворотке, протекает как рецидивирующая бактериальная инфекция.
2. Транзиторная гипо-γ-глобулинемия новорожденных и младенцев, проявляется нарушением синтеза IgG.
3. Избирательный дефицит IgA в слизистых бронхов и мукозном слое кишечника.

**Комбинированные иммунодефициты** характеризуются поражением В- и Т-лимфоцитов. К этой группе состояний относятся:

1. Иммунодефицит при телеангиэктазии (синдром Луи-Бар), проявляется склонностью к инфекциям в связи с дефицитом IgA и IgE, а также дефектом клеточного звена иммунной системы.
2. Иммунодефицит с тромбоцитопенией и экземой, проявляется дефицитом IgM и повышенным содержанием IgA.

## **Парапротеины**

При некоторых заболеваниях в сыворотке находят протеины, отличающиеся от нормальных сывороточных белков по физико-химическим свойствам и биологической активности. Каждый из этих необычных белков представляет собой измененный аналог одного из нормальных иммуноглобулинов. Чаще всего встречаются парапротеины класса IgG (70-80%), реже IgA (13-18%) и еще реже – IgD и IgE. Состояния, сопровождающиеся появлением в крови парапротеинов, называются обобщающим термином

парапротеинемии (парапротеинозы). К данной группе заболеваний относятся плазмоцитома (миеломная болезнь), макроглобулинемия Вальденштрема, болезнь тяжелых цепей.

### **Дефекты белков свертывания крови**

В процессе свертывания крови принимают участие разные белки (факторы), находящиеся в плазме и тромбоцитах. Оба эти компонента могут быть изменены в результате наследственных причин, что приводит к нарушениям, называемым *коагулопатиями*.

У здоровых людей фибриноген циркулирует в плазме в высоких концентрациях (2-5 мг/мл). Однако фибриноген является белком острой фазы, во время острого воспаления его уровень в плазме может превышать 7 мг/мл. Во время коагуляции фибриноген превращается в нерастворимый фибрин. Последующая агрегация протофибрилл в волокна приводит к образованию фибриновой сетки, которая необходима для стабильности сгустка крови. Образование сгустка, его структура и стабильность находятся под сильным влиянием условий, присутствующих во время образования фибрина. К ним относятся концентрации прокоагулянтов, антикоагулянтов, фибрин-связывающих белков, кофакторов и ионов металлов, а также клеток крови и эндотелия сосудов, а также наличие кровотока.

*Афибриногенемия* – редкое заболевание аутосомно-рецессивной природы, характерным признаком которого являются тяжелые кровотечения (геморрагии). Причина заболевания – полное или (в более легких случаях) частичное отсутствие фибриногена в плазме, что можно установить с помощью электрофореза или иммунохимически.

*Дисфибриногенемия* – аутосомное наследственное заболевание, проявляющееся во многих формах. Количество фибриногена может быть нормальным, но может изменяться первичная структура. В результате изменения аминокислотного состава и конфигурации молекул фибриногена его превращение в фибрин затрудняется, в результате чего увеличивается время кровотечения. Отдельные формы модифицированного фибриногена отличаются электрофоретической подвижностью или иммунохимически.

**Гемофилия** – группа нарушений свертывания крови, проявляющихся сильными кровотечениями даже при незначительных ранениях. Причина кроется в отсутствии одного из факторов, необходимых для процесса свертывания крови. Чаще всего встречается гемофилия А, при которой отмечаются дефицит или молекулярные аномалии фактора VIII – высокомолекулярного белка, состоящего из трех структурно и функционально различающихся доменов. При гемофилии В (встречается в пять раз реже, чем форма А) отсутствует фактор IX, а при гемофилии С – фактор XI.

## ГЕМОГЛОБИНОПАТИИ

К данной группе заболеваний относятся протеинопатии, вызванные нарушениями синтеза белкового компонента гемоглобина при нормальной структуре гема.

*Мутации* в гене глобина, влияющие на структуру и функцию гемоглобина, основного переносчика кислорода в крови, поражают примерно 7% населения мира. Эти мутации подразделяются на те, которые нарушают продукцию субъединиц белка глобина (*талассемии*) и те, которые продуцируют структурно аномальные белки глобина (*варианты гемоглобина*). Последний класс в основном состоит из миссенс-мутаций, которые вызывают единичные аминокислотные замены в глобине, что ведет к аномальному варианту тетрамера гемоглобина. Реже варианты гемоглобина связаны с делециями, множественными аминокислотными заменами, мутациями антитерминации и измененным посттрансляционным процессингом.

Встречающиеся в природе мутации гемоглобина вызывают ряд биохимических нарушений, некоторые из которых вызывают клинически значимые симптомы. Наиболее распространенные и важные, с медицинской точки зрения, варианты Hb включают HbS, HbE, а также некоторые талассемии, которые находятся под положительным генетическим отбором, потому что они обеспечивают преимущества выживания в районах, где малярия является эндемической инфекцией. В дополнение к этим распространенным мутантным белкам, существует также более 1000 других известных в природе вариантов Hb. Варианты обозначаются по названию местности, где впервые выявлен носитель аномального гемоглобина, и описывают формулой,

содержащей указание на место и характер замены. Хотя многие варианты Hb клинически бессимптомны, некоторые вызывают клинические проявления разной степени тяжести.

### **Дефекты, обусловленные заменой аминокислоты в полипептидной цепи гемоглобина**

Известно более 20 видов гемоглобина, в  $\alpha$ - или  $\beta$ -цепи которых одна из аминокислот заменена другой. Такая замена изменяет ряд физико-химических свойств белка, в частности электрофоретическую подвижность, что позволяет идентифицировать вариант гемоглобина.

Серповидноклеточная анемия сопровождается присутствием в эритроцитах пациента аномального гемоглобина (HbS), описываемого формулой  $\beta 6\text{Глу} \rightarrow \text{Вал}$  (в  $\beta$ -цепях Hb остаток Глу в положении 6 заменен на остаток Вал). Указанное замещение существенно отражается на свойствах белка – HbS в восстановленной форме образует длинные ассоциированные цепи и его растворимость снижается на 50% по сравнению с растворимостью окисленной формы. Эти особенности Hb определяют укорочение жизни эритроцитов в связи со снижением их устойчивости к гемолизу.

У взрослых спокойное течение болезни характеризуется умеренной анемией, слегка снижающей трудоспособность. Кризы (повышенный гемолиз, острая боль вследствие эритростаза, боли в костях) провоцируются инфекциями, стрессовыми факторами.

Серповидноклеточная анемия весьма распространена в регионах мира, эндемичных по малярии, причем пациенты с серповидноклеточной анемией, а также гетерозиготы-носители обладают повышенной устойчивостью к заражению, что и объясняет высокую частоту данного аллеля в африканских популяциях.

**М-Гемоглобинемии** – группа гемоглобинопатий, при которых имеется дефект, затрудняющий восстановление железа из трех- в двухвалентное состояние ( $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ ). Главный признак заболевания – метгемоглобинемия, более выраженная у гомозигот, для которых это заболевание – смертельное. У гетерозигот в крови имеется смесь гемоглобина и метгемоглобина.

Железо гемоглобина должно быть в его восстановленном ( $\text{Fe}^{2+}$ ) состоянии, чтобы связать  $\text{O}_2$ . Кроме того, окисленный ( $\text{Fe}^{3+}$ , мет) Hb по своей природе нестабилен с тенденцией к выделению гема. Восстановление гемоглобина поддерживается за счет внутренних особенностей белка Hb и внешних антиоксидантных путей в эритроцитах. Воздействие окислителей или токсинов, генетические изменения в ферментных системах метгемоглобинредуктазы или варианты глобиновой цепи могут предрасполагать к метгемоглобинемию. Эти расстройства представляют собой «псевдоцианоз» (то есть низкое насыщение Hb- $\text{O}_2$ ), несмотря на достаточную артериальную оксигенацию. Анализ *in vitro* образцов эритроцитов и выделенного Hb обычно позволяет различить метHb дикого типа, являющийся результатом действия токсинов или дефектных систем редуктазы, и варианты Hb M-типа, которые предрасположены к самопроизвольному окислению. Например, разные M-Hb показывают характерные видимые спектры поглощения.

Варианты глобина, связанные с образованием метHb, обычно вызываются аминокислотными заменами в гемовом кармане. Например, четыре разных M-Hb возникают, когда тирозин заменяет в  $\alpha$ - или  $\beta$ -глобине проксимальный или дистальный остатки гистидина, которые взаимодействуют с гемом. Присутствие тирозина стабилизирует окисленное состояние трехвалентного железа и снижает реакционную способность метHb с редуктазами. Это взаимодействие также искажает положение гема и внутри измененных  $\alpha$ -субъединиц. Замена в боковой цепи гистидина на более длинный тирозин также стабилизирует дезоксигеназное состояние и снижает аффинность к  $\text{O}_2$  нативной  $\beta$ -субъединицы в Hb. Эти биохимические и структурные изменения лежат в основе отсутствия кооперативности и тяжелого цианоза у пациентов, у которых уровень метHb может превышать 20% (в норме  $<2\%$ ) при наличии Hb M-Iwate. Напротив, в Hb M-Saskatoon произошла замена дистального гистидина на тирозин. В этом варианте протонированная форма мутанта может связывать железо с образованием гексакоординатной структуры, которая относительно легко восстанавливается клеточными метHb-редуктазами. Следовательно, у пациентов с Hb M-Saskatoon уровень циркулирующего окисленного Hb ниже, чем у пациентов с Hb M-Iwate.

Метгемоглобинемия развивается при отравлении нитратами, нитритами, нитрозосоединениями, анилином, сульфонидами, ацетиланилидом, бромидами. Для новорожденных особую опасность представляет собой нитратсодержащая вода. Восстановление метгемоглобина в гемоглобин происходит при участии НАДФ-метгемоглобинредуктазы в присутствии аскорбиновой кислоты. Врожденная метгемоглобинемия – результат наследственного дефицита НАДФ-метгемоглобинредуктазы (К.Ф. 1.6.7.1.).

### **Дефекты, обусловленные нарушением синтеза цепей гемоглобина**

Известны несколько вариантов данной патологии.

***α-Талассемия.*** В основе заболевания лежит нарушение синтеза α-цепей, что ведет к уменьшению образования всех физиологических видов гемоглобина. Избыточно появляющиеся β- и γ-цепи не могут взаимодействовать с мутантными α-цепями, вследствие чего возникают два вида гемоглобина: Hbβ<sub>4</sub> (HbH) и Hbγ<sub>4</sub> (гемоглобин Бартса). Тот и другой виды нестабильны, отличаются высоким сродством к кислороду. У гомозигот гемоглобин представлен преимущественно гемоглобином Бартса – гибель наступает в период внутриутробного развития. У гетерозигот присутствует смесь гемоглобина Бартса и гемоглобина H – проявление заболевания сводится к легкому гемолизу без существенных последствий для состояния.

***β-Талассемия*** вызвана нарушением синтеза β-цепей, что приводит к относительному избытку α-цепей и сопровождается усиленным образованием гемоглобина F ( $\alpha_2\gamma_2$ ) и A<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ). Последняя форма гемоглобина обладает достаточной способностью к транспорту кислорода, обеспечивающей компенсацию дефицита гемоглобина A.

***σ-Талассемия*** связана с торможением синтеза β и σ-цепей, что ведет к увеличенной продукции гемоглобина F ( $\alpha_2\gamma_2$ ).

При всех видах талассемии нарушается продукция эритроидных клеток в костном мозге и насыщение эритроцитов гемоглобином. Это проявляется в виде микроцитоза и снижения эритроцитарных индексов.

## Глава 2

### ЭНЗИМОПАТИИ

Энзимопатии – патологические состояния, характеризующиеся отсутствием или снижением активности ферментов.

#### Классификация энзимопатий

1. Наследственные энзимопатии, связанные:
  - а) с полным выпадением синтеза фермента;
  - б) с конститутивной недостаточностью фермента.
2. Токсические энзимопатии, обусловленные:
  - а) селективным торможением активности отдельных ферментов;
  - б) специфическим ингибированием биосинтеза ферментов;
  - в) неспецифическим угнетением биосинтеза белка.
3. Алиментарные энзимопатии, вызванные:
  - а) дефицитом кофакторов (витаминов);
  - б) дефицитом незаменимых аминокислот;
  - в) дефицитом микроэлементов;
  - г) дисбалансом питания.
4. Энзимопатии, вызванные нарушением нейрогуморальной регуляции.
5. Энзимопатии, связанные с нарушением внутриклеточной организации ферментативных процессов.

Различают первичные (наследственные) и вторичные (приобретенные) энзимопатии.

#### Первичные энзимопатии

Первичные энзимопатии связаны с генетически обусловленной недостаточностью синтеза одного или нескольких полипептидов (ферментов). При этом дефект синтеза фермента наследуется в основном по аутосомно-рецессивному типу. Гетерозиготы, как правило, не имеют фенотипических отклонений. Первичные энзимопатии относят к метаболическим болезням, так как происходят нарушения определенных метаболических путей. При этом развитие заболевания может протекать по одному из трех перечисленных ниже вариантов.

### ***Нарушение образования конечных продуктов.***

Недостаточное количество конечного продукта определенного метаболического пути (при отсутствии других альтернативных путей синтеза) может приводить к развитию клинических симптомов, характерных для данного заболевания. В качестве примера можно рассмотреть ***альбинизм***. При альбинизме в меланоцитах нарушен синтез пигментов – меланинов. Меланин содержится в коже, волосах, радужке, пигментном эпителии сетчатки глаза и определяет их окраску. При альбинизме наблюдается слабая пигментация кожи, волос, красноватый цвет радужки глаза из-за просвечивающихся капилляров. Возникновение альбинизма связано с недостаточностью фермента тирозиназы (тирозингидроксилазы) – одного из ферментов, участвующих в синтезе меланинов.

***Накопление субстратов-предшественников.*** При недостаточности определенного фермента ( $E_x$ ) будут накапливаться метаболиты, во многих случаях также и предшествующие соединения, которые в процессе метаболических превращений образуются до этапа действия поврежденного энзима  $E_x$ . Увеличение концентрации субстратов-предшественников для дефектного фермента выступает ведущим звеном развития данных заболеваний. В качестве примера можно привести ***алкаптонию***. При этом заболевании нарушено окисление в тканях гомогентизиновой кислоты – промежуточного метаболита катаболизма тирозина. У таких пациентов наблюдается недостаточность фермента диоксигеназы гомогентизиновой кислоты. В результате этого увеличивается концентрация гомогентизиновой кислоты и ее выведение с мочой. В присутствии кислорода гомогентизиновая кислота превращается в соединение черного цвета – алкаптон. Поэтому моча таких пациентов на воздухе окрашивается в черный цвет. Алкаптон образуется также в биологических жидкостях, накапливаясь в тканях, коже, сухожилиях, суставах. При значительных отложениях алкаптона в суставах нарушается их подвижность.

***Нарушение образования конечных продуктов и накопление субстратов-предшественников.*** Имеются заболевания, когда одновременно недостаток продукта и накопление исходного субстрата формируют клиническую картину. Пример – ***болезнь Гирке (гликогеноз I типа)***, при которой развивается гипогликемия

в перерывах между приемами пищи. Это связано с нарушением распада гликогена в печени и выхода из нее глюкозы вследствие дефекта фермента глюкозо-6-фосфатазы. Одновременно у таких пациентов увеличиваются размеры печени (гепатомегалия) вследствие накопления в ней гликогена.

Врожденные нарушения метаболизма представляют собой гетерогенную группу энзимопатий, которые могут передаваться по наследству или возникать в результате спонтанной мутации. Эти заболевания связаны с нарушением метаболических путей, связанных либо с расщеплением, либо с накоплением углеводов, жирных кислот и аминокислот. Хотя любое врожденное нарушение метаболизма встречается достаточно редко, в целом их частота составляет 1 на 2500 новорожденных, что делает их довольно распространенными. Они могут проявляться в любом возрасте.

Врожденные нарушения метаболизма вызваны мутациями в генах, кодирующих белки-ферменты. Большинство наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Редко встречаются аутосомно-доминантные и X-сцепленные. Экологические, эпигенетические и микробиомные факторы выступают потенциальными модифицирующими этиологическими факторами у людей с врожденными энзимопатиями.

Мутации могут вызвать полную дисфункцию кодируемого фермента или же она может быть частичной или неполной. Врожденные нарушения метаболизма имеют некоторые общие черты. Наиболее распространенное проявление данных заболеваний в целом – неврологические нарушения, которые встречаются примерно у 80% людей. Эти нарушения включают задержку развития, нарушение когнитивных функций и судороги. Второе, наиболее частое проявление, – симптомы нарушения функции желудочно-кишечного тракта, включая рвоту, гепатомегалию, непереносимость определенных нутриентов, диарею, отвращение к пище, физическую слабость и обезвоживание. Более половины детей имеют как неврологические, так и желудочно-кишечные нарушения.

### **Вторичные энзимопатии**

Вторичные энзимопатии – это следствие тех или иных патологических процессов, сопровождающихся нарушением

активности ферментов. Они наблюдаются при многих заболеваниях. Так, например, причиной развития вторичной лактазной недостаточности могут быть: кишечные инфекции вирусной и бактериальной этиологии, паразитарные заболевания (лямблиоз и др.), синдром короткой кишки (пострезекционный), целиакия, токсические и лекарственные поражения кишечника (на фоне лучевой и химиотерапии, антибиотикотерапии).

Один из вариантов вторичных энзимопатий – **алиментарные энзимопатии** – патологические состояния, обусловленные стойкими нарушениями активности ферментов в связи с характером питания. Алиментарные энзимопатии могут быть обусловлены длительным дефицитом пищевого белка (например, при квашиоркоре), нарушением биосинтеза коферментов при витаминной недостаточности, угнетением синтеза металлоферментов при низком содержании в рационе соответствующих минеральных веществ. Кроме того, они могут возникать при несбалансированном питании в целом. К развитию алиментарных энзимопатий могут приводить также нарушения поступления пищевых веществ из желудочно-кишечного тракта в кровь при длительной диарее, атрофии или поражении слизистой оболочки кишечника и другие. К алиментарным энзимопатиям относят и так называемые **токсические энзимопатии**, связанные с угнетением активности или биосинтеза отдельных ферментов разного рода естественными компонентами пищевых продуктов (ингибиторы протеолитических ферментов, авитамины и др.) или содержащимися в них чужеродными веществами (например пестицидами).

Клинические проявления приобретенных энзимопатий зависят от вида фермента, функция которого нарушена, характеризуются нарушениями того или иного вида обмена веществ.

### **Энзимопатии в углеводном обмене**

Энзимопатии в углеводном обмене характеризуются недостаточностью дисахаридаз, галактоземией, мукополисахаридозами и другой патологией (см. главу 3 «Нарушения углеводного обмена»).

## Энзимопатии в липидном обмене

Наиболее яркий пример энзимопатий липидного обмена – сфинголипидозы (см. главу 4 «Нарушения липидного обмена»).

## Энзимопатии в метаболизме аминокислот

В эту группу входит достаточно большое количество патологических состояний, развивающихся в результате нарушения превращений отдельных аминокислот (см. главу 5 «Нарушения метаболизма аминокислот»).

## Врожденные нарушения метаболизма пуринов и пиримидинов

**Гиперурикемия.** Возникает в связи с недостаточностью регуляции и суперактивацией фосфорибозилдифосфатсинтетазы. При полном отсутствии фермента образующиеся в организме гипоксантин и гуанин превращаются в ксантин – предшественник мочевой кислоты. Соответственно, возрастает количество продуцируемой мочевой кислоты. Заболевание характеризуется спастическими параличами, нарушением мышления, агрессивностью, склонностью к самокалечению. В ряде случаев причина гиперурикемии – это снижение активности гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы. Фермент катализирует реакцию превращения гуанина и гипоксантина в соответствующие нуклеотиды. **Синдром Леша-Нихана** – тяжелая форма гиперурикемии, вызванной полным отсутствием активности гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы. Заболевание сопровождается выраженной гиперурикемией и выпадением в осадок солей мочевой кислоты (ураты). Экскреция мочевой кислоты у пациентов с синдромом Леша-Нихана превышает 600 мг/сутки.

**Подагра** – заболевание, развивающееся в результате наследственных и приобретенных биохимических нарушений, вызывающих гиперурикемию и проявляющееся приступами острого артрита. Характерная особенность подагры – образование кристаллов мочевой кислоты или кислого урата натрия, под действием которых формируются узлы в суставных хрящах, синовиальных оболочках, подкожной клетчатке. Как правило, подагра генетически детерминирована и носит семейный характер.

Она вызвана изменениями активности ряда ферментов – активацией фосфорибозилдифосфатсинтазы и частичной потерей активности гипоксантин-гуанинфос-форибозилтрансферазы. Подагра – распространенное заболевание, в разных странах его частота – от 0,3 до 1,7% населения. Поскольку сывороточный фонд уратов у мужчин в 2 раза больше, чем у женщин, они болеют этим заболеванием в 20 раз чаще, чем женщины.

**Ксантинурия.** Возникает в связи с недостаточной активностью ксантиноксидазы, катализирующей окисление ксантина в мочевую кислоту. Конечными продуктами пуринового обмена оказываются гипоксантин и ксантин, которые в повышенном количестве выводятся с мочой. Для этого заболевания типично снижение концентрации мочевой кислоты в крови и снижение ее экскреции с мочой. Клинические проявления отсутствуют, однако существует предрасположенность к образованию почечных камней.

**Оротатацидурия.** Вызвана снижением активности уридинмонофосфат-синтазы (УМФ-синтаза), которая катализирует образование и декарбоксилирование оротидинмонофосфата. Поскольку в эмбриогенезе от адекватного образования пиримидинов зависит обеспечение синтеза ДНК, жизнь плода невозможна при полном отсутствии активности данного фермента. Действительно, у всех пациентов с оротатацидурией отмечают определенную, хотя и крайне низкую активность УМФ-синтазы. Вследствие этого в организме образуется избыток оротовой кислоты, которая выводится с мочой. Клинически наиболее характерное следствие оротатацидурии – мегалобластическая анемия, резистентная к терапии железом, цианкобаламином и фолиевой кислотой. Недостаточность синтеза пиримидиновых нуклеотидов влияет на интеллектуальное развитие, моторную активность и сопровождается нарушениями работы сердца и желудочно-кишечного тракта. Нарушается формирование клеток иммунной системы, наблюдается повышенная чувствительность к разным инфекциям.

### **Нарушения обмена порфиринов**

Синтез гема – многостадийный процесс, нарушения отдельных этапов которого могут приводить к накоплению в

организме промежуточных продуктов – порфиринов и их производных. Источником порфиринов могут быть и нарушения синтеза других гемопротеинов – цитохромов, пероксидаз, а также иные продукты распада гемоглобина в желудочно-кишечном тракте, которые всасываются и оказываются в кровотоке.

**Порфирии** – дефекты метаболизма порфиринов, сопровождающиеся накоплением и выведением в избытке с мочой или фекалиями порфиринов и их производных. Признаки и симптомы порфирий могут быть следствием нарушения образования конечных продуктов или накопления субстратов-предшественников. В случае нарушения активности ферментов начальной стадии этого метаболического пути (до образования порфириногенов) в тканях и жидкостях организма накапливаются аминолевулиновая кислота и порфобилиноген (рис. 2.1).



**Рисунок 2.1. – Биохимические механизмы развития симптомов порфирий**

У пациента могут появляться абдоминальные боли и нарушения со стороны ЦНС. Точная причина данных симптомов пока не установлена, но это может быть либо накопление аминолевулиновой кислоты и порфобилиногена, либо дефицит гема. Нейрохимические расстройства при порфириях связаны с тем, что аминолевулинат и порфириногены являются нейротоксинами.

С другой стороны, дефект фермента на более поздних стадиях синтеза гема ведет к накоплению порфириногенов. Порфириногены не окрашены и не флуоресцируют, однако на свету они легко превращаются в порфирины. Последние дают интенсивную красную флуоресценцию в ультрафиолетовых лучах. В коже под воздействием солнечного света в результате реакции с порфиринами кислород переходит в синглетное состояние. Синглетный кислород вызывает ускорение перекисного окисления липидов в клеточных мембранах и разрушение клеток. Поэтому порфирии часто сопровождаются фотосенсибилизацией и изъязвлением открытых участков кожи.

В зависимости от основной локализации патологического процесса различают *печёночные* и *эритропоэтические* наследственные порфирии. Эритропоэтические порфирии сопровождаются накоплением порфиринов в нормобластах и эритроцитах, печёночные порфирии – в гепатоцитах. При легких формах наследственных порфирий заболевание может протекать бессимптомно, но прием лекарств, индукторов синтеза аминолевулинатсинтазы способно вызвать обострение болезни. Индукторами синтеза аминолевулинатсинтазы выступают сульфаниламиды, барбитураты, диклофенак, вольтарен, стероиды. В некоторых случаях симптомы болезни не проявляются до периода полового созревания, когда повышение образования стероидов вызывает индукцию синтеза аминолевулинатсинтазы. Порфирии наблюдаются при отравлениях солями свинца, гербицидами, инсектицидами. При тяжелых формах порфирий наблюдают нейропсихические расстройства, нарушение функций ретикулоэндотелиальной системы, повреждения кожи.

***Острая интермиттирующая порфирия*** обусловлена дефектом *уропорфириноген I синтазы*. Следствие блока на этой стадии – накопление предшественников – аминолевулиновой кислоты и порфобилиногена.

Проявления заболевания редки до периода половой зрелости.

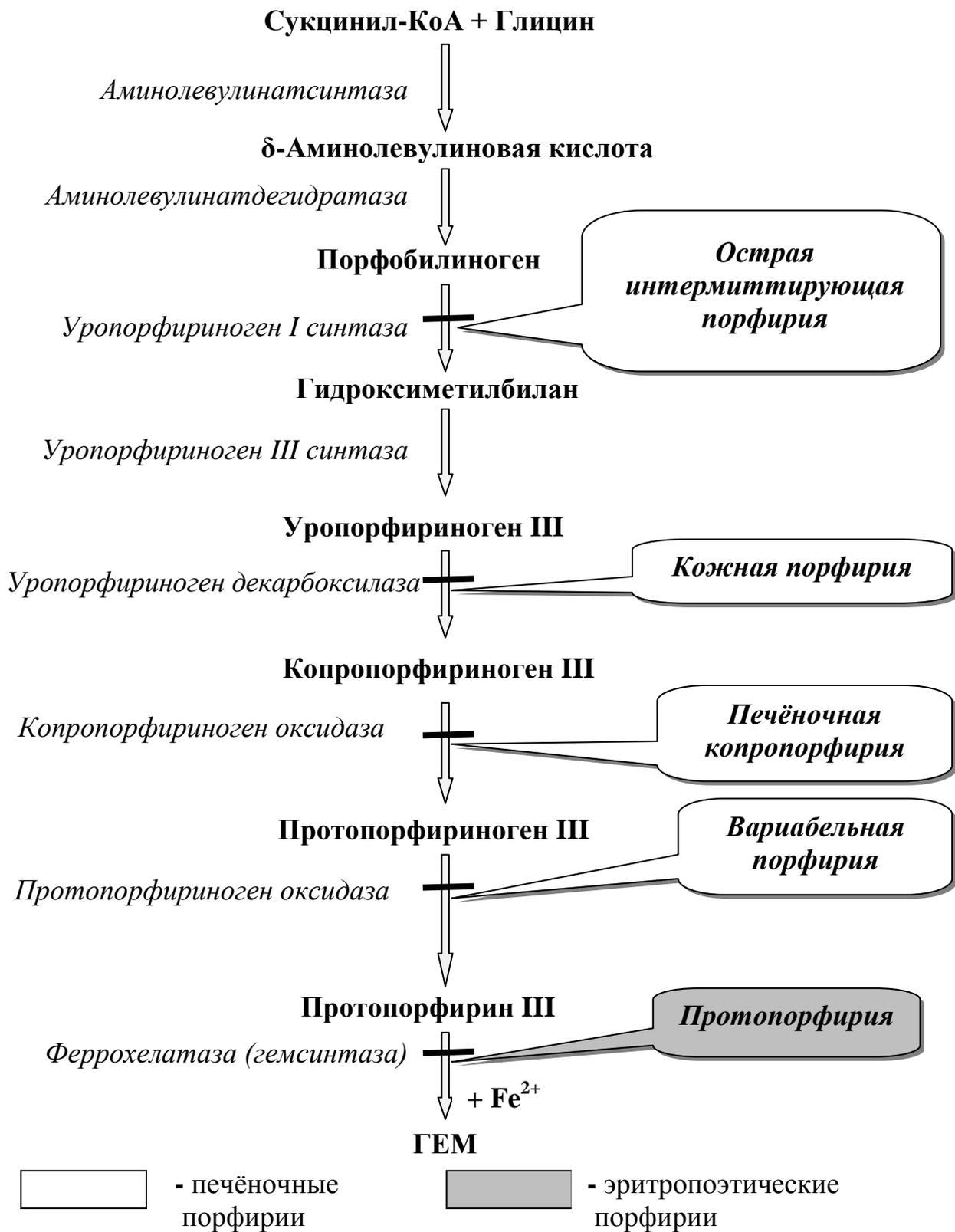


Рисунок 2.2. – Синтез гема с указанием биохимических нарушений при порфириях

Первые симптомы (боль в животе, рвота и запор) появляются, как правило, остро. Возможны периферические невриты и бульбарные симптомы (нарушения глотания и дыхания).

Провоцирующим моментом может быть прием сульфаниламидов и барбитуратов. Моча при стоянии на свету темнеет (полимеризация порфобилиногена в порфирины), в ней обнаруживаются аминолевулиновая кислота и порфобилиноген. В кале и моче порфины не накапливаются.

**Кожная порфирия** вызвана снижением активности печёночной *уропорфириногендекарбоксилазы*. Заболевание может проявляться в любом возрасте. Характеризуется отсутствием неврологических нарушений, доминированием кожных проявлений – везикулы, язвы, нарушение пигментации.

Отличительный признак – высокая чувствительность кожи к малейшим повреждениям. Предрасполагающие факторы – заболевания печени, алкоголизм, прием некоторых лекарственных препаратов. В моче повышена концентрация уропорфирина, а количество протопорфирина в кале нормальное. Абсолютный признак – наличие изокопропорфиринов в кале (по данным тонкослойной хроматографии).

**Печёночная копропорфирия** связана со снижением активности *копропорфириногенаксидазы*. Клинически схожа с вариабельной порфирией. Острые приступы провоцируются лекарственными препаратами. В кале повышено только содержание копропорфирина. Концентрация предшественников порфирина в моче увеличивается только во время обострений.

**Вариабельная порфирия** отмечена дефектом *протопорфириногенаксидазы*. Проявляется неврологическими расстройствами, а также кожными нарушениями (фотодерматиты). В кале существенно увеличивается содержание протопорфирина IX. В период обострения в моче повышается концентрация аминолевулиновой кислоты и порфобилиногена, а также уропорфирина и копропорфирина III.

**Протопорфирия** наблюдается при снижении активности феррохелатазы (гемсинтазы). Характеризуется фотосенсибилизацией и повышением содержания протопорфирина IX в эритроцитах и кале.

## Глава 3

### НАРУШЕНИЯ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

#### Гликемия и ее регуляция

Содержание глюкозы в крови – основной биохимический показатель состояния углеводного обмена. В норме он составляет 3,3-6,4 ммоль/л у взрослого человека. Глюкоза равномерно распределена между плазмой и клетками крови, поэтому ее количество можно определять в цельной крови и сыворотке. Поддержание содержания глюкозы в крови на определенном уровне – пример одного из самых совершенных механизмов регуляции гомеостаза, в функционировании которого участвуют печень, внепечёночные ткани и некоторые гормоны. Снижение концентрации глюкозы ниже 3,3 ммоль/л называют гипогликемией, а концентрация ниже 2,7 ммоль/л может вызвать опасное состояние – гипогликемическую кому. При повышении профиля гликемии до 10 ммоль/л глюкоза появляется в моче – глюкозурия, а при увеличении концентрации до 22 ммоль/л и более развивается гипергликемическая кома.

Основные источники глюкозы в крови:

- 1) углеводы пищи;
- 2) гликоген печени;
- 3) предшественники глюкозы, участвующие в глюконеогенезе.

**Регуляция гликемии в абсорбтивном и постабсорбтивном периодах.** Для предотвращения чрезмерного повышения профиля гликемии при пищеварении основное значение имеет потребление глюкозы печенью и мышцами, в меньшей мере – жировой тканью. Более половины всей глюкозы (60%), поступающей из кишечника в воротную вену, поглощается печенью. Около 2/3 этого количества откладывается в печени в виде гликогена, остальная часть превращается в липиды и окисляется, обеспечивая синтез АТФ. Другая часть глюкозы, поступающей из кишечника, попадает в общий кровоток и поглощается мышцами и жировой тканью. Это обусловлено увеличением проницаемости мембран мышечных и жировых клеток для глюкозы под влиянием инсулина. Глюкоза в мышцах запасается в виде гликогена, в клетках жировой ткани превращается в липиды. Остальная часть глюкозы из общего

кровотока поглощается другими клетками (инсулиннезависимыми).

При нормальном ритме питания концентрация глюкозы в крови и снабжение глюкозой всех органов поддерживается главным образом за счет синтеза и распада гликогена. При голодании в течение первых суток заканчиваются запасы гликогена в организме и в дальнейшем источником глюкозы служит только глюконеогенез (процесс образования глюкозы из лактата, глицерола и аминокислот). Глюконеогенез в этом состоянии ускоряется, а гликолиз замедляется вследствие низкой концентрации инсулина и, напротив, высокого содержания глюкагона. Со вторых суток голодания формируется максимальная скорость глюконеогенеза из свободных аминокислот и глицерола. Скорость глюконеогенеза из лактата сохраняется на постоянном уровне. В результате глюконеогенеза ежедневно синтезируется около 100 г глюкозы, главным образом, в печени. При голодании глюкоза не используется клетками скелетных мышц и адипоцитами, поскольку в условиях дефицита инсулина практически в них не проникает и таким образом сохраняется для обеспечения функций клеток мозга и других глюкозозависимых тканей. Поскольку в других условиях скелетные мышцы – один из основных потребителей глюкозы, прекращение потребления ее при голодании имеет существенное значение для сохранения глюкозы для головного мозга. Вариант качественного голодания – несбалансированное питание, когда рацион содержит мало углеводов – углеводное голодание. В этом случае также активируется глюконеогенез, и для синтеза глюкозы используются аминокислоты и глицерол, образующиеся из пищевых белков и липидов.

Таким образом, координация скоростей гликолиза, глюконеогенеза, синтеза и распада гликогена с участием гормонов позволяет осуществлять следующие процессы:

- 1) предотвращение чрезмерной гликемии после приема пищи;
- 2) запасание гликогена и его использование в промежутках между приемами пищи;
- 3) снабжение скелетных мышц глюкозой, потребность которых в энергии быстро возрастает при мышечной работе;
- 4) обеспечение глюкозой клеток, которые при голодании в качестве источника энергии используют преимущественно

глюкозу – нейроны, эритроциты, мозговое вещество почек, семенники.

**Гипергликемия** может рассматриваться как физиологическое состояние, связанное с одномоментным приемом в пищу больших количеств легко усвояемых углеводов (алиментарная гипергликемия), или как нейрогенная (стрессорная) – при усиленном выбросе в кровь большого количества катехоламинов, стимулирующих фосфоролитический распад гликогена. Физиологическая гипергликемия – кратковременное состояние.

Патологические типы гипергликемий обусловлены нейроэндокринными расстройствами: нарушением оптимального соотношения между секрецией гормонов гипо- и гипергликемического действия. Наиболее распространенная форма патологической гипергликемии – сахарный диабет, симптомы которого связаны с недостаточной продукцией единственного гипогликемического гормона – инсулина, или с резистентностью тканей к этому гормону. Гипергликемия может наблюдаться при заболеваниях гипофиза, которые сопровождаются повышенной секрецией соматотропного гормона и АКТГ (опухоли гипофиза, болезнь Иценко-Кушинга, акромегалия), опухолях мозгового слоя надпочечников с усиленной продукцией катехоламинов или коркового слоя (усиливается продукция глюкокортикоидов). Аналогичная ситуация может наблюдаться при поражениях диэнцефальной области мозга, гиперфункции щитовидной железы, а также при нарушении депонирования глюкозы в виде гликогена в печени.

Физиологическая **гипогликемия** может развиваться вслед за алиментарной гипергликемией в связи с компенсаторным выбросом инсулина, а также после тяжелой и длительной мышечной работы, иногда возникает у женщин в период лактации.

Патологическая гипогликемия может быть следствием гиперинсулинемии в результате:

- 1) введения чрезмерных количеств инсулина или гипогликемических препаратов при сахарном диабете;
- 2) аденомы или карциномы островковых клеток поджелудочной железы (гиперинсулинизм с высоким уровнем проинсулина);
- 3) семейной лейцин-чувствительной гипогликемии;
- 4) злокачественной аденомы поджелудочной железы,

развивающейся из  $\alpha$ -клеток, секретирующих глюкагон и гастрин.

Возможно развитие гипогликемии без гиперинсулинизма – при заболевании почек в результате снижения почечного порога для глюкозы, что ведет к усиленной ее потере с мочой (глюкозурия); нарушении всасывания углеводов в желудочно-кишечном тракте (мальабсорбция углеводов); заболеваниях печени, сопровождающихся торможением синтеза гликогена и недостаточной активностью ферментов глюконеогенеза; надпочечниковой недостаточностью (дефицит синтеза глюкокортикоидов); галактоземии и гликогенозах.

Выделяют также паранеопластические инсулинзависимые гипогликемии, сопровождающие первичную карциному печени, мезенхимальные опухоли, тератому.

К числу патологических гипогликемий может быть отнесена алиментарная – при длительном голодании или недостаточном поступлении углеводов с пищей.

### **Гипогликемия в детском возрасте**

Концентрация глюкозы в крови у детей отличается значительной вариабельностью. Связь гипогликемии с нарушениями развития нервной системы у недоношенных детей впервые была показана в 1937 г. В настоящее время гипогликемию считают «легкой» при концентрациях глюкозы от 2,2 до 2,8 ммоль/л, «умеренной» – от 1,1 до 2,2 ммоль/л, «тяжелой» – менее 1,1 ммоль/л. Количество глюкозы в плазме снижается до 1,67 ммоль/л в первые 2 часа жизни и впоследствии повышается до значений по меньшей мере 2,5 ммоль/л и обычно стабилизируется через 12-24 часа.

В последующие несколько дней может развиваться физиологическая гипогликемия новорожденных. Нижний уровень гликемии при этом достигает значений 1,7-2,0 ммоль/л. Новорожденный переносит этот низкий уровень глюкозы без внешних признаков гипогликемии, наблюдаемых у взрослых – рвота, судороги, кома. Такая относительная устойчивость ребенка к гипогликемии обусловлена тем, что головной мозг новорожденного имеет довольно низкий уровень потребления энергии, вследствие чего лучше переносит гипоксию и гипогликемию. Тем не менее,

концентрация глюкозы в крови ниже 1,1 ммоль/л может привести к стойкому повреждению ЦНС.

Адаптивный переход метаболизма плода к метаболизму после рождения – наиболее сложная и важная физиологическая адаптация в жизни человека. По мере того как снабжение глюкозой через плаценту прекращается, и концентрации глюкозы в плазме достигают минимума, в течение первых 6-24 часов жизни происходит «выброс» важных для глюконеогенеза контринсулярных гормонов. Происходит «всплеск» содержания катехоламинов (адреналина и норадреналина), которые играют решающую роль в адаптации к разным стрессорам окружающей среды. У детей, рожденных с помощью кесарева сечения, уровень катехоламинов ниже, чем у детей, рожденных естественным путем, и поэтому они более склонны к развитию гипогликемии. Тем не менее, как это ни парадоксально, у некоторых недоношенных детей уровень катехоламинов в пуповинной крови выше, чем у доношенных. Катехоламины помогают в поддержании артериального давления и нормотермии, стимулируя  $\alpha$ -рецепторы, которые затем повышают артериальное давление и помогают утилизировать липиды бурого жира. Этот механизм также помогает преодолеть гипоксию путем индукции производства сурфактанта в альвеолах. Адреналин способствует гликогенолизу в печени и глюконеогенезу, что препятствует гипогликемии. Усиление секреции кортизола происходит одновременно с высвобождением катехоламинов, что способствует увеличению плотности  $\beta$ -рецепторов в кровеносных сосудах и увеличивает экспрессию ферментов глюконеогенеза, что еще больше повышает уровень глюкозы в сыворотке. Показано, что недоношенные дети (гестационный возраст 33-36 недель) имеют более высокие уровни глюкозы в крови, чем доношенные дети, но концентрации глюкозы у недоношенных детей с гестационным возрастом 24-36 недель обратно пропорциональны сроку беременности и, как правило, остаются высокими со 2-6 дня жизни. Недоношенные дети с гестационным возрастом менее 28 недель наиболее чувствительны к гипогликемии.

### **Этиопатогенез гипогликемии**

Гипогликемия, по сути, это результат либо снижения выработки, либо чрезмерного использования запасов глюкозы.

Таким образом, гипогликемия возникает у новорожденных, которые рождаются с низким уровнем гликогена и жировых отложений, с ограниченной способностью генерировать глюкозу путем глюконеогенеза или в ситуациях чрезмерного использования глюкозы в периферических тканях, как это имеет место у новорожденных от матерей с инсулинзависимым диабетом. Нормогликемия после рождения поддерживается комбинацией тщательно контролируемых метаболических изменений и секрецией гормонов.

Недоношенные новорожденные с чрезвычайно низкой массой тела рождаются с низким запасом гликогена и жировой ткани. Эта ситуация дополнительно осложняется тем фактом, что ряд ферментов, участвующих в глюконеогенезе, а именно, фосфоенолпируваткарбоккиназа, глюкозо-6-фосфатаза, фруктозо-1,6-дифосфатаза и пируваткарбоксилаза, экспрессируются на очень низких уровнях, ограничивая способность детей к глюконеогенезу. Недоношенные дети и дети с задержкой внутриутробного развития (ЗВУР) с высокой вероятностью могут иметь гипогликемию в раннем неонатальном периоде.

Разного рода врожденные нарушения, такие как синдром Беквита-Видемана, синдром Тернера, синдром Дауна, синдром Костелло, врожденный гипопитуитаризм и врожденная гиперплазия надпочечников, также предрасполагают к гипогликемии. Врожденные нарушения обмена веществ, такие как болезнь мочи кленового сиропа, нарушения накопления гликогена, непереносимость фруктозы и дефицит ферментов окисления жирных кислот, также могут приводить к персистирующей гипогликемии.

У новорожденных плохо развиты контррегуляторные механизмы противодействия гипогликемии, что делает их особо уязвимыми.

Основные причины гипогликемии у новорожденных: быстрое истощение депо углеводов в печени (гликогена), незрелость регуляторных механизмов, несвоевременное кормление, интенсивное поглощение глюкозы тканями, особенно в условиях гипоксии. Для поддержания нормального уровня глюкозы в крови необходимо регулярное поступление ее из желудочно-кишечного тракта, что требует частого кормления ребенка. В то же время у

детей при гипогликемии компенсаторно активируются эндогенные механизмы регуляции метаболизма углеводов. Снижение профиля гликемии сопровождается увеличением секреции глюкагона. Этот гормон стимулирует процесс глюконеогенеза, который обеспечивает наработку определенного количества глюкозы из аминокислот, пировиноградной и молочной кислоты. Глюконеогенез – важная адаптационная реакция организма новорожденного, так как позволяет постепенно повысить уровень гликемии к 6-10 дню жизни до 3,3-4,0 ммоль/л. В пределах таких величин концентрация глюкозы в крови поддерживается на протяжении нескольких месяцев.

У детей раннего и дошкольного возраста (до 6-7 лет) отмечается тенденция к гипогликемии при недостаточном поступлении углеводов с пищей. Такая гипогликемическая реакция организма ребенка обусловлена несовершенством механизмов регуляции, истощением депо гликогена и повышенной утилизацией глюкозы тканями – у детей дошкольного возраста потребление глюкозы более чем в 2 раза превышает утилизацию ее у взрослых. Только к 7-14 годам указанные механизмы, влияющие на уровень гликемии, приходят к типу взрослого организма, регуляция концентрации глюкозы в крови стабилизируется и гликемия у детей достигает величин взрослого человека.

### **Нарушения переваривания и всасывания углеводов**

В основе патологии переваривания и всасывания углеводов могут быть причины двух типов:

- дефекты ферментов, участвующих в гидролизе углеводов в кишечнике;
- нарушение всасывания продуктов переваривания углеводов в клетки слизистой оболочки кишечника.

В обоих случаях возникает осмотическая диарея, которую вызывают нерасщепленные дисахариды или не абсорбированные моносахариды. Нерасщепленные углеводы поступают в дистальные отделы кишечника, повышая осмотическое давление содержимого кишечника. Кроме того, оставшиеся в просвете кишечника углеводы частично подвергаются ферментативному расщеплению микроорганизмами с образованием органических кислот и газов. Все вместе это приводит к притоку воды в просвет кишечника, увеличению объема кишечного содержимого, усилению

перистальтики, спазмам и болям, а также метеоризму.

Термином «мальабсорбция» называют недостаточное расщепление и всасывание компонентов пищи. Но, поскольку клинические проявления при недостаточном переваривании и всасывании сходны, термином «мальабсорбция» называют оба вида нарушений.

### **Нарушения переваривания углеводов в кишечнике**

Нарушения расщепления дисахаридов могут быть связаны как с недостаточной активностью отдельных дисахаридаз, так и с недостаточностью всего ферментативного комплекса, например сахарозо-изомальтазного.

Известны наследственные и приобретенные формы недостаточности активности ферментов. Симптомы врожденных нарушений проявляются достаточно рано, например после первых кормлений грудным молоком (при дефиците лактазы), после перехода на искусственное вскармливание или при добавлении сахара и крахмала в рацион (при дефиците  $\alpha$ -амилазы или специфических дисахаридаз). В случае отсутствия лечения врожденные формы патологии сопровождаются хроническим дисбактериозом и нарушениями физического развития ребенка.

Приобретенные формы патологии могут наблюдаться при кишечных заболеваниях, например гастритах, колитах, энтеритах. Следует заметить, что в этих случаях особо заметно снижение активности лактазы. Активность лактазы в кишечнике ниже, чем других дисахаридаз, поэтому уменьшение ее активности становится в первую очередь заметным для организма.

### **Недостаточность дисахаридаз**

Дисахаридазы локализованы в щеточной каемке клеток слизистой тонкого кишечника и участвуют в расщеплении дисахаридов на моносахариды, что является необходимым условием их резорбции. Дисахаридазы подразделяются на  $\alpha$ -гликозидазы (изомальтаза, сахароза, мальтазы) и  $\beta$ -гликозидазы (лактаза,  $\beta$ -галактозидаза).

К первой группе нарушений относится отсутствие сахаразы и изомальтазы (всегда сочетанный дефект). Дисахариды не расщепляются и не могут быть утилизированы. Они осмотическим

путем связывают воду и вызывают диарею, появляющуюся главным образом после пероральной нагрузки дисахаридами. Кроме того, после такой нагрузки в крови не удается обнаружить существенного повышения гликемии в интервале 30-90 минут, что отмечается у здоровых людей.

*Непереносимость лактозы.* Лактоза – молочный сахар, важнейший дисахарид молока млекопитающих. В коровьем молоке содержится до 5% лактозы, в женском молоке – до 8%. Лактаза расщепляет  $\beta$ -1,4-гликозидные связи между галактозой и глюкозой в молекуле лактозы. Этот фермент по химической природе является гликопротеином. Лактаза, как и другие гликозидазные ферменты, связана со щеточной каемкой и распределена неравномерно по всему тонкому кишечнику. Активность лактазы колеблется в зависимости от возраста. Так, у плода активность фермента особенно высока в поздние сроки беременности и сохраняется на высоком уровне до 5-7-летнего возраста. Затем активность лактазы снижается, составляя у взрослых 10% от уровня активности, характерного для детей.

Непереносимость лактозы может иметь наследственные и приобретенные формы. Наследственный дефицит лактазы встречается относительно редко. После приема молока наблюдаются рвота, диарея, спазмы и боли в животе, метеоризм. Симптомы развиваются сразу после рождения и приводят к гипотрофии. Состояние быстро улучшается при переводе пациентов на безлактозную диету.

*Недостаточность лактазы вследствие снижения экспрессии гена фермента в онтогенезе* характерна для взрослых и детей старшего возраста. Является следствием возрастного снижения количества белка лактазы. Симптомы непереносимости молока аналогичны наследственной форме дефицита лактозы.

Носители патологии, связанной с дефицитом лактазы, чаще всего лица африканского и азиатского происхождения. Средняя частота данной формы патологии в странах Европы составляет 7-12%, в Китае – 80%, в отдельных районах Африки – до 97%. Подобные наблюдения распространения лактазной недостаточности связывают с исторически сложившимся рационом питания и отсутствием молочного скотоводства в упомянутых регионах.

О недостаточности лактазы можно судить по тесту с нагрузкой лактозой и последующим определением уровня

гликемии или определяя концентрацию водорода в выдыхаемом воздухе после нагрузки лактозой (водородный тест). Водород образуется в результате действия бактериальных ферментов на лактозу.

*Недостаточность лактазы вторичного характера* – временная, приобретенная форма. Может быть следствием кишечных заболеваний – колитов, гастритов. Кроме того, временный дефицит лактазы может быть следствием оперативных вмешательств на желудочно-кишечном тракте.

Примеры и причины нарушения переваривания дисахаридов перечислены в таблице 3.1.

Таблица 3.1. – Нарушения переваривания дисахаридов

Причина заболевания	Клинические проявления и лабораторные данные
Наследственный дефицит лактазы	Встречается относительно редко. После приема молока наблюдаются рвота, диарея, спазмы и боли в животе, метеоризм. Симптомы развиваются сразу после рождения
Недостаточность лактазы вследствие снижения экспрессии гена фермента в онтогенезе	Характерна для взрослых и детей старшего возраста. Является следствием возрастного снижения количества лактазы. Симптомы непереносимости молока аналогичны наследственной форме дефицита лактозы
Недостаточность лактазы вторичного характера	Это временная приобретенная форма. Непереносимость молока может быть следствием кишечных заболеваний, например, колитов, гастритов. Кроме того, временный дефицит лактазы может быть следствием операций на ЖКТ
Наследственная недостаточность сахарозо-изомальтазного комплекса	Проявляется, когда в рацион детей добавляют сахарозу и крахмал. Больные дети обычно неохотно едят сладкое. После нагрузки сахарозой отмечается незначительная гипергликемия. Другие сахара (глюкоза, фруктоза, лактоза) переносятся хорошо.
Приобретенная недостаточность сахарозо-изомальтазного комплекса	Может возникать вследствие кишечных заболеваний. Проявляется диспепсией, провоцируемой крупами, крахмалом, а также пивом и другими напитками на основе солода

Существуют редкие формы нарушения переваривания углеводов. Например наследственная недостаточность трегалозы, которая проявляется диспепсией после употребления грибов, содержащих трегалозу.

В отдельных случаях мальабсорбция может быть вызвана совокупностью причин. Например, после операций на органах желудочно-кишечного тракта возможны ухудшение смешивания пищи с пищеварительными соками, снижение их секреции, ускорение прохождения пищи через кишечник, развитие дисбиоза и колонизация бактериями слепой и приводящей петель кишечника.

### **Нарушения всасывания углеводов**

Нарушения всасывания могут быть следствием какого-либо компонента (белка или фермента), участвующего в системе транспорта моносахаридов через мембрану. Описаны патологии, связанные с дефектом натрийзависимого белка-переносчика глюкозы.

Для диагностики различных нарушений переваривания используют пробы с нагрузкой определенными углеводами. Недостаточность кишечных дисахаридаз можно диагностировать с помощью нагрузки дисахаридом и последующим определением концентрации глюкозы в крови. Для большей чувствительности этот тест проводят в два приема, вводя сначала дисахарид (1 г/кг массы), а затем эквивалентное количество составляющих его моносахаридов (по 0,5 г/кг каждого). После нагрузки концентрация глюкозы в крови увеличивается примерно на 50% относительно нормы. При патологии отмечают незначительную гипергликемию.

### **САХАРНЫЙ ДИАБЕТ**

Сахарный диабет (СД) – заболевание, характеризующееся абсолютным или относительным дефицитом инсулина. По данным медицинской статистики пациенты с СД составляют около 5% населения во многих странах. Риск заболевания СД удваивается на каждые 20% избыточного веса, а среди пожилых людей (старше 65 лет) СД болен почти каждый пятый. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, СД классифицируют с учетом патогенеза и клинического течения на две основные формы: диабет I типа – инсулин-зависимый (ИЗСД) и диабет II типа – инсулиннезависимый (ИНСД).

**Инсулинзависимый сахарный диабет** вызван нарушением структуры и/или функции  $\beta$ -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы. Деструкция  $\beta$ -клеток часто является следствием аутоиммунных реакций, в которых принимают участие лимфоциты и макрофаги. Эти клетки продуцируют цитокины, которые либо непосредственно повреждают  $\beta$ -клетки, либо опосредуют клеточные реакции против них. Провоцировать возникновение ИЗСД может вирусная инфекция, вызывающая деструкцию  $\beta$ -клеток. К таким вирусам, называемым  $\beta$ -цитотропными, относятся вирусы оспы, краснухи, кори, эпидемического паротита, цитомегаловирус, аденовирус. Некоторые токсические вещества, например производные нитрозомочевины и другие нитро- и аминоксодержащие соединения, избирательно поражают  $\beta$ -клетки и индуцируют аутоиммунную реакцию. Кроме того, ИЗСД может быть результатом генетически обусловленного дефекта системы иммунологического надзора и сочетаться с другими аутоиммунными заболеваниями.

На долю ИЗСД приходится примерно 25-30% всех случаев СД. Когда погибает 80-95%  $\beta$ -клеток развивается абсолютный дефицит инсулина и возникают тяжелые метаболические нарушения. ИЗСД регистрируется в большинстве случаев у детей, подростков и молодых людей, но может проявиться в любом возрасте.

**Инсулиннезависимый сахарный диабет** – общее название нескольких заболеваний, развивающихся в результате относительного дефицита инсулина, который может возникать вследствие нарушения его секреции, нарушения превращения проинсулина в инсулин, повышения скорости катаболизма инсулина, а также повреждения механизмов передачи инсулинового сигнала на клетки-мишени (дефект рецептора инсулина, повреждение внутриклеточных посредников инсулинового сигнала и др.). Все эти причины приводят к инсулинорезистентности. ИНСД поражает людей, как правило, старше 40 лет, он характеризуется высокой частотой семейных форм. Риск ИНСД у ближайших родственников пациента достигает 50%, тогда как при ИЗСД, который чаще возникает в молодом возрасте, он не превышает 10%.

Возможными причинами ИНСД могут быть: образование антител к рецепторам инсулина, генетический дефект пострецепторного аппарата инсулинзависимых тканей, нарушения регуляции секреции инсулина. К факторам, определяющим развитие и клиническое течение болезни, относятся ожирение, неправильный режим питания, малоподвижный образ жизни, стресс. Мутации генов, контролирующих секрецию инсулина, энергетический обмен в  $\beta$ -клетках и обмен глюкозы в клетках-мишенях инсулина приводят к возникновению нескольких форм ИНСД с аутосомно-доминантным наследованием. Основным провоцирующим фактором ИНСД является ожирение. Этот тип диабета часто сочетается с гиперинсулинемией (инсулинорезистентность), что является одним из факторов, провоцирующих ожирение. Ожирение и часто сопутствующая ему гипертензия являются составными частями метаболического синдрома (синдром X).

### **Нарушения метаболизма при сахарном диабете**

Для всех форм СД характерно повышение концентрации глюкозы в крови. Снижение толерантности к глюкозе наблюдается и в случаях скрытой (латентной) формы СД. Гипергликемия обусловлена снижением скорости использования глюкозы тканями вследствие недостатка инсулина или снижения биологического действия инсулина в тканях-мишенях. При дефиците инсулина уменьшается количество белков-переносчиков глюкозы (GLUT-4) на мембранах инсулинзависимых клеток (жировой ткани и мышц). В гепатоцитах, миоцитах и липоцитах низкие уровни инсулина приводят к угнетению гексокиназной (глюкокиназной) реакции, что ведет к снижению образования глюкозо-6-фосфата. Низкие концентрации инсулина, контролирующего активность ферментов гликолиза и почти всех ферментов пентозофосфатного пути, а также малые количества глюкозо-6-фосфата обуславливают угнетение гликолиза и пентозофосфатного пути.

Вследствие активации фосфоорилазы и ингибирования гликогенсинтазы в гепатоцитах усиливается гликогенолиз. Так как происходит снижение активности глюкокиназы и активируется глюкозо-6-фосфатаза, фосфорилирование глюкозы ухудшается, распад фосфорилированной глюкозы возрастает, а нейтральная молекула глюкозы легко покидает гепатоцит. Вследствие

активации ферментов глюконеогенеза, гепатоциты усиленно продуцируют глюкозу *de novo* (глюкагон активирует ключевые ферменты глюконеогенеза и обеспечивает глюконеогенез субстратами – усиливает липолиз, тормозит синтез белка на рибосомах). Так как мембрана покоящейся мышечной клетки не имеет рецепторов к глюкагону – мышца на глюкагон не реагирует.

Нарушается транслокация транспортера GLUT-4, обеспечивающего облегченную диффузию глюкозы в миоциты и липоциты, и снижается поглощение глюкозы скелетными мышцами и жировой тканью после потребления пищи.

Полноценное функционирование цикла Кребса нарушается и, как следствие, снижается интенсивность окислительного фосфорилирования и развивается дефицит АТФ. На цикл трикарбоновых кислот в митохондриях влияют следующие факторы:

1) снижение активности ферментов цикла как результат низких уровней инсулина (половина ферментов цикла регулируется инсулином);

2) субстраты цикла (оксалоацетат и  $\alpha$ -кетоглутарат) активно отвлекаются для глюконеогенеза, резко активированного при абсолютно или относительно повышенных уровнях глюкагона;

3) содержание пирувата снижено, поскольку угнетен гликолиз;

4) анаплеротический путь восполнения оксалоацетата в условиях возрастания уровней ацетил-КоА снижает свою активность, поскольку снижены концентрации пирувата.

Как результат всех указанных явлений развивается гипергликемия.

Организм пациентов с СД удовлетворяет свои энергетические потребности, прежде всего, за счет окисления липидов. Это обуславливает глубокую перестройку липидного обмена.

В здоровом организме инсулин способствует отложению жира в жировой ткани и снижению его утилизации. Механизмы этого множественные и не сводятся только к сохранению липидов путем усиления катаболизма экзогенной глюкозы:

– инсулин усиливает синтез жирных кислот из глюкозы в гепатоцитах и адипоцитах. Под его влиянием активируется реакция карбоксилирования ацетил-КоА с последующим образованием малонил-КоА, мишенью гормона служит фермент ацетил-КоА-карбоксилаза (ацетил-КоА:  $\text{CO}_2$ -лигаза);

– инсулин противодействует эффектам всех липолитических

гормонов (адреналин, глюкагон, СТГ, глюкокортикоиды), а также способствует созданию избытка изоцитрата и  $\alpha$ -кетоглутарата – активаторов ацетил-КоА-карбоксилазы;

– известно, что жирные кислоты транспортируются из печени в жировую ткань в составе липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), секретируемых печенью. Инсулин усиливает активность липопротеинлипазы, осуществляющей клиренс ЛПОНП с переходом жирных кислот в адипоциты;

– инсулин ускоряет транспорт глюкозы в адипоциты и ингибирует основной липолитический фермент клеток жировой ткани – гормонзависимую липазу;

– под действием инсулина активация гликолиза обеспечивает липогенез пластическим путем (через  $\alpha$ -глицерофосфат), а активация пентозофосфатного пути поставляет НАДФН<sup>+</sup>.

При ИЗСД увеличена скорость липолиза и содержания СЖК в крови. Липиды, освобождаемые адипоцитами, при этом ресинтезируются в печени, и поэтому обе формы диабета приводят к стеатозу печени. При ИЗСД ожирение печени наблюдается, несмотря на общую потерю массы и липиды могут составлять до 1/3 веса печени. Поэтому диабет (особенно ИНСД) часто сопровождается гиперлиппротеинемией IV типа (с накоплением в крови ЛПОНП). Из-за снижения активности липопротеинлипазы при ИЗСД может наблюдаться гиперлиппротеинемия I типа (персистрирование хиломикрон) и сочетание I и IV типов – гиперлиппротеинемия V типа.

Вторичные гиперлиппротеинемии при диабете способны ускорить развитие атеросклероза (IV тип) и панкреатита (I тип). Механизмы взаимосвязи развития атеросклероза и диабета особенно важны для возникновения осложнений ИНСД. При диабете количество антиатерогенных липопротеинов высокой плотности снижено, а при ИЗСД повышена концентрация высокотромбогенных липопротеинов низкой плотности.

В условиях преобладания эффектов глюкагона и других контринсулярных гормонов (СТГ, глюкокортикоиды), изменения в липидном обмене способствуют усилению кетогенеза в печени и торможению утилизации ацетоуксусной кислоты в периферических тканях. Это важный механизм развития диабетического кетоацидоза.

Вторичные гиперлиппротеинемии при СД способствуют развитию атеросклероза и панкреатита.

При СД дефицит инсулина приводит к снижению скорости синтеза белка и усилению его распада. Это вызывает повышение концентраций свободных аминокислот в крови. Аминокислоты поступают в печень, где дезаминируются. Безазотистые остатки гликогенных аминокислот включаются в глюконеогенез, что еще больше усиливает гипергликемию. Образующийся при этом аммиак вступает в орнитиновый цикл, что приводит к увеличению концентрации мочевины в крови и, соответственно, в моче. Усиление распада белков при СД особенно характерно для скелетных мышц. Этот процесс сопровождается выходом калия и других внутриклеточных ионов в кровь с последующей экскрецией их с мочой в условиях полиурии. Гипокалиемия и потеря мышечных белков обуславливают симптом мышечной слабости при СД.

Высокие концентрации глюкозы, кетоновых тел, мочевины приводят к усиленной экскреции их из организма. Однако, поскольку концентрационная способность почек ограничена, резко увеличивается выделение жидкости. Диурез у пациентов с СД возрастает в несколько раз и может достигать 8-9 литров в сутки, но чаще составляет 3-4 литра. Полиурия способствует формированию постоянной жажды.

Нарушения обмена углеводов, липидов и белков при СД могут приводить к развитию коматозных состояний (острые осложнения). Диабетическая кома проявляется резким нарушением всех функций организма с потерей сознания. Основные причины диабетической комы – ацидоз и дегидратация тканей. Коматозные состояния при СД могут характеризоваться тремя основными формами: кетоацидотической, гиперосмолярной и лактацидотической.

Отсутствие лечения или неадекватное лечение могут быть причиной:

- 1) диабетического кетоацидоза;
- 2) гиперосмолярной комы;
- 3) гипогликемии.

Причины развития гипогликемии при СД – передозировка препаратов инсулина и его аналогов; голодание на фоне проводимой терапии; прием алкогольных напитков; физические нагрузки.

**Поздние осложнения сахарного диабета.** Главная причина поздних осложнений СД – гипергликемия. Она приводит к

окислительному стрессу, вызывающему повреждение кровеносных сосудов. Поздние осложнения СД: нарушения в ключевых органах и тканях:

- 1) диабетическая макроангиопатия;
- 2) диабетическая ретинопатия;
- 3) диабетическая нефропатия;
- 4) диабетическая нейропатия;
- 5) синдром диабетической стопы.

Один из основных механизмов повреждения тканей при СД – гликозилирование белков, приводящее к изменению их конформации и функций. Некоторые белки в норме содержат углеводные компоненты (гликопротеины), их образование протекает в основном ферментативно. Однако в организме человека может происходить и неферментативное взаимодействие глюкозы со свободными аминокетильными группами белков – гликозилирование белков. В тканях здоровых людей эта реакция протекает медленно, а при гипергликемии она резко ускоряется. Степень гликозилирования белков зависит от скорости их обновления. В медленно обменивающихся белках накапливается больше изменений. К одним из первых признаков СД относят увеличение в 2-3 раза количества гликозилированного гемоглобина (норма 5,8-7,2%). Еще одним примером медленно обменивающихся белков служат кристаллины – белки хрусталика. При гликозилировании кристаллины образуют мультимолекулярные агрегаты, прозрачность хрусталика уменьшается, возникает его помутнение или катаракта. К медленно обменивающимся белкам относятся белки межклеточного матрикса и базальных мембран. Увеличение плотности и толщины базальных мембран – одно из характерных осложнений СД, провоцирующих развитие диабетических ангиопатий.

Причиной многих поздних осложнений СД является также повышенное превращение глюкозы в сорбитол. Реакция превращения глюкозы в сорбитол (шестиатомный спирт) катализируется ферментом альдозоредуктазой. Сорбитол не используется в других метаболических путях и скорость его диффузии из клеток невелика. У пациентов с СД сорбитол накапливается в сетчатке и хрусталике глаза, клетках клубочков почек, шванновских клетках, в эндотелии. Сорбитол в высоких концентрациях токсичен для клеток. Его накопление в нейронах

приводит к увеличению осмотического давления, набуханию клеток и отеку ткани.

### Диагностика сахарного диабета

Обычно диагноз СД можно поставить на основе классических его симптомов – гипергликемии, полиурии, полидипсии, полифагии, ощущению сухости во рту. Важнейшие биохимические критерии ИЗСД следующие:

1. *Тест толерантности к глюкозе.* Уровень глюкозы в плазме крови выше 10 ммоль/л через 2 часа после сахарной нагрузки свидетельствует о СД.

2. *Определение гликозилированного гемоглобина.* При СД его уровень увеличивается в 2-3 раза (норма – 5,8-7,2% от суммарного содержания гемоглобина).

3. *Отсутствие или низкий уровень инсулина и С-пептида в крови и моче.* В норме инсулин и С-пептид секретируются в эквимольных концентрациях. Поскольку печенью задерживается примерно 2/3 инсулина, соотношение инсулин/С-пептид в воротной вене и периферических сосудах в норме составляет 1/3. Величина уровня С-пептида в сыворотке крови или моче позволяет достаточно точно оценить функциональное состояние  $\beta$ -клеток поджелудочной железы.

4. *Альбуминурия.* При СД суточное выведение альбумина составляет примерно 30-300 мг – микроальбуминурия (в норме – около 8 мг).

Критерии диагностики сахарного диабета представлены в таблице 3.2

Таблица 3.2. – Критерии диагностики сахарного диабета

		Глюкоза цельной крови, ммоль/л		Глюкоза плазмы крови, ммоль/л	
		венозная	капиллярная	венозная	капиллярная
Сахарный диабет	натощак	$\geq 6,1$	$\geq 6,1$	$\geq 7,0$	$\geq 7,0$
	через 2 часа	$\geq 10,0$	$\geq 11,1$	$\geq 11,1$	$\geq 12,2$
Нарушение толерантности к глюкозе	натощак	$< 6,1$	$< 6,1$	$< 7,0$	$< 7,0$
	через 2 часа	$\geq 6,7$ $< 10,0$	$\geq 7,8$ $< 11,1$	$\geq 7,8$ $< 11,1$	$\geq 8,9$ $< 12,2$
Нарушенная гликемия натощак	натощак	$\geq 5,6$ $< 6,1$	$\geq 5,6$ $< 6,1$	$\geq 6,1$ $< 7,0$	$\geq 6,1$ $< 7,0$
	через 2 часа	$< 6,7$	$< 7,8$	$< 7,8$	$< 8,9$

Поскольку ИНСД развивается медленнее, его классические симптомы – гипергликемия и дефицит инсулина – диагностируют позднее, часто в сочетании с симптомами поздних осложнений СД.

### **Нарушения обмена гликогена**

Гликогеновые болезни – группа наследственных нарушений, в основе которых лежит снижение или отсутствие активности ферментов, катализирующих реакции синтеза или распада гликогена, либо нарушение регуляции этих ферментов.

**Гликогенозы** – заболевания, обусловленные дефектом ферментов, участвующих в метаболизме гликогена. Для них характерна либо нефизиологическая структура гликогена, либо его избыточное накопление в печени, сердечной или скелетных мышцах, почках и других органах (табл. 3.3). Термин «гликогеноз» был предложен супругами Кори, они же предложили систему нумераций этих болезней. В настоящее время существует деление гликогенозов на 3 группы: печёночные, мышечные и смешанные.

**Печёночные формы гликогенозов** характеризуются нарушением использования гликогена для поддержания уровня глюкозы в крови. Общий симптом для этих форм – гипогликемия в постабсорбтивный период. К данной группе заболеваний относятся гликогенозы I, IV, VI, X типов.

**Болезнь Гирке** (гликогеноз I типа) среди всех гликогенозов встречается чаще всего. Описание основных симптомов этого типа гликогеноза может служить основанием для понимания симптомов всех остальных типов. Причина гликогеноза I типа – наследственный дефект глюкозо-6-фосфатазы в печени, фермента, обеспечивающего выход глюкозы в кровоток. Болезнь Гирке проявляется гипогликемией, гипертриглицеролемией, гиперурикемией. Гипогликемия является следствием нарушения образования свободной глюкозы из глюкозо-6-фосфата. В крови повышается количество лактата, поэтому возможен ацидоз. В тяжелых случаях результатом гипогликемии могут быть судороги. Гипертриглицеролемия возникает вследствие снижения активности липопротеинлипазы в жировой ткани, которая обеспечивает усвоение триглицеролов адипоцитами. Гиперурикемия – следствие ряда факторов – избыточного синтеза, а, следовательно, и катаболизма пуриновых нуклеотидов, конечный продукт которого – мочевая кислота; снижения выведения мочевой

кислоты с мочой.

Таблица 3.3. – Характеристика некоторых гликогеновых болезней

Гликогенозы			
Форма гликогеноза	Дефектный фермент	Проявления болезни	Тип, название болезни
Печёночная	Глюкозо-6-фосфатаза	Гипогликемия, гипертриглицеролемиа, гиперурикемия, ацидоз (вследствие накопления лактата), характерное выражение лица («лицо китайской куклы»)	Ia Болезнь Гирке
	Амил-1,4→1,6-глюкозил-транс-фераза («ветвящий» фермент)	Накопление структурно измененного гликогена с очень длинными наружными ветвями и редкими точками ветвления, смерть в возрасте до 5 лет в результате печёночной или сердечной недостаточности	IV Болезнь Андерсена
	Фосфоорилаза	Накопление гликогена нормальной структуры. Умеренная гипогликемия, гепатомегалия, клинические проявления схожи, но менее выражены, чем при гликогенозе I типа	VI Болезнь Херса
	цАМФ-зависимая протеинкиназа А	Гепатомегалия, накопление гликогена в печени	X
Мышечная	Гликогенфосфоорилаза мышц	Боли в мышцах, судороги при физической нагрузке (даже умеренной). Накопление в мышцах гликогена нормальной структуры.	V Болезнь МакАрдила

Гликогенозы			
Форма гликогенеза	Дефектный фермент	Проявления болезни	Тип, название болезни
	6-фосфофруктокиназа мышц	Аналогичны V типу	VII Болезнь Таруи
Смешанная	Лизосомальная $\alpha$ -1,4-глюкозидаза (кислая мальтаза)	Генерализованное накопление гликогена в лизосомах, а затем в цитозоле	II Болезнь Помпе
	Амило-1,6-глюкозидаза («деветвящий» фермент)	Накопление гликогена с короткими внешними ветвями (лимитодекстрин), гипогликемия натошак, мышечная слабость.  Аналогичны типу IIIa, но без мышечной слабости.  Аналогичны типу IIIa, но без гипогликемии	IIIa Болезнь Форбса-Кори, лимитодекстриноз (недостаток фермента в печени и мышцах). IIIb (недостаток фермента в печени). IIIc (нарушение активности фермента в мышцах)
	Киназа фосфорилазы	Гепатомегалия, накопление гликогена в печени и мышцах, незначительная гипогликемия	IX

При диагностике данной патологии определяют активность глюкозо-6-фосфатазы в биоптатах печени. Кроме того, используют тест со стимуляцией распада гликогена глюкагоном или адреналином, который в случае болезни дает отрицательный результат – т. е. после инъекции гормона уровень гликемии изменяется незначительно. Лечение состоит в ограничении употребления продуктов, содержащих глюкозу. Рекомендуются

исключить из диеты продукты, содержащие сахарозу и лактозу, так как образующиеся из них галактоза и фруктоза после превращения в глюкозо-6-фосфат способствуют дальнейшему накоплению гликогена. Для предотвращения гипогликемии используют частое кормление.

**Мышечные формы гликогенозов** характеризуются доминированием нарушений в энергоснабжении скелетной мышцы, которые чаще всего выявляются при физической нагрузке такими симптомами, как боли в мышцах, мышечная слабость, судороги, ферментемией мышечных энзимов. К ним относят гликогенозы V и VII типов, а также нумерованный по классификации Кори: дефицит мышечной фосфоглицеромутаза и дефект M-субъединицы лактатдегидрогеназы.

Несколько особняком в группе гликогенозов стоит гликогеноз II типа (болезнь Помпе). Это генерализованный гликогеноз, поражающий все гликогенсодержащие клетки. Фактически это лизосомальная болезнь, так как наблюдается дефект лизосомальной  $\alpha$ -1,4-глюкозидазы. Заболевание встречается достаточно часто и составляет почти 10% от всех гликогенозов. Среди гликогенозов эта форма наиболее злокачественная, не существует эффективного лечения и заболевшие умирают в грудном возрасте.

### **Агликогеноз**

Агликогеноз (гликогеноз O по классификации) – заболевание, возникающее в результате дефекта гликогенсинтазы. В печени и других тканях пациентов наблюдают очень низкое содержание гликогена. Это проявляется резко выраженной гипогликемией в пост-абсорбтивном периоде. Характерный симптом – судороги, проявляющиеся особенно часто по утрам. Пациенты жизнеспособны, но нуждаются в частом кормлении.

### **Нарушения метаболизма фруктозы**

Могут проявляться в двух перечисленных ниже клинических формах.

**Эссенциальная фруктозурия:** обусловлена недостаточной активностью фруктокиназы, катализирующей превращение фруктозы в фруктозо-1-фосфат, что исключает ее включение в метаболизм. Фруктоза накапливается в крови и выделяется с мочой,

где ее можно обнаружить лабораторными методами. Клинические проявления отсутствуют. Важно не отождествлять эту безвредную аномалию с сахарным диабетом. Эссенциальная фруктозурия встречается с частотой 1:130000.

**Наследственная непереносимость фруктозы** возникает при генетически обусловленном дефекте фруктозо-1-фосфатаальдозазы. Заболевание не проявляется во время грудного вскармливания, т. е. пока пища не содержит фруктозу. Клинические симптомы возникают при введении в рацион фруктов, соков и сахарозы. Рвота, боли в животе, диарея, гипогликемия, судороги и даже кома могут возникнуть через 30 минут после приема пищи, содержащей фруктозу. У детей, продолжающих принимать фруктозу, развиваются хронические нарушения функций печени и почек.

Дефект альдозазы фруктозо-1-фосфата сопровождается накоплением фруктозо-1-фосфата, который ингибирует активность фосфоглюкомутазы, превращающей глюкозо-1-фосфат в глюкозо-6-фосфат. Происходит торможение распада гликогена на стадии образования глюкозо-1-фосфата, в результате чего развивается гипогликемия. Как следствие, ускоряется мобилизация липидов из депо, окисление жирных кислот и синтез кетонных тел. Результатом торможения гликогенолиза и гликолиза является снижение синтеза АТФ. Накопление фосфорилированной фруктозы ведет к нарушению обмена неорганического фосфата и гипофосфатемии. Для восполнения уровня внутриклеточного фосфата ускоряется распад адениловых нуклеотидов с образованием мочевой кислоты. Повышение количества мочевой кислоты и снижение экскреции уратов в условиях метаболического ацидоза проявляются в виде гиперурикемии. Следствием гиперурикемии может быть подагра даже в молодом возрасте.

### **Другие энзимопатии углеводного обмена**

**Галактоземия** возникает при нарушении обмена галактозы, обусловленном наследственным дефектом одного из трех ферментов, включающим галактозу в метаболизм. Галактоземия, вызванная недостаточностью *галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы (ГАЛТ)* наиболее хорошо изучена. Это заболевание проявляется в раннем возрасте и особо опасно, так как основной источник углеводов для детей – материнское молоко,

содержащее лактозу. Ранние симптомы дефекта ГАЛТ: рвота, диарея, дегидратация, уменьшение массы тела, желтуха, гепатомегалия, катаракта, задержка психического развития. Лабораторные исследования при этом выявляют галактоземию, галактозурию, галактозо-1-фосфатемию, тенденцию к гипогликемии.

При дефекте фермента галактокиназы у пациентов отмечается галактоземия, галактозурия, катаракта. Гораздо реже причиной возникновения галактоземии является дефект уридилфосфат-4-эпимеразы, при котором не отмечается тяжелых клинических проявлений.

При диагностике галактоземии исследуют мочу на содержание галактозы, собранную после нескольких кормлений молоком. При обнаружении у ребенка катаракты его обследуют на недостаточность галактокиназы и ГАЛТ.

***Нарушения метаболизма мукополисахаридов (гликозаминогликанов).*** Важнейшая составная часть соединительной ткани – протеогликаны, состоящие из агрегированных мономерных субъединиц, содержащих центрально расположенное «белковое ядро», с которым связаны гликозидные цепи разных гликозаминогликанов (ГАГ). Количество и соотношение разных протеогликанов зависит от типа соединительной ткани. Они образуются в специальных клетках этой ткани – фибробластах, в лизосомах этих же клеток они после эндоцитоза разрушаются. Функции ГАГ – поддержание структурной целостности соединительной ткани и организация межклеточного матрикса. ГАГ взаимодействуют с компонентами клеточных мембран в таких процессах, как рост клеток, межклеточные коммуникации, восприятие информации, взаимодействие некоторых плазменных белков с сосудистой стенкой. Разрушение ГАГ начинается с терминального моносахарида под влиянием специфических гликозидаз. Если какие-либо из этих лизосомальных ферментов отсутствуют или их активность нарушена, в соединительной ткани начинается накопление неразрушенных или частично разрушенных ГАГ. Это приводит к возникновению ряда заболеваний, объединенных общим названием *мукополисахаридозы*. Мукополисахаридозы отличаются прогрессирующим течением с разной степенью

тяжести. Общие признаки разных форм данных заболеваний: деформация черт лица, изменение скелета, деформация суставов, поражение печени, селезёнки, сердца, кровеносных сосудов. Характерна также задержка психомоторного и умственного развития. Ниже приводится характеристика некоторых форм мукополисахаридозов.

*Синдром Гурлера* обусловлен дефицитом  $\alpha$ -L-идуронидазы. Протекает тяжело – заболевшие умирают в возрасте до 10 лет. У детей отмечается деформация позвоночника, суставов, отставание в росте, комбинированная проводниковая и нейросенсорная глухота, гепатоспленомегалия. С мочой экскретируются гепаран- и дерматан-сульфаты.

*Синдром Моркио* вызван дефектом галактозо-6-сульфатазы, которая расщепляет связь, имеющуюся только в кератансульфате. Это ведет к накоплению последнего в составе хрящей межпозвоночных дисков и роговицы, что и определяет клинику заболевания. Поражается преимущественно скелет – выступают нижние ребра, наступает X-образное искривление ног, характерно выпирание грудины и очень короткая шея. С мочой выделяется кератансульфат.

*Дефицит глюкуронидазы* – дефект, проявляющийся огрублением черт лица, гепатоспленомегалией, изменениями скелета.

Лабораторно выявляется: наличие дерматан- и гепаран-сульфатов в моче, метахроматические гранулы в гранулоцитах периферической крови, снижение активности фермента в лейкоцитах и сыворотке крови.

## Глава 4

### НАРУШЕНИЯ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА

#### Нарушения переваривания и всасывания липидов

Поступающие с пищей жиры, если они принимаются в умеренном количестве (не более 100-150 г), усваиваются почти полностью, и при нормальном пищеварении фекалии содержат не более 5% жиров. Остатки пищевых жиров экскретируются преимущественно в виде мыл. При нарушениях переваривания и всасывания липидов наблюдается избыток выводимых липидов – стеаторея (жирный стул). Различают 3 типа стеатореи.

*Панкреатогенная стеаторея* возникает при дефиците панкреатической липазы. Причинами такого состояния могут быть хронический панкреатит, врожденная гипоплазия поджелудочной железы, врожденный или приобретенный дефицит панкреатической липазы, а также муковисцидоз, когда наряду с другими железами экзогенной секреции повреждается и поджелудочная железа. В этом случае в фекалиях содержатся желчные пигменты, снижено содержание свободных жирных кислот и повышен уровень триацилглицеролов.

*Гепатогенная стеаторея* вызывается закупоркой желчных протоков. Это происходит при врожденной атрезии желчных путей, при желчнокаменной болезни или обтурации желчных протоков развивающейся в окружающих тканях опухолью. Уменьшение количества желчи в просвете 12-перстной кишки приводит к нарушению эмульгирования пищевых жиров и, следовательно, к ухудшению их расщепления и абсорбции. В кале отсутствуют желчные пигменты (ахоличный кал), регистрируется высокое содержание триацилглицеролов и мыл.

*Энтерогенная стеаторея* отмечается при интестинальной липодистрофии, амилоидозе, обширной резекции тонкого кишечника, то есть при процессах, сопровождающихся снижением метаболической активности слизистой оболочки тонкого и толстого кишечника. Для данной патологии характерен сдвиг pH кала в кислую сторону, рост содержания в нем жирных кислот.

Транспорт жиров из кишечника осуществляется по лимфатическим путям при активной сократительной деятельности

ворсинок, поэтому жирный стул может наблюдаться также при нарушении лимфооттока в случае паралича *tunicae muscularis mucosae*, а также при туберкулёзе и опухолях мезентериальных лимфатических узлов, находящихся на пути оттока лимфы. Ускоренное продвижение пищевого химуса по тонкому кишечнику также может быть причиной нарушения всасывания жира.

При стеаторее нарушается всасывание жирорастворимых витаминов (А, D, Е, К) и незаменимых жирных кислот, поэтому при хронической стеаторее развивается недостаточность этих незаменимых факторов питания с соответствующими клиническими симптомами. При нарушении переваривания жиров плохо расщепляются и вещества нелипидной природы, так как жир эмульгирует частицы пищи и препятствует действию на них протеолитических и сахаролитических ферментов.

Лабораторный контроль переваривания и всасывания липидов включает определение следующих показателей:

1. Общее содержание липидов в кале (норма – до 5 г/24 ч).
2. Концентрация жирных кислот в кале (норма – 20 ммоль/24 ч).
3. Количество стеркобилина в кале как показатель, отражающий нормальное поступление желчи или ее нормальную продукцию. В норме этот показатель составляет 0,2-0,6 г/24 ч. Снижение или отсутствие – признак гепатогенной стеатореи. Избыток стеркобилина указывает на ускоренный гемолиз.

4. Определение альбумина в фекалиях необходимо для уточнения связи стеатореи с муковисцидозом.

### **Дислиппротеинемии**

Дислиппротеинемии – нарушения обмена липопротеинов (ЛП) крови и, соответственно, нарушения обмена липидов, транспортируемых ЛП. При дислиппротеинемиях содержание отдельных ЛП в плазме крови может быть повышено, снижено или они могут полностью отсутствовать. Дислиппротеинемии могут быть либо специфическим первичным проявлением нарушений в обмене липидов и ЛП, либо сопутствующим синдромом при некоторых заболеваниях внутренних органов (вторичные дислиппротеинемии, табл. 4.1). При успешном лечении основного заболевания вторичные дислиппротеинемии обычно исчезают.

К гиполлиппротеинемиям относят следующие состояния:

1. *Абеталипопротеинемия*, возникает при редком наследственном заболевании, дефекте гена апопротеина В, когда нарушается синтез белков апоВ-100 в печени и апоВ-48 в кишечнике. В результате в клетках слизистой оболочки кишечника не формируются хиломикроны (ХМ), в печени – липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), что ведет к накоплению капелек жира в клетках данных органов.

2. *Семейная гипобеталипопротеинемия*: концентрация ЛП, содержащих апоВ, составляет лишь 10-15% от нормального уровня, но организм способен образовывать ХМ.

3. *Семейная недостаточность α-ЛП (болезнь Тангира)*: в плазме крови практически не образуются липопротеины высокой плотности (ЛПВП), в тканях накапливается большое количество эфиров холестерина (ХС), у пациентов отсутствует апоС-II, являющийся активатором липопротеинлипазы (ЛПЛ), что ведет к характерному для данного состояния повышению концентрации триацилглицеролов в плазме крови.

Таблица 4.1. – Нарушения липидного обмена при заболеваниях, вызывающих развитие вторичных дислипопротеинемий

Патология	Изменение уровня липидов	Изменение уровня ЛП			
		ХЛ	ЛПОНП	ЛПНП	ЛПВП
Сахарный диабет	↑ ТАГ	↑	↑		↓
Гипотиреоз	↑ ХС			↑	N или ↓
Хроническая почечная недостаточность	↑ ТАГ		↑	↑	↓
Холестаз	↑ ХС			↑	↓
Алкоголизм	↑ ТАГ		↑		N или ↑

Используемые сокращения: ТАГ – триацилглицеролы, ХС – холестерол

Первая и весьма успешная попытка систематизации гиперлипопротеинемий – классификация, разработанная Д. Фредериксоном, дополненная Ж. Бомоном и принятая Всемирной организацией здравоохранения. Согласно ей выделяют пять типов гиперлипопротеинемий:

*Тип I – семейная гиперхиломикронемия*. Скорость удаления ХМ из кровотока зависит от активности ЛПЛ, присутствия

ЛПВП, поставляющих апопротеины С-II и Е для ХМ, активности переноса апоС-II и апоЕ на ХМ. Генетические дефекты любого из белков, участвующих в метаболизме ХМ, приводят к развитию семейной гиперхиломикронемии – накоплению ХМ в крови. Заболевание проявляется в раннем детском возрасте, характеризуется гепатоспленомегалией, панкреатитом, абдоминальными болями. Как вторичный признак наблюдается у пациентов с сахарным диабетом, нефротическим синдромом, гипотиреозом, а также при злоупотреблении алкоголем. Лечение: диета с низким содержанием липидов (до 30 г/сутки) и высоким содержанием углеводов.

*Тип II – семейная гиперхолестеролемиа.* Этот тип делят на 2 подтипа: IIa – характеризующийся высоким содержанием в крови липпротеинов низкой плотности (ЛПНП), и IIб – с повышенным уровнем как ЛПНП, так и ЛПОНП. Патология обусловлена нарушением рецепции и катаболизма ЛПНП – дефектом клеточных рецепторов для ЛПНП или изменением структуры ЛПНП, сопровождается усилением биосинтеза холестерина, апо-В и ЛПНП. Это один из факторов риска развития ИБС. Как вторичное явление гиперлиппротеинемия II типа может развиваться при гипотиреозе, нефротическом синдроме. Лечение: диета с низким содержанием холестерина и насыщенных жиров.

*Тип III – семейная дисбеталипопротеинемия,* обусловлена аномальным составом ЛПОНП. Они обогащены свободным холестерином и дефектным апо-Е, тормозящим активность печёночной триглицероллипазы. Это ведет к нарушениям катаболизма ХМ и ЛПОНП. Заболевание проявляется в возрасте 30-50 лет. Состояние характеризуется высоким содержанием остатков ЛПОНП, гиперхолестеролемией и триацилглицеролемией, наблюдаются ксантомы, атеросклеротические поражения периферических и коронарных сосудов. Лечение: диетотерапия, направленная на снижение веса.

*Тип IV – семейная гипертриацилглицеролемиа.* Повышение уровня триглицеридов в плазме крови происходит за счет фракции ЛПОНП, аккумуляции ХМ при этом не наблюдается. Причина таких отклонений – повышенное образование ЛПОНП в печени либо замедленный их катаболизм вследствие уменьшения активности ЛПЛ, либо то и другое, вместе взятое. Встречается преимущественно у взрослых, характеризуется развитием

атеросклероза сначала коронарных, затем периферических артерий. Заболевание часто сопровождается снижением толерантности к глюкозе. Как вторичное проявление может встречаться при панкреатите, алкоголизме. Лечение: диетотерапия, направленная на снижение веса.

*Тип V – гиперпребеталипопротеинемия с гиперхиломикронемией.* При этом типе патологии изменения фракций ЛП крови носят сложный характер: повышено содержание ХМ и ЛПОНП, уровень фракций ЛПНП и ЛПВП уменьшен. Пациенты часто имеют избыточную массу тела, возможно развитие гепатоспленомегалии, панкреатита, атеросклероз развивается не во всех случаях. Как вторичное явление гиперлипопротеинемия V типа может наблюдаться при инсулиннезависимом сахарном диабете, гипотиреозе, панкреатите, алкоголизме, гликогенозе I типа. Лечение: диетотерапия, направленная на снижение веса, диета с низким содержанием углеводов и липидов.

Диагностика типа нарушений метаболизма при первичных и вторичных дислипопротеинемиях необходима для назначения адекватного лечения и прогнозирования исходов. В специализированных центрах проводится определение содержания отдельных фракций липидов, ЛП и апопротеинов в плазме крови, в случае необходимости определяется активность ферментов, участвующих в их обмене. Обследование родственников обеспечивает генетическую диагностику и выявляет членов семьи, нуждающихся в лечении.

### **Энзимопатии липидного обмена**

Важные компоненты плазматических мембран – сфинголипиды, которые в ходе клеточного цикла поэтапно разрушаются. Катаболизм этих соединений протекает в лизосомах, и нарушение одного из этапов делает невозможным протекание последующих. В результате в лизосомах накапливаются продукты неполного расщепления липидов. Заболевания, вызванные генетическими дефектами ферментов катаболизма сфинголипидов, получили названия *сфинголипидозов*.

К этой группе заболеваний относятся:

**Болезнь Тэя-Сакса** – причина заключается в недостаточности фермента гексозаминидазы А, что приводит к накоплению в

клетках ЦНС ганглиозида GM<sub>2</sub>. Клинически отмечается задержка умственного развития, слепота, смерть в возрасте до 3 лет.

**Болезнь Гоше** – недостаточность фермента β-глюкоцереброзидазы и накопление глюкоцереброзидов. Клинические проявления: увеличение печени и селезёнки, нарушение архитектоники длинных костей и костей таза.

**Болезнь Ниманна – Пика** возникает вследствие недостаточности фермента сфингомиелиназы и накопления сфингомиелина. У таких пациентов отмечается увеличение печени и селезёнки, задержка умственного развития, наличие пенистых клеток в костном мозге.

**Генерализованный ганглиозидоз.** Развивается при недостаточности фермента β-галактозидазы, что приводит к накоплению ганглиозида GM<sub>1</sub> и протеогликанов. Клинически отмечается задержка умственного развития, гепатомегалия.

**Болезнь Краббе** – следствие недостатка β-галактозидазы, отщепляющей галактозу от галактозилцерамида. Среди симптомов отмечается задержка умственного развития и практически полное отсутствие миелина.

**Метахроматическая лейкодистрофия**, причиной является недостаточность фермента арилсульфатазы А (цереброзидсульфатазы). Клинические проявления – когнитивные и двигательные нарушения, демиелинизация.

В зависимости от того, какой тип липидов накапливается, среди сфинголипидозов выделяют **ганглиозидозы** (болезнь Тея-Сакса, генерализованный ганглиозидоз), **гликолипидозы** (болезнь Краббе, метахроматическая лейкодистрофия), **глюкоцереброзидозы** (болезнь Гоше) и **фосфолипидозы** (болезнь Ниманна – Пика, болезнь Фарбера).

Для диагностики сфинголипидозов исследуют активность ферментов лизосом, секвенируют участки соответствующих генов.

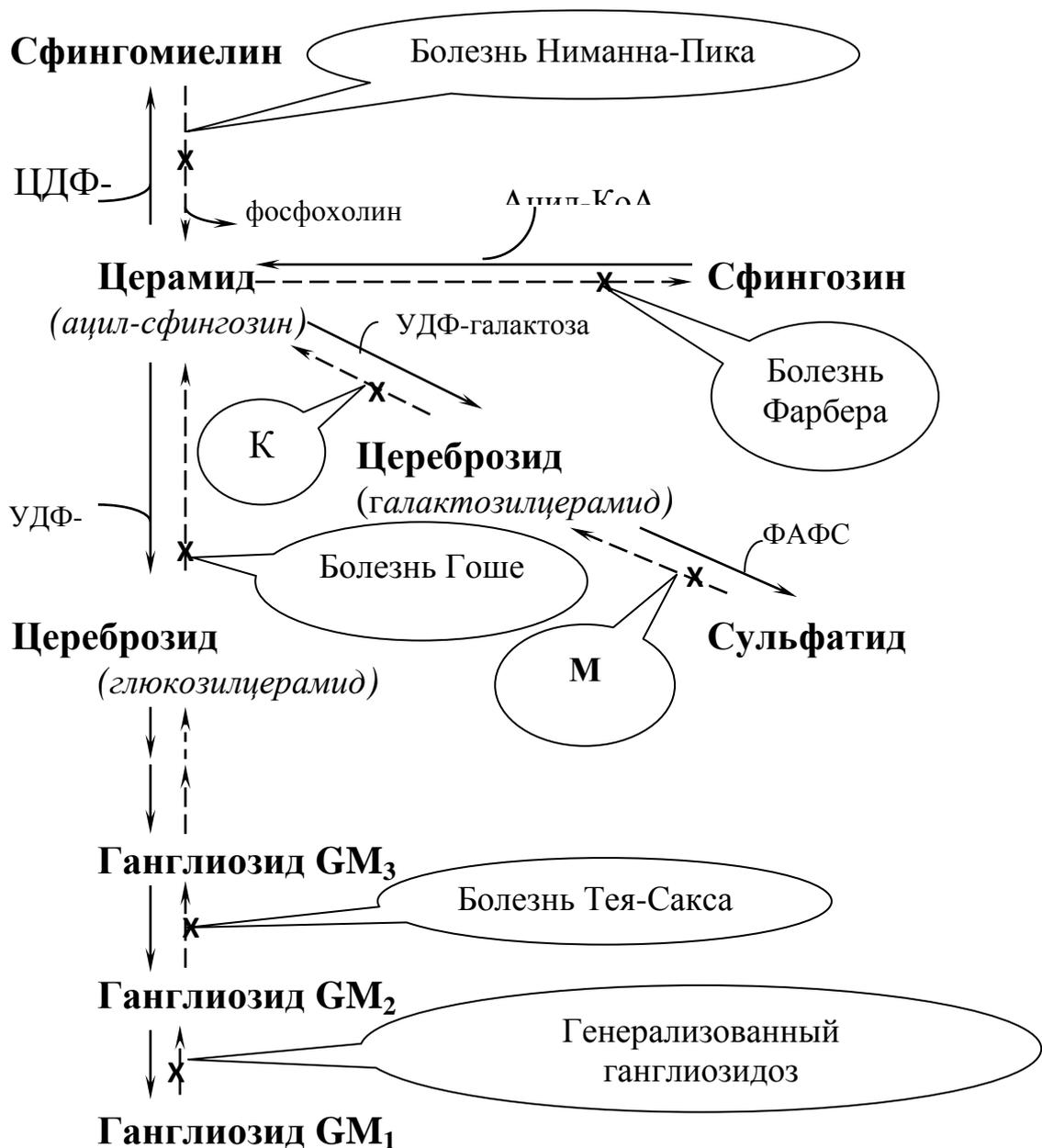


Рисунок 4.1. – Биосинтез ( — ) и распад ( - - - ) сфинголипидов с указанием биохимических нарушений при сфинголипидозах К – болезнь Краббе; М – метохроматическая лейкодисτροφия

### Желчнокаменная болезнь

*Желчнокаменная болезнь (ЖКБ)* – патологическое состояние, при котором в желчном пузыре образуются камни (конкременты) желчного пузыря и желчевыводящих путей, в 80% всех случаев имеют в своем составе холестерол, который выступает как основное вещество. Помимо распространенных холестериновых, имеются и пигментные камни, а также конкременты смешанного состава.

Выделение ХС в желчь должно сопровождаться пропорциональным выделением желчных кислот и фосфолипидов, удерживающих гидрофобные молекулы ХС в желчи в мицеллярном состоянии.

*Причины, приводящие к изменению соотношения желчных кислот и ХС в желчи:* богатая ХС пища, высококалорийное питание, застой желчи в желчном пузыре, нарушение энтерогепатической циркуляции желчи, нарушения синтеза желчных кислот, инфекции желчного пузыря.

У пациентов с ЖКБ синтез ХС увеличен, но синтез желчных кислот из него замедлен, что приводит к диспропорции количества ХС и желчных кислот, секретируемых в желчь. В итоге ХС, имеющий низкую растворимость, начинает осаждаться в желчном пузыре в виде кристаллов, которые постепенно увеличиваются в объеме и содержат другие компоненты желчи (белки, билирубин, неорганические соли кальция). Камни, образующиеся в желчном пузыре, могут состоять только из ХС (холестериновые камни) или из смеси ХС, билирубина, белков и кальция. Холестериновые камни обычно белого цвета, смешанные камни – коричневые, разных оттенков. Если камни начинают перемещаться из желчного пузыря в желчные протоки, они вызывают спазм желчного пузыря и протоков, что приводит к болевому синдрому. Если камень перекрывает проток, нарушается поступление желчи в кишечник, желчные пигменты проходят через мембраны гепатоцитов в сторону синусоидов и попадают в кровь, что ведет к развитию обтурационной желтухи.

В начальной стадии образования камней можно применять в качестве лекарства хенодезоксихолевую кислоту. Попадая в желчный пузырь, эта желчная кислота постепенно растворяет холестериновые камни, однако это медленный процесс, длящийся несколько месяцев.

### **Гиперхолестеролемиа**

Холестерол (ХС) – важнейший представитель липидов, который входит в состав ЛП, клеточных мембран, является исходным материалом для синтеза стероидных гормонов, желчных кислот. Содержание общего ХС в крови взрослых людей в норме составляет 3,6-5,2 ммоль/л. Повышение уровня ХС в крови может быть следствием самых разных факторов.

Гиперхолестеролемиа часто развивается при избыточном поступлении с пищей ХС, а также углеводов и липидов. Гиперкалорийное питание – один из распространенных факторов развития гиперхолестеролемиа, так как для синтеза ХС необходимы ацетил-КоА, АТФ и НАДФН. Все эти метаболиты образуются при окислении глюкозы и жирных кислот, поэтому избыточное поступление данных компонентов пищи способствует развитию гиперхолестеролемиа. В норме поступление ХС с пищей снижает синтез эндогенного ХС в печени, однако с возрастом эффективность этих регуляторных механизмов снижается. Правильное питание в течение всей жизни – важный фактор профилактики гиперхолестеролемиа.

По происхождению гиперхолестеролемиа подразделяются на первичные и вторичные.

*Первичные (наследственные) гиперхолестеролемиа:*

1. Семейная гиперхолестеролемиа (гиперлипопротеинемия II типа).

2. Семейная дисбеталипопротеинемия (гиперлипопротеинемия III типа).

3. Гиперхолестеролемиа при семейной гипертриацилглицеролемиа (гиперлипопротеинемия IV типа).

*Вторичные (приобретенные) гиперхолестеролемиа.*

Они, как сопутствующий синдром, могут наблюдаться при следующих заболеваниях и состояниях:

- механическая желтуха;
- первичный билиарный цирроз печени;
- сахарный диабет;
- гипотиреоз;
- синдром Кушинга;
- нефротический синдром;
- гепатома;
- беременность;
- отравление хлорорганическими соединениями.

### **Биохимические аспекты атеросклероза**

Атеросклероз – это хроническое, прогрессирующее заболевание, характеризующееся появлением атерогенных бляшек на внутренней поверхности сосудистой стенки.

*Главные факторы риска атеросклероза, по данным многолетних эпидемиологических популяционных исследований:*

- дислиппротеинемии (первичные и вторичные);
- гипертензия;
- сахарный диабет;
- курение;
- принадлежность к мужскому полу.

К дополнительным факторам риска относят ожирение, гиподинамию, хронический стресс, гиперурикемию.

Одна из основных причин развития атеросклероза – нарушение баланса между поступлением ХС с пищей, его синтезом и выведением из организма. У пациентов, страдающих атеросклерозом, повышены концентрации ЛПНП и ЛПОНП. Существует обратная зависимость между концентрацией ЛПВП и вероятностью развития атеросклероза. Это согласуется с представлениями о роли ЛПНП как переносчиков ХС в ткани, а ЛПВП – из тканей.

Базовой метаболической «предпосылкой» развития атеросклероза является гиперхолестеролемиа, которая может возникать в силу вышеперечисленных причин. Важную роль в механизмах развития атеросклероза играет модификация ЛП. Изменение нормальной структуры белков и липидов в составе ЛП делает их чужеродными для собственного организма и поэтому более доступными для захвата фагоцитами. Модифицированные липопротеины образуются в организме из нормально синтезированных и секретированных в кровь ЛП. Причиной их модификации могут быть: повышенные концентрации свободных радикалов и продуктов перекисного окисления липидов, увеличение в крови и межклеточной жидкости уровней некоторых метаболитов (например глюкозы), а также ферментов разного спектра действия. Неферментативная и ферментативная модификация ЛП может происходить по нескольким механизмам, что приводит к образованию разных продуктов:

- гликозилированные ЛП;
- перекисно-модифицированные ЛП;
- аутоиммунные комплексы ЛП-антитело;
- продукты ограниченного протеолиза ЛП;
- комплексы ЛП с гликозаминогликанами;
- агрегированные ЛП.

Гликозилирование – весьма распространенный вид посттрансляционной модификации белков, в ходе которой происходит неферментативное ковалентное присоединение моносахаридов к ε-аминогруппе белка. Гликозилирование ЛП имеет место в норме, но особенно активно оно протекает у лиц с гипергликемией. Конечные продукты превращений гликозилированных ЛП сами по себе способствуют развитию атеросклероза: повышают проницаемость эндотелия, способствуют адгезии на нем клеток крови, активируют хемотаксис макрофагов в артериальную стенку, пролиферацию гладкомышечных клеток. Гликозилирование ЛП следует рассматривать как их атерогенную модификацию. У пациентов с сахарным диабетом рано развивается атеросклероз и около 80% пациентов погибают от его осложнений.

Из всех классов ЛП перекисное окисление липидов (ПОЛ) затрагивает в первую очередь ЛПНП. ПОЛ в частицах ЛП – сложный и многоступенчатый процесс. Постоянно возникающие в организме свободные радикалы генерируют образование гидроперекисей ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав разных липидов. Особо чувствительны к окислению глицерофосфолипиды. В результате их окисления образуются более полярные молекулы с укороченными ацильными радикалами. Перекисно-модифицированные ЛП слабо распознаются соответствующими рецепторами, обогащены продуктами ПОЛ, содержат меньше ненасыщенных жирных кислот и антиоксидантов, обладают цитотоксичностью. Такая модификация делает ЛП (в первую очередь ЛПНП) более высокоатерогенными.

В крови пациентов с атеросклеротическими признаками часто обнаруживают иммунные комплексы, содержащие ЛП в качестве антигена: ЛПНП-IgG или ЛПОНП-IgG. Одной из причин образования антител к ЛП может рассматриваться их модификация и, как следствие этого, приобретение ими аутоантигенных свойств. Этому способствуют и такие особенности структуры и свойств ЛП, как вариабельность состава и конформации белковых компонентов, возможность комплексообразования с другими соединениями, частичная деградация в крови и тканях под действием ферментов, процессов ПОЛ и большого числа других факторов, которые воздействуют на белок-липидные комплексы в норме и при патологии.

Развитие атеросклероза проходит несколько стадий. Схематично цепь событий выглядит здесь следующим образом: повреждение эндотелия → адгезия тромбоцитов → секреция тромбоцитарного фактора роста → пролиферация гладкомышечных клеток → начало образования бляшки (инфильтрация интимы сосудов холестерином) → фиброз и кальцификация зоны повреждения → сформированная атеросклеротическая бляшка. Процесс начинается с повреждения эндотелия сосудов, причем оно может иметь разные механизмы. Важнейший механизм – повреждение эндотелия модифицированными ЛП, например в результате активации ПОЛ. В процессе ПОЛ в ЛПНП изменяется не только структура липидных компонентов, но и апопротеинов. Модифицированные ЛПНП захватываются макрофагами. Этот процесс не регулируется количеством поглощенного ХС, как в случае его поступления в клетки через специфические рецепторы, поэтому макрофаги содержат чрезмерные количества ХС и превращаются в «пенистые клетки» которые проникают в субэндотелиальное пространство. Это приводит к образованию липидных пятен или полосок в стенке кровеносных сосудов. На данной стадии эндотелий сосудов может сохранять свою структуру. В норме клетки эндотелия секретируют простагландины, которые ингибируют агрегацию тромбоцитов. При увеличении количества «пенистых клеток» происходит повреждение эндотелия и активация тромбоцитов. Последние секретируют тромбоксан А<sub>2</sub>, который стимулирует агрегацию тромбоцитов, что может привести к образованию тромба в области атеросклеротической бляшки. Кроме того, тромбоциты начинают продуцировать тромбоцитарный фактор роста, стимулирующий пролиферацию гладкомышечных клеток. Они мигрируют из медиального во внутренний слой артериальной стенки, способствуя таким образом росту бляшки. Далее происходит прорастание бляшки коллагеном и эластином, клетки под фиброзной оболочкой некротизируются, а ХС откладывается в межклеточном пространстве. На данном этапе в центре бляшки могут образовываться холестериновые кристаллы. На последних стадиях развития бляшка пропитывается солями кальция и становится очень плотной. В области бляшки часто образуются тромбы, перекрывающие просвет сосуда, что сопровождается острым нарушением кровообращения в соответствующем участке ткани и развитием инфаркта. Чаще всего

эти процессы развиваются в артериях миокарда, поэтому наиболее распространенное заболевание, сопутствующее атеросклерозу – инфаркт миокарда.

Достаточно часто атеросклероз протекает на фоне других атерогенных нарушений, такое сочетание получило название метаболический X-синдром (см. гл. 7 «Метаболический синдром»).

В последние годы в качестве одной из причин развития атеросклероза рассматривается повышенный уровень гомоцистеина в крови. Проатерогенное действие повышенных концентраций гомоцистеина заключается в повреждении стенки артерий, что ведет к накоплению в этом месте липидных субстанций. Циркулирующие иммунные клетки связываются с местами повреждений и вызывают воспалительный процесс, артериальные клетки активно пролиферируют для ликвидации повреждения, что ведет к образованию бляшек на стенке артерий. Высокий уровень гомоцистеина способствует также окислению ЛПНП, нарушению функции эндотелия, пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, активации тромбоцитов и усилению тромбообразования.

### **Биохимические основы лечения атеросклероза**

Важным лечебным фактором, снижающим риск развития гиперхолестеролемии и атеросклероза, является гипокалорийная и гипохолестериновая диета. Поступление ХС с пищей не должно превышать 300 мг/сут. ХС – стероид животного происхождения, он поступает в организм при употреблении животных жиров и жирного мяса. Растительная пища не содержит ХС, поэтому у людей среднего и старшего возраста она должна составлять основу рациона. К лечебным и профилактическим факторам относят обогащение пищи полиеновыми жирными кислотами, уменьшающими риск тромбообразования и способствующими выведению ХС из организма. Одновременно полиеновые кислоты подавляют синтез тромбоцитарного фактора роста и таким образом замедляют развитие атеросклеротических бляшек. Витамины С, Е, А, обладающие антиоксидантными свойствами, ингибируют ПОЛ, поддерживая тем самым нормальную структуру ЛПНП и их метаболизм.

Меры по коррекции диеты недостаточны при лечении выраженной гиперхолестеролемии и при атеросклерозе. В этом случае лечение, как правило, комплексное. Один из принципов

лечения – «размыкание» цикла энтерогепатической циркуляции желчных кислот. Для этого используют препараты типа холестирамина – полимера, который в кишечнике адсорбирует желчные кислоты, выводится с фекалиями, уменьшая таким образом возврат желчных кислот в печень. В печени при этом увеличивается захват ХС из крови для синтеза новых желчных кислот. Препараты типа холестирамина называют *секвестрантами желчных кислот*.

Наиболее активные препараты, применяемые для лечения атеросклероза, это ингибиторы гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазы. Такие препараты, например антибиотик мевакор, эффективно ингибируют синтез собственного ХС в организме. В этих условиях печень значительно увеличивает захват ХС из крови. Для этого в клетках печени существенно увеличивается синтез белков-рецепторов ЛПНП и, соответственно, возрастает захват ЛПНП из крови. Вследствие этого уровень ХС в крови может практически нормализоваться даже у пациентов с семейной гиперхолестеролемией.

Таблица 4.2. – Эффекты некоторых гиполипидемических препаратов

Препарат	Первичный эффект	Влияние на уровень липидов и ЛП крови				
		ХС	ТГ	ЛПОНП	ЛПНП	ЛПВП
Секвестранты желчных кислот (холестирамин, холестипол)	Активация катаболизма ЛПНП в печени	↓↓↓	↑	↑	↓↓	
Статины (ловастатин, провастатин, мевакор и др.)	Угнетение синтеза ХС в печени	↓↓↓	↓	↓	↓↓↓	↑
Фибраты (клофибрат, фенофибрат, безафибрат и др.)	Активация катаболизма ЛПОНП	↓	↓↓ ↓	↓↓↓	↓	↑
Никотиновая кислота и ее производные	Угнетение образования ЛПОНП	↓	↓↓	↓↓	↓	↑

Фибраты (клофибрат, фенофибрат) – лекарственные препараты, которые ускоряют катаболизм ЛПОНП, активируя

липопротеинлипазу. Данные препараты также активируют окисление жирных кислот в печени, уменьшая тем самым синтез триацилглицеролов и эфиров ХС и, как следствие, – секрецию ЛПОНП печенью. Клофибрат индуцирует синтез ферментов пероксисом, которые способны окислять жирные кислоты. Фибраты, как правило, применяют при сочетании гипертриглицеролемии и гиперхолестеролемии. Для эффективного лечения атеросклероза обычно применяют комбинированное воздействие нескольких лекарственных препаратов.

### **Нарушения липидного обмена при ожирении**

Ожирение – это избыточное накопление жира в адипоцитах. Состояние, когда масса тела на 20% превышает идеальную для данного индивидуума, считают ожирением. Ожирение – достаточно распространенное явление, им страдают до 50% взрослого населения некоторых стран. Это важнейший фактор риска развития инфаркта миокарда, инсульта, сахарного диабета, артериальной гипертензии, желчнокаменной болезни. Ожирение развивается, когда в жировой ткани преобладают процессы липогенеза. Образование адипоцитов происходит во внутриутробном периоде, начиная с последнего триместра беременности, и заканчивается в препубертатный период. После этого жировые клетки могут увеличиваться в размерах при ожирении или уменьшаться при похудании, но их количество не изменяется в течение жизни. Одна из классификаций ожирения основана на размерах и количестве адипоцитов. При повышении общего числа этих клеток говорят о гиперпластическом ожирении (развивается в младенческом возрасте, наследственное), увеличение размеров адипоцитов ведет к гипертрофическому ожирению. Согласно другой классификации, выделяют первичное и вторичное ожирение.

*Первичное ожирение* развивается в результате алиментарного дисбаланса, избыточной калорийности питания по сравнению с расходами энергии. Суточные потребности организма в энергии складываются из двух компонент: основного обмена (энергии, необходимой для поддержания жизни) и энергии, необходимой для физической активности. В зависимости от интенсивности нагрузки и возраста суточная потребность в энергии колеблется у женщин от 2000 до 3000 ккал в сутки, у мужчин – от 2300 до 4000 ккал. Количество потребляемой пищи определяется многими факторами,

в том числе и химическими регуляторами чувства голода и насыщения. Последние определяются концентрацией в крови глюкозы и гормонов, которые инициируют чувство насыщения – холецистокинина, нейротензина, бомбезина, лептина.

Причины первичного ожирения следующие:

1. Генетические нарушения (до 80% случаев ожирения – результат генетических нарушений).
2. Состав и количество потребляемой пищи.
3. Уровень физической активности.
4. Психологические факторы.

Первичное ожирение характеризуется множеством гормональных и метаболических особенностей. Метаболические различия между тучными и худыми людьми до настоящего времени не могут быть определены однозначно. Существует несколько объяснений этих различий. Одно из них – генетически детерминированная разница в функционировании так называемых «бесполезных» циклов. Эти циклы состоят из пары метаболитов, превращаемых друг в друга с помощью двух ферментов (глюкоза → глюкозо-6-фосфат; фруктозо-6-фосфат → фруктозо-1,6-дифосфат). Реакции требуют АТФ. Если эти субстраты превращаются друг в друга с одинаковой скоростью, происходит «бесполезный» расход АТФ и, соответственно, источников энергии, то есть жиров. У людей, склонных к ожирению, имеется более выраженное сопряжение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. Отмечается разное соотношение аэробного и анаэробного гликолиза. Анаэробный гликолиз, как менее эффективный, «сжигает» гораздо больше глюкозы, в результате чего снижается ее превращение в жиры. У отдельных индивидуумов имеется различие в активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, функционирование которой требует до 30% энергии, потребляемой клетками.

Установлено, что у человека и животных имеется ряд генов ожирения. Один из них – ген *LEP*. Продукт экспрессии этого гена – гормон лептин, который синтезируется и секретируется адипоцитами и взаимодействует с рецепторами гипоталамуса. В результате его действия снижается секреция нейропептида Y, стимулирующего потребление пищи. У большей части пациентов с ожирением (80%) имеется генетический дефект рецепторов лептина в гипоталамусе, поэтому, несмотря на продукцию данного гормона,

центр голода в гипоталамусе продолжает секрецию нейропептида Y. В ряде случаев имеются изменения в первичной структуре лептина вследствие мутаций его гена, что ведет к развитию ожирения.

Адиipoциты динамично реагируют на изменения эндокринно-метаболического статуса, так как имеют обширный набор поверхностных рецепторов к нейромедиаторам и гормонам. Это позволяет динамично изменять равновесие между процессами липогенеза и липолиза. Следует отметить, что первичное ожирение – не просто следствие чрезмерного потребления пищи, а результат действия многих факторов, то есть его следует рассматривать как полигенное заболевание.

*Вторичное ожирение* развивается в результате какого-либо основного заболевания, чаще всего эндокринопатии. Вторичное ожирение подразделяют на центральное (гипоталамо-гипофизарное) и периферическое. К центральным формам относится вторичное ожирение при базофильной аденоме гипофиза, гипофизарном нанизме, травмах, опухолях, инсультах с повреждением гипоталамуса. Периферические формы вторичного ожирения наблюдаются при синдроме Иценко-Кушинга, инсулиннезависимом сахарном диабете, гипотиреозе, гипогонадизме.

### **Изменение липидного обмена при голодании**

Голодание может быть кратковременным, в течение суток (I фаза), продолжаться в течение недели (II фаза) или несколько недель (III фаза). В условиях отсутствия пищи в крови снижается уровень глюкозы, аминокислот и триацилглицеролов. Снижается инсулин/глюкагоновый индекс и повышается концентрация контринсулярных гормонов, в первую очередь кортизола. Формируется состояние, для которого характерно преобладание процессов катаболизма жиров, гликогена и белков на фоне общего снижения скорости метаболизма. Под влиянием контринсулярных гормонов в этот период происходит интенсивный обмен субстратами между печенью, жировой тканью, мышцами и мозгом. Данный обмен выполняет две функции: 1) поддержание концентрации глюкозы в крови для обеспечения глюкозозависимых тканей – мозг, эритроциты; 2) мобилизация других источников энергии, в первую очередь жиров, для обеспечения энергией всех

других тканей. Жирные кислоты, образующиеся в процессе мобилизации жиров из жировых депо, становятся основным источником энергии для большинства органов в первый период голодания. Во II фазе продолжается мобилизация жиров, концентрация жирных кислот в крови возрастает в 3-4 раза по сравнению с постабсорбтивным состоянием. В первые дни голодания активизируется биосинтез кетоновых тел, во II фазе этот процесс значительно возрастает. Концентрация кетоновых тел в крови в данный период может достигать 200-300 мг/л (в норме 10-30 мг/л). Кетоновые тела используются в основном мышечной тканью. Во II и III фазах голодания часть энергетических потребностей мозга обеспечивается кетоновыми телами.

## Глава 5

### НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА АМИНОКИСЛОТ

**Наследственные нарушения обмена аминокислот (первичные аминокислотапатии)** – это большая группа врожденных заболеваний, в основе которых лежит генетически обусловленное нарушение синтеза разных ферментов, основное клиническое проявление – метаболическая энцефалопатия. Заболевания этой группы моногенного происхождения, имеют аутосомно-рецессивный тип наследования.

Нарушения метаболизма аминокислот относятся к весьма распространенным видам врожденных дефектов метаболизма, хотя они и не всегда угрожают жизни пациента. Сюда входит и ряд состояний, сопровождающихся нарушениями умственного развития – из приблизительно 40 описанных врожденных дефектов, имеющих такие клинические проявления, 24 относятся к дефектам метаболизма аминокислот. Большинство из этих состояний можно более или менее успешно купировать при своевременном проведении правильного комплекса лечебных мероприятий. Поэтому на практике большое внимание уделяют диагностике таких метаболических дефектов.

*Наиболее распространенные первичные аминокислотапатии:*

- фенилкетонурия;
- алкаптонурия;
- цитруллинемия;
- гистидинемия;
- гомоцистинурия;
- аргининянтарная ацидурия;
- тирозинемия;
- лейциноз;
- некототическая гиперглицинемия;
- цистиноз.

Эти заболевания отличаются большим разнообразием течения, прогноз их разный – от вполне благоприятного, даже без лечения, при алкаптонурии (нарушение обмена тирозина) до тяжелой психической и физической патологии при гипервалинемии, цитруллинурии и некоторых других.

На сегодняшний день известно около 90 наследственных дефектов обмена аминокислот.

***Патогенетические звенья первичных аминокислотопатий:***

- нарушение поступления в организм той или иной аминокислоты;
- накопление и токсическое влияние метаболитов нарушенного белкового обмена в органах и тканях (в мозге, печени, коже, мышечной и соединительной ткани, в клетках крови и т. п.);
- нарушение синтеза метаболитов-предшественников в ситуации ограниченного ферментного дефицита.

***Причины первичного нарушения синтеза ферментов:***

- 1) полная блокада (при патологии структурных генов);
- 2) снижение активности фермента (при патологии регуляторных генов); это объясняет, почему одна и та же нозологическая форма патологии неодинаково протекает у разных пациентов.

Все наследственные ферментопатии отличаются наличием скрытого периода, когда болезнь почти не проявляется клинически, но может быть выявлена на основании биохимических, хроматографических и молекулярно-генетических исследований. Первое клиническое проявление, позволяющее заподозрить наличие ***первичной аминокислотопатии***, – отставание ребенка в психическом развитии. Однако степень его проявления может быть разной. Наиболее выраженные изменения присущи некетолической гиперглицинемии, классической форме лейциноза, фенилкетонурии. В случае алкаптонурии, гиперфенилаланинемии и интермиттирующей формы лейциноза интеллект практически не страдает.

Установить диагноз позволяет исследование аминокислотного состава и определение метаболитов аминокислот в крови и в моче. Важным вкладом в практику медико-генетического консультирования последнего десятилетия стал метод диагностики наследственных заболеваний путем амниоцентеза. Исследование амниотической жидкости позволяет диагностировать наследственные нарушения метаболизма в сроки, когда при необходимости можно прервать беременность.

## Фенилкетонурия

*Фенилкетонурия (ФКУ)* – наследственная патология, обусловленная недостаточностью фермента – фенилаланин-гидроксилазы, необходимой для превращения аминокислоты фенилаланин в тирозин. Накапливающийся фенилаланин оказывает токсическое действие на ткань головного мозга.

Болезнь впервые описана в 1934 г. А. Фёллингом. Частота случаев фенилкетонурии составляет 1:6000 – 1:10000 у новорожденных, независимо от пола; наиболее распространена среди европейцев. Выявлен мутантный ген, который отвечает за синтез фермента фенилаланин-гидроксилазы.

Фенилаланин принадлежит к числу незаменимых аминокислот. Для синтеза белков используется только часть фенилаланина, основное же количество данной аминокислоты окисляется до тирозина. Превращение фенилаланина в тирозин прежде всего необходимо для удаления избытка фенилаланина, так как его высокие концентрации токсичны для клеток. Коферментом фермента выступает тетрагидробиоптерин. Реакция необратима, в ее процессе тетрагидробиоптерин окисляется в дигидробиоптерин. Регенерация последнего происходит при участии дигидробиоптеринредуктазы с использованием НАДФН<sup>+</sup>.

Если фермент фенилаланин-гидроксилаза не активен, фенилаланин не превращается в тирозин, а накапливается в сыворотке крови в больших количествах в виде фенилпировиноградной кислоты (ФПВК), которая выделяется с мочой и потом, вследствие чего от пациентов исходит характерный «мышинный» запах. Высокая концентрация ФПВК приводит к нарушению формирования миелиновой оболочки вокруг аксонов в ЦНС.

В печени здоровых людей небольшая часть фенилаланина (<10%) превращается в фениллактат и фенилацетилглутамин. Этот путь катаболизма фенилаланина становится доминирующим при нарушении основного пути превращения в тирозин, катализируемого фенилаланин-гидроксилазой. Такое нарушение сопровождается гиперфенилаланинемией, повышением в крови и моче содержания метаболитов альтернативного пути: фенилпирувата, фенилацетата, фениллактата и фенилглутамина. Это заболевание получило название «фенилкетонурия».

Дети с фенилкетонурией рождаются здоровыми, но в первые же недели жизни у них развиваются клинические проявления заболевания – *тетрада признаков*:

- 1) задержка психического развития;
- 2) судорожный синдром;
- 3) склонность к развитию дерматита;
- 4) нарушение пигментного обмена.

Дети с ФКУ обычно имеют бледную кожу, голубые глаза (в результате снижения количества меланина в коже).

Эпилептиформные припадки возникают в виде кивательных, тонических и полиморфных судорог, закатывания глаз, вздрагивания. Такие клинические проявления обусловлены нейротропным влиянием ФПК, в результате чего повышаются возбудимость, тонус мышц, развиваются гиперрефлексия, тремор, а также судорожные припадки. В период между судорогами ребенок вялый, отмечается мышечная гипотония. К 3-5 месяцам младенец проявляет полное безразличие к окружающим и не узнает родителей. Умственная отсталость достигает степени имбецильности или идиотии, что ведет к инвалидизации.

В настоящее время выделяют **5 нозологических типов фенилкетонурии**, обусловленных мутацией разных звеньев биосинтеза кофактора фенилаланингидроксилазы:

*тип I* – классическая ФКУ, при которой фермент фенилаланингидроксилаза отсутствует, в крови определяется повышенное содержание фенилаланина, в моче – фенилаланин и его метаболиты (фенилпироват, фениллактат, О-гидроксифенилацетат);

*тип II* – вариантная ФКУ, наблюдается дефект фенилаланингидроксилазы, в крови – повышенное содержание фенилаланина, отсутствие метаболитов в моче;

*тип III* – транзиторная неонатальная ФКУ с дефектом фенилаланингидроксилазы, избытком фенилаланина в крови, с отсутствием метаболитов в моче;

*тип IV* – отсутствует фермент дигидроптеринредуктаза, в крови повышено содержание фенилаланина, в моче – переменное количество метаболитов;

*тип V* – связан с генетическим дефектом синтеза биоптерина, в крови – избыток фенилаланина, в моче – разные метаболиты фенилаланина.

Фенилкетонурия принадлежит к одной из наиболее распространенных аминокислотопатий. Разработана программа выявления среди ФКУ новорожденных. Скрининговое обследование проводится в перинатальных центрах на 1-3 сутки после рождения в утренние часы (утром уровень фенилаланина наиболее высокий). Основным биохимическим маркером всех форм ФКУ – увеличение в крови и моче концентрации фенилаланина.

Каждая форма ФКУ характеризуется умственной отсталостью и тяжелой неврологической симптоматикой. Вариантные формы фенилкетонурии резистентны к диетотерапии, которая является основой лечения классической ФКУ.

**Классическая ФКУ** – наследственное заболевание, обусловленное мутациями в гене фенилаланин-гидроксилазы, которые приводят к снижению активности или полной инактивации этого фермента. При этом концентрация фенилаланина в крови повышается в 20-30 раз (в норме 10-20 мг/л), в моче – в 100-300 раз по сравнению с нормой (300 мг/л). Содержание фенилпирувата и фениллактата в моче достигает 3-6 г/л при полном их отсутствии в норме. Ранние симптомы болезни – повышенная возбудимость, гиперреактивность, экземопоподобная сыпь. В последующем формируются нарушения умственного и физического развития, судорожный синдром. При отсутствии лечения пациенты не доживают до 30 лет. Частота заболевания – 1:10000 новорожденных, оно наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Тяжелые симптомы ФКУ обусловлены токсическим действием на клетки головного мозга высоких концентраций фенилаланина, фенилпирувата, фениллактата. Большие концентрации фенилаланина лимитируют транспорт тирозина и триптофана через гематоэнцефалический барьер и тормозят синтез некоторых нейромедиаторов – дофамина, норадреналина, серотонина. Прогрессирующее нарушение умственного и физического развития у детей с ФКУ можно предотвратить диетой с очень низким содержанием или полным исключением фенилаланина. Если такое лечение начать сразу после рождения ребенка, то повреждение мозга предотвращается. Считается, что ограничения в питании могут быть ослаблены после 10-летнего возраста, когда в основном заканчиваются процессы миелинизации. Однако в последнее время многие педиатры склоняются в сторону «пожизненной диеты» при ФКУ.

**Вариантная ФКУ** – следствие мутаций в генах, контролирующих метаболизм тетрагидробиоптерина. Последний необходим для реакций гидроксирования не только фенилаланина, но также тирозина и триптофана, поэтому при недостатке данного кофермента нарушается метаболизм всех трех аминокислот, в том числе и синтез нейромедиаторов. Клинические проявления – близкие, но не полностью совпадающие с классической ФКУ. Заболевание характеризуется тяжелыми неврологическими нарушениями и ранней смертью.

Для диагностики ФКУ используют методы качественного и количественного анализа патологических метаболитов в моче, определение концентрации Фен в крови и моче. Дефектный ген, ответственный за ФКУ, можно обнаружить у фенотипически нормальных гетерозиготных носителей с помощью теста толерантности к фенилаланину. Для этого обследуемому натошак дают 10 г фенилаланина в виде раствора и через часовые интервалы определяют содержание тирозина в крови. В норме концентрация тирозина в крови после фенилаланиновой нагрузки значительно выше, чем у гетерозиготных носителей гена ФКУ. Данный тест используется в генетической консультации для определения риска рождения больного ребенка. Разработана схема скрининга для выявления новорожденных детей с ФКУ. Чувствительность теста достигает практически 100%.

В настоящее время диагностику мутантного гена, ответственного за ФКУ проводят с помощью методов ДНК-диагностики: рестрикционного анализа и полимеразной цепной реакции.

### **Нарушения метаболизма тирозина**

Обмен тирозина значительно многообразнее, чем обмен фенилаланина. Кроме использования в синтезе белков, тирозин в разных тканях является предшественником таких соединений, как катехоламины, гормоны щитовидной железы и меланины, а также катаболизируется до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Нарушения этих путей метаболизма тирозина приводит к возникновению ряда заболеваний.

**Тирозинемия.** В основе заболевания лежит повышенная концентрация тирозина в крови, что приводит к увеличению выделения с мочой метаболитов тирозина. Тирозинемия и

эксекреция тирозина возникают при ряде наследуемых ферментопатий: недостаточность фумарилацетоацетилазы (тип I), тирозинаминотрансферазы (тип II), 4-гидроксифенилпируватгидроксилазы (тип III).

**Тирозинемия типа I** (гепаторенальная тирозинемия) возникает при недостаточности фумарилацетоацетилазы (КФ 3.7.1.2). Накапливающиеся метаболиты снижают активность ряда ферментов и транспортных систем для аминокислот. Известны острая и хроническая формы тирозиноза. Клинические проявления при острой форме развиваются в период новорожденности, проявляются гепаторенальным синдромом, поражением нервной системы. Новорожденный ребенок отстает в физическом и (в меньшей степени) в нервно-психическом развитии; отмечаются общее возбуждение, сменяющееся сомнолентностью, периферические невропатии и параличи, слабость мышц; имеет место кровоточивость, гипогликемия, желтуха, развитие цирроза печени, рахитоподобное поражение костной системы (синдром Фанкони).

Хроническая тирозинемия характеризуется сходными, но менее выраженными симптомами, летальный исход наступает в возрасте примерно 10 лет. Содержание тирозина в крови у пациентов в несколько раз превышает норму, повышено содержание и некоторых других аминокислот, особенно метионина.

*Лабораторные данные:*

- тирозинемия, тирозинурия, аминоацидурия, метионинемия и метионинурия;
- недостаточность фумарилацетоацетилазы при исследовании активности фермента в биоптатах печени;
- увеличение сукцинилацетата в крови;
- гипогликемия, гипофосфатемия, гипопротеинемия.

**Тирозинемия типа II** возникает при недостаточности тирозин-аминотрансферазы (КФ 2.6.1.5). Клинические проявления возникают в раннем возрасте. Отмечается задержка умственного и физического развития. У таких детей выявляются изъязвления роговицы, кератоз ладоней и стоп.

*Лабораторные данные:*

- недостаточность тирозинаминотрансферазы при исследовании активности фермента в биоптатах печени;
- тирозинемия, тирозинурия, аминоацидурия, метионинемия и метионинурия.

**Тирозинемия типа III** – результат недостаточности 4-гидро-

ксийфенилпируватгидроксилазы (КФ 1.13.11.27). Характерны отставание в развитии, эпизоды атаксии, метаболический ацидоз.

*Лабораторные данные:*

- повышенная экскреция тирозина, 4-гидроксифенилпирувата, 4-гидроксифениллактата, анизоцитоз, сфероцитоз;
- недостаточность 4-гидроксифенилпируватгидроксилазы при исследовании активности фермента в биоптатах печени;
- возможен пренатальный диагноз (определение сукцинилацетата в амниотической жидкости) или активности ферментов.

### **Нарушения метаболизма метионина**

Наиболее известное нарушение обмена метионина – гипергомоцистеинемия.

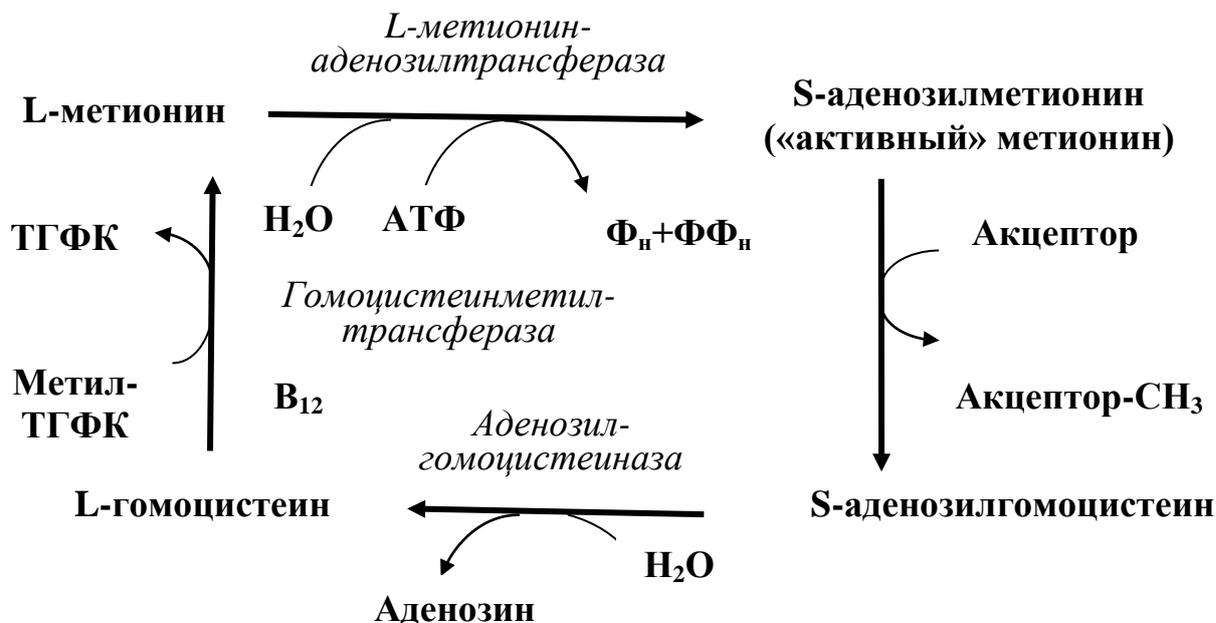
Гомоцистеин – деметилированный производный метионина. Основная часть гомоцистеина циркулирует в крови в связанной с альбумином форме. Несвязанная форма гомоцистеина существует в виде двух разновидностей дисульфидов: гомоцистеин-цистеин и гомоцистеин-гомоцистеин (гомоцистин).

Гомоцистеин подвергается внутриклеточному метаболизму, включающему его превращение в метионин и цистеин.

В метионин гомоцистеин может превращаться путем метилирования (рис. 5.1). Реакция может происходить как с использованием N<sup>5</sup>-метилтетрагидрофолиевой кислоты, так и с участием метилкобаламина (коферментная форма витамина В<sub>12</sub>). Основной же путь дальнейшего превращения гомоцистеина состоит в его использовании для синтеза цистеина по следующей схеме:

*Гомоцистеин + серин → цистатионин → гомосерин + цистеин*

Ферменты, катализирующие синтез и распад цистатионина (цистатионин-β-синтаза и цистатионаза), содержат пиридоксальфосфат.



**Рисунок 5.1. – Метаболизм метионина и образование гомоцистеина**

Таким образом, нормальный метаболизм гомоцистеина возможен только при нормальном обеспечении организма фолиевой кислотой, витаминами B<sub>12</sub> и B<sub>6</sub>. В норме содержание общего гомоцистеина в плазме крови составляет 5-15 мкмоль/л. Умеренно повышенным считается содержание в 15-30 мкмоль/л, повышением средней степени – 30-100 мкмоль/л, значительно повышенным – более 100 мкмоль/л. Причины гипергомоцистеинемии представлены в таблице 5.1.

**Таблица 5.1. – Причины гипергомоцистеинемии**

Врожденные	Приобретенные
Нарушение реметилирования метионина	Дефицит витаминов B <sub>12</sub> , B <sub>6</sub> , фолиевой кислоты
Дефицит цистатионинсинтетазы	Почечная недостаточность
Нарушение переноса серы	Гипотиреоз
Дефект транспорта витамина B <sub>12</sub>	Острый лимфобластный лейкоз
Дефект синтеза коферментной формы B <sub>12</sub>	Рак молочной железы, яичников, поджелудочной железы
Дефект метионинсинтетазы	Псориаз
Дефект или дефицит метилтетрагидрофолатредуктазы	Прием лекарственных препаратов (метотрексат, карбамазепин, фенитоин, метилксантины), курение

## Другие энзимопатии метаболизма аминокислот

**Гистидинемия** обусловлена дефектом гистидазы, катализирующей первую реакцию в цепи превращений гистидина в 5-форминотетрагидрофолиевую кислоту. Заболевание диагностируется к концу первого года жизни и позже: наблюдается дефект речи, обусловленный нарушением слуховой памяти, в некоторых случаях – снижение интеллекта. Для постановки диагноза необходимо выявить гистидинурию и количественно определить гистидин в крови: норма – 4-10 мг/л, у заболевших – от 20 до 270 мг/л.

**Гомоцистинурия** связана с дефектом фермента **цистатионин-β-синтетазы**. Клинические симптомы проявляются после 3-10 лет жизни: остеопороз, искривление голени, в половине случаев – умственная отсталость, у 10-15% – судороги. Гомоцистеин может соединяться с серином, образуя цистатионин, или подвергаться реметилированию с превращением в метионин. Дефект цистатионин-β-синтетазы блокирует синтез цистатионина и сопровождается усиленным превращением метионина в гомоцистин. Избыток гомоцистина тормозит образование нормальных поперечных сшивок в коллагене, блокируя активные группы лизина и оксилизина, участвующие в образовании поперечных сшивок. Лабораторный признак заболевания – повышение уровня гомоцистина в крови и обнаружение его в моче.

**Гиперлизинемия** связана со значительным снижением активности **лизин-α-кетоглутаратредуктазы**, катализирующей соединение лизина с α-кетоглутаровой кислотой (образование сахаропина) и редукцию сахаропина (образование аминокетопириновой кислоты). В типичных случаях наблюдаются глубокая задержка умственного развития, аутизм, грубые черты лица, сросшиеся брови, низкорослость, глухота, судороги. Основным биохимическим признаком – гиперлизинемия без гипераммониемии.

**Алкаптонурия** – наследственное метаболическое нарушение, описанное в медицинской литературе еще в XVI веке. Болезнь представляет определенный исторический интерес, поскольку именно на основе ее изучения выдвинута гипотеза о наследственных метаболических нарушениях. Причиной болезни является дефект **диоксигеназы гомогентизиновой кислоты**. Для

этого заболевания характерно выделение с мочой большого количества гомогентизиновой кислоты, которая, окисляясь кислородом воздуха, образует темные пигменты алкаптоны. Клинические проявления болезни, кроме потемнения мочи на воздухе, – пигментация соединительной ткани (охроноз) и артрит. Частота алкаптонурии – 2-5 случаев на 1 млн новорожденных. Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Диагностических методов выявления гетерозиготных носителей дефектного гена к настоящему времени не разработано.

**Альбинизм.** Понятие «альбинизм» охватывает целый спектр клинических синдромов, характеризующихся гипомеланозом, который возникает вследствие наследственных нарушений в пигментных клетках (меланоцитах) глаз и кожи. Причина метаболического нарушения – врожденный дефект **тирозины**. Этот фермент катализирует превращение тирозина в диоксифенилаланин в меланоцитах. В результате дефекта тироминазы нарушается синтез пигментов меланинов. Клиническим симптомом, общим для всех форм альбинизма у человека, является пониженная пигментация глаз и кожи. Различия между формами устанавливаются на основе клинических, биохимических, ультраструктурных и генетических характеристик.

У пациентов с альбинизмом, отрицательным по тироминазе, полностью отсутствует зрительный пигмент. Волосные луковицы этих людей не способны превращать тирозин в пигмент, а их меланоциты содержат непигментированные меланосомы. У пациентов с альбинизмом, положительным по тироминазе, имеется небольшое количество зрительного пигмента. Волосы в этом случае могут принимать разные оттенки. Меланоциты волосных луковиц содержат слабо пигментированные меланосомы, способные превращать тирозин в пигмент.

Альбинизм наследуется по аутосомно-рецессивному типу. У пациентов часто снижена острота зрения, возникает светобоязнь.

### **Энзимопатии, приводящие к нарушению синтеза мочевины**

Несмотря на постоянную продукцию аммиака в разных тканях, его концентрация в крови низкая (100-200 мкг/л). Это связано с высокой токсичностью данного соединения, а, следовательно, и с необходимостью его эффективного

связывания и выведения из организма. В норме печень быстро захватывает аммиак из портальной крови, практически освобождая ее от этого соединения. Одна из причин токсичности аммиака на молекулярном уровне – его способность к восстановительному аминированию  $\alpha$ -кетоглутарата в глутамат, который в последующем превращается в глутамин. Ферменты глутаматдегидрогеназа и глутаминсинтетаза, катализирующие эти реакции, наиболее активны в ткани головного мозга. Это приводит к ряду негативных последствий:

- $\text{NH}_3$  легко проникает через мембраны в клетки и сдвигает глутаматдегидрогеназную реакцию в сторону образования глутамата;
- уменьшение концентрации кетоглутарата вызывает:
  - торможение обмена аминокислот;
  - нарушение синтеза нейромедиаторов;
  - снижение скорости ЦТК;
  - гипоэнергетическое состояние в мозге;
  - ускоряет синтез оксалоацетата из пирувата, а значит потребление  $\text{CO}_2$ ;
  - способствует развитию алкалоза (щелочной рН);
  - увеличивается сродство гемоглобина к  $\text{O}_2$ , что приводит к гипоксии и энергодефициту;
  - стимулирует синтез глутамина (повышение осмотического давления, набухание астроцитов, отек мозга);
  - уменьшается синтез ГАМК (основной тормозной нейромедиатор) из глутамата;
  - нарушается проведение нервного импульса – судороги;
  - изменяется трансмембранный перенос катионов натрия и калия, что также влияет на проведение нервных импульсов.

Нарушение реакций обезвреживания аммиака может вызвать повышение его содержания в крови – гипераммониемию. Причинами гипераммониемии могут быть как генетические дефекты ферментов синтеза мочевины (орнитинового цикла) в печени, так и вторичные поражения печени в результате цирроза, гепатита и других заболеваний. Гипераммониемия сопровождается появлением следующих симптомов – тошнота, повторяющаяся рвота, головокружение, судороги, потеря сознания, отек мозга (в тяжелых случаях), отставание умственного развития (при хронической, врожденной форме).

Определены несколько вариантов первичной гипераммониемии, обусловленные врожденными дефектами ферментов орнитинового цикла:

- *гипераммониемия I типа* – дефект карбамоилфосфатсинтетазы I;
- *гипераммониемия II типа* – дефект орнитинкарбамаилтрансферазы;
- *цитруллинемия* – отсутствие аргининосукцинатсинтетазы;
- *аргининосукцинатацидурия* – дефект аргининосукцинатлиазы;
- *гипераргининемия* – дефект аргиназы.

Полная потеря активности хотя бы одного из ферментов орнитинового цикла мочевинообразования приводит к летальному исходу.

Вторичные (приобретенные) гипераммониемии возникают при поражениях печени, когда ее функции, в том числе и мочевинообразование, снижаются. Это приводит к накоплению аммиака в организме, так как только в гепатоцитах присутствует весь набор ферментов для синтеза мочевины. При циррозе печени развиваются коллатерали между портальной и нижней полых венами, аммиак попадает в общий кровоток и вызывает интоксикацию. При усилении катаболических процессов (обширные травмы, опухоли, кахексия) печень перегружается поступающим аммиаком, который не успевает превратиться в мочевины.

Лечение пациентов с дефектами орнитинового цикла в основном направлено на снижение концентрации аммиака в крови за счет малобелковой диеты, введение в рацион кетоаналогов аминокислот и стимуляцию выведения аммиака в обход нарушенных реакций. Это достигается путем связывания и выведения аммиака в составе фенилацетилглутамина и гиппуровой кислоты, а также повышением концентрации промежуточных метаболитов орнитинового цикла (аргинина, цитруллина, глутамата), образующихся вне блокируемых реакций.

Назначение пациентам с дефектом карбамоилфосфатсинтетазы I в качестве пищевой добавки фенилацетата улучшает их состояние. При этом фенилацетат конъюгируется с глутамином, образуя фенилглутамин, который

эксcretируется почками. Аналогичный эффект оказывает введение бензоата, который связывает молекулу глицина с образованием гиппуровой кислоты. Гиппурат выводится с мочой, обеспечивая выведение азота из организма. При гипераммониемии II типа (дефект орнитинкарбамоилтрансферазы) назначение больших доз цитруллина стимулирует синтез мочевины из аспартата, что также способствует выведению азота из организма. Введение больших доз аргинина при аргининосукцинатурии активизирует регенерацию орнитина и выведение азота в составе цитруллина и аргининосукцината.

### **Цитруллинемия**

**Цитруллинемия** (дефицит синтеза аргининянтарной кислоты). В основе заболевания лежит недостаточность *аргининсукцинатсинтетазы*, в результате чего происходит резкое повышение уровня цитруллина в плазме и усиленное выведение этой аминокислоты с мочой. Встречается редко (частота не установлена).

**Клиническая картина.** Существуют значительный клинический и генетический полиморфизм от бессимптомных форм до тяжелых с летальным исходом. Тяжелая форма заболевания (тип I), которая манифестирует с рождения и протекает с выраженной клинической симптоматикой со смертельным исходом еще в периоде новорожденности. Цитруллинемия II типа встречается в более поздние сроки и обусловлена снижением активности аргининсукцинатсинтетазы только в печени. Для всех форм характерна умственная отсталость и неврологическая симптоматика. При полном блоке фермента уже в первый день жизни на фоне кормления грудным молоком наступают заторможенность, гипотония, судороги, кома. Смерть может наступить в первые сутки жизни. При морфологическом исследовании головного мозга умерших детей выявляются дегенерация нейронов и нарушения миелинизации.

#### **Лабораторная диагностика:**

- увеличение в плазме концентрации цитруллина;
- снижение активности аргининсукцинатсинтетазы в лейкоцитах, фибробластах, клетках печени;
- гипераммониемия у новорожденных с цитруллинемией обнаруживается не всегда; клинические симптомы не коррелируют

с концентрацией аммиака в плазме крови;

– снижение ферментной активности аргининсукцинатсинтетазы в культуре амниотической жидкости.

**Прогноз.** У новорожденных с выраженными клиническими симптомами заболевания прогноз крайне неблагоприятный. При стертых формах прогноз благоприятный, пациенты обычно хорошо реагируют на диетотерапию с ограничением белка.

### **Аргининянтарная ацидурия**

Обусловлена недостаточностью фермента аргининсукциназы, который катализирует образование аргинина и фумарата из аргининянтарной кислоты. Заболевание впервые описано в 1958 г. S. Alan. Мутантный ген локализован на 7-й хромосоме. Частота выявления – 1: 60 000.

Выраженность клинических проявлений и биохимических изменений значительно колеблется. Выделяют 2 клинические формы аргининянтарной ацидурии: неонатальную и подострую (позднюю).

При *неонатальной форме* заболевания гипераммониемия развивается в течение первых нескольких дней жизни, когда после короткого бессимптомного периода наблюдаются: отказ от пищи, анорексия, рвота, гепатомегалия, респираторные расстройства, мышечная гипотония, судорожный синдром. Затем новорожденные становятся сонливыми, отмечаются признаки угнетения ЦНС, в конечном итоге наступает кома и смерть вследствие апноэ и остановки сердца.

При *подострых* или поздних формах заболевания первые клинические проявления могут возникать в раннем детском возрасте. Важный симптом – неврологические нарушения: судороги, транзиторная атаксия, задержка психомоторного развития либо умственная отсталость. Наблюдаются такие признаки, как рвота, гепатомегалия, повышенная ломкость и сухость волос.

#### **Лабораторные данные:**

– увеличение концентрации аргининянтарной кислоты в моче, крови и спинномозговой жидкости;

– умеренное повышение активности печёночных ферментов;

– повышение аргининянтарной кислоты в амниотической жидкости.

## Глава 6

### НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ЭНДОКРИННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Нарушение функционирования эндокринных желез в современной литературе объединяют под термином *эндокринопатии*. Среди большого разнообразия этиологических факторов, приводящих к развитию эндокринопатий, можно выделить следующие основные:

- 1) некроз;
- 2) опухоль;
- 3) воспалительный процесс;
- 4) бактериальные и вирусные инфекции;
- 5) интоксикации;
- 6) алиментарные нарушения (дефицит йода, избыточное потребление углеводов);
- 7) ионизирующая радиация;
- 8) врожденные хромосомные и генные аномалии.

Негативное влияние на обмен веществ в организме оказывает как недостаточная (гипофункция) или повышенная (гиперфункция) активность эндокринных желез. Однако гипо- и гиперфункция не исчерпывает всего многообразия клинико-метаболической характеристики эндокринной патологии. Объясняется это тем, что каждая эндокринная железа является источником двух и более гормонов. В одном только гипофизе вырабатываются не менее десяти разных гормонов. Из коркового вещества надпочечников выделено около 50 стероидных соединений, многие из которых обладают гормональной активностью. Эндокринные заболевания возникают вследствие усиления или ослабления продукции гормонов, вырабатываемых данной железой. Например, уменьшение функционирующего объема аденогипофиза (передней доли гипофиза), возникающее вследствие воспалительного процесса или кровоизлияния, ведет к прекращению продукции всех синтезируемых в нем гормонов – возникает тотальная аденогипофизарная недостаточность. В то же время для других эндокринных расстройств часто характерно изолированное нарушение секреции того или иного гормона, которое обозначают

как селективную гипер- или гипofункцию. Таково, например, происхождение некоторых форм гонадотропного гипогонадизма.

Гипofункция эндокринной железы может иметь место вследствие действия разных механизмов. Среди них наиболее распространенный – аутоиммунное повреждение клеток железы. Инсулинзависимый сахарный диабет, первичный гипотиреоз, первичная недостаточность надпочечников часто обусловлены воздействием аутоантител и другими деструктивными факторами, характерными для аутоиммунных синдромов. К разрушению или частичному повреждению эндокринных органов, снижающему синтез и секрецию гормонов и вызывающему синдром гипofункции, приводят гранулематозные заболевания (саркоидоз), инфекции, злокачественные новообразования. Хирургическое удаление и деструкция железы под воздействием лекарственных препаратов и облучения также приводят к гормональной недостаточности.

Гипofункциональное состояние может возникать при мутации гена, приводящей к изменению структуры гормона. Иногда ткани-мишени не реагируют на действие гормона, то есть имеет место состояние «гормональной резистентности». Синдромы резистентности установлены для многих гормонов и обусловлены аномальными изменениями поверхности клеток, внутриклеточных рецепторов, нарушением метаболизма гормона в клетке или другими дефектами передачи сигнала, влияющими на функцию гормона. Резистентность к действию гормона может быть наследственной, приобретенной или сочетанной. При большинстве резистентных состояний отмечается избыточное количество гормона в крови, потому что при недостаточности функции гормона, как правило, увеличивается его выработка. Вследствие наличия этого компенсаторного механизма (системы обратной связи) многие резистентные состояния не распознаются до тех пор, пока не происходит его истощение.

Механизмы гиперфункциональных эндокринных состояний также разнообразны. Вещества, похожие по структуре на гормон, связываются с его рецептором и инициируют внутриклеточную последовательность событий, которую вызвал бы истинный гормон. Эндокринные или неэндокринные опухоли, вырабатывающие избыточные количества гормонов, также приводят к развитию гиперфункциональных состояний.

Целесообразно в качестве самостоятельной формы эндокринопатий выделить *дисфункцию эндокринных желез*. Она характеризуется разнонаправленными изменениями продукции гормонов и биологически активных предшественников их биосинтеза в одном и том же эндокринном органе или образованием и поступлением в кровь атипичных гормональных продуктов. Так, патогенез врожденного адреногенитального синдрома, ведущего к возникновению псевдогермафродитизма, связан с блокадой определенных ферментов биосинтеза стероидов, в результате которой резко уменьшается образование кортизола и повышается продукция андрогенов.

### **Основные механизмы развития эндокринопатий**

В зависимости от уровня повреждения эндокринной системы различают следующие механизмы развития эндокринопатий.

1. Нарушения центральной регуляции эндокринных функций.
2. Нарушения биосинтеза и секреции гормонов.
3. Нарушения транспорта, метаболизма и реализации биологического действия гормонов.

*Нарушения центральной регуляции эндокринных функций.* Несмотря на определенную автономность, эндокринные железы подчиняются регуляторному влиянию нервной системы. Нарушение нервной регуляции нередко приводит к развитию эндокринопатий. Так, психическая травма может стать причиной сахарного диабета, тиреотоксикоза. Существование психогенных эндокринопатий подтверждает важную роль коры больших полушарий головного мозга в патогенезе нарушений деятельности эндокринных желез.

Центральная регуляция эндокринных функций осуществляется двумя путями – нейрогуморальным (нейроэндокринным, трансгипофизарным) и нервно-проводниковым (парагипофизарным). Расстройства нейроэндокринной регуляции могут быть обусловлены первичным поражением гипоталамуса или связанных с ним вышележащих отделов головного мозга. Именно в гипоталамусе сосредоточены главные центры регуляции секреции гормонов гипофиза и, следовательно, ряда «подчиненных» ему эндокринных желез. Поэтому при нарушении центральных механизмов регуляции могут возникать множественные заболевания эндокринной системы.

Возникновение некоторых эндокринных расстройств связано с нарушением механизма обратной связи между периферическими эндокринными железами и гипоталамо-гипофизарной системой. Эндокринное равновесие в организме поддерживается по принципу саморегуляции. Нарушение нормального функционирования механизма обратной связи – важнейшее патогенетическое звено ряда эндокринных расстройств. Так, патогенез болезни Иценко-Кушинга характеризуется повышением порога возбудимости гипоталамических нейронов к действию кортикотропина и вторичной гиперплазией коркового вещества надпочечников.

### ***Нарушения биосинтеза и секреции гормонов.***

Патологические процессы в эндокринных железах изменяют их функциональную активность. Гипофункция может развиваться вследствие уменьшения массы паренхимы железы (атрофия, некроз), недостаточности кофакторов и ферментных систем биосинтеза гормонов (НАДФН, фолиевая кислота, микроэлементы и др.), нарушения механизмов клеточного депонирования гормонов и их секреции. Напротив, источником избыточной продукции гормонов (гиперфункция) является увеличение массы железистой ткани (гиперплазия, гипертрофия), активация ферментов биосинтеза гормонов и др. Особенность гормонально-активных опухолей желез внутренней секреции, контролируемых гипофизом, заключается в автономном характере продукции гормонов. Поэтому уменьшение выброса соответствующего тропного гормона аденогипофизом по механизму обратной связи не снижает образования гормонов в опухолевых клетках периферической эндокринной железы.

Нарушение скорости образования и выделения гормонов может происходить вследствие изменения чувствительности желез к нервным и гуморальным регуляторам. Так, уменьшение числа рецепторов лютропина на мембранах интерстициальных клеток яичек, вызываемое длительной стимуляцией половых желез экзогенным хориогонадотропином, приводит к недостаточному ответу на эндогенный гонадотропин и снижает образование тестостерона. Избыток прогестерона в циркулирующей крови угнетает чувствительность гипофиза к релизинг-фактору лютропина. Причиной изменения чувствительности железы может стать нарушение ее иннервации. Например, после перерезки симпатических нервных волокон изменяется ответная реакция

коркового вещества надпочечников на стимуляцию кортикотропином.

Функциональная активность желез, которые не находятся под контролем рилизинг-факторов и тропных гормонов гипофиза, непосредственно зависит от концентрации отдельных соединений в крови, специфически регулируемых гормонами этих желез.  $\beta$ -клетки поджелудочной железы реагируют на увеличение концентрации глюкозы в крови усилением секреции инсулина. Гипокальциемия служит стимулирующим фактором для клеток паращитовидных желез, вырабатывающих паратгормон. Различают *абсолютную и относительную (скрытую)* недостаточность эндокринных желез. Последняя выявляется при повышенной потребности организма в гормонах, тогда как в условиях функционального покоя показатели синтеза и секреции гормонов имеют нормальные величины. Неполноценность гормональных резервов устанавливаются с помощью специальных функциональных проб (нагрузок). В частности, нагрузка глюкозой с последующим определением ее содержания в крови позволяет выявить истощение функциональных возможностей  $\beta$ -клеток, вырабатывающих инсулин.

***Нарушение транспорта, метаболизма и реализации биологического действия гормонов.*** Эти состояния могут наблюдаться:

- при изменении концентрации гормон-связывающих белков плазмы крови;
- при инактивации гормонов аутоантителами;
- при нарушении процессов метаболизма гормонов (цирроз печени, гепатит, изменение активности ферментов, метаболизирующих гормон);
- при нарушении гормональной рецепции в клетках органов мишеней.

Указанные изменения формируют внежелезистый механизм эндокринопатий, которые возникают на фоне нормальной секреции гормонов. Эндокринные нарушения могут быть обусловлены изменением концентрации гормон-связывающих белков плазмы крови. Так, гипертиреоз может развиваться в результате уменьшения концентрации тироксин-связывающего глобулина. Довольно распространенный механизм нарушения действия гормонов – их инактивация аутоантителами.

При нарушении процессов метаболизма гормонов (цирроз печени, гепатит, низкая или высокая активность отдельных ферментов метаболизма) возникают и гормональные нарушения. Изменение гормональной рецепции в клетках органов-мишеней также влияет на биологические эффекты гормонов.

Отклонения в системе иммунного гомеостаза при эндокринных заболеваниях выражаются в появлении антител против антигенов тканей железы или циркулирующих в крови гормонов. Классическим примером таких состояний может служить аутоиммунной тиреоидит, возникающий в результате повреждения щитовидной железы органоспецифическими антителами. Аутоантитела к гормонам способны нейтрализовать их биологическую активность. В крови пациентов нередко обнаруживают антитела к инсулину, соматотропину и другим гормонам, прежде всего белковой и пептидной природы.

### **Роль эндокринных взаимоотношений в патогенезе эндокринопатий**

Все звенья эндокринной системы функционируют в тесном взаимодействии. Поэтому нарушение функции одной эндокринной железы, как правило, приводит к цепной реакции гормональных сдвигов. Так возникают сопряженные (коррелятивные) эндокринные расстройства – недостаточность половых желез при сахарном диабете, функциональное напряжение, а затем истощение  $\beta$ -клеток поджелудочной железы при гиперфункции коркового или мозгового вещества надпочечников. Ответная реакция эндокринной железы на первичное повреждение другого звена эндокринной системы нередко бывает компенсаторной и направлена на сохранение гомеостаза.

Направленность сопряженных сдвигов в эндокринных железах определяется характером влияния вырабатываемых ими гормонов на биохимические и физиологические процессы. По этому признаку гормоны делятся на антагонисты и синергисты. Так, гипогликемический эффект инсулина может быть нейтрализован кортизолом или адреналином. Соотношение между гормонами – антагонистами и синергистами – занимает центральное место в патогенезе некоторых эндокринных заболеваний. Например, нарушение толерантности к глюкозе и гипергликемия могут

развиваться в результате усиленного выделения контринсулярных гормонов – глюкагона, соматотропина или кортикостероидов.

### **Несахарный диабет**

*Несахарный диабет (НД)* характеризуется выделением из организма пациента больших количеств мочи низкой плотности и компенсаторной жаждой, которая приводит к потреблению больших количеств жидкости. НД встречается у 0,5% всех эндокринологических пациентов, чаще всего у подростков и молодых людей. Он может быть врожденным или приобретенным. Имеются две главные этиологические разновидности НД.

1. Центральный (нейрогенный) несахарный диабет.
2. Нефрогенный (периферический) несахарный диабет.

**Центральный НД** – результат нарушения синтеза и секреции вазопрессина (антидиуретического гормона). Он вызван поражением гипоталамуса или же гипофиза и гипоталамуса. В зависимости от степени нарушения синтетической способности вазопрессин-продуцирующих клеток различают несколько типов центрального НД. При первом типе полностью утрачена способность синтезировать гормон, поэтому нет секреции вазопрессина в ответ на дегидратацию или введение гипертонических растворов. Другие типы центрального НД характеризуются сниженной секрецией гормона в ответ на изменение осмоляльности плазмы крови и осмоляльности мочи. Клиническая тяжесть течения первого типа наиболее выражена.

Центральный НД может быть наследственным и приобретенным. Наследственная форма центрального НД наблюдается изолированно и в структуре синдрома Вольфрама. Это расстройство объединяет, помимо НД, сахарный диабет, атрофию зрительного нерва, глухоту, вестибулярные нарушения. Этиология центрального приобретенного НД включает многочисленные поражения гипоталамуса: примерно треть случаев приходится на опухоли, еще треть – на гранулемы, травмы, воспаления. Для развития симптомов болезни необходимо поражение более 80% вазопрессин-секретирующих клеток. В ряде случаев причина приобретенного НД – развитие аутоиммунного гипоталамического энцефалита и/или аутоиммунного гипофизита, с лимфоидной инфильтрацией вазопрессин-продуцирующих

структур, аутоантителами к нонапептидам и гормон-синтезирующим нейронам (с дегенерацией последних). Именно такие формы НД провоцируются вирусными инфекциями: вирусами гриппа, энцефалита. Центральные формы НД не всегда необратимы, могут разрешаться по мере регенерации и нормализации состояния вазопрессин-продуцирующих структур.

**Нефрогенный НД** обусловлен не дефицитом вазопрессина, а неспособностью клеток дистальных отделов нефрона реагировать на гормон. Это состояние может быть обусловлено рецепторными или пострецепторными дефектами  $V_2$ -рецепторов почек либо поражением клеток-мишеней вазопрессина. У части таких пациентов вазопрессин не вызывает цАМФ-зависимого ответа при стимуляции  $V_2$ -рецепторов. Другой вариант развития данной патологии – когда цАМФ-зависимый компонент пострецепторного механизма срабатывает, но отсутствует последующая активация аквапорина-2.

Вследствие потери воды без сопутствующей экскреции натрия (сам вазопрессин обладает даже некоторым натрийуретическим действием, которое отсутствует при НД) развивается гипотоническая полиурия. Объем мочи обычно возрастает до 3-6 литров, в крайних случаях достигая 15-18 литров. Умеренно растет концентрация натрия в плазме, что вызывает жажду. Это ведет к полидипсии. Если пациент имеет возможность регулярно утолять жажду, его состояние компенсируется. При ограниченном потреблении воды гиперосмоляльность межклеточной жидкости прогрессирует вплоть до развития гиперосмоляльной комы.

**Диагностические признаки несахарного диабета:**

1. Полиурия (>3 литров).
2. Нормогликемия (исключение сахарного диабета).
3. Низкая относительная плотность мочи (не более 1,005).
4. Гипоосмолярность мочи (<30 мОсм/кг).
5. Отсутствие патологии почек.

### **Болезнь Аддисона**

Хроническое поражение коркового вещества надпочечников у человека известно под названием болезни Аддисона, или бронзовой болезни. Этиологическим фактором чаще всего (в 98% случаев) выступает аутоаллергический процесс. Часто мишенью

аутоиммунных реакций при болезни Аддисона являются ферменты, синтезирующие стероиды. Особенно часто регистрируют аутоантитела к 21-стероидгидроксилазе, катализирующей превращение прогестерона в дезоксикортикостерон. Нередко, особенно при раннем начале болезни, обнаруживаются аутоантитела к 17- $\alpha$ -гидроксилазе. Так как данный фермент присутствует в большом количестве и в гонадах, у пациентов регистрируется взаимодействие иммуноглобулинов с цитоплазмой надпочечников и стероид-продуцирующих клеток гонад. Вторая по значению причина болезни Аддисона – туберкулёз коры надпочечников (1-2% случаев). Еще одной из причин может рассматриваться аденолейкодистрофия (1-2% случаев). Это X-сцепленное рецессивное заболевание, при котором наследуется дефект ферментных систем, осуществляющих метаболизм длинноцепочечных жирных кислот. В результате происходит их аккумуляция в белом веществе ЦНС и коре надпочечников, приводящая к дистрофическим изменениям. Клинически болезнь Аддисона проявляется исхуданием, быстрой психической и физической утомляемостью, плохим аппетитом, дисфункцией желудочно-кишечного тракта, прогрессирующей гиперпигментацией кожи. Механизм гиперпигментации связан с усилением меланоцитостимулирующей активности гипофиза, которая сопутствует возникающему при гипoadренокортицизме увеличению секреции кортикотропина. Выраженность гиперпигментации соответствует тяжести и давности процесса. Выраженность похудания колеблется от умеренного (3-6 кг) до значительного (15-25 кг), особенно при исходно избыточной массе.

Нарушения углеводного обмена при болезни Аддисона проявляются склонностью к гипогликемии, резким снижением количества гликогена в печени и мышцах. Снижается синтез белков в печени, что обуславливает развитие гипопроотеинемии. Уменьшается масса мышечной ткани и подкожной жировой клетчатки. Последнее связано с замедлением скорости липогенеза и усилением липолиза. Водно-солевой обмен изменен по типу гипoadлостеронизма. Многие пациенты испытывают неодолимую тягу к потреблению поваренной соли, при исключении потребления соли может наступить смерть. Развивается гиповолемия на фоне снижения скорости клубочковой фильтрации.

## Синдром Кушинга

*Синдром Кушинга* – клинический синдром, обусловленный гиперфункцией коры надпочечников (опухоль) или длительным приемом кортикостероидов. Синдром Кушинга вызывается гормонально-активной опухолью коркового вещества надпочечников или (реже) гормонально-активными опухолями других внутренних органов. Клинически проявляется ожирением, гипертензией, остеопорозом, гипофункцией половых желез, вторичным сахарным диабетом (стероидный диабет).

Известны следующие формы синдрома Кушинга:

1. *Болезнь Иценко-Кушинга* – гипоталамо-гипофизарное заболевание, характеризующееся вторичным гиперкортицизмом: избыточная продукция кортикостероидов (главным образом глюкокортикоидов) связана с избыточным образованием адренокортикотропного гормона (АКТГ).

2. *Автономное повышение продукции стероидных гормонов*, обусловленное аденомой или карциномой коры надпочечников. Аденома секретирует преимущественно кортизол, карцинома – андрогены. Секреция АКТГ и, соответственно, его содержание в кровотоке снижены вследствие обратной отрицательной связи.

3. *Паранеопластическое образование АКТГ опухолями* вилочковой железы, поджелудочной железы, яичника или щитовидной железы, карциномой бронхов.

### ***Проявления синдрома Кушинга:***

- ожирение (в 90% случаев);
- атрофия мышц и кожи (стрип);
- остеопороз (переломы);
- кардиомиопатии;
- стероидный сахарный диабет;
- гипергликемия, глюкозурия;
- гиперлиппротеинемия (ЛПНП, ЛПОНП);
- гиперхолестеролемиа;
- гипернатриемия;
- гипокалиемия;
- отеки.

При гиперкортицизме нарушаются все виды метаболизма. Углеводный обмен при этом характеризуется ослаблением эффектов инсулина, усиленным синтезом глюкозы из липидов и

аминокислот. Жировая ткань и мышцы уменьшают потребление глюкозы в пользу ЦНС, миокарда, гонад и надпочечников, куда глюкозу доставляют инсулиннезависимые транспортеры. В результате формируются такие симптомы, как гипергликемия, глюкозурия, полиурия и полидипсия, характеризующие стероидный диабет, выявляемый примерно у 10% пациентов. Стероидный диабет резистентен к лечению инсулином. Нарушение липидного обмена при гиперкортицизме проявляется в виде особой формы вторичного ожирения, названной по характеру распределения жира «центральной». Липиды накапливаются на животе, в сальнике, брыжейке, на лице, между лопаток. Столь неравномерное распределение жира отражает особенности глюкокортикоидных, инсулиновых и андрогенных рецепторов на адипоцитах. У таких пациентов выявляется гиперлиппротеинемия, как правило, II типа – накопление ЛПНП, ЛПОНП, гиперхолестеролемиа, гипертриглицеролемиа. Обмен белков в целом изменяется в сторону усиления катаболических процессов в большинстве клеток. Это приводит к отрицательному азотистому балансу. Наиболее явно катаболическая направленность обмена белков при данном синдроме проявляется в скелетной мышечной ткани, коже, соединительной ткани, в костях, лимфоидной ткани, в меньшей степени это происходит в печени и ЦНС. Водно-солевой обмен у пациентов с гиперкортицизмом характеризуется тенденцией к гипернатриемии, задержке воды, отёкам, гипокалиемии и ускоренной потере кальция с мочой.

В разных литературных источниках имеются определенные несоответствия понятий болезнь и синдром Иценко-Кушинга. Этиология этих состояний разная, но клиническая картина и патогенез нарушений весьма сходны. Болезнь Иценко-Кушинга возникает вследствие чрезмерной секреции кортикотропина при опухоли аденогипофиза или нарушении диэнцефальной регуляции. Синдром Иценко-Кушинга – следствие первичного поражения коркового вещества надпочечников опухолью, реже – гормонально активными опухолями в других органах.

### **Синдром Конна**

Первичный гиперальдостеронизм известен как *синдром Конна*. Его самая типичная причина – альдостерома коры

надпочечников, вырабатывающая минералокортикоиды в автономном режиме. Чаще всего это аденома, но описаны и альдостеронпродуцирующие карциномы коры надпочечников. Под влиянием избытка альдостерона в организме задерживаются ионы натрия и вода, а также усиливается выведение калия и ионов водорода почками. Повышенная концентрация ионов натрия в клетках, в частности в сосудистой стенке, повышает их чувствительность к симпатическим медиаторам. Потеря значительного количества ионов калия и хлора является причиной миастении и парезов, приступов судорог скелетных мышц, нарушения сократительной функции миокарда. Канальцы нефронов подвергаются дистрофическим изменениям и теряют способность реагировать на вазопрессин. Так возникает полиурия, объясняющая отсутствие отеков при первичном гиперальдостеронизме.

### **Гипертиреоз**

Избыточное действие тиреоидных гормонов формирует состояние, называемое *гипертиреозом*. Повышение продукции тиреоидных гормонов (гипертиреоз), ослабление прочности связи тироксина с тироксин-связывающим глобулином, нарушение метаболизма гормонов щитовидной железы или повышение чувствительности тканей-мишеней к их действию ведут к развитию *тиреотоксикоза*. Наиболее частое его проявление – диффузный токсический зоб (базедова болезнь, болезнь Грейвса). *Болезнь Грейвса* – аутоиммунное заболевание при выработке антител к рецептору тиреотропного гормона (ТТГ), проявляющееся поражением щитовидной железы, развитием синдрома тиреотоксикоза в сочетании с экстратиреоидной патологией.

#### ***Проявления болезни Грейвса:***

- похудание на фоне повышенного аппетита (катаболический синдром);
- тремор, потливость;
- раздражительность, плаксивость;
- тахикардия;
- мышечная слабость (миопатия);
- глазные симптомы тиреотоксикоза;
- диффузное увеличение щитовидной железы;
- гипергликемия;
- гипохолестеринемия;

- повышение содержания тироксина и трийодтиронина;
- снижение уровня тиреотропного гормона.

Болезнь Грейвса характеризуется типичным симптомокомплексом: увеличение щитовидной железы, пучеглазие, повышение основного обмена, усиление теплопродукции, тахикардия, дрожание пальцев рук, повышение психической возбудимости. Эти и многие другие патологические явления обусловлены токсическим действием избыточного количества тироксина и трийодтиронина. Представления о гиперпродукции тиротропина как ведущем патогенетическом звене базедовой болезни в последнее время подвергнуты пересмотру. Основное значение придают нарушению иммунологических процессов и увеличению чувствительности адренорецепторов к катехоламинам. В крови пациентов присутствует длительно действующий стимулятор щитовидной железы (LATS) – иммуноглобулин типа IgG. В патогенезе тиреотоксикоза и его осложнений имеют значение также циркулирующие с кровью антитела к белкам головного мозга, рецепторам тиреотропина и другим антигенам.

При избытке тироксина и трийодтиронина происходит увеличение числа митохондрий в клетке, их набухание, повышение активности ряда ферментов, контролирующих окислительно-восстановительный статус клетки и ее энергетический обмен (сукцинатдегидрогеназа, цитохромоксидаза,  $\alpha$ -глицерофосфат-дегидрогеназа,  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -АТФаза и др.).

Отрицательный азотистый баланс при тиреотоксикозе свидетельствует о преобладании катаболизма белков. Вследствие усиленного распада гликогена в печени и мышцах отмечается гипергликемия. Утилизация глюкозы тканями ускорена, активность гексокиназы повышена. Избыток тиреоидных гормонов тормозит переход углеводов в жиры, ускоряет распад холестерина и его утилизацию в тканях, интенсифицирует окисление липидов в печени, а также повышает чувствительность жировой ткани к липолитическому действию адреналина. Следствие этих изменений – усиленная мобилизация липидов из депо, гипохолестеролемия, кетонемия.

Тиреоидные гормоны нарушают метаболизм сердечной мышцы. Обнаруживаются дистрофические изменения в миокарде, нарушается его энергетическое и пластическое обеспечение.

## Гипотиреоз

*Гипотиреоз* – стойкое снижение функциональной активности щитовидной железы. Этиологическими факторами развития гипотериоза выступают врожденные дефекты биосинтеза тиреоидных гормонов, врожденная гипоплазия или аплазия щитовидной железы, аутоиммунные и инфекционные воспалительные процессы в железе, удаление значительной части железы при хирургических вмешательствах, повреждение железы тиреостатическими препаратами, радиоактивное заражение местности, недостаточное поступление йода в организм.

### ***Причины первичного гипотиреоза:***

- аутоиммунный тиреоидит;
- хирургическое удаление щитовидной железы;
- тяжелый йодный дефицит;
- аномалии развития щитовидной железы.

### ***Причины вторичного гипотиреоза (вследствие дефицита ТТГ):***

- гипопизарная недостаточность;
- опухоли гипоталамо-гипофизарной области;
- изолированный дефицит ТТГ.

Среди нозологических единиц, связанных с гипотиреозом, особо выделяют раннюю и врожденную формы гипотиреоза, сопровождающуюся выраженным нарушением психического и интеллектуального развития – кретинизм, и позднюю форму приобретенного гипотиреоза – микседема.

### ***Проявления приобретенного гипотиреоза:***

- слабость, депрессия;
- сухость кожи, выпадение волос;
- гипохромная анемия;
- атерогенная дислиппротеинемия;
- бесплодие;
- микседема (муциновый отек);
- снижение потребления кислорода тканями;
- снижение утилизации энергетических субстратов;
- снижение уровня основного обмена.

При кретинизме вследствие недостатка тиреоидных гормонов нарушается дифференцировка клеток головного мозга, изменяется синтез короткоживущих РНК, связанных с формированием процессов памяти, замедляется образование синаптических связей в

формирующемся мозге. Слабоумие при кретинизме выраженное, с неспособностью к обучению и самообучению.

*Микседема* характеризуется плохим аппетитом, запорами, ожирением, гиперхолестеролемией. При дефиците тиреоидных гормонов уменьшается продукция предсердного натрийуретического полипептида. Создаются предпосылки к задержке натрия и воды в организме. Замедляется распад гликозаминогликанов. Их гидрофильные скопления в коже, подкожной клетчатке, голосовых связках, языке, некоторых внутренних органах задерживают в этих тканях воду, чем способствуют слизистому отеку и утолщению кожи, огрублению лица. Микседема сопровождается увеличением языка, расширением границ сердца, водянкой серозных полостей. В связи с аутоиммунным характером во многих случаях микседемы в крови могут присутствовать антитиреоидные аутоантитела.

## Глава 7

### МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СИНДРОМ

Быстрая глобализация, урбанизация и индустриализация во многом стала причиной эпидемии ожирения, сахарного диабета II типа, гипертензии и сопутствующих им патологических состояний. Ряд из них объединены в понятие «метаболический синдром». Термин «метаболический синдром» – собирательное понятие, объединяющее группу заболеваний или патологических состояний, проявляющихся определенными метаболическими, гормональными и клиническими нарушениями. Понятие метаболического синдрома, или «синдрома X», включает наличие у пациента сахарного диабета II типа, ожирения и гипертензии.

Метаболический синдром характеризуется снижением чувствительности периферических тканей к инсулину (инсулинорезистентностью), увеличением массы висцерального жира, гиперинсулинемией, которые вызывают нарушения углеводного, липидного и аминокислотного обмена.

Инсулин – это пептидный гормон, секретируемый  $\beta$ -клетками островков Лангерганса поджелудочной железы. Он поддерживает нормальный уровень глюкозы в крови, облегчает клеточное поглощение глюкозы, регулирует углеводный, липидный и белковый обмен, способствует делению и росту клеток благодаря своим митогенным эффектам. Инсулинорезистентность – отсутствие или слабовыраженный биологический ответ на нормальный или даже повышенный уровень инсулина в крови, который классически проявляется нарушенной чувствительностью к инсулин-опосредованной утилизации глюкозы. Компенсаторная гиперинсулинемия возникает как результат повышенной секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы для поддержания нормального уровня глюкозы в крови в условиях резистентности к инсулину клеток мышечной и жировой ткани. Учитывая тканевые различия в зависимости и чувствительности к инсулину, проявления синдрома резистентности к инсулину отражают совокупные эффекты избыточного количества инсулина и транзиторной рефрактерности к его действиям.

Принятая в настоящее время концепция метаболического синдрома состоит в признании существования кластера факторов, имеющих общую патогенетическую основу – инсулинорезистентность и гиперинсулинемия. Каждый из этих факторов как в отдельности, так и в совокупности с другими оказывает значительное влияние на риск развития сердечно-сосудистой патологии, включая атеросклероз и его последствия. Аналогами термина «метаболический синдром» являются названия «синдром инсулинорезистентности», «синдром Х» и «дисметаболический синдром».

### **Важнейшие компоненты метаболического синдрома**

1. Инсулинорезистентность с базальной гиперинсулинемией.
2. Дислипидемия (повышение содержания триацилглицеролов и/или снижение содержания холестерина липопротеинов низкой плотности).
3. Нарушенная толерантность к глюкозе или сахарный диабет II типа.
4. Абдоминальное ожирение.
5. Артериальная гипертензия.

### **Состояния, ассоциированные с синдромом инсулинорезистентности**

- Гипертрофия левого желудочка с нарушением диастолической функции.
- Апноэ во сне (синдром обструктивного апноэ сна).
- Гиперурикемия и подагра.
- Остеопороз.
- Неалкогольный стеатогепатит.
- Синдром поликистозных яичников.
- Микроальбуминурия.
- Гиперкоагуляционный синдром.
- Раннее развитие атеросклероза/ишемической болезни сердца.

### **Этиология и патогенез**

До настоящего времени нет единого мнения о причине возникновения метаболического синдрома: является ли это состояние predetermined генетически или развивается исключительно вследствие воздействия факторов внешней среды.

## Генетические аспекты метаболического синдрома

Существуют доказательства того, что развитие метаболического синдрома обусловлено существованием одного гена или группы взаимодействующих между собой генов, которые могут одновременно стимулировать развитие всех компонентов метаболического синдрома. В семьях пациентов с сахарным диабетом II типа прослеживается наследственный компонент инсулинорезистентности. Данные, полученные в исследованиях на близнецах, свидетельствуют о том, что наследование инсулинорезистентности варьирует от 47 до 66%. Генетическая предрасположенность к развитию сахарного диабета II типа показана во многих исследованиях, однако сложно отличить влияние полиморфизма генов самих по себе от формирования фенотипа под воздействием факторов внешней среды. Даже появление инсулинорезистентности у монозиготных близнецов не всегда доказывает генетическую природу заболевания. Например, курение во время беременности может повлиять на вес ребенка при рождении, а этот фактор потенциально связан с инсулинорезистентностью. Тем не менее, признается роль генетических факторов в формировании синдрома. В настоящее время указывают на следующие гены-кандидаты инсулинорезистентности:

- Ген инсулинового рецептора, многие известные мутации которого нарушают его функцию.
- Гены белков семейства субстрата инсулинового рецептора (*ИРС*, *ИРС-1* и *ИРС-2*) – белков, играющих ключевую роль в передаче сигнала инсулина.
- Гены, кодирующие фосфоинозитол-3-киназу, нарушения функций которых приводят к снижению чувствительности к инсулину.
- Ген фактора некроза опухоли- $\alpha$  (*ФНО- $\alpha$* ), полиморфизм которого обнаруживает связь с повышенным риском инсулинорезистентности.
- *PPAR- $\gamma$* , относительно которого в некоторых исследованиях показана связь полиморфизма с риском развития инсулинорезистентности и абдоминального ожирения, а также тяжести течения заболевания.

- Ген ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), для которого продемонстрирована связь полиморфизма с развитием метаболического синдрома среди пациентов, считающих себя практически здоровыми.
- Гены белков-транспортеров глюкозы (ГЛЮТ).

### **Факторы, влияющие на биосинтез и высвобождение инсулина**

На секрецию инсулина могут влиять нарушения синтеза на уровне транскрипции генов, трансляции и посттрансляционной модификации молекул пре-проинсулина в комплексе Гольджи, а также факторы, влияющие на высвобождение инсулина из секреторных гранул. Кроме того, изменение количества секреторного инсулина может быть обусловлено влиянием на массу и дифференцировку  $\beta$ -клеток. Как инсулин влияет на метаболизм глюкозы, так и уровень глюкозы оказывает множественное воздействие на биосинтез и секрецию инсулина. Однако и другие нутриенты, и факторы, такие как аминокислоты, жирные кислоты, ацетилхолин, полипептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза (РАСАР), глюкозозависимый инсулиотропный полипептид (GIP), глюкагоноподобный пептид-1 (GLP-1) и некоторые другие агонисты, по отдельности и в комбинации, также влияют на данные процессы.

### **Механизмы секреции инсулина**

Повышение концентрации циркулирующей глюкозы инициирует «первую фазу» – глюкозо-опосредованную секрецию инсулина вследствие высвобождения инсулина из секреторных гранул в  $\beta$ -клетке. Поступление глюкозы в  $\beta$ -клетку определяется активностью глюкокиназы, которая фосфорилирует глюкозу в глюкозо-6-фосфат, из которого в процессе гликолиза генерируется АТФ. Увеличение соотношения АТФ/АДФ приводит к закрытию  $K^+$ -АТФ-зависимых каналов и деполяризации мембраны, активация потенциал-зависимых кальциевых каналов – к увеличению внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$ . Эти механизмы запускают импульсную секрецию инсулина. Другие медиаторы включают активацию фосфолипаз и протеинкиназы C (например ацетилхолин), путем стимуляции активности аденилатциклазы и

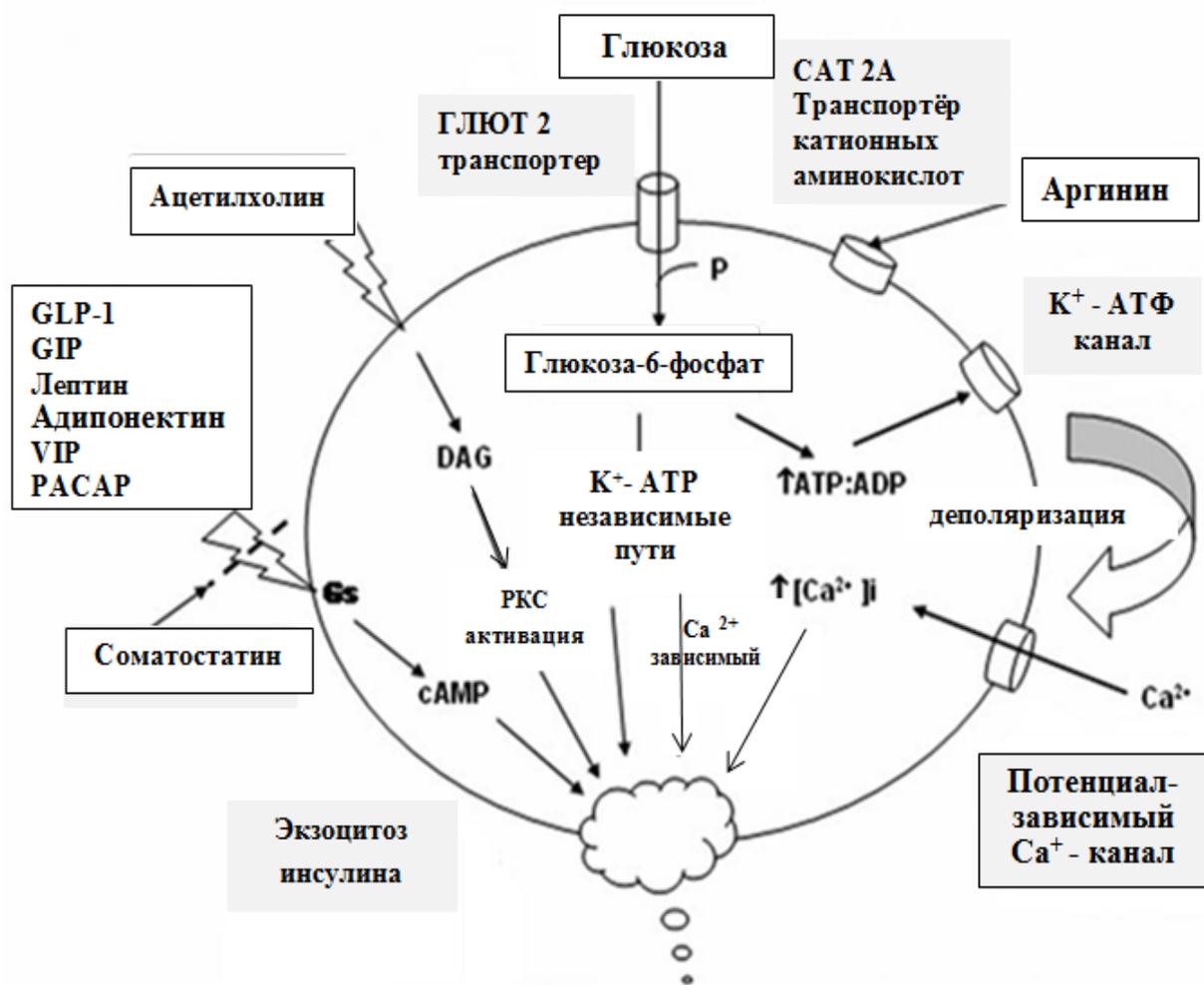
активации протеинкиназы А усиливают секрецию инсулина. Этот последний механизм может активироваться гормонами, такими как вазоактивный кишечный пептид (VIP), глюкагон-подобный пептид-1 (GLP-1) и глюкагон-интестинальный пептид (GIP). Эти факторы необходимы для второй фазы – секреции инсулина из секреторных гранул резервного пула.

Стимуляция блуждающего нерва также приводит к секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы. Холинергические мускариновые рецепторы клеток островков активируют фосфолипазу С и через сигнальный каскад реакций мобилизуют внутриклеточный кальций из депо. Секреция инсулина этими механизмами отсутствует при голодании или при низком уровне глюкозы в крови, но может усиливать анаболический ответ на потребление пищи.

Катехоламины (через  $\alpha_2$ -адренорецепторы) ингибируют высвобождение инсулина во время стресса и физических нагрузок. Кишечные гормоны GLP-1 и соматостатин усиливают и ингибируют действие инсулина, соответственно. Их секреция стимулируется питательными веществами в кишечнике. Механизм действия опосредован генерацией цАМФ и активацией чувствительных к цАМФ протеинкиназ. Гормоны лептин и адипонектин действуют аналогичным образом.

Инсулинотропный эффект аминокислот аргинина и орнитина связан с увеличением переноса калия через мембрану  $\beta$ -клетки, деполяризацией клеточной мембраны и открытием потенциал-зависимых кальциевых каналов. Лейцин – мощный стимулятор секреции инсулина, аллостерически активирует глутаматдегидрогеназу, образующую  $\alpha$ -кетоглутарат – субстрат цикла Кребса, необходимый для генерации АТФ (рис. 7.1).

Более продолжительная стимуляция секреции инсулина может быть обусловлена увеличением массы  $\beta$ -клеток. Гормон роста, пролактин, плацентарный лактоген и GLP-1 (глюкагоноподобный пептид 1) не только увеличивают стимулируемое глюкозой высвобождение инсулина и экспрессию генов инсулина, но также увеличивают пролиферацию  $\beta$ -клеток.



**Рисунок 7.1. – Основные пути регуляции секреции инсулина**  
 GLP-1 – глюкагоноподобный пептид 1, GIP – гастроинтестинальный пептид, VIP – вазоактивный интестинальный пептид, PACAP – гипофизарный аденилатциклаза-активирующий полипептид

### Секреция инсулина

Глюкоза – основной стимул для секреции инсулина, хотя другие макроэлементы, гормоны, гуморальные факторы и нейромедиаторы могут изменять этот ответ. Инсулин вместе со своим основным контррегуляторным гормоном глюкагоном регулирует концентрацию глюкозы в крови. В  $\beta$ -клетках поджелудочной железы при кратковременном голодании (натошак) вырабатывается 0,25-1,5 единиц инсулина в час, что достаточно для обеспечения инсулин-зависимого поступления глюкозы в клетки. Этот уровень секреции предотвращает неконтролируемый гидролиз триацилглицеролов и ограничивает глюконеогенез, тем самым поддерживая нормальный уровень глюкозы в крови. Базальная

секреция инсулина составляет более 50% от общей 24-часовой секреции инсулина. После секреции инсулина в портальную венозную систему 60% гормона впоследствии удаляется печенью; таким образом, концентрация инсулина в воротной вене, достигающая печени, в 3 раза выше концентрации в периферической крови. У здоровых худощавых людей циркулирующая венозная (или артериальная) концентрация инсулина натощак составляет около 3-15 мМЕ/л или 18-90 пмоль/л.

### **Секреция инсулина в ответ на поступление глюкозы**

У здоровых людей стимулированная глюкозой секреция инсулина – двухфазная. Внутривенное введение глюкозы связано с быстрой «первой фазой» высвобождения инсулина в течение 1 минуты, достигающей пика через 3-5 минут и продолжающейся около 10 минут; затем инициируется «вторая фаза» секреции инсулина, ее продолжительность определяется степенью гипергликемии. Общая секреция инсулина зависит от общего количества поступающей глюкозы и скорости ее введения; максимальный ответ поджелудочной железы наблюдается при введении человеку внутривенно 20 г глюкозы в течение 3 минут.

В отличие от секреции инсулина в ответ на внутривенное введение глюкозы секреция инсулина после пероральной нагрузки моносахаридом гораздо более переменчивая. В этой ситуации скорость опорожнения желудка и моторика желудочно-кишечного тракта влияют на абсорбцию глюкозы. Гормоны желудочно-кишечного тракта и выброс нейромедиаторов, связанные с приемом глюкозы, изменяют продолжительность секреции и количество инсулина.

Пероральный прием аминокислот стимулирует секрецию инсулина, а также гормона роста и глюкагона. В частности, индуцированная аргинином секреция инсулина пропорциональна базальному уровню глюкозы и происходит через 2-10 минут после внутривенной инъекции.

Свободные жирные кислоты (СЖК), образующиеся из пищевых липидов и высвобождающиеся печенью или синтезированные в адипоцитах, печени, коже и тонком кишечнике из углеводов, снижают периферическую чувствительность к инсулину, а также могут модифицировать стимулированную

глюкозой секрецию инсулина. Острое повышение уровня СЖК в плазме часто связано с увеличением глюкозо-стимулированной секреции инсулина. Хроническое повышение уровня СЖК приводит к уменьшению ответа  $\beta$ -клеток на глюкозу и снижению синтеза инсулина. Прием липидов может также изменить реакцию инсулина на глюкозу за счет воздействия на желудочно-кишечные гормоны и моторику ЖКТ.

Питательные вещества в желудочно-кишечном тракте стимулируют секрецию гормонов, известных как инкретины, которые усиливают вызванную глюкозой секрецию инсулина. Это объясняет большую реакцию инсулина на перорально, а не на внутривенно введенную глюкозу. GIP и GLP-1 – два наиболее важных инкретина. GLP-1 также ингибирует высвобождение глюкагона, задерживает опорожнение желудка, снижает аппетит.

### **Рецептор инсулина и медиаторы секреции инсулина**

Рецептор инсулина – это гетеротетрамер, состоит из  $2\alpha$  и  $2\beta$  гликопротеиновых субъединиц, объединенных дисульфидными связями. Он расположен на клеточной мембране. Ген, кодирующий рецептор инсулина, локализован на коротком плече 19 хромосомы. Инсулин связывается с внеклеточным компонентом  $\alpha$ -субъединицы, что приводит к конформационным изменениям и связыванию АТФ с внутриклеточным компонентом  $\beta$ -субъединицы. Связывание АТФ поочередно запускает фосфорилирование  $\beta$ -субъединицы, обладающей активностью тирозинкиназы. Это обеспечивает фосфорилирование тирозина внутриклеточных субстратных белков, известных как инсулин-чувствительные субстраты (ИРС). ИРС могут затем связывать другие сигнальные молекулы, которые опосредуют дальнейшие клеточные эффекты инсулина. Фосфорилированные белки ИРС связывают специфические белки, среди которых ряд ферментов, продуцирующих вторичные мессенджеры, например, фосфатидилинозитол-3-киназа (PI 3-киназа) и другие белки, которые не обладают ферментативной активностью, но которые связывают ИРС с внутриклеточными сигнальными системами.

PI 3-киназа способствует транслокации белков-переносчиков глюкозы, синтезу гликогена, липидов и белков, препятствует липолизу, осуществляет контроль печёночного глюконеогенеза.

PI 3-киназа действует через серин/треонинкиназы, такие как Akt/протеинкиназа В (PKB) протеинкиназы С (PKC) и PI-зависимые протеинкиназы 1 и 2 (PIP1 и 2). Другие сигнальные пути активируют факторы транскрипции и обуславливают рост-стимулирующие эффекты инсулина. Таким образом, в целом PI 3-киназа опосредует метаболические эффекты инсулина, например клеточное поглощение глюкозы, в то время как другие связаны с митогенными эффектами инсулина (рис. 7.2).



**Рисунок 7.2. – Схема сигнальных путей инсулина**

IRS – субстрат инсулинового рецептора, PI3K – фосфоинозитол-3-киназа, PKB – протеинкиназа В, PKC – протеинкиназа С, RAS – малые ГТФазы, MAP киназа – митогенактивируемая протеинкиназа

## Эффекты инсулина и инсулинорезистентность

Уровни инсулина во время голодания низкие, что способствует мобилизации жирных кислот и глицерола из жировой ткани и аминокислот из мышечной ткани. Хроническое избыточное потребление пищи способствует гиперинсулинемии и резистентности тканей к инсулину в результате чрезмерной стимуляции секреции инсулина, синтезу триглицеридов и накоплению липидов с подавлением экспрессии рецепторов инсулина и компонентов пост-рецепторных сигнальных путей. Пища с высоким содержанием насыщенных и трансжирных кислот способствует развитию инсулинорезистентности посредством воздействия на состав мембранных липидов. Длинноцепочечные полиненасыщенные жирные кислоты поддерживают текучесть клеточных мембран и передачу сигналов клеткам; они также влияют на экспрессию генов и являются эндогенными лигандами для рецепторов пролифераторов пероксисом.

Пища с высоким содержанием углеводов повышает чувствительность к инсулину в краткосрочной перспективе. Секреция инсулина зависит от типа и физической формы потребляемых углеводов. Гликемический индекс (ГИ) пищи вычисляется как площадь под кривой зависимости концентрации глюкозы в крови от времени относительно эквивалентной дозы глюкозы. ГИ ниже, когда пищеварение, абсорбция и/или преобразование полисахаридов в глюкозу происходят медленнее. Скорость секреции инсулина, как правило, ниже при потреблении продуктов с низким ГИ. Не все углеводы эквивалентны по своей стимуляции секреции инсулина. Например, фруктоза не вызывает такого выраженного ответа, как глюкоза. Хроническое потребление больших количеств сахарозы увеличивает отложение липидов в висцеральной жировой ткани, что может способствовать инсулинорезистентности.

Пищевые волокна косвенно влияют на секрецию и действие инсулина: через воздействие на моторику кишечника, секрецию инкретинов желудочно-кишечного тракта, например GIP, GLP-1 и процессы их ферментации в толстом кишечнике с образованием короткоцепочечных жирных кислот, которые подавляют печёночный глюконеогенез. Пищевые волокна уменьшают реакцию  $\beta$ -клеток на глюкозу и снижают секрецию инсулина, улучшают

чувствительность к инсулину тканей организма, уменьшают уровень триглицеридов, повышают чувство сытости и подавляют накопление жира.

Прием белка стимулирует секрецию инсулина, способствуя анаболизму. Белки также стимулируют секрецию глюкагона из  $\alpha$ -клеток поджелудочной железы, что способствует глюконеогенезу.

Цинк играет важную роль в биосинтезе и секреции инсулина, концентрируется в поджелудочной железе. Дефицит хрома связан с непереносимостью глюкозы и резистентностью к инсулину. Активная форма хрома – олигопептид, называемый хромомодулин, который усиливает активность тирозинкиназы лиганд-активированного рецептора инсулина. Накопление в тканях железа связано с нарушением чувствительности к инсулину и диабетом II типа, а также с признаками метаболического синдрома.

Риск развития сахарного диабета II типа существенно снижается при регулярной физической активности. Физические упражнения увеличивают транслокацию ГЛЮТ4 в мембрану, в то время как регулярные физические упражнения увеличивают экспрессию мРНК ГЛЮТ4. Кроме того, повышенное поглощение глюкозы функционирующей мышцей происходит за счет повышения эффективности пострецепторных сигнальных механизмов на уровне белков ИРС и PI 3-киназы.

Резистентность к инсулину обычно характерна для катаболического стресса. Механизмы включают активацию оси гипоталамус-гипофиз-надпочечники, что приводит к значительному повышению уровня контр-инсулярных гормонов, а также к секреции воспалительных цитокинов. Последние ухудшают передачу сигналов рецептора инсулина в скелетных мышцах, печени и жировой ткани. Доказано потенциальное значение хронического психосоциального стресса в развитии метаболического синдрома.

Недостаток сна у здоровых молодых людей повышает концентрацию глюкозы в крови натощак, индуцирует инсулинорезистентность в связи с изменением суточной секреции кортизола и снижением variability сердечного ритма. Эти эффекты предполагают усиление контррегуляторной секреции гормонов посредством гипервозбуждения с активацией оси гипоталамус-гипофиз-надпочечники. Лишение сна связано с уменьшением концентрации лептина, пептидного гормона

адипоцитов, регулирующего массу жировой ткани и аппетит, повышением концентрации грелина, который повышает аппетит. Гормон роста секретируется во время медленного сна, его дефицит ассоциируется с центральным ожирением и резистентностью к инсулину. Обструктивное апноэ во сне, когда нарушение сна возникает в результате обструкции дыхания, связано с нарушением толерантности к глюкозе независимо от ожирения.

Физиологическая беременность характеризуется резистентностью к инсулину, которая наиболее выражена в третьем триместре. По-видимому, этот адаптивный ответ, направляющий глюкозу и липиды к развивающемуся плоду, связан с комбинированным воздействием плацентарного лактогена, прогестерона, эстрадиола и кортизола, которые действуют как контррегуляторные гормоны в отношении инсулина. Повышенная инсулинорезистентность, обычно наблюдаемая во время беременности, связана с развитием гестационного диабета и гестационной гипертензии.

Вероятность развития инсулинорезистентности повышается при увеличении индекса массы тела, окружности талии и, в частности, соотношения окружности талии и бедер. Эти показатели отражают степень ожирения, особенно повышенный уровень висцеральной жировой ткани. Висцеральная жировая ткань коррелирует со стеатозом печени. Висцеральная жировая ткань имеет метаболические характеристики, которые отличаются от таковых для подкожного жира. Она более метаболически активна в отношении оборота свободных жирных кислот. Увеличенный поток свободных жирных кислот способствует резистентности к инсулину и увеличивает выработку ЛПОНП в печени. Резистентность к инсулину, наблюдаемая при ожирении, связана главным образом с мышечной тканью и печенью, а повышенное содержание свободных жирных кислот, образующихся в адипоцитах, способствует накоплению триацилглицеролов в этих тканях. Это более вероятно, когда адипоциты резистентны к инсулину.

Пре-адипоциты сальника характеризуются повышенной активностью 11- $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы 1 типа, которая способствует инсулинорезистентности за счет действия локально продуцируемых глюкокортикоидов. Жировая ткань продуцирует

ряд цитокинов, обладающих провоспалительной активностью, например, TNF $\alpha$ , интерлейкины.

### **Факторы, способствующие развитию инсулинорезистентности и метаболического синдрома**

*Избыточное питание.* В основе накопления избыточного количества жира в организме лежит чрезмерное потребление пищи, содержащей легко усваиваемые углеводы и насыщенные жирные кислоты. Их избыток вызывает структурные изменения фосфолипидов клеточных мембран и нарушение экспрессии генов, контролирующей проведение сигнала инсулина в клетку.

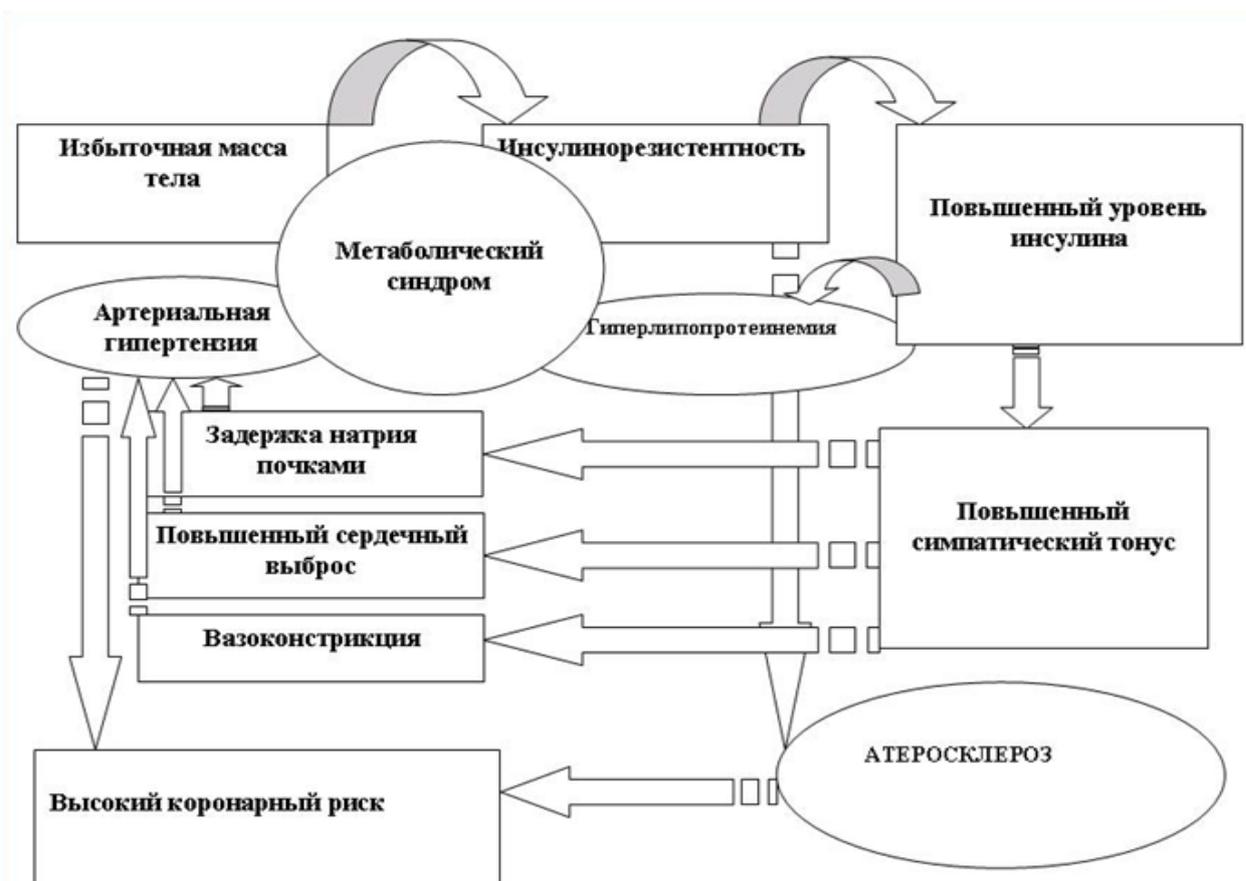
Нарушения углеводного обмена в результате инсулинорезистентности – центральный компонент метаболического синдрома. Гиперинсулинемия вызывает активацию симпатoadреналовой системы, которая влечет за собой вазоконстрикцию и, как следствие этого, уменьшение объемного кровотока в капиллярах скелетной мускулатуры, что выступает одной из причин дальнейшего прогрессирования инсулинорезистентности. Компенсация инсулинорезистентности достигается в организме повышенной выработкой инсулина  $\beta$ -клетками. Однако постоянная потребность в повышенной выработке инсулина истощает их секреторный аппарат, что приводит к нарушениям регуляции гомеостаза глюкозы. Считается, что эти нарушения преимущественно обусловлены генетическими факторами, реализуемыми как на уровне рецепторов жировой и мышечной тканей, так и самих  $\beta$ -клеток поджелудочной железы.

*Гиподинамия.* Снижение физической активности – второй по значимости после переизбытка фактор внешней среды, способствующий развитию ожирения и инсулинорезистентности. При гиподинамии замедляются липолиз и утилизация триацилглицеролов в мышечной и жировой ткани, снижается транслокация транспортеров глюкозы в мышечной ткани, что приводит к развитию инсулинорезистентности.

**Синдром обструктивного апноэ сна.** Синдром обструктивного апноэ сна сопутствует метаболическому синдрому столь часто, что в настоящее время их сочетание получило название «синдрома Z». Ожирение – основной фактор развития синдрома обструктивного апноэ сна; им страдает около 50%

тучных людей. С другой стороны, метаболический синдром может развиваться вследствие наличия синдрома обструктивного апноэ сна, не связанного с ожирением (любые нарушения, приводящие к расстройствам дыхания во время сна). В результате хронической гипоксии во время сна отсутствуют ночные пики выделения соматотропного гормона, что способствует развитию инсулинорезистентности.

**Артериальная гипертензия.** В ряде случаев артериальная гипертензия может быть первичным звеном в патогенезе метаболического синдрома. Длительная плохо контролируемая артериальная гипертензия вызывает нарушения периферического кровообращения, что приводит к снижению чувствительности тканей к инсулину и, как следствие, к относительной гиперинсулинемии и инсулинорезистентности. Ожирение, инсулинорезистентность и артериальная гипертензия – патогенетически связанные между собой состояния (рис.7.3).



**Рисунок 7.3. – Схема развития артериальной гипертензии в рамках метаболического синдрома**

Сочетание артериальной гипертензии с факторами риска метаболического синдрома – это закономерное проявление единой цепи целого ряда сложных биохимических нарушений на тканевом уровне. Пациенты с артериальной гипертензией в среднем утилизируют на 40% меньше глюкозы, чем лица с нормальным артериальным давлением. Хроническая гиперинсулинемия как проявление тканевой инсулинорезистентности способствует задержке в организме натрия путем ускорения его реабсорбции, что приводит к увеличению объема жидкости и общего периферического сосудистого сопротивления. Повышение активности  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -,  $\text{H}^+$ - и  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -АТФаз под непосредственным воздействием инсулина вызывает увеличение содержания внутриклеточного натрия и кальция, что способствует вазоконстрикции гладких мышц сосудов. При этом усиливается и чувствительность сосудов к прессорным агентам, таким как адреналин и ангиотензин.

Гиперинсулинемия также способствует активации симпатической нервной системы, в результате чего возрастает сердечный выброс и стимулируется вазоконстрикция периферических кровеносных сосудов. Симпатическая стимуляция почек запускает мощный механизм развития артериальной гипертензии – ренин-ангиотензин-альдостероновую систему. При сочетании артериальной гипертензии с инсулинорезистентностью активность АПФ существенно повышается. Ангиотензин II – основной действующий компонент ренин-ангиотензин-альдостероновой системы – прямо и косвенно (опосредованно через активацию симпатической нервной системы) повышает давление в клубочковом аппарате, вызывает пролиферацию гладкомышечного слоя стенок артерий, гипертрофию кардиомиоцитов и нарушает функцию эндотелия, что способствует системной артериальной и венозной вазоконстрикции.

Под эндотелиальной дисфункцией подразумевается снижение способности эндотелиальных клеток выделять релаксирующие факторы при сохранении или увеличении уровня продукции сосудосуживающих факторов. Эндотелиальная дисфункция или нарушение функции сосудистого эндотелия – важное звено в сложном патогенетическом механизме развития атеросклероза. Инсулинорезистентность и эндотелиальная дисфункция – тесно ассоциированные состояния, формирующие порочный круг,

приводящий к метаболической и сердечно-сосудистой патологии. Вероятно, дисфункция эндотелия вторична по отношению к имеющейся инсулинорезистентности, являясь следствием гипергликемии, артериальной гипертензии и дислипидемии. Но в определенных условиях эндотелиальная дисфункция выступает не следствием, а причиной развития инсулинорезистентности и связанных с ней состояний, препятствуя попаданию инсулина в межклеточное пространство.

Особую роль в ассоциации артериальной гипертензии и инсулинорезистентности играет висцеральное ожирение, характерное для метаболического синдрома. В адипоцитах брыжейки и сальника идет синтез метаболически активных соединений, ингибирующих выработку эндогенного оксида азота, соответственно, стимулируя вазоконстрикцию. Одновременно увеличение секреции *лептина* способствует усилению активности симпатической нервной системы. Артериальная гипертензия развивается примерно у 60% пациентов с ожирением. В патогенезе артериальной гипертензии, связанном с метаболическими нарушениями, эндотелиальная функция является интегральным аспектом синдрома инсулинорезистентности и способствует ее углублению и дальнейшей хронизации артериальной гипертензии.

### **Патогенез дислипидемии в рамках метаболического синдрома**

Дислипидемия сопутствует инсулинорезистентности в 88% случаев. Гиперинсулинемия достоверно ассоциирована со специфическими изменениями липопротеинов: повышением уровня Апо А1 в составе липопротеинов, снижением индекса ЛПНП/Апо В. Такой дисбаланс наиболее атерогенный. Патогенез дислипидемии при инсулинорезистентности включает нарушения метаболизма как экзогенных, так и эндогенных липидов, будучи опосредованным дисфункцией аполипопротеинов мембран, функциональными изменениями макрофагов, повреждением эндотелия и т. д. Инсулинорезистентность повышает мобилизацию свободных жирных кислот из жировой ткани, повышая выработку липопротеидов очень низкой плотности в печени. Изменение экспрессии липопротеинлипазы приводит к уменьшению внутрисосудистого катаболизма богатых триглицеридами липопротеидов очень низкой плотности. В результате происходит

окончательное повышение содержания триглицеридов, которые являются субстратом для белка, переносящего эфиры холестерина от ЛПВП. Этот процесс благоприятствует выработке ЛПНП и «дефектных», богатых триацилглицеролами ЛПВП со сниженными антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. Действуя однонаправленно, эти изменения способствуют усиленному отложению холестерина в артериальной стенке, что способствует атерогенезу (рис. 7.4).



**Рисунок 7.4. – Механизм нарушения липидного обмена, лежащий в основе атерогенеза**

### **Ожирение как компонент патогенеза метаболического синдрома**

Один из ключевых элементов в развитии и прогрессировании метаболического синдрома – висцеральный (абдоминальный) тип ожирения. Абдоминальный (или андройдный, центральный) тип ожирения характеризуется расположением основной массы жира в

брюшной полости, на передней брюшной стенке, туловище, шею и лицо.

Жировую ткань по локализации подразделяют на висцеральную (интраабдоминальную) и подкожную. Именно повышение количества висцерального жира, как правило, сочетается с гиперинсулинемией, инсулинорезистентностью, артериальной гипертензией и дислипидемией. Висцеральная жировая ткань характеризуется морфологическими и функциональными особенностями; при абдоминальном ожирении содержание триацилглицеролов и неэтерифицированных жирных кислот (свободных жирных кислот) крови обычно существенно выше. Избыток жировой ткани в абдоминальной области, нейрогормональные нарушения, сопутствующие абдоминальному ожирению, играют важную роль в развитии и прогрессировании инсулинорезистентности и связанных с ней метаболических расстройств. Увеличение объема адипоцитов сопровождается уменьшением плотности инсулиновых рецепторов на их поверхности, что ведет к инсулинорезистентности. Гиперинсулинемия способствует к усилению липогенеза и подавляет липолиз. Инсулинорезистентность жировой ткани проявляется в резистентности к антилиполитическому действию инсулина, приводящему к накоплению свободных жирных кислот и глицерола. В этой ситуации свободные жирные кислоты в больших количествах поступают в воротную вену и в печень, что в условиях инсулинорезистентности печени и активации глюконеогенеза, вызывает системные изменения метаболизма в периферических органах. Как известно, жировая ткань обладает ауто-, пара- и эндокринной функцией, выделяя значительное количество соединений, влияющих на метаболизм углеводов и липидов. Это, в частности, адипонектин, резистин, интерлейкин-6, эстрогены, фактор некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) и лептин.

**Фактор некроза опухоли- $\alpha$**  – цитокин, синтезируемый макрофагами; фактор, связывающий ожирение и инсулинорезистентность. Существует положительная корреляция между его содержанием и ожирением/инсулинорезистентностью. Нокаут гена ФНО- $\alpha$  или его рецепторов повышает чувствительность к инсулину и снижает содержание свободных жирных кислот в крови животных.

**Лептин** – гормон, секретируемый адипоцитами, продукт специфического «гена ожирения» *LEP*. Лептин регулирует чувство насыщения: его физиологическая роль состоит в поддержании обратной связи, с помощью которой центральная нервная система получает информацию о состоянии энергетических запасов в организме. При ожирении отмечается «лептинорезистентность». Нарушения гормональной функции жировой ткани играют важную роль в развитии инсулинорезистентности и связанного с ней метаболического синдрома.

### **Диагностика метаболического синдрома**

Наличие метаболического синдрома можно заподозрить у пациентов с абдоминальным ожирением при наличии артериальной гипертензии, инсулинорезистентности, дислипидемии на фоне сахарного диабета II типа или нарушения толерантности к глюкозе.

Для диагностики нарушений углеводного обмена необходимо учитывать концентрацию глюкозы крови натощак, а также концентрацию глюкозы крови и через 2 часа после нагрузки глюкозой (в ходе теста толерантности к глюкозе); при этом нарушенная толерантность к глюкозе определяется показателями в диапазоне между нормальными и характерными для сахарного диабета значениями. Диагностическая ценность перорального теста в диагностике метаболического синдрома возрастает, если наряду с концентрацией глюкозы определять еще и уровень С-пептида в плазме крови. В качестве критериев метаболического синдрома принимается концентрация С-пептида более 1,2 нмоль/л до начала теста и более 1,4 нмоль/л через 2 ч после приема глюкозы. О гиперинсулинемии натощак можно вести речь, когда уровень иммунореактивного инсулина составляет 212,5 мкЕд/мл и выше.

Всем пациентам необходимо определение холестерина ЛПВП, триацилглицеролов, холестерина ЛПНП и общего холестерина. Данные исследования необходимы не только для обнаружения дислипидемии, но и для оценки следующих показателей липидного обмена, для уточнения прогноза заболевания и определения целесообразности и тактики лечения.

Учет объема талии, а не массы тела в диагностике метаболического синдрома – согласованная позиция, так как именно объем талии позволяет наиболее просто оценить тип ожирения. Центральное (абдоминальное) ожирение – основной

критерий диагностики метаболического синдрома. Для этого типа ожирения характерно распределение основной массы жира в брюшной полости, на передней брюшной стенке, туловище, шее и на лице (мужской, или андроидный тип) в отличие от гиноидного (женского) с преимущественным отложением жира на ягодицах и бедрах.

### **Дополнительные критерии диагностики метаболического синдрома**

- Артериальная гипертензия – артериальное давление  $\geq 140/90$  мм рт. ст.
- Повышение содержания триацилглицеролов  $\geq 1,7$  ммоль/л.
- Снижение концентрации холестерина ЛПВП  $< 1,0$  ммоль/л у мужчин;  $< 1,2$  ммоль/л у женщин.
- Повышенное содержание холестерина ЛПНП  $> 3,0$  ммоль/л.
- Гипергликемия натощак – глюкоза в плазме крови натощак  $\geq 6,1$  ммоль/л.
- Нарушенная толерантность к глюкозе – глюкоза в плазме крови через 2 часа после теста толерантности к глюкозе в пределах  $\geq 7,8$  и  $\leq 11,1$  ммоль/л.

## Глава 8

### СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Методы молекулярной биологии все более активно применяются в диагностике, составлении прогнозов течения и определении стратегий лечения многих заболеваний, подборе индивидуальной лекарственной терапии. Молекулярная диагностика позволяет выявлять полиморфизмы и вариации в генетическом материале, обнаруживать присутствие чужеродной ДНК или РНК. Для проведения молекулярно-биологических исследований требуется выделить ДНК из исследуемого образца, а затем получить достаточное количество ее копий. Методы выделения и амплификации генов, исследования и манипуляции с последовательностями нуклеотидов основываются на использовании ферментов рестрикции, векторов клонирования, молекулярных зондов, полимеразной цепной реакции, гель-электрофореза и блот-анализа.

**Рестрикционные эндонуклеазы (рестриктазы)** представляют собой группу ферментов, которые разрезают двойные цепи ДНК. Эти ферменты распознают специфические последовательности, называемые сайтами рестрикции. При этом каждая рестриктаза разрывает цепь ДНК лишь в определенных, характерных для этой рестриктазы, участках. В результате действия определенной рестриктазы молекула ДНК расщепляется на уникальный набор фрагментов разной длины. Длина фрагментов зависит от того, сколько сайтов рестрикции присутствует в данной ДНК. Эти фрагменты можно разделить методом электрофореза.

**Вектор клонирования** – инструмент генной инженерии, обеспечивающий перенос генетической информации в клетку-реципиент и ее клонирование. Представляет собой молекулу ДНК, способную к самостоятельной репликации, в которую можно включить чужеродную ДНК. Проникнув в клетку, вектор обеспечивает клонирование (размножение) и экспрессию встроенного в него гена. В качестве векторов применяются плазмиды, фаги, фазмиды (гибриды фагов и плазмид), ретро- и аденовирусы.

**Библиотеки генов** (клонотека, банк генов) – коллекции клонированных фрагментов геномной ДНК организма. Для их получения ДНК разрезают с помощью рестриктаз, полученные фрагменты встраивают в подходящие векторы, далее вектор встраивается в организм-хозяина (как правило, *E.coli* или дрожжи). Геномные библиотеки в замороженном состоянии можно хранить очень долго. В случае необходимости бактериальные или дрожжевые клоны, содержащие нужные исследователю фрагменты ДНК, выделяют из библиотеки и размножают. Участки генома выделяют из клеток и используют для решения задач генетики, медицины, биотехнологии.

Для специфического выявления определенного фрагмента нуклеиновой кислоты или идентификации белка, находящегося в смеси с другими, используется **технология гибридизации**, основанная на принципе комплементарности. В ходе этого процесса применяют небольшой полинуклеотид (для обнаружения фрагмента нуклеиновой кислоты) или антитело (для обнаружения белка), содержащие метку (радиоактивную, флюоресцентную или иную). Такая меченая молекула называется **зондом**. При наличии комплементарности зонда и молекулы-мишени образуется комплекс, который может быть обнаружен по метке, присутствующей в составе зонда. Процесс гибридизации весьма специфичен, а это означает, что зонд находит молекулу-мишень в смеси множества похожих, но не комплементарных ему молекул. Технология гибридизации легла в основу группы методов, получивших название блот-анализа.

### **Блот-анализ**

Одним из важных шагов в развитии методов молекулярной биологии стало обнаружение того, что фрагменты нуклеиновых кислот или белков после разделения их путем электрофореза могут быть перенесены из геля на нитроцеллюлозную мембрану (или фильтр). Этот процесс называется **блоттингом**. Фиксированные на фильтре фрагменты гибридизируют с молекулярными зондами. Если в исследуемом образце есть последовательности, комплементарные последовательностям зонда, гибридизацию можно определить визуально или с помощью специальных приборов. Первым методом, использующим процесс блоттинга,

стала гибридизация ДНК с ДНК-зондом, предложенная Э. Саузерном. Впоследствии этот метод назвали Саузерн-блотом (что можно перевести как «южный блот»). Методы для идентификации РНК или белков по «географической» аналогии назвали *нозерн-блот* и *вестерн-блот*, соответственно.

Процедура всех блот-анализов в целом однотипна и заключается в последовательном выполнении ряда этапов (рис. 8.1):

- 1) подготовка образцов молекул;
- 2) разделение молекул или их фрагментов при помощи геле-электрофореза;
- 3) перенос разделенных молекул или их фрагментов на нитроцеллюлозную, нейлоновую или иную мембрану (блоттинг);
- 4) блокирование пустых пространств между фракциями;
- 5) гибридизация с зондом;
- 6) визуализация продуктов гибридизации путем автордиографии, а также по флуоресценции или окрашиванию.



Рисунок 8.1. – Основные этапы блот-анализа

Таблица 8.1. – Основные характеристики блот-анализов

	<b>Саузерн-блот</b>	<b>Нозерн-блот</b>	<b>Вестерн-блот</b>
Исследуемая молекула (мишень)	ДНК	РНК	Белок
Природа зонда	Полинуклеотид	Полинуклеотид	Антитело
Получаемые сведения	Рестрикционная карта гена; наличие определенной последовательности нуклеотидов в пробе; число копий генов в геноме	Количество РНК; размер РНК; выявление альтернативных продуктов сплайсинга; экспрессия гена	Выявление молекул определенного белка, его количество; величина его молекулы

К настоящему времени количество вариантов блот-анализа существенно возросло. Ниже перечислены некоторые из них.

**Истерн-блот** – метод выявления посттрансляционных модификаций белков.

**Средний истерн-блот** – метод идентификации взаимодействий РНК-ДНК.

**Дальний истерн-блот** – метод выявления посттрансляционных модификаций белков с участием липидов.

**Истерн-вестерн-блот** – метод идентификации липидов, связывающихся с белками.

**Саузвестерн-блот** – метод идентификации ДНК-связывающих белков.

**Нозвестерн-блот** – метод идентификации РНК-связывающих белков.

**Дальний вестерн-блот** – метод идентификации белок-белковых взаимодействий.

Методы блоттинга применяются для диагностики наследственных дефектов, установления механизмов генетической предрасположенности к ряду заболеваний и обнаружения их генетических маркеров, для изучения экспрессии тех или иных

генов. *Саузерн-блот* также является одним из этапов генетической дактилоскопии и футпринтинга.

### ДНК-микрочипы

Саузерн-блот стал основой для развития еще одной технологии, используемой в молекулярной биологии и медицине – ДНК-микрочипов. Они позволяют осуществлять быстрый и одномоментный скрининг (первичное исследование) нескольких тысяч генов. Работа ДНК-микрочипов базируется на молекулярном распознавании анализируемых молекул биополимерами, нанесенными на чип. В данном случае к подложке чипа прикреплены ДНК-зонды. На чип наносят образец, содержащий флуоресцентные метки, инкубируют некоторое время, чтобы произошла гибридизация комплементарных фрагментов нуклеиновых кислот, промывают для удаления несвязавшихся фрагментов и сканируют с помощью лазера. Компьютер, подключенный к микроскопу, оценивает флуоресценцию каждого сайта микрочипа и устанавливает последовательности нуклеотидов в нуклеиновых кислотах образца.

ДНК-микрочипы применяются для анализа экспрессии генов и связывания факторов транскрипции с ДНК, а также для генотипирования.

### Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Полимеразная цепная реакция – это чувствительный, избирательный и достаточно быстрый метод, позволяющий копировать (амплифицировать) ДНК или ее фрагменты *in vitro* при наличии самого минимального количества биологического материала. Полученные в результате амплификации копии могут использоваться для дальнейших аналитических процедур.

#### **Состав реакционной смеси для ПЦР:**

- ДНК-матрица, которую нужно амплифицировать;
- праймеры, комплементарные концевым участкам копируемой ДНК;
- термостабильная ДНК-полимераза;
- субстраты для синтеза ДНК (дезоксинуклеозидтрифосфаты);
- буферный раствор, содержащий  $Mg^{2+}$ .

### Этапы ПЦР:

**1. Денатурация.** Инкубационную смесь нагревают до температуры  $>90^{\circ}\text{C}$ . В результате происходит разрушение водородных связей между цепями ДНК, из одной двухцепочечной молекулы образуются две одноцепочечные.

**2. Гибридизация праймеров.** Температуру снижают до  $50\text{-}60^{\circ}\text{C}$ . При этом происходит гибридизация цепей ДНК с праймерами.

**3. Полимеризация.** Инкубационную смесь нагревают до  $70\text{-}72^{\circ}\text{C}$ . При такой температуре полимеразы удлиняют оба праймера с их 3'-концов. Копии дорастают до размеров матрицы. В результате получается два двухцепочечных фрагмента.

В следующем цикле каждая вновь синтезированная цепь ДНК также становится матрицей для синтеза, поэтому количество продукта в процессе ПЦР возрастает экспоненциально.

Упрощенная схема ПЦР представлена на рисунке 8.2.

В автоматическом режиме процедуру проводят в специальном приборе – термоциклере (циклизаторе, амплификаторе). Это устройство позволяет задавать нужное количество циклов и выбирать оптимальные для реакции временные и температурные параметры.

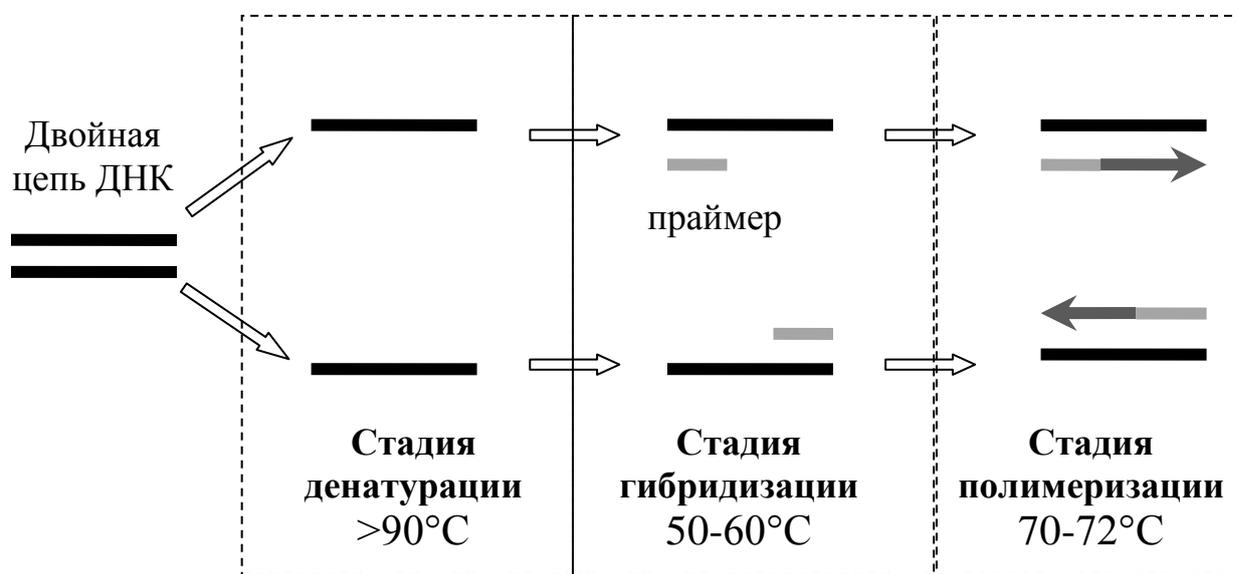


Рисунок 8.2. – Схема полимеразной цепной реакции

Визуализация продуктов ПЦР в классическом варианте проводится с помощью гель-электрофореза с последующим окрашиванием.

При диагностике инфекций используют праймеры, специфичные к участкам ДНК потенциального возбудителя. При наличии ДНК возбудителя в биологических образцах ПЦР-анализ даст положительный результат. Этот способ анализа позволяет выявить возбудителя заболевания в очень низкой концентрации. При диагностике генетических и онкологических заболеваний используются праймеры, специфичные к генам, обуславливающим данные болезни.

### Виды ПЦР

- **ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).** Ее проводят в случае, если в качестве матрицы доступна только мРНК. Сначала с помощью обратной транскриптазы получают кДНК, затем с ней проводят обычную ПЦР. Применяется при работе с РНК-содержащими вирусами, в диагностике некоторых видов рака, в генной инженерии.

- **ПЦР в реальном времени (количественная ПЦР).** Позволяет обнаруживать в пробе специфические последовательности, измерять количество их копий. Визуализация продуктов реакции проводится по излучению, испускаемому флуоресцирующими метками. Применяется для анализа экспрессии генов, выявления нуклеотидных полиморфизмов и хромосомных aberrаций, обнаружения патогенов и белков.

- **Иммуно-ПЦР.** Соединяет технологии иммуноферментного анализа и ПЦР, основана на применении специфических к искомым молекулам антител с прикрепленными к ним ДНК-метками. Применяется для выявления вирусных или опухолеассоциированных антигенов, гормонов, токсинов и других молекул.

Реакция может проводиться в нескольких вариантах:

- **ПЦР с горячим стартом.** Здесь используют полимеразу в комплексе с антителами, которые ингибируют ее активность. При нагреве на первой стадии антитела денатурируют, полимеразы начинают работать во всех пробах одновременно. Это снижает вероятность получения неспецифически амплифицированных фрагментов.

- **Ступенчатая ПЦР** используется для снижения вероятности неспецифической амплификации. Этого добиваются путем

повышения температуры отжига в первых циклах с последующим снижением ее до оптимальной.

**«Холодная» ПЦР** основана на изменениях температуры плавления ДНК. Позволяет выявлять однонуклеотидные мутации в пробах, содержащих как мутантные, так и нормальные гены. Используется для ранней диагностики рака, его рецидивов, а также при подборе индивидуальной терапии.

**ПЦР длинных фрагментов** проводят с двумя видами полимераз. Одна из них синтезирует длинные фрагменты, другая исправляет возникающие при синтезе ошибки.

**Мультиплексная ПЦР** позволяет выявлять сразу несколько специфически последовательностей (при инфекции несколькими патогенами, диагностике комплекса заболеваний, выявлении мутаций). В этом случае используют сразу несколько праймеров.

**Асимметричная ПЦР** проводится для получения копий одной из цепей ДНК. Для этого концентрация одного праймера должна быть намного выше другого.

**Метил-специфичную ПЦР** применяют для выявления метилированных участков ДНК.

**Вложенная ПЦР** позволяет уменьшить число побочных продуктов реакции. В этом варианте используют два набора праймеров. Сначала добавляют один тип праймеров, который синтезирует более длинные фрагменты, затем добавляют второй тип, который амплифицирует фрагмент ДНК внутри продукта первой реакции.

**ПЦР *in situ*** проводят в клетках (тканях) для изучения развития вирусов.

**Капельно-цифровая ПЦР** проводится в нанокляпях водно-масляной эмульсии. В тех каплях, куда попала ДНК-мишень, образуется ПЦР-продукт. Это определяют по уровню флуоресцентного сигнала. При расчете концентрации ДНК-мишени учитывают количество капель с положительными и отрицательными сигналами.

## Применение ПЦР-анализа

### *Клиническая медицина*

- обнаружение бактериальных, вирусных, грибковых инфекций;

- диагностика лейкемии, лейкомы и других видов неоплазий по наличию точечных мутаций и генетических маркеров;
- диагностика наследственных заболеваний;
- выявление генетически обусловленных особенностей метаболизма для индивидуального подбора лекарственных препаратов в персонализированной медицине;
- типирование тканей в трансплантологии;
- обнаружение хромосомных перестроек в половых клетках до оплодотворения.

#### *Судебная медицина и криминалистика*

- установление личности по ДНК;
- установление родства;
- расследование причин необъяснимой смерти («молекулярная аутопсия»).

#### *Генная инженерия*

- амплификация ДНК;
- секвенирование ДНК;
- мутагенез;
- создание гибридизационных зондов для разных видов блот-анализа;
- анализ экспрессии генов.

#### *Антропология, палеонтология*

- исследование эволюции биологических объектов;
- изучение миграций людей, связей этносов, национальностей и рас;
- изучение вымерших животных;
- исследование ДНК исторических личностей.

#### *Сельское хозяйство*

- обнаружение патогенов у растений и животных;
- диагностика наследственных заболеваний животных;
- выявление генетически модифицированных продуктов;
- обнаружение X-хромосомы у животных, пол которых трудно определить (рыб, рептилий, попугаев).

## **Альтернативные методы амплификации нуклеиновых кислот**

В настоящее время много внимания уделяется разработке методов изотермической амплификации. Эти методы не требуют изменений температуры реакционной смеси и выполняются за короткий промежуток времени. Они позволяют быстро выявлять наличие определенных последовательностей в ДНК или присутствие РНК в пробе, что делает их особенно удобными для применения во время приема пациента или даже в полевых условиях. Среди таких методов наиболее известны:

- Петлевая изотермическая амплификация (LAMP), применяется для диагностики вирусов, бактерий и других патогенов, в том числе в составе пищевых продуктов, а также для выявления однонуклеотидных полиморфизмов.
- Изотермическая амплификация нуклеиновых кислот (NASBA), применяется в диагностике РНК-содержащих вирусов, при изучении экспрессии бактериальных и вирусных генов.
- Хеликазозависимая амплификация.

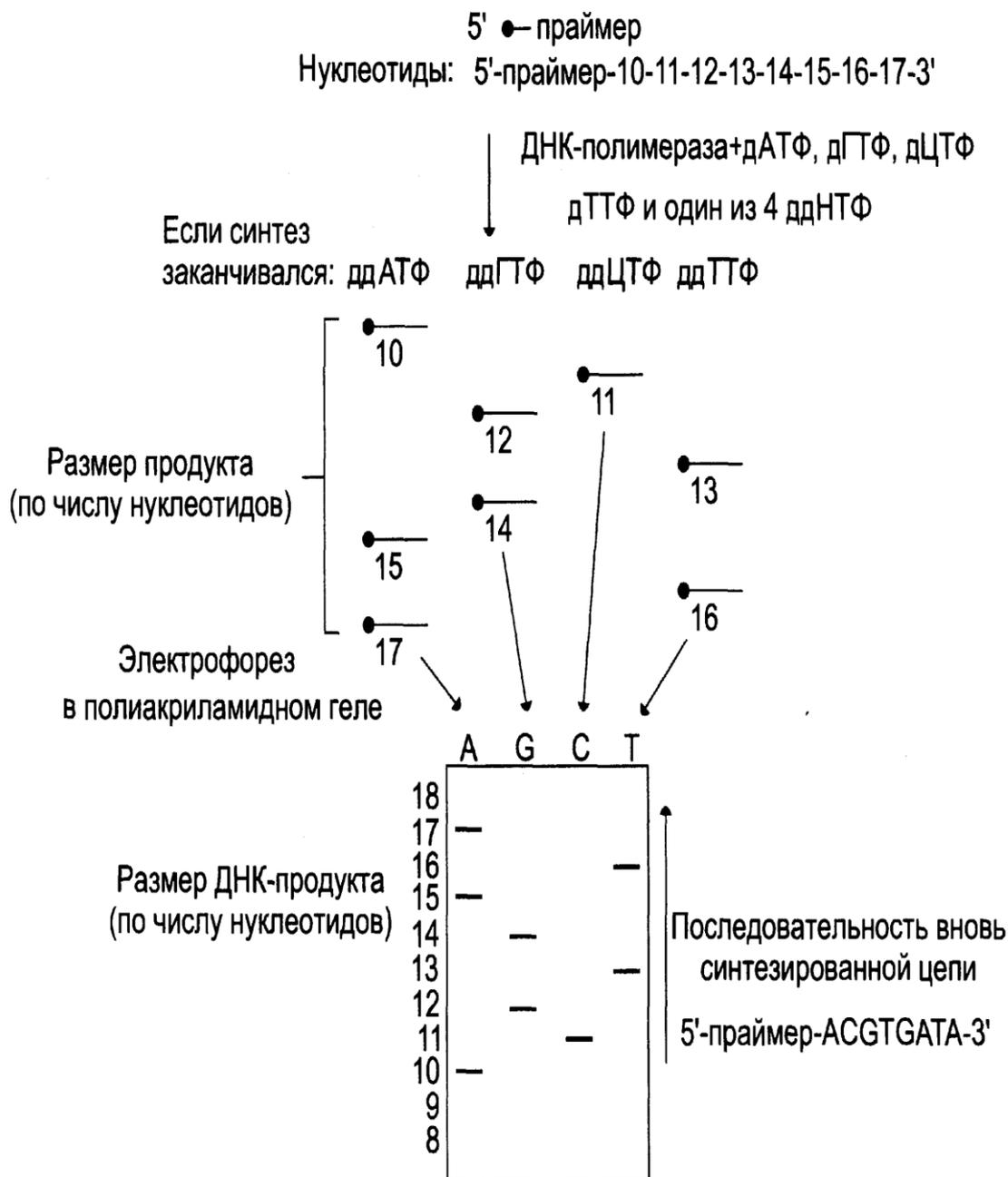
## **Секвенирование нуклеиновых кислот**

Активное применение определения первичной структуры (секвенирования) нуклеиновых кислот существенно расширило возможности изучения генетической природы целого спектра заболеваний человека. Исследования на достаточно больших клинических выборках позволяют получать данные о генетических особенностях определенных групп людей, способствуя развитию персонализированной медицины. Технологической основой для подобных исследований служат геномные секвенаторы (приборы, в которых проводят секвенирование).

Самым распространенным способом секвенирования «старого поколения» стал метод Сэнгера. Главные плюсы этого метода – высокая точность получаемых данных и относительная дешевизна работ при анализе небольшого количества ДНК-фрагментов. Метод не потерял своей актуальности и в наше время.

**Метод Сэнгера** (метод терминаторов или обрыва цепи) основан на моделировании ДНК-полимеразной реакции, где исследуемая молекула ДНК используется в качестве матрицы. В реакционную смесь добавляют дидезоксинуклеотиды (ОН-группа в 3'-положении пентозы отсутствует). ДНК-полимераза включает эти

предшественники в ДНК. Однако включившись в ДНК, модифицированный нуклеотид не может образовать фосфодиэфирную связь со следующим дезоксирибонуклеотидом.



**Рисунок 8.3. — Определение первичной структуры ДНК методом Сэнгера**

В результате элонгация данной цепи останавливается в том месте, где в ДНК включился дидезоксирибонуклеотид. Реакция проводится одновременно в четырех отдельных пробах, каждая из которых содержит один из четырех дидезоксинуклеотидов и все 4

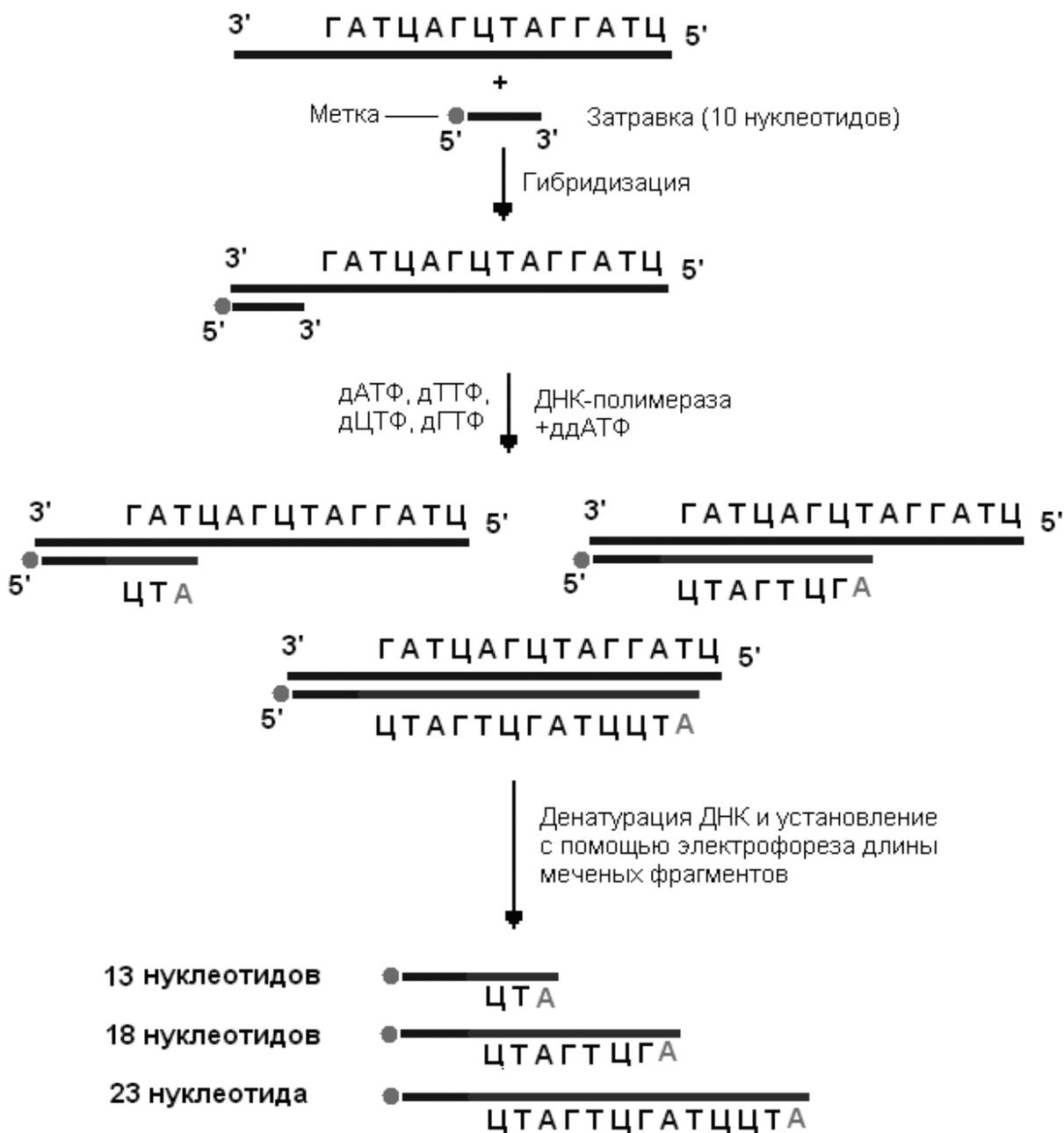
дезоксинуклеозидтрифосфата (к ним, как правило, присоединяют радиоактивную или флюоресцентную метку). В каждой из проб образуется набор меченых фрагментов разной длины.

Длина их зависит от того, в каком месте в цепь включен дефектный нуклеотид. Полученные меченые фрагменты ДНК разделяют в полиакриламидном геле с точностью до одного нуклеотида, проводят идентификацию, и по картине распределения фрагментов в четырех пробах устанавливают нуклеотидную последовательность ДНК (рис. 8.3).

Схема процесса, происходящего в одной из проб (с добавлением дДАТФ), представлена на рисунке 8.4. Затравка гибридизуется с участком ДНК анализируемой цепи в области ее 3'-конца.

После этого ДНК-полимераза будет включать в растущую цепь нуклеотиды в соответствии с принципом комплементарности. Напротив Т она может включить либо дАМФ, либо ддАМФ. Процесс включения является вероятностным (случайным). Если в растущую цепь ДНК включится ддАМФ, синтез ДНК оборвется. Если же в растущую цепь ДНК включится дАМФ, синтез ДНК будет продолжен. В результате в пробе будут содержаться фрагменты вновь синтезированной цепи ДНК различной длины. При этом все они будут заканчиваться ддАМФ. После денатурации двухцепочечной ДНК с помощью электрофореза определяют длину вновь синтезированных фрагментов.

Если длина фрагментов ДНК равна 13, 18 и 23 нуклеотидам, следовательно, в 13, 18 и 23 положении фрагмента будет находиться А, а в анализируемой цепи – Т. В оставшихся пробах аналогично определяют положение других нуклеотидов в анализируемой цепи ДНК. Таким образом, устанавливается первичная структура ДНК. В одном эксперименте можно определить последовательность ДНК до 1000 пар нуклеотидов, поэтому ее молекулу предварительно фрагментируют. Для фрагментации ДНК используют не менее двух разных рестриктаз. В результате их действия и образуются перекрывающиеся фрагменты, которые позволяют определить последовательность определяемых фрагментов в интактной молекуле ДНК.



**Рисунок 8.4. – Схема процесса секвенирования в пробе с добавлением дДАТФ**

Открытие флуоресцентных молекул позволило модифицировать метод и проводить реакцию в одной пробирке. В этом случае реакционную смесь разделяют капиллярным электрофорезом, а положение нуклеотидов в цепи регистрируют детекторами флуоресценции.

Секвенирование по Сэнгеру используется с целью:

- секвенирования отдельных участков генома для анализа мутаций и полиморфизмов;

- идентификации вирусов и ряда организмов (бактерии, растения, грибы и животные);
- валидации данных, полученных с помощью методов секвенирования нового поколения;
- микросателлитного анализа;
- анализа инсерций и делеций.

### **Секвенирование нового поколения (next-generation sequencing, NGS)**

Появление методов секвенирования нового поколения позволило значительно ускорить и снизить стоимость определения полной последовательности геномов разных организмов, оценивать экспрессию генов (секвенирование транскриптомов), анализировать регуляцию их активности (анализ экспрессии микроРНК и метилирования генома). В настоящее время активно используется сразу несколько разработок, позволяющих определять последовательность полных геномов, проводить анализ экспрессии генов и метилирования ДНК. Ниже приводятся краткие сведения о таких методах.

***Пиросеквенирование*** или «секвенирование путем синтеза». Основной смысл этого типа секвенирования заключается в синтезе ДНК на фрагментах ДНК изучаемого организма. В процессе синтеза дочерней цепи ДНК определяют количество высвобождающихся пирофосфатов. В ходе цикла пиросеквенирования при образовании фосфодиэфирной связи выделяется пирофосфат, который запускает каскад химических реакций, приводящих к наработке АТФ, необходимой для реакции окисления люциферина с испусканием кванта света, который и фиксируется специальным детектором. Этим методом можно определять нуклеотидную последовательность фрагментов геномной ДНК размером 300-500 пар оснований.

***Технология секвенирования на молекулярных кластерах*** с использованием флуоресцентно меченых нуклеотидов подразумевает также синтез новой молекулы ДНК на матрице из изучаемого материала. К концам предварительно фрагментированной ДНК присоединяют адаптеры, необходимые для ПЦР и секвенирования на молекулярных кластерах. Полученные ДНК-библиотеки иммобилизуют на поверхностях особых проточных ячеек, где и проводят секвенирование.

Реакционная смесь, которая подается на поверхность проточной ячейки для синтеза комплементарной ДНК, содержит ферменты, олигонуклеотиды, четыре типа флуоресцентно меченых дезоксинуклеозидтрифосфатов. После включения в растущую цепь ДНК нуклеотида-терминатора определяют его тип и положение. Затем терминирующая группа и флуоресцентная метка отщепляются от нуклеотида и цикл синтеза повторяется. Эта серия шагов продолжается определенное количество раз, число которых задает пользователь.

**Технология циклического лигазного секвенирования** использует принцип лигирования. Суть метода заключается в установлении нуклеотидной последовательности фрагментов геномной ДНК размером 25-75 пар оснований. К концам предварительно фрагментированной ДНК лигируют (присоединяют) адаптеры, необходимые для ПЦР на магнитных сферах. Сферы, на которые нанесли клональную библиотеку, помещают на проточную ячейку, где и идет секвенирование.

**Ионное полупроводниковое секвенирование** основано на применении полупроводниковых микрочипов для секвенирования. В данном случае регистрируют локальные изменения pH на микрочипе, которые происходят во время удлинения синтезируемой цепи ДНК.

**Одномолекулярное секвенирование** дало возможность наблюдать за работой ДНК-полимеразы, наращивающей синтезируемую цепь, в реальном времени. Метод позволяет определять нуклеотидную последовательность достаточно длинных фрагментов геномной ДНК (20 000 пар оснований) с присоединенными к их концам адаптерами, необходимыми для последующего секвенирования. Сама реакция секвенирования проходит в ячейках (SMRT-ячейки) на кремниевой подложке, с напыленным на нее слоем алюминия. Сквозь дно в ячейку подается свет, который освещает только место, где закреплена молекула считывающего фермента ( $\phi$  29 ДНК-полимераза). Эта ДНК-полимераза достраивает вторую цепь исследуемой молекулы ДНК, используя нуклеотиды, меченые разными флуоресцентными метками, которые регистрируют при помощи конфокальной микроскопии.

Другой способ одномолекулярного секвенирования использует нанопоровые системы, в которых считываются

изменения силы тока. Это позволяет определять тип нуклеотида, проходящего через пору в данный отрезок времени.

Бурное развитие технологий исследования генов к настоящему времени позволило не только выявлять нуклеотидные последовательности в них, но и дало ключ к пониманию механизмов функционирования геномов. Методы секвенирования нового поколения позволяют оценивать уровень метилирования ДНК, проводить анализ дифференциальной экспрессии генов, в том числе и генов-регуляторов, изучать экспрессию некодирующих РНК.

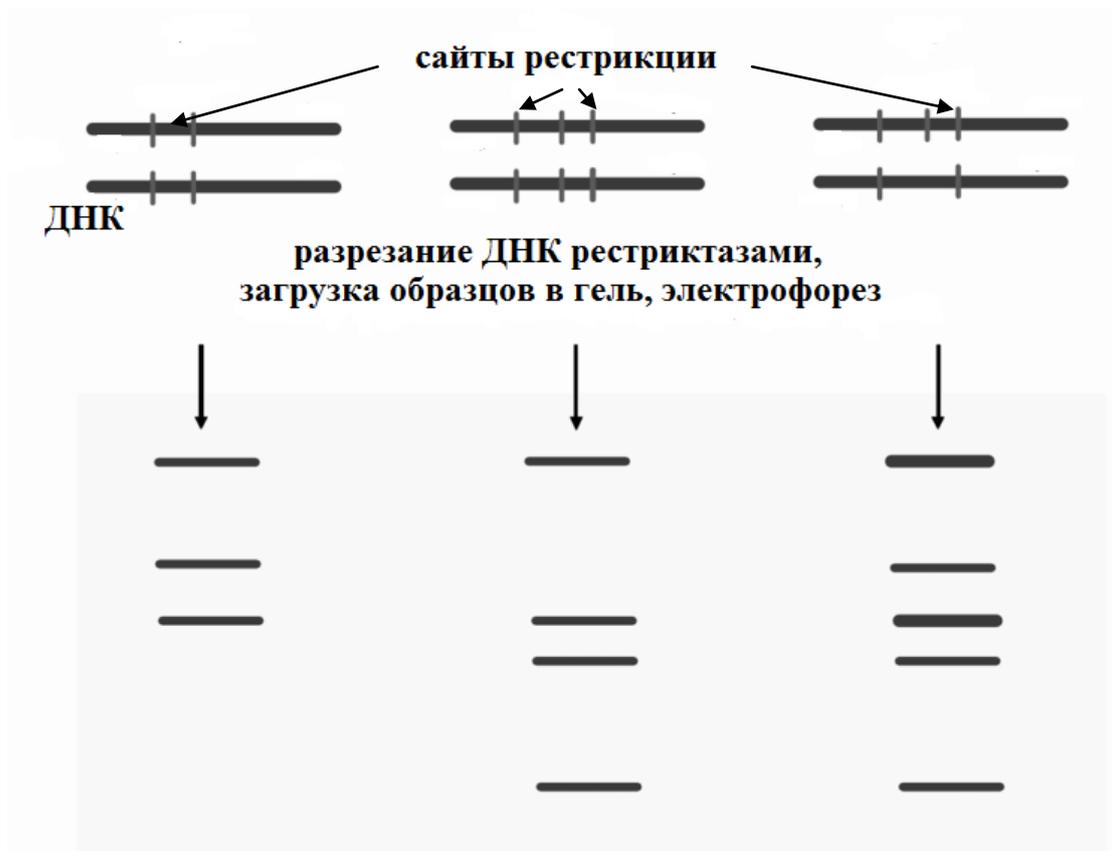
### **Генетическая дактилоскопия**

*Генетическая дактилоскопия (ДНК-дактилоскопия, ДНК-фингерпринт)* основывается на различиях последовательности нуклеотидов в определенных участках ДНК каждого индивидуума. Изменения последовательности нуклеотидов в сайтах рестрикции ведут к различиям в длине получаемых после действия определенной рестриктазы фрагментов. Эти различия называют полиморфизмом длины рестрикционных фрагментов.

Технология геномной дактилоскопии включает ряд уже рассмотренных нами методов (см. «Блот-анализ»). Последовательность процедур следующая:

- 1) выделение ДНК из подготовленного образца;
- 2) разрезание выделенной ДНК с помощью рестриктазы;
- 3) электрофорез полученных фрагментов ДНК в геле;
- 4) перенос ДНК из геля на мембрану;
- 5) гибридизация зафиксированной на мембране ДНК с одним или несколькими зондами;
- 6) отмывание избытка зонда;
- 7) выявление полос гибридизации и анализ полученного результата.

Этапы 1-3 показаны на рисунке 8.5.



**Рисунок 8.5. – Начальные этапы геномной дактилоскопии**

Распределение гибридационных полос, полученных методом генетической дактилоскопии, у разных индивидуумов разное, но для разных тканей одного и того же человека оно остается постоянным на протяжении всей жизни. То есть каждый человек имеет свой неповторимый рисунок гибридационных полос – «отпечаток пальцев» ДНК. Причем, чем более родственными будут обследуемые лица, тем число совпадающих полос будет больше, и наоборот. Метод геномной дактилоскопии применяется для генетической идентификации личности в судебной медицине и в криминалистике, а также для установления родства.

На рисунке 8.6 показаны ДНК-фингерпринты шести взрослых человек и троих детей. По совпадению расположения гибридационных полос (указаны горизонтальными стрелками) можно увидеть, что родителями всех троих детей являются взрослые 1 и 3.

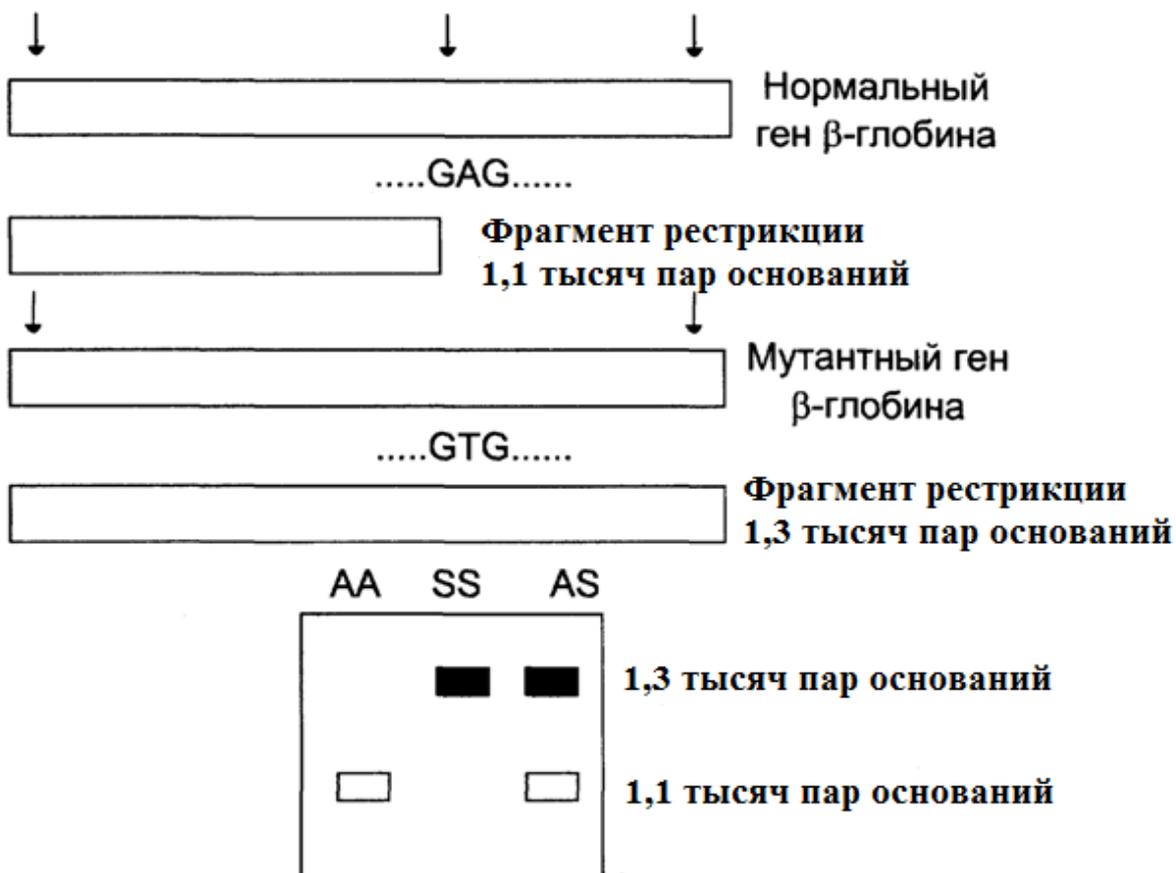


**Рисунок 8.6. – Применение генетической дактилоскопии для установления родства**

Особое прикладное значение метод генетической дактилоскопии приобрел в диагностике наследственных заболеваний. Случаи, когда участки узнавания рестриктаз изменены не как следствие полиморфизма, а в результате мутаций, также могут быть выявлены по изменению длины рестрикционных фрагментов.

На рисунке 8.7 показана схема выявления точечной мутации в гене  $\beta$ -глобина, ведущей к возникновению серповидноклеточной анемии. Данная мутация нарушает сайт рестрикции для рестриктазы Mst II. При обработке ДНК, обследуемых этой рестриктазой, получают фрагменты разной длины, которые разделяют с помощью электрофореза и гибридизируют со специфическими зондами. Важно, что этот метод позволяет выявить и гетерозиготных носителей дефектного гена. С помощью данного метода выявляют мутации, вызывающие миодистрофию Дюшенна, гемофилию А, талассемию, контролируют генетический статус детей в семьях, где родители – гетерозиготы по гену серповидноклеточной анемии или другим генам.

### Сайты рестрикции



**Рисунок 8.7. – Применение геномной дактилоскопии для выявления мутаций**

\**Aa* – гомозигота по нормальному гену  $\beta$ -глобина;

*Ss* – гомозигота по мутантному гену  $\beta$ -глобина;

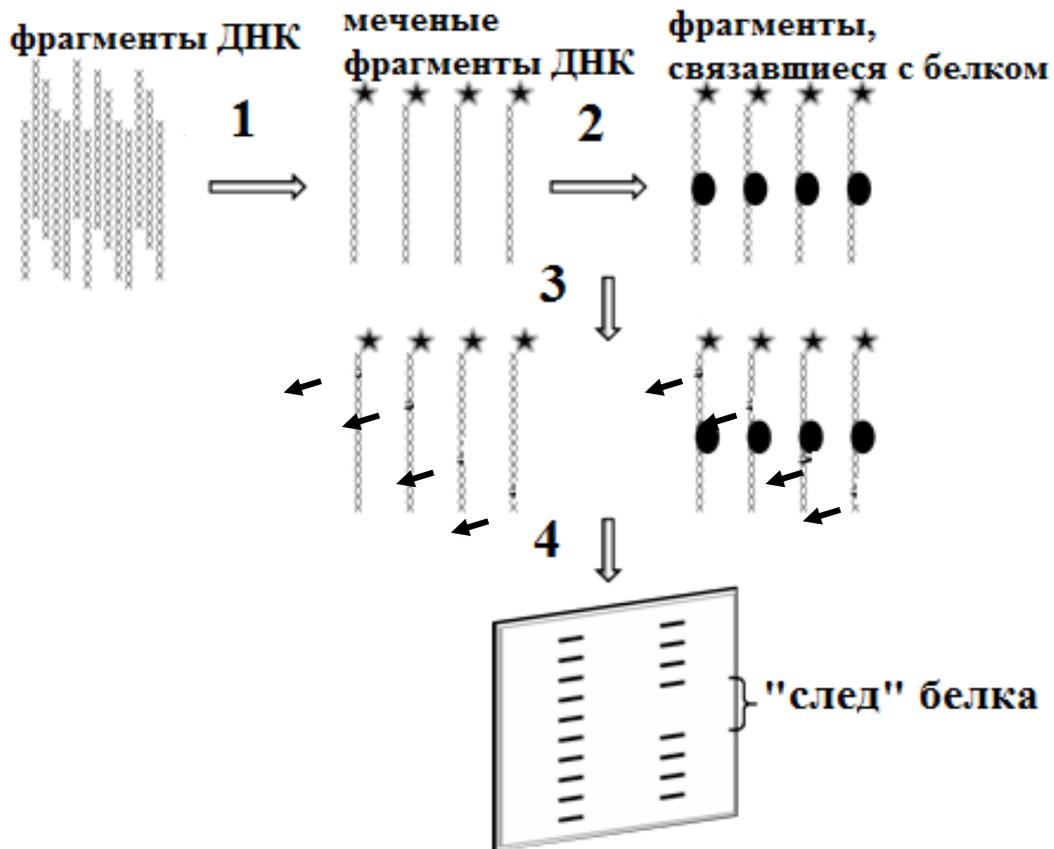
*As* – гетерозигота (носитель мутантного гена)

### Футпринтинг

Данный метод используют для поиска в молекуле ДНК последовательностей, связывающих регуляторные белки. Он может применяться как *in vitro*, так и в физиологических условиях внутри клетки. Название метод получил от английского слова, обозначающего отпечаток ноги или след (footprint).

Для проведения футпринтинга фрагменты ДНК, в которых может содержаться сайт связывания белков, амплифицируют и метят (стадия 1 на рис. 8.8). Часть меченой ДНК оставляют intactной для последующего сравнения, а ко второй добавляют исследуемый белок (стадия 2). На следующем этапе (стадия 3) всю

ДНК подвергают действию разрезающих агентов (ДНКаза, ультрафиолетовое облучение, реактив Фентона).



**Рисунок 8.8. – Схема проведения футпринтинга**

Условия для реакции подбирают так, чтобы каждый фрагмент был разрезан только в одном месте. Если в этом месте будет присоединен белок, он защитит участок связывания от разрезания. Продукты расщепления ДНК разделяют при помощи электрофореза в полиакриламидном геле (стадия 4). Фрагменты, не связавшиеся с белком, будут разрезаться в случайных местах и равномерно распределяться при электрофорезе. Фрагменты ДНК, с которыми связался белок, разрезаться не будут, и на электрофореграмме будет виден пробел – «след» белка. Если одновременно с футпринтингом провести и секвенирование, можно установить и последовательность нуклеотидов, с которыми связывается соответствующий белок.

## Глава 9

### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОСПАЛЕНИЯ

Воспаление – сложный патобиохимический и патоморфологический процесс, с помощью которого организм реагирует на гибель клеток или повреждение тканей, цель его – инициация репаративных механизмов, восстанавливающих поврежденные структуры.

Воспалительная реакция направлена на уничтожение патогенов и сопровождается фазой, в которой погибшие и отмирающие клетки, поврежденный внеклеточный матрикс и остатки клеток удаляются, чтобы в конечном итоге в фазе восстановления добиться полностью функционального состояния ткани и органа. С этой точки зрения воспаление развивается как адаптивный ответ на повреждение ткани или гомеостатический дисбаланс. Следовательно, в то время как патологическое состояние представляет собой нарушение гомеостаза, локальное воспаление – это ответ ткани, направленный на восстановление местного гомеостаза. Очевидно, что противовоспалительная активность на данном этапе потенциально вредна для организма-хозяина, она должна строго контролироваться, чтобы избежать чрезмерного повреждения ткани. Эту функцию контролирует иммунная система.

#### **Классификация повреждающих факторов**

- I. Экзогенные факторы:
  1. Микроорганизмы и вирусы.
  2. Простейшие, гельминты, яды насекомых и т. д.
  3. Физические факторы:
    - а) термические воздействия (холод, тепло);
    - б) ультрафиолетовое излучение;
    - в) радиоактивное и рентгеновское излучение;
    - г) механические воздействия (инородные тела, давление, повреждение ткани).
  4. Химические факторы:

- а) кислоты;
- б) щелочи;
- в) токсические вещества и ксенобиотики.

## II. Эндогенные факторы.

Они возникают в самом организме в результате тех или иных заболеваний или нарушений метаболизма (доброкачественные и злокачественные опухоли, накопление эндогенных метаболитов – глюкоза, билирубин, желчные кислоты и т. п., образование камней в мочевыводящих путях, тромбоэмболии и т. д.).

Развитию воспаления, помимо повреждающего фактора, способствует сочетанное воздействие различных биологически активных веществ (включая гормоноподобные факторы и цитокины), активация определенных субпопуляций клеток иммунной системы, формирование новых межклеточных и клеточно-матриксных взаимоотношений, приводящих к локальным изменениям в тканях и к общему ответу организма.

Таким образом, в ответ на действие повреждающего фактора сначала возникает местная реакция (наиболее часто – окислительный стресс), которая в последующем вызывает общую реакцию организма и развитие острой фазы воспаления (рис. 9.1).

У млекопитающих на уровне организма острая фаза воспаления характеризуется выраженной стресс-реакцией, патофизиологические компоненты которой – повышение температуры, нарушение проницаемости сосудов, изменение белкового и метаболитного профиля многих тканей и органов (в крови увеличивается количество и активность органоспецифических ферментов, отдельных метаболитов в результате нарушения функционирования специфических метаболитических путей, повышается соотношение провоспалительных и противовоспалительных цитокинов). Таким образом, в развитии острой фазы воспаления задействованы все системы организма: иммунная, нервная, эндокринная, сердечно-сосудистая, мышечная и другие.

Для острой фазы воспаления характерны:

- неспецифичность и универсальность возникающих изменений – схожий комплекс изменений наблюдается как при инфекционной патологии, так и после физического нарушения целостности тканей;

- направленность на локализацию очага повреждения и

запускание механизмов репарации.



**Рисунок 9.1. – Общая схема развития воспаления**

В классическом понимании на макроуровне принято выделять три стадии воспаления:

- 1) альтерацию (повреждение);
- 2) экссудацию;
- 3) пролиферацию.

Однако практически сложно определить четкие границы между вышеперечисленными стадиями воспаления и преобладание какого-либо из этих процессов. Соответственно, различают: альтеративное воспаление, экссудативное воспаление,

пролиферативное (продуктивное) воспаление и, как его отдельный вариант, гранулематозное воспаление.

В зависимости от процессов, преобладающих на определенном этапе воспаления, в настоящее время его стадийность представляется следующим образом:

- 1) стадия альтерации;
  - а) первичная альтерация;
  - б) вторичная альтерация;
- 2) стадия экссудации и эмиграции;
- 3) стадия пролиферации и репарации:
  - а) пролиферация;
  - б) завершение воспаления.

*Первичная альтерация.* Воспаление всегда начинается с повреждения клеток или тканей. После воздействия повреждающего фактора в клетках происходят структурные и метаболические изменения, которые в зависимости от степени воздействия и природы повреждающего фактора, типа клеток, степени их зрелости и т. д. приводит к апоптозу или некрозу. При этом большая часть клеточного сообщества продолжает функционировать, а часть активирует свои функции, оказывая стимулирующее или ингибирующее действие на воспалительный процесс. Первичная альтерация является результатом повреждающего воздействия самого воспалительного агента, поэтому ее выраженность при прочих равных условиях (реактивность организма, локализация) зависит от свойств повреждающего фактора.

Первичная, и особенно вторичная альтерация сопровождаются возникновением комплекса разнообразных структурных, физико-химических, обменных и функциональных изменений как в поврежденных структурах, так и вокруг них. Альтерация – пусковой механизм развития патоморфобиохимических изменений в тканях, развивающихся по типу цепной реакции. Они разнообразны, проявляются на разном уровне организации, обычно включают деструкцию следующих структур:

- микрососудов (капилляров, пре- и посткапилляров, сфинктеров, артериол, венул, артериоло-венульных шунтов);
- соединительной ткани (волокон, межклеточного вещества, клеток), нервных, паренхиматозных, тучных клеток и клеток крови;
- протоплазмы, ядер, разных органелл (особенно лизосом,

- митохондрий, рибосом, эндоплазматического ретикулума);
- клеточных мембран и мембран органелл;
  - транспортных каналов для ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$  и других; углеводов, липидов, белков и т. д.;
  - активности ферментов, ответственных за транспорт.

Комплекс физико-химических изменений включает следующие изменения, нарастающие в динамике воспалительного процесса:

- ацидоз (снижение pH);
- гипертонию (увеличение количества  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  и др.);
- нарушение ионного гомеостаза (увеличение внеклеточного  $\text{K}^+$  и внутриклеточного  $\text{Na}^+$ );
- гиперосмию (увеличение осмотического давления);
- увеличение онкотического давления;
- увеличение дисперсности и гидрофильности белков паренхиматозных, нервных, особенно соединительнотканых структур.

### **Метаболические изменения в зоне альтерации**

Комплекс метаболических изменений – следствие как структурных, так и физико-химических изменений, главным образом, функции митохондрий и лизосом в клетках. Он включает следующие процессы:

- активацию катаболизма белков, липидов, углеводов и их соединений;
- торможение анаболических процессов;
- усиление аэробного и анаэробного гликолиза;
- активацию тканевого дыхания, сменяющуюся его ингибированием;
- интенсификацию процесса окислительного фосфорилирования (сопровождающегося увеличением синтеза макроэргов), сменяющегося его снижением и разобщением (при этом нарастает дефицит АТФ);
- усиление процесса теплопродукции, сменяющегося его ослаблением;
- накопление разнообразных недоокисленных продуктов метаболизма (повышение содержания лактата, пирувата, кетоновых тел и др.).

*Вторичная альтерация.* Если первичная альтерация – результат непосредственного действия воспалительного агента, то вторичная альтерация не зависит от него и может продолжаться и тогда, когда этот агент уже не оказывает влияния. Например, после инициации окислительного стресса накапливающиеся в тканях продукты перекисного окисления липидов, свободные радикалы кислорода и пероксинитриты оказывают разрушительное действие независимо от наличия повреждающего фактора. Свободные радикалы в физиологических условиях выполняют в клетках сигнальную функцию, но в ситуациях чрезмерного накопления инициируют повреждение тканевых макромолекул, вызывая нарушение функции клеток.

Повреждающий фактор является инициатором, запуская механизм воспаления, которое будет протекать по законам, свойственным определенной ткани или органу. Продолжающиеся функционировать клетки начинают вырабатывать медиаторы воспаления, влияющие на дифференцировку клеток иммунной системы, секретирова так называемые маркеры воспаления, концентрация которых в зоне воспаления наиболее высока, но которые одновременно влияют на функционирование других органов и систем (рис. 9.2).

Вторичная альтерация является следствием воздействия на соединительную ткань, капилляры, артериолы и кровь внеклеточных протеаз и гликозидаз, а также продуктов свободнорадикального окисления. Их источником служат клетки в состоянии апоптоза, некротические ткани, активированные рекрутированные и резидентные макрофаги и дендритные клетки. У животных, имеющих лейкопению, стадия альтерации выражена слабо. Определенную роль в альтерации может играть также литический комплекс комплемента C5b-C9, образующийся при активации комплемента плазмы и тканевой жидкости. Вторичная альтерация не зависит от природы повреждающего агента, для ее развития необязательно дальнейшее его присутствие. Она является реакцией организма на уже вызванное повреждение. Это необходимый компонент воспаления, защитно-приспособительная реакция, направленная на скорейшее отграничение (локализацию) патогена и (или) повреждения ткани от остального организма.



**Рисунок 9.2. – Общая схема патогенеза воспаления**

Ценой повреждения достигаются и другие важные защитные явления: более выраженный микробицидный и литический эффект лизосомальных ферментов и активных метаболитов кислорода, поскольку он осуществляется не только в фагоцитах, но и внеклеточно; вовлечение других медиаторов воспаления и клеток, усиленная экссудация, эмиграция и фагоцитоз. В результате воспалительный процесс завершается быстрее. Однако альтерация целесообразна лишь в известных пределах. Так, например, при дисбалансе в соотношении лизосомальные протеиназы/ингибиторы возникают избыточные проявления альтерации с преобладанием некроза.

В зависимости от силы повреждающего агента, интенсивности и локализации воспаления морфологические проявления альтерации широко варьируют: от едва заметных структурно-

функциональных изменений до полной деструкции (некробиоз) и гибели (некроз) тканей и клеток. Повышение проницаемости и повреждение мембран сопровождаются выходом разнообразных ферментов, играющих роль в разрушении органелл и субклеточных структур. Изменяются форма и величина цистерн эндоплазматического ретикулума, в цитоплазме появляются везикулы, концентрические структуры и др. Отмечается краевое расположение хроматина, повреждение мембраны ядра. В строме наблюдается мукоидное и фибриноидное набухание вплоть до некроза, растворение коллагеновых и эластических волокон.

### **Клетки воспаления**

*Макрофаги* вырабатывают ряд биологически активных веществ, каждое из которых вносит свой вклад в воспаление. К ним относятся: эстеразы, протеазы и антипротеазы; лизосомальные гидролазы – коллагеназа, эластаза, лизоцим,  $\alpha$ -макроглобулин; монокины – интерлейкин-1, колониестимулирующий фактор, фактор, стимулирующий рост фибробластов; антиинфекционные агенты – интерферон, трансферрин, транскобаламин; компоненты комплемента: C1, C2, C3, C4, C5, C6; производные арахидоновой кислоты: простагландин E<sub>2</sub>, тромбоксан A<sub>2</sub>, лейкотриены. Важнейшая функция макрофагов – фагоцитоз, а также кооперация с другими клетками воспаления.

Фагоцитозу подвергаются молекулы, молекулярные комплексы или частицы размерами 0,1-10,0 мкм. На поверхности макрофагов (на их цитоплазмической мембране) для них существует по меньшей мере три типа рецепторов. Первый из них – рецептор для Fc-части молекулы IgG. Он действует при фагоцитозе антигенных частиц, покрытых с поверхности специфическими IgG. Вторым типом рецепторов являются рецепторы для комплемента, особенно для его компонента C3b. Очевидно, при фагоцитозе имеет значение образование комплекса антиген-антитело, особенно в том случае, если антитело образовано IgM. Третий тип рецепторов неспецифический, может фагоцитировать денатурированный белок или даже индифферентные частицы (полистерол). Скорость фагоцитоза в этом случае, однако, гораздо меньше, чем в предыдущих.

**Тучные клетки.** Эти клетки вырабатывают гистамин, гепарин, факторы хемотаксиса эозинофилов и активации тромбоцитов. Метаболизм тучных клеток специализированный. Прежде всего здесь происходит синтез всех макромолекулярных соединений, входящих в состав гранул, т. е. белков и гепарина. Это подразумевает наличие в клетках всех ферментов, принимающих участие в процессах синтеза данных соединений, наличие достаточного количества АТФ, получаемого в результате аэробных процессов, протекающих в митохондриях. Гистамин образуется под действием L-гистидиндекарбоксилазы (кофактор пиридоксальфосфат) на гистидин. Образующийся гистамин связывается в гранулах. Транспорт гистамина в гранулы пассивный; это относится и к гистамину, выходящему во внеклеточное пространство. Подобным же образом образуется и серотонин (из 5-гидрокситриптофана). Его транспорт в гранулы тоже пассивен. Механизм выхода гранул во внеклеточное пространство до сих пор окончательно не выяснен. Предполагается, что имеет место двухфазный процесс:

1-я фаза – выведение гранул целиком (очевидно, в результате воздействия фосфолипазы 2 на цитоплазматическую мембрану);

2-я фаза – последующий распад гранул в водной среде в присутствии  $\text{Na}^+$ .

**Нейтрофилы.** Главная функция этих клеток – фагоцитоз. Они попадают из костного мозга в кровь, эмигрируют из сосудов и в больших количествах скапливаются в воспаленной ткани. В нейтрофилах вырабатываются лейкотриены, ряд ферментов, фактор активации тромбоцитов и антимикробные факторы. Эти клетки чаще всего встречаются в воспалительном экссудате. Они имеют типичный вид и структуру: сегментированное ядро, слабо развитый (или отсутствующий) эндоплазматический ретикулум, не несущий рибосом, отсутствие или очень малое количество митохондрий, хорошо выраженный аппарат Гольджи и наличие 50-200 гранул разного вида и размеров.

Главный источник энергии нейтрофилов – глюкоза, которая или прямо утилизируется, или накапливается в цитоплазме в виде гликогена. Более чем 90% необходимой энергии (в виде АТФ) нейтрофилы получают за счет анаэробного гликолиза; роль аэробных путей в образовании АТФ незначительна (приблизительно 10% глюкозы превращается в пентозофосфатном

цикле как источнике НАДФН). В ходе фагоцитоза скорость гликолиза (и увеличение образования лактата) повышается на 25-30%, а скорость реакций пентозофосфатного пути повышается в 10 раз. Одновременно увеличивается и интенсивность дыхания (в 10-20 раз). Это, однако, не направлено на активацию аэробных путей обмена субстратов. Кислород необходим для ряда реакций, приводящих к образованию соединений пероксидной природы, с помощью которых нейтрофилы уничтожают фагоцитированные микроорганизмы.

Все сказанное можно представить как «комплекс четырех повышений»:

- повышение потребления кислорода;
- повышение продуцирования  $O_2^-$ ;
- повышение продуцирования  $H_2O_2$ ;
- повышение скорости реакций пентозофосфатного пути.

**Эозинофилы.** Их роль в воспалении определяется рецепторами, расположенными на поверхности, и ферментами, находящимися внутри. Эозинофилы осуществляют деградацию гистамина и лейкотриенов.

**Тромбоциты.** Их роль в воспалении состоит главным образом в том, что они имеют непосредственное отношение к микроциркуляции и свертыванию крови. В тромбоцитах вырабатываются простагландины, серотонин, гистамин, тромбоцитарный фактор роста. Тромбоциты интересны с метаболической точки зрения. Несмотря на отсутствие ядра, они способны выполнять практически все клеточные функции, кроме синтеза ДНК и самостоятельного деления. Поэтому их иногда, хотя и неправильно, называют клетками. Они покрыты поверхностной мембраной, состоящей из гликопротеинов, гликолипидов и фосфолипидов. В цитоплазме содержатся органоиды: митохондрии и 2 типа гранул: плотные гранулы, в которых содержатся АДФ, АТФ, катехоламины и серотонин, и так называемые  $\alpha$ -гранулы, имеющие, по всей вероятности, лизосомную природу. Плотная тубулярная система напоминает своей структурой ЭПР мегакариоцитов и является местом ограниченного синтеза белков и частиц, служащих для выведения  $Ca^{2+}$  в среду.

**Лимфоциты.** Эти клетки играют роль при любом воспалении, но особенно при иммунном.

**Фибробласты.** Действие фибробластов проявляется в последней стадии процесса, когда в очаге воспаления увеличивается число этих клеток, активизируется синтез в них коллагена и гликозаминогликанов.

Сведения о клетках воспаления представлены в таблице 9.1.

Таблица 9.1. – Клетки воспаления

Название клеток	Вырабатываемые и секретируемые вещества	Участие в воспалении
Макрофаги:	Интерлейкин-1	Фагоцитоз
<i>фиксированные</i>	ферменты	Кооперация с другими клетками воспаления. Действие на фибробласты, лимфоциты, гепатоциты, нейроны
<i>подвижные</i>	интерферон	
<i>печёночные</i>	фрагменты комплемента	
<i>лёгочные</i>	простагландины	
<i>селезёночные</i>	ингибиторы протеаз	
Тучные клетки	Гистамин, фактор хемотаксиса эозинофилов, гепарин, фактор активации тромбоцитов, медленно реагирующая субстанция	Выработка биологически активных веществ
Нейтрофилы	Фактор активации тромбоцитов, лейкотриены, ферменты, антимикробные факторы	Хемотаксис, фагоцитоз, цитотоксическое действие
Эозинофилы	Гистаминаза, арилсульфатаза, большой катионный белок	Деградация гистамина, лейкотриенов
Тромбоциты	Простагландины, тромбоксан, лейкотриены; тромбоцитарный фактор роста, фактор проницаемости, катионные белки, серотонин, гистамин, гидролазы, адреналин	Свертывание крови
Лимфоциты Т и В	Интерлейкины, лимфокины, иммуноглобулины	Иммунитет, киллерное действие
Фибробласты	Коллаген, гликозамингликаны, фибронектин	Миграция, пролиферация, созревание; восстановление дефекта

## Медиаторы воспаления

Медиаторами воспаления называются биологически активные вещества, которые синтезируются в клетках или в жидкостях организма и оказывают непосредственное влияние на воспалительный процесс.

Медиаторы воспаления делятся следующим образом:

### *А. Клеточные*

1. Биогенные амины (гистамин, серотонин).
2. Фактор активации тромбоцитов, медленно реагирующая субстанция анафилаксии и др.
3. Простагландины.
4. Цитокины.

### *Б. Гуморальные*

1. Компоненты кининовой системы: калликреин, брадикинин.
2. Факторы свертывающей системы: фактор Хагемана.
3. Компоненты системы комплемента: С3а, С5а.

Гуморальные медиаторы воспаления синтезируются в плазме и в тканевой жидкости в результате действия соответствующих ферментов. Первоначальной причиной появления (или увеличения количества) этих веществ является альтерация. Именно в результате повреждения клеток освобождаются и активируются лизосомальные ферменты, которые активируют другие ферменты, в том числе содержащиеся в плазме, в результате чего возникает целый ряд биохимических реакций. Поначалу они носят хаотичный характер (так называемый «пожар обмена»), а продукты расщепления не имеют физиологического значения, нередко токсичны. Постепенно, однако, в этом процессе появляется определенный биологический смысл. Протеолитические ферменты расщепляют белки не до конца, а только до определенного этапа (ограниченный протеолиз), в результате чего образуются специфические вещества, действующие целенаправленно и вызывающие специфический патофизиологический эффект. Одни из них действуют преимущественно на сосуды, повышая их проницаемость, другие – на миграцию лейкоцитов, третьи – на размножение клеток.

Основными источниками клеточных медиаторов являются клетки иммунной системы.

**Нейтрофилы** выделяют катионные белки, стимулируют высвобождение биогенных аминов из тромбоцитов и тучных клеток, содержат ингибитор высвобождения гистамина и гистаминазу. Протеазы нейтрофилов участвуют в образовании кининов и активных фрагментов комплемента (C3a, C3b). Нейтрофилы образуют простагландин E<sub>2</sub> и ряд эйкозаноидов. Ферменты нейтрофилов участвуют как в свертывании крови, так и фибринолизе.

**Макрофаги** экспрессируют ангиотензин-конвертазу, которая инактивирует брадикинин, превращает ангиотензин I в ангиотензин II. Они синтезируют простагландин E<sub>2</sub>, а также тромбоксаны и лейкотриены. Поскольку простагландин E<sub>2</sub> препятствует высвобождению клеточных медиаторов воспаления и подавляет агрегацию тромбоцитов, макрофаги, помимо провоспалительной, обладают и противовоспалительной функцией. Макрофаги синтезируют разные компоненты комплемента, а также протеины, обладающие свертывающей и фибринолитической активностью.

**Эозинофилы** – отрицательные модуляторы воспаления. Они содержат гистаминазу, кининазу, ферменты, расщепляющие лейкотриены C и D (лизофосфолипазу, арилсульфатазу B, фосфолипазу D), основной щелочной белок, осуществляющий цитотоксическую функцию и нейтрализующий гепарин. Таким образом, ферменты эозинофилов нейтрализуют секреторные продукты тучных клеток, способствуют уничтожению клеточных обломков. Эозинофилы фагоцитируют секретируемые тучными клетками гранулы и подавляют высвобождение гистамина. Присутствующие в эозинофилах лизофосфолипазы расщепляют частично деградированные фосфолипиды, содержащиеся в мембранах погибших клеток. Высвобождая из фосфолипидов свободные жирные кислоты, лизофосфолипаза способствует увеличению внутриклеточного количества арахидоновой кислоты, используемой для синтеза простагландинов и лейкотриенов.

**Тучные клетки и базофилы** секретируют гистамин, серотонин, гепарин, факторы хемотаксиса нейтрофилов и эозинофилов, фактор активации тромбоцитов, протеолитические ферменты, протеазу, превращающую кининоген в кинин, а также пероксидазу, супероксид-анион и пероксид водорода.

**Тромбоциты** секретируют факторы роста и свертывания крови, вазоактивные амины и липидные медиаторы, нейтральные и

кислые гидролазы.

**Производные комплемента** – наиболее важные из гуморальных медиаторов воспаления. Среди почти 20 разных белков, образующихся при активации комплемента, непосредственное отношение к воспалению имеют его фрагменты C5a, C3a, C3b и комплекс C5b-C9. Компоненты C5a и C3a – это медиаторы острого воспаления и анафилатоксины (т. е. стимуляторы высвобождения гистамина из тучных клеток); таким образом, они повышают проницаемость капилляров как прямо, так и опосредованно, через увеличение продукции гистамина. C5a и C3a образуются в плазме и тканевой жидкости под влиянием карбоксипептидазы, повышая проницаемость посткапиллярных венул.

Один из основных клеточных медиаторов воспаления – **гистамин**. Он содержится в гранулах тканевых базофилов (тучные клетки) в комплексе с гепарином и химазой в неактивной форме. В свободном состоянии он вызывает дилатацию мелких сосудов (капилляры, венулы), увеличивает проницаемость сосудистой стенки. В малых дозах гистамин расширяет артериолы, в больших дозах суживает венулы. Выброс гистамина осуществляется вместе с выбросом всех или части гранул тканевых базофилов при их дегрануляции. Этому может способствовать воздействие тепла, ионизирующего или ультрафиолетового излучения, растворов солей, кислот, белков, синтетических полимеров и мономеров, поверхностно-активных веществ. Дегрануляция всегда наблюдается при иммунных реакциях, т. е. при воздействии антигена с антителом на поверхности тканевых базофилов.

Другой клеточный медиатор воспаления – **серотонин**. У человека он содержится в тромбоцитах, хромаффинных клетках слизистой оболочки кишечника, а также в некоторых нервных структурах. Внеклеточный серотонин вызывает повышение проницаемости сосудов.

Роль **гепарина** при воспалении заключается в том, что он препятствует образованию фибрина на эндотелии капилляров, способствует увеличению проницаемости их стенки.

**Цитокины** при воспалении продуцируются главным образом стимулированными моноцитами и макрофагами (монокины), а также нейтрофилами, лимфоцитами, эндотелиальными и другими клетками. Провоспалительные цитокины повышают сосудистую

проницаемость, адгезию и эмиграцию лейкоцитов. Наряду с провоспалительными свойствами цитокины важны и для непосредственной защиты организма, поскольку стимулируют фагоцитоз с участием нейтрофилов и моноцитов. Стимулируя раневое очищение, пролиферацию и дифференцировку клеток, цитокины усиливают репаративные процессы. Наряду с этим они могут регулировать интенсивность и степень тканевой деструкции (деградацию хрящевого матрикса и резорбцию кости) и таким образом играть роль в патогенезе заболеваний соединительной ткани, в частности ревматоидного артрита. Действие цитокинов вызывает также ряд метаболических эффектов, лежащих в основе общих проявлений воспаления – лихорадки, сонливости, анорексии, изменения обмена веществ, а также стимуляции гепатоцитов к усиленному синтезу белков острой фазы, активации системы крови и т. д. Цитокины взаимодействуют между собой, с простагландинами, нейропептидами и другими медиаторами.

К медиаторам воспаления относится также ряд *лимфокинов* – полипептидов, продуцируемых стимулированными лимфоцитами. Лимфокины координируют взаимодействие нейтрофилов, макрофагов и лимфоцитов, регулируя воспалительную реакцию в целом. Описано более десяти разных лимфокинов. При воспалении наибольшее значение имеют три из них: фактор, угнетающий эмиграцию макрофагов; фактор, активирующий макрофаги; фактор хемотаксиса.

В лейкоцитах и тромбоцитах образуется еще одна группа веществ, играющих важную роль в динамике воспаления. Это простагландины. Источником их образования служат фосфолипиды клеточных мембран. Нарушение строго упорядоченной структуры фосфолипидов в мембране делает их доступными действию фосфолипазы  $A_2$ , в результате чего отщепляется арахидоновая кислота. С нее начинается каскад химических реакций, идущих в двух направлениях. Если на арахидоновую кислоту действует фермент циклооксигеназа, в итоге образуются простагландины ( $PGE_2$ ,  $PGF_2$ ) или простациклины, если же свою активность проявляет прежде всего липооксигеназа, получают лейкотриены. Дальнейшее превращение простагландинов происходит под влиянием тромбоксансинтетазы, в результате чего образуется тромбоксан А. Последний способствует сужению сосудов, агрегации тромбоцитов, тромбозу, отеку и развитию болевого синдрома.

Другой путь биосинтеза простагландинов заключается в том, что под влиянием простаглицлинсинтетазы образуется простаглицлин (PGI<sub>2</sub>). Этот процесс происходит в эндотелиоцитах, где локализуется данный фермент. Простаглицлин оказывает действие, противоположное тромбосану: расширяет сосуды и подавляет агрегацию тромбоцитов. Таким образом, арахидоновая кислота – предшественник соединений с противоположными эффектами, причем выбор одного из путей биосинтеза, по-видимому, связан с состоянием эндотелия. В неповрежденных эндотелиальных клетках содержится достаточно простаглицлинсинтетазы и образуется простаглицлин. Если же эндотелий поврежден, следствием чего является дефицит фермента, будет образовываться больше тромбосана 2. Арахидоновый каскад представляет интерес еще и потому, что в ходе его образуются свободные радикалы, которые могут повреждать клеточные мембраны, в том числе и лизосом.

Лейкотриены оказывают хемотаксическое и хемокинетическое (нецеленаправленное движение) действие, повышают проницаемость сосудов, вызывают сокращение гладких мышц, индуцируют образование тромбосанов.

Модуляторами воспаления являются циклические нуклеотиды. Циклические нуклеотиды амплифицируют эффекты других медиаторов, стимулируют выделение клетками лизосомальных ферментов. Для клеток иммунной системы характерно противоположно направленное действие цАМФ и цГМФ. Так, первый подавляет выделение гистамина и лизосомальных ферментов, второй, наоборот, способствует этому.

Кинин-калликреиновая система – группа белков крови, играющих важную роль в воспалении, контроле артериального давления, коагуляции и возникновении болевых ощущений. Важнейшие компоненты данной системы – брадикинин и каллидин.

Кинин-калликреиновая система состоит из группы высокомолекулярных белков, небольших полипептидов, а также набора ферментов, активирующих и деактивирующих компоненты системы. Калликреины – сериновые протеазы, катализирующие образование кининов из кининогенов. Из прекалликреинов получают калликреины, из кининогенов под действием калликреинов образуются биологически активные пептиды –

кинины, например брадикинин, обладающий сосудорасширяющим действием и понижающий кровяное давление.

Кинин-калликреиновая система участвует в регуляции активности каскадных протеолитических систем плазмы крови: кининогенеза, гемокоагуляции, фибринолиза, комплемента и ренин-ангиотензиновой системы, обеспечивая процессы адаптации и защиты организма. Кинин-калликреиновая система тканей контролирует разные стадии морфогенеза клеток некоторых тканей, реакции иммунного ответа, развитие воспаления, шока разной этиологии, тромбозов, геморрагий, злокачественных новообразований и других патологических состояний.

О существовании кинин-калликреиновой системы было объявлено в 1949 г., когда на Международном конгрессе физиологов в Копенгагене бразильские ученые Роха и Сильва сообщили о новом высокоактивном гипотензивном веществе, которое назвали брадикинин (основной кинин крови). В настоящее время кинин-калликреиновую систему относят к числу наиболее интенсивно изучаемых гуморальных протеолитических систем организма.

Одна из причин интереса к этой системе – ее полифункциональность вследствие особых свойств калликреина и образование этим ферментом семейства высокоактивных пептидов (кининов), обладающих огромным спектром биологического действия.

Универсальность кинин-калликреиновой системы обусловлена ее тесной связью и общностью компонентов с четырьмя важнейшими гуморальными протеолитическими системами: свертывания, фибринолитической, ренин-ангиотензиновой и системой комплемента. Биохимическим посредником этих систем выступает калликреин. Калликреин – ключевой компонент кинин-калликреиновой системы, адаптоген, повышает резистентность к стрессорным воздействиям. Прекалликреин и калликреин обеспечивают образование брадикинина, который играет важную роль в регуляции гемостаза, водного и электролитного баланса, сокращение гладкой мускулатуры и вазодилатации. Брадикинин является медиатором воспаления и участвует в воспалительном и аллергическом каскадах: активизирует сосудистую проницаемость и активность нейтрофилов, способствует дегрануляции тучных клеток с высвобождением гистамина, стимулирует синтез и

освобождение простагландинов и фактора некроза опухолей (ФНО $\alpha$ ), высвобождает ряд интерлейкинов, способствует процессам репарации, обладает инсулиноподобным действием, стимулируя захват глюкозы периферическими тканями; модулирует передачу нервных импульсов в ЦНС и периферической нервной системе, изменяет состояние гематоэнцефалического барьера.

Активация кинин-калликреиновой системы – универсальная реакция на повреждение, в том числе и структурной дезорганизации клеточных мембран вследствие активации перекисного окисления липидов.

Сывороточные ингибиторы основных протеолитических ферментов крови – тромбина, калликреина, плазмина, не являются строго специфическими, отличаются полифункциональностью и взаимозаменяемостью, при этом они тормозят активность ферментов в разной степени.

Вазоактивные полипептиды образуются в результате каскада биохимических реакций, начинающихся с активации фактора Хагемана. Соприкосновение с поврежденной поверхностью или изменение внутренней среды (температура, pH) приводит к тому, что этот фактор становится активным и действует на находящийся в плазме прекалликреин, превращая его в калликреин. Последний в свою очередь влияет на  $\alpha_2$ -глобулины, отщепляя от них полипептидную цепочку, состоящую из 9 (брадикинин) или 10 аминокислотных остатков (каллидин). Плазменные кинины оказывают непосредственное влияние на тонус и проницаемость сосудистой стенки, вызывая расширение прекапиллярных артериол и увеличивая проницаемость стенки капилляров. Кроме того, они обуславливают типичные для воспаления зуд и боль. Медиаторы калликреин-кининовой системы при воспалении влияют на реологические свойства крови, т. е. на ее способность находиться в жидком и текучем состоянии. Активный фактор Хагемана может инициировать процессы кининообразования, гемокоагуляции и фибринолиза. Выпадение нитей фибрина и образование тромбов в зоне воспаления определенным образом связано с состоянием калликреин-кининовой системы.

К гуморальным медиаторам воспаления относятся компоненты *комплемента*. Известно, что последний выступает важным защитным фактором организма, но вместе с этим он может

способствовать повреждению собственных тканей, что бывает при воспалении, особенно иммунном. Объясняется это тем, что из 9 компонентов комплемента 3 имеют непосредственное отношение к рассматриваемому процессу.

Таблица 9.2. – Медиаторы воспаления

Название	Оказываемое действие	Происхождение
<i>Клеточные медиаторы</i>		
Гистамин	Местное расширение сосудов, повышение их проницаемости, особенно венул	Гранулы тучных клеток
Серотонин	Спазм посткапиллярных венул, повышение проницаемости стенки сосудов	Тромбоциты, хромоаффинные клетки слизистой оболочки пищеварительного тракта
Лизосомальные ферменты	Вторичная альтерация, хемотаксис	Гранулоциты, тканевые базофилы, макрофаги
Катионные белки	Повышение проницаемости стенки сосудов	Нейтрофильные гранулоциты
<i>Продукты расщепления арахидоновой кислоты</i>		
Простагландины (PGE <sub>1</sub> )	Проницаемость сосудов, отек, хемотаксис	Арахидоновая кислота
Тромбоксан (TXA <sub>2</sub> )	Агрегация тромбоцитов, вазоконстрикция, свертывание крови	Тромбоциты
Простациклин (PGI <sub>2</sub> )	Дезагрегация тромбоцитов, расширение сосудов	Эндотелиоциты
Лейкотриены	Хемотаксис, сокращение гладких мышц, отек	Лейкоциты
<i>Гуморальные медиаторы</i>		
Кинины (брадикинин, каллидин)	Расширение капилляров, увеличение проницаемости, боль, зуд	$\alpha_2$ -глобулины крови
Система комплемента (компоненты C3a, C5a)	Хемотаксис, цитолиз	Плазма крови

Так, компонент C5 обладает способностью фиксироваться на сенсibiliзирoванных и несенсибилизирoванных антителами клетках и разрушать их мембраны. Фрагменты C3a и C5a, а также трехмолекулярный комплекс C567 вызывают хемотаксис лейкоцитов. Наконец, клетки, нагруженные фрагментами C3b, становятся объектом активного фагоцитоза.

Характеристика основных медиаторов воспаления приведена в таблице 9.2.

Вторая стадия воспаления – *экссудация*. Это выход жидкой части крови, электролитов, белков и клеток из сосудов в ткани. Стадия экссудации наступает вслед за повреждением тканей в ответ на действие клеточных, особенно гуморальных медиаторов воспаления, образующихся при активации кининовой, комплементарной и свертывающей системы крови. В динамике стадии экссудации различают 2 этапа: плазматическая экссудация и клеточная инфильтрация. Выход лейкоцитов (эмиграция) занимает в этом процессе особое место.

Плазматическая экссудация обусловлена первоначальным расширением сосудов микроциркуляторного русла, усилением притока крови к очагу воспаления, что приводит к повышению гидростатического давления в сосудах. Развивается оксигенация очага воспаления, в результате чего возникают следующие процессы:

- образование активных форм кислорода;
- приток гуморальных факторов защиты – комплемента, фибронектина, пропердина и др.;
- приток полиморфноядерных лейкоцитов, моноцитов, тромбоцитов и других клеток крови.

Клеточная инфильтрация – поступление в зону воспаления разных клеток, прежде всего клеток крови, что связано с замедлением кровотока в венах и действием медиаторов воспаления. При этом развиваются следующие процессы:

- лейкоциты перемещаются на периферию осевого потока крови;
- катионы плазмы крови  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  снимают отрицательный заряд клеток эндотелия и лейкоцитов;
- лейкоциты прилипают к стенке сосуда (адгезия лейкоцитов);
- возникает краевое состояние лейкоцитов, т. е. остановка их

у стенки сосудов.

**Пролиферация и репарация.** На данной стадии постепенно прекращаются деструктивные процессы, которые сменяются созидательными изменениями. Это проявляется размножением клеток и возмещением возникшего ранее дефекта новообразованными клетками. Одновременно идет процесс активного погашения воспалительного процесса, что проявляется ингибированием ферментов, расщеплением и выведением токсических продуктов.

В эту стадию происходят следующие процессы:

- уменьшается объем воспаленной ткани;
- снижается интенсивность эмиграции форменных элементов крови;
- уменьшается количество лейкоцитов в зоне воспаления;
- очаг воспаления постепенно заполняют макрофаги гематогенного происхождения, которые выделяют интерлейкины – хемоаттрактанты для фибробластов и стимулирующие, кроме того, новообразование сосудов;
- в очаге воспаления происходит размножение фибробластов;
- скопление в очаге воспаления клеток иммунной системы – Т- и В-лимфоцитов, плазмоцитов;
- образование воспалительного инфильтрата – скопления указанных клеток при резком уменьшении жидкой части экссудата;
- активация анаболических процессов – интенсивности синтеза ДНК и РНК, основного вещества и фибриллярных структур соединительной ткани;
- «очищение» поля воспаления за счет активации гидролаз лизосом моноцитов, макрофагов, гистиоцитов и других клеток;
- пролиферация эндотелиоцитов сохранившихся сосудов и образование новых сосудов;
- формирование грануляционной ткани после ликвидации некротического детрита.

Активность клеток воспаления тормозится разными механизмами. Что касается ингибиторов, то здесь важную роль играет  $\alpha_2$ -макрोगлобулин. Этот белок – главный ингибитор кининообразующих ферментов крови и таким образом устраняет их влияние: расширение и повышение проницаемости сосудов. Кроме

того, он ингибирует большинство протеиназ из лейкоцитов (коллагеназу, эластазу) и тем самым предохраняет от разрушения элементы соединительной ткани.

В прекращении деструктивных явлений при воспалении важную роль играет устранение свободных радикалов. Внутри клеток свободные радикалы нейтрализует супероксиддисмутаза, во внеклеточной среде – церулоплазмин. Изменяются взаимоотношения между клетками. Они перестают вырабатывать одни медиаторы и начинают синтезировать другие. Теперь на тот же медиатор клетка может дать совсем другой ответ, потому что на ее поверхности изменяется состав рецепторов.

### **Биохимические изменения при воспалении**

Вне зависимости от причин, приводящих к развитию воспаления, и без специального разделения по локализации его в отдельных тканях речь идет о последствиях повреждения клеток. Эти последствия заключаются в высвобождении соединений, ранее находящихся в клетках, в основном вещество соединительной ткани, где содержатся фибриллярные компоненты и практически все белки крови. Следствие этого – усиление микроциркуляции, которое обусловлено действием биогенных аминов и продуктов распада некоторых тканевых элементов. Один из первых процессов при этом – высвобождение гистамина и гепарина из гранул тучных клеток. Действие данных соединений проявляется уже через несколько секунд после нанесения повреждения, что подтверждает их предварительный синтез и депонирование. Гистамин приводит к вазодилатации и повышению проницаемости сосудистой стенки. Гепарин связывает основные белки, вышедшие из разрушенных клеток, которые оказывают негативное влияние на структуру клеточных мембран.

Вместе с указанными соединениями высвобождается и серотонин, также оказывающий влияние на сосуды. Одновременно происходит гидролитическое расщепление белков гидролазами, вышедшими из лизосом поврежденных или погибших клеток. Из  $\alpha_2$ -глобулинов крови образуются кинины, которые пролонгируют повышенную проницаемость сосудов. Гистамин и серотонин сравнительно быстро инактивируются и поэтому время их действия ограничено. Повышенная проницаемость капилляров

приводит к тому, что в очаг воспаления начинают выходить другие компоненты крови, прежде всего фибриноген и тромбоциты, а затем иммуноглобулины и компоненты комплемента. Фибриноген принимает участие в образовании фибрина, что, с одной стороны, приводит к ограничению очага воспаления, с другой – способствует агрегации тромбоцитов, полимеризации фибрина и возникновению тромбов. Следствие тромбоза – нарушения микроциркуляции с последующей гипоксией, что приводит к дальнейшим повреждениям клеток в очаге воспаления. Метаболический результат этого – изменение аэробного метаболизма клеток на анаэробный, повышенная выработка лактата и снижение значения рН. Тромбоциты активируются, взаимодействуя с молекулами коллагена, выделяют новые порции серотонина.

Из арахидоновой кислоты, образующейся при гидролизе фосфолипидов цитоплазматических мембран, синтезируются простагландины, которые в дальнейшем регулируют течение воспалительной реакции. Они повышают проницаемость стенок сосудов и чувствительность болевых рецепторов. При длительном течении воспалительного процесса макрофаги продуцируют простагландины, которые способны целенаправленно ингибировать синтез некоторых медиаторов.

Вместе с высокомолекулярными компонентами плазмы крови в очаг воспаления поступают вода, ионы, глюкоза и другие низкомолекулярные соединения. Вода обычно находится в динамическом равновесии с элементами соединительной ткани, ее перемещение происходит обычно быстро и всегда обратимо. При воспалении необходимо учитывать дезинтеграцию высокомолекулярных компонентов основного вещества соединительной ткани с повышением осмотического давления в этом пространстве и перемещением воды, приводящим к образованию воспалительного отека. Длительность существования отека зависит от устранения причин воспаления. В той или иной степени вода, накапливающаяся в очаге воспаления, уменьшает концентрацию соединений, обладающих повреждающим действием, и тем самым снижает интенсивность этого действия. Вместе с водой в очаг воспаления проникают белки, ингибиторы гидролаз, прежде всего это  $\alpha_1$ -антитрипсин и  $\alpha_2$ -макроглобулин. В плазме крови их количество при воспалении увеличивается.

Кроме ингибиторов протеаз, из плазмы в очаг воспаления выходят и молекулы иммуноглобулинов, которые обуславливают протекание в нем иммунных реакций. При микробных инфекциях, да и при других условиях, их эффект связан с действием комплемента, лизирующим чужеродные клетки.

Затем в очаг воспаления активно (хемотаксически) проникают нейтрофильные лейкоциты и макрофаги (для каждого из них существуют разные хемотаксические факторы). Порядок действия этих клеток определяется величиной рН очага воспаления. При низких значениях рН (в начале воспаления) преобладают нейтрофилы, а макрофаги приходят в зону воспаления только тогда, когда значения рН смещаются до нейтральных. Они синтезируют ферменты, разрушающие структуры, находящиеся в зоне воспаления (коллагеназа – коллаген, эластаза – эластин, гиалуронидаза – основное вещество соединительной ткани, активатор плазмина – фибрин и т. д.), и тем самым облегчают для себя подход к клеткам или их ферментам, которые должны быть фагоцитированы. Фагоцитоз и разрушение фагоцитированных структур – главные функции макрофагов. Они освобождают область воспаления от продуктов распада клеток, что является основной предпосылкой для развития следующей фазы воспаления – пролиферации.

При воспалении метаболизм изменяется не только в зоне повреждения, но и в других органах и тканях. В свою очередь общие изменения отражаются на течении воспалительного процесса в очаге. Главный орган, реагирующий на повреждение тканей с помощью производимых в нем на экспорт продуктов, это *печень*. Белки, синтезирующиеся в печени и выводящиеся в кровоток, определяют в известной степени течение воспалительного процесса (фибриноген, кинины, компоненты комплемента). Появление некоторых из них или изменение их содержания в кровотоке рассматривается как указание на наличие очага воспаления в организме. Это и обусловило их общее название – белки острой фазы (реактанты острой фазы).

## Белки острой фазы

Понятие «белки острой фазы» объединяет до 30 белков плазмы крови, так или иначе участвующих в совокупности реакции воспалительного ответа организма на повреждение. Белки острой фазы синтезируются в печени, их концентрация существенно изменяется и зависит от стадии, течения заболевания и массивности повреждения, что и определяет ценность этих тестов для клинической лабораторной диагностики.

Белки острой фазы – маркеры повреждения и воспаления. К ним относятся белки, представляющие разные функциональные системы:

1. Белки с иммуномодулирующими свойствами – С-реактивный белок (СРБ),  $\alpha_1$ -гликопротеин (орозомукоид).
2. Ингибиторы протеаз ( $\alpha_1$ -антитрипсин, антихимотрипсин).
3. Белки свертывания крови (фибриноген, фактор VIII).
4. Белки системы комплемента (С3, С4).
5. Транспортные белки (гаптоглобин, ферритин, церулоплазмин).

**С-реактивный белок.** В условиях нормы содержится в количестве, составляющем менее 0,01 г/л в плазме, мигрирует при электрофорезе с  $\beta$ -глобулинами. Концентрация С-реактивного белка во время воспаления быстро увеличивается в 20 и более раз, достигая максимума через 50 часов. С-реактивный белок синтезируется гепатоцитами.

**Кислый  $\alpha_1$ -гликопротеин** (орозомукоид) – один из главных компонентов мукопротеидной фракции крови. В физиологических условиях его концентрация в крови составляет 0,2-0,4 г/л. Эта концентрация быстро увеличивается (в течение нескольких часов после начала воспаления) и достигает максимума на 2-3 день. Кислый  $\alpha_1$ -гликопротеин синтезируется гепатоцитами, и на его повышенный синтез во время воспаления оказывает влияние альтерация ткани. Повышенное содержание этого белка в крови отмечается в течение всего времени повреждения, как бы длительно оно ни было. Пусковой механизм синтеза  $\alpha_1$ -гликопротеина на молекулярном уровне неизвестен. Разрушение его также происходит в печени путем отщепления концевой сиаловой кислоты. Биологическая функция этого белка не установлена, хотя экспериментально показана его способность в

зоне воспаления внесосудисто связываться с молекулами тропоколлагена и способствовать тем самым фибриллогенезу. На более поздних стадиях воспаления эту функцию принимают на себя гликопротеины, синтезируемые фибробластами.

**$\alpha_1$ -Антитрипсин.** Это  $\alpha_1$ -гликопротеин с молекулярной массой 50000 дальтон, содержащий 12% углеводов. Концентрация его в норме в плазме крови составляет 2-4 г/л, синтезируется гепатоцитами. При воспалительном процессе синтез быстро нарастает и достигает максимума за 2-3 дня. Главное свойство антитрипсина – способность ингибировать протеазы путем образования стехиометрических комплексов (1:1). Наиболее активен по отношению к трипсину, химотрипсину, плазмину, тромбину и протеазам, высвобождающимся при распаде лейкоцитов или чужеродных клеток. На его долю приходится около 88% всей антитрипсиновой активности крови.

С клинической точки зрения представляет интерес классификация белков острой фазы по степени увеличения их концентрации. По этому признаку выделяют:

1. Главные реактанты острой фазы – их концентрация увеличивается в 100-1000 раз в течение 6-12 часов:

- С-реактивный белок;
- амилоидный белок А сыворотки крови.

2. Умеренное увеличение концентрации (в 2-5 раз) в течение 24 часов:

- орозомукоид;
- $\alpha_1$ -антитрипсин;
- гаптоглобин;
- фибриноген.

3. Незначительное увеличение концентрации (на 20-60%) в течение 48 часов:

- церулоплазмин;
- компонент комплемента С3;
- компонент комплемента С4.

Белки острой фазы – это функционально разные белки, отличающиеся по своим антигенным свойствам. Общее свойство для всех белков острой фазы – их синтез гепатоцитами и сходная динамика их концентрации в крови. При этом динамика в определенной мере обратна изменениям концентрации альбумина.

Количественный анализ показал, что подъем концентрации реактантов острой фазы на ранней стадии воспаления соответствует снижению концентрации альбумина. Если количество реактантов острой фазы увеличивается, повышается и онкотическое давление плазмы, что приводит к снижению синтеза и количества альбумина в сыворотке в пропорциональных соотношениях.

### **Регуляция и контроль синтеза белков острой фазы**

Развитие острой фазы воспалительного ответа инициируется и регулируется целым рядом медиаторов, среди которых цитокины, анафилотоксины и глюкокортикоиды. Некоторые из них выделяются непосредственно в очаге воспаления активированными макрофагами, лимфоцитами и другими клетками, могут оказывать как местное, так и общее воздействие. Наиболее важные растворимые факторы, регулирующие синтез белков острой фазы в печени, показаны на рисунке 9.3. Условно их можно разделить на 4 группы:

1. ИЛ-6, сходные с ним по действию (ИЛ-1 $\beta$ , онкостатин М, др.).
2. ИЛ-1, сходные с ним по действию (ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1Р, факторы некроза опухолей ФНО-ОС и ФНО-Р).
3. Глюкокортикоиды.
4. Факторы роста, к числу которых относятся инсулин, факторы роста гепатоцитов, фибробластов, тромбоцитов.

Регуляция синтеза белков ОФ не универсальна. Это сложный многофакторный механизм, отдельный для каждого белка. Каждый из цитокинов выполняет уникальную, независимую функцию. В общих чертах можно представить, что цитокины действуют как первичные стимуляторы генной экспрессии, глюкокортикоиды и факторы роста являются модуляторами действия цитокинов.

Как правило, концентрация белков острой фазы увеличивается в течение первых 24-28 часов. Классически острая фаза длится несколько дней, что указывает на защитную, гомеостатическую природу этого важного ответа.



## Глава 10

### **БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КАНЦЕРОГЕНЕЗА**

Канцерогенез – это процесс развития опухолей любого типа. Он характеризуется бесконтрольным делением клеток, нарушением их дифференцировки, а также их морфологической, функциональной и биохимической нетипичностью. Клетки в результате этого процесса перестают адекватно реагировать на сигналы, регулирующие гомеостаз организма, и приобретают способность к автономному росту, инвазии в окружающие ткани и метастазированию. Метастазы – это новые очаги опухолевого процесса, которые образуются опухолевыми клетками, разносящимися по организму гематогенным или лимфогенным путем. Метастазирование – наиболее опасное свойство опухолевых клеток и признак злокачественности опухоли.

#### **Общая характеристика опухолевых клеток**

Опухолевые клетки характеризуются неконтролируемым и инвазивным ростом, а также способностью к метастазированию. Им свойственна также большая нестабильность генома, которая заключается в нестабильности хромосом и микросателлитов, вариациях числа копий генов.

Возникновение опухоли из отдельных клеток происходит благодаря некоторым свойствам трансформированных клеток. Они способны расти при низкой концентрации компонентов сыворотки крови, легко извлекать необходимые соединения из среды, переносить гипоксию, у них отсутствует контактное ингибирование роста. Они выделяют в среду ферменты, способствующие внедрению в ткани (например, катепсин С и активатор плазминогена), вырабатывают фактор, ускоряющий васкуляризацию. При изучении биохимических изменений в культивируемых клетках, подвергшихся злокачественному перерождению, был выявлен ряд биохимических особенностей раковых клеток.

#### **Биохимические особенности опухолевых клеток**

1. Активный синтез ДНК и РНК.
2. Увеличенная скорость гликолиза и наработки лактата.
3. Изменения мембранной проницаемости и поверхностного

заряда мембраны.

4. Изменения состава и структуры олигосахаридных цепей гликопротеинов и гликолипидов плазматической мембраны.

5. Повышение активности рибонуклеотидредуктазы и торможение катаболизма пиримидинов.

6. Повышенная активность теломеразы.

7. Секреция протеаз, коллагеназ и гликозидаз, разрушающих компоненты межклеточного матрикса и способствующих инвазии опухоли в соседние ткани.

8. Изменения спектра изоферментов в сторону фетальных форм, синтез фетальных белков (раково-эмбриональный антиген,  $\alpha$ -фетопротеин).

9. Утрата одних антигенов и появление новых.

10. Синтез и секреция ряда гормонов и ростовых факторов.

Изменение метаболизма опухолевых клеток – следствие нарушения в них регуляторных процессов, проявляется интенсивным клеточным делением и ростом. Это связано с ускорением синтеза нуклеиновых кислот и белков при одновременной утрате функций, свойственных исходной ткани.

### **Особенности углеводного обмена в опухолевых клетках**

Для опухолевых клеток более типичен гликолиз – расщепление глюкозы до лактата – даже в присутствии кислорода. Характерная для многих опухолей повышенная продукция лактата названа «эффектом Варбурга» в честь немецкого биохимика, обнаружившего это явление. Недостаток АТФ, связанный с нарушением окислительного декарбоксилирования пирувата (превращения пирувата в ацетил-КоА), компенсируется ускорением распада глюкозы. Поэтому опухолевые клетки потребляют глюкозу во много раз активнее, чем нормальные. Причиной избыточной активации гликолиза и торможения аэробного распада глюкозы считают дефицит кофермента А и тиаминдифосфата, а также малое количество митохондрий в опухолевых клетках.

В опухолевых клетках существенно снижена скорость превращения фосфоенолпирувата в пируват. Фермент, катализирующий это превращение, существует в виде двух изоформ. Одна (тетрамерная, ПКМ1) имеет высокую каталитическую активность и конститутивно экспрессируется в

нормальных клетках. Другая (димерная, ПКМ2) малоактивна. Она характерна для опухолевых клеток. Низкая активность ПКМ2 и, соответственно, медленное превращение фосфоенолпирувата в пируват ведет к накоплению предшествующих субстратов. А они, в свою очередь, могут быть использованы для синтеза липидов, аминокислот, нуклеотидов, необходимых для активной пролиферации.

Опухолевые клетки, как правило, испытывают гипоксию, так как рост опухоли опережает рост питающих ее сосудов. Можно утверждать, что гликолиз в опухолевых клетках служит основным источником энергии. При этом общая продукция АТФ по сравнению со здоровой клеткой снижена. Более эффективным гликолиз становится благодаря действию индуцированного гипоксией транскрипционного фактора HIF-1. При недостатке кислорода этот фактор усиливает экспрессию большинства ферментов гликолиза и переносчиков глюкозы ГЛЮТ1 и ГЛЮТ3. Кроме того, HIF-1 усиливает рост опухоли за счет экспрессии ангиогенных факторов, стимулирующих рост сосудов.

Активация гликолиза сопровождается быстрым превращением глюкозы по пентозофосфатному пути, что дает повышенное количество рибозо-5-фосфата как ключевого продукта, необходимого для ускоренного синтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот, соответственно.

Содержание гликогена в опухолевых тканях падает, как и во всех быстро растущих тканях. Скорость глюконеогенеза отстает от скорости гликолиза. Однако она заметно выше, чем в нормальных клетках. Основные субстраты глюконеогенеза – гликогенные аминокислоты. Глюконеогенез из лактата как энергетически менее выгодный процесс протекает гораздо медленнее.

### **Особенности обмена нуклеиновых кислот и нуклеотидов в опухолевых клетках**

Одно из первых проявлений злокачественной трансформации клеток – экспрессия генов, кодирующих ключевые ферменты метаболизма нуклеиновых кислот. В результате активность анаболических процессов растет, катаболических – падает. Это и приводит к накоплению нуклеиновых кислот, сопровождающему злокачественный рост.

## Особенности белкового обмена в опухолевых клетках

Синтез белков в опухолевых клетках усиливается. Особенно это касается ядерных белков гистоновой и негистоновой природы. Предположительно, возможность ускоренного синтеза белков связана с нарушением транспортной функции мембран, проявляющимся их повышенной проницаемостью для ключевых субстратов синтеза белка. Опухолевые клетки, интенсивно синтезирующие белки, извлекают необходимые аминокислоты из крови, угнетая тем самым синтез белка в здоровых клетках. Это ведет к отрицательному азотистому балансу, быстрому снижению массы тела и развитию кахексии. Развитию кахексии способствуют также продуцируемые опухолевыми клетками пептиды, которые вызывают анорексию.

В белковом спектре сыворотки крови также происходит ряд изменений: снижается концентрация сывороточного альбумина, во фракциях  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ - и  $\beta$ -глобулинов повышается уровень гликопротеинов (в частности, за счет возрастания количества кислого  $\alpha_1$ -гликопротеина,  $\alpha_1$ -антитрипсина, церулоплазмينا и трансферрина). Следует отметить, что содержание вышеназванных белков увеличивается и при воспалительных процессах. Появление этих индикаторов воспалительного процесса можно объяснить следующим образом:

- 1) компенсаторная реакция на рост уровня лизосомальных протеаз, высвобождающихся из опухолевых клеток при их распаде;
- 2) вокруг опухоли идет процесс воспалительной пролиферации, которая сопровождается ростом уровня  $\alpha_1$ -гликопротеинов, участвующих в формировании фибрилл коллагена.

Таким образом, изменения белкового спектра сыворотки крови, характерные для опухолевого роста, являются неспецифичными и представляют собой лишь реакцию на альтерацию клеток. Однако если удастся исключить наличие воспалительного процесса неопухолевого происхождения, эти сдвиги в белковом спектре сыворотки крови становятся важным диагностическим признаком опухолевого роста.

Процесс злокачественного роста сопровождается появлением белков, синтез которых обычно прекращается в процессе онтогенеза. К числу таких белков, определение которых может

использоваться в диагностике опухолей, относятся  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -фетопротеины, а также раковоэмбриональный антиген.

### Факторы риска развития опухоли

**Возраст.** Опухоль может развиваться в любом возрасте, однако считается, что наиболее часто это происходит у лиц старше 55 лет. Вместе с тем определенные виды рака, такие как ретинобластома, нейробластома, более характерны для детей младше 15 лет.

**Наследственность** играет важную роль в канцерогенезе. Ряд предраковых состояний наследуется. Например, предрасположенность к ретинобластоме наследуется как аутосомный доминантный признак, около 40% случаев этого заболевания – семейные, а нестабильность хромосомной ДНК, которая обусловлена дефектами систем репарации ДНК, может наследоваться как аутосомный рецессивный признак.

**Факторы окружающей среды.** Статистика показывает, что около 80% случаев рака у человека вызваны влиянием факторов окружающей среды.

Таблица 10.1. – Факторы окружающей среды, способствующие развитию рака

Фактор	Пример
Образ жизни	Курение
Характер питания	Продукты могут быть загрязнены плесневыми грибами рода <i>Aspergillus</i> , которые продуцируют канцерогенный афлатоксин В <sub>1</sub>
Производственные факторы	Асбест, бензпирен, нафтиламины, бериллий
Ятрогенные факторы	Ряд лекарственных препаратов (алкилирующие агенты, антибиотики) взаимодействуют с ДНК и могут проявлять канцерогенные эффекты
Заболевания, увеличивающие риск развития опухолей	Цирроз печени, язвенный колит, лейкоплакия

В числе таких факторов – стиль жизни, особенности питания, контакт с химическими веществами, прием определенных лекарственных препаратов, а также заболевания, увеличивающие риск развития опухолей (табл. 10.1).

Агенты, стимулирующие возникновение опухоли, называют канцерогенами. Их можно разделить на 3 основные группы: физические (излучения), химические и биологические.

### Физический канцерогенез

Канцерогенными могут быть разные типы излучений: ультрафиолетовое, рентгеновское и  $\gamma$ -излучение. Они способны повреждать ДНК как в результате прямого воздействия, так и опосредованно. Прямое воздействие излучений ведет к появлению в ДНК апуриновых и апиримидиновых участков, одно- и двухцепочечных разрывов или сшивок. Ультрафиолетовое облучение может приводить к образованию тиминовых димеров. Помимо прямых эффектов, рентгеновское и  $\gamma$ -излучение индуцирует образование в тканях свободных радикалов (супероксидного, гидроксильного и др.), которые в свою очередь способны воздействовать на ДНК и другие макромолекулы, вызывая повреждение клеток.

Корпускулярные излучения ( $\alpha$ -частицы, нейтроны) обладают более мощным канцерогенным действием, чем электромагнитные.

### Химический канцерогенез

Канцерогенным действием на организм человека обладает целый ряд веществ. Информация об основных группах химических канцерогенов представлена в таблице 10.2.

Таблица 10.2. – Основные химические канцерогены

Группа веществ	Представители группы
Полициклические ароматические углеводороды	<i>Бензопирен, диметилбензантрацен</i>
Ароматические амины	<i>2-Ацетиламинофлуорен, <math>\beta</math>-нафтиламин (анилин)</i>
Нитрозамины	<i>Диметилнитрозамин, диэтилнитрозамин</i>
Алкилирующие агенты	<i>Циклофосфамид, диэтилстильбэстрол</i>
Природные вещества	<i>Дактиномицин, афлатоксин В<sub>1</sub></i>
Неорганические вещества	<i>Хром, бериллий, свинец, кадмий</i>

Для первоначальной оценки канцерогенного потенциала химических веществ применяется тест Эймса, в котром в качестве тест-объекта используют бактерии *Salmonella typhimurim*.

Некоторые из химических канцерогенов (например алкилирующие агенты) способны напрямую вступать в реакции с ДНК. Однако большинство являются так называемыми **проканцерогенами** – соединениями, непосредственно не взаимодействующими с генетическим аппаратом клеток, которые уже в организме превращаются в канцерогенные вещества. Такое превращение называют метаболической активацией. Она происходит с участием ферментов микросомального окисления (разные виды цитохрома Р-450), которые в популяции человека достаточно полиморфны. Ряд изоформ этих ферментов имеют низкую активность, поэтому у некоторых индивидуумов проканцерогены медленно подвергаются превращениям и выводятся из организма, так и не успев превратиться в канцерогены. Этим объясняется разная чувствительность людей к канцерогенам.

Основная и наиболее важная мишень для химического канцерогенеза – молекула ДНК. Воздействие канцерогенов на клетку может иметь разные последствия (рис. 10.1).

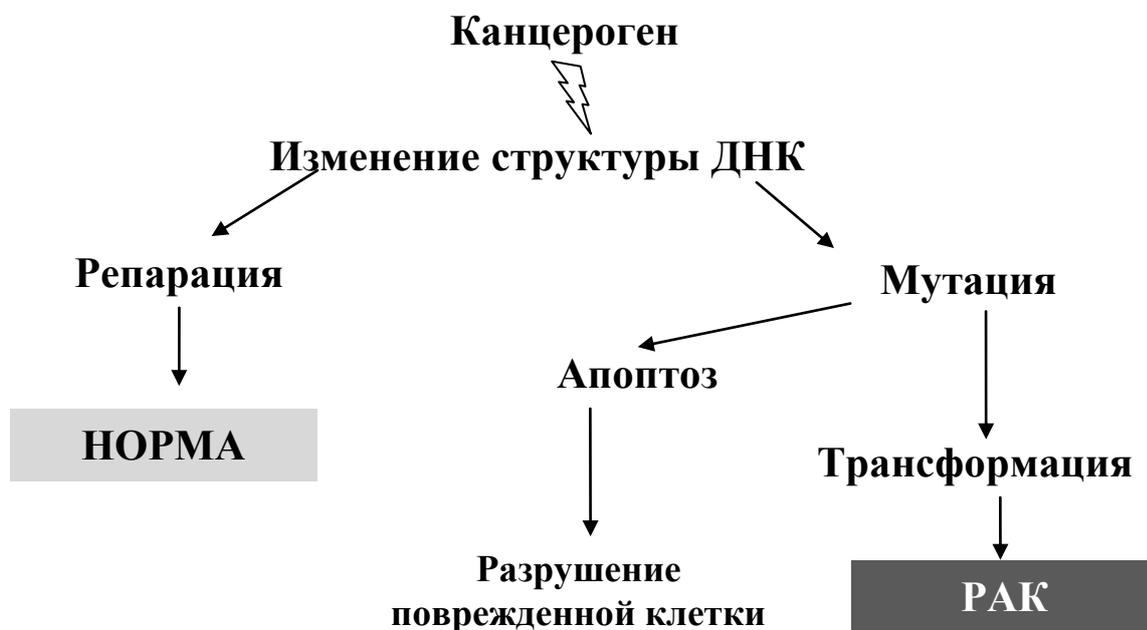


Рисунок 10.1. – Последствия воздействия канцерогенов на клетку

Особо опасны в плане последующей трансформации клеток изменения структуры ДНК в протоонкогенах и рецессивных онкогенах, поскольку продукты именно этих генов регулируют нормальный рост и дифференцировку клеток.

### Вирусный канцерогенез

Биологическими факторами, способствующими трансформации клеток, являются ДНК и РНК вирусов. Первоначально вирусный канцерогенез был описан только у птиц и животных, впоследствии получены и данные об участии вирусов в развитии ряда опухолей у человека. Сведения о некоторых онкогенных вирусах приведены в таблице 10.3.

Таблица 10.3. – Онкогенные вирусы

Род	Представители	Опухоль человека
<i>ДНК-содержащие вирусы</i>		
Паповавирус	Вирус папилломы человека, полиомы, SV 40	Рак кожи и гениталий
Аденовирус	Аденовирус 12, 18 и 31	–
Гепаднавирус	Вирус гепатита В	Карцинома печени
Герпесвирус	Вирус Эпштейна-Барр	Лимфома Беркитта
<i>РНК-содержащие вирусы</i>		
Ретровирус	Вирус Т-клеточной лейкемии человека I и II	Т-клеточная лейкемия и лимфома взрослых

**Механизм действия ДНК-содержащих вирусов** заключается в способности вирусной ДНК образовывать стабильные ассоциации с геномом клетки-хозяина. При этом интегрированный вирус не способен завершить свой репродуктивный цикл. На трансформацию клеток оказывают влияние те гены вируса, которые на ранних стадиях его жизненного цикла успели транскрибироваться. Эти гены производят специфические белки, которые воздействуют на ядро и нарушают нормальную регуляцию клеточного роста.

**РНК-содержащие вирусы.** Все онкогенные РНК-содержащие вирусы являются ретровирусами. Попадая в клетку человека, они синтезируют ДНК с помощью обратной транскриптазы, затем полностью или частично включают ее в геном хозяина в виде

латентного вируса (провируса). Ретровирусы делятся на быстро- и медленно трансформирующие. Первая группа содержит трансформирующие последовательности, которые называют вирусными онкогенами. Вторая группа таких последовательностей не содержит, а трансформацию вызывает по механизму инсерционного (вставочного) мутагенеза.

### **Основные механизмы канцерогенеза**

Существует несколько основных теорий, объясняющих патогенез рака.

*Мутационная теория* канцерогенеза, которая объясняет развитие опухолевого процесса как следствие мутации. Канцерогенные вещества и излучения вызывают мутационный процесс – изменяется геном, изменяется структура клеток, идет малигнизация.

*Эпигеномная теория* канцерогенеза. Наследственные структуры не изменяются, но нарушается функционирование генома. В основе эпигеномного механизма лежит дерепрессия неактивных генов и депрессия активных генов. Основой опухолевого процесса по этой теории является дерепрессия дремлющих генов.

*Вирусная теория.* Вирусы длительно могут персистировать в клетках, находясь в латентном состоянии. Под действием канцерогенов, физических факторов происходит их активация. Вирус встраивается в клеточный геном, внося дополнительную информацию в клетку, вызывая нарушение генома и нарушение жизнедеятельности клетки.

### **Концепция онкогенов**

Все эти теории легли в основу современной концепции онкогенов. **Онкогенами** называют гены, которые способствуют развитию опухолевого процесса. По происхождению выделяют вирусные и клеточные онкогены. Онкогены – это структурные гены, кодирующие белки. В норме они неактивны, репрессированы, поэтому их называют **протоонкогенами**. При определенных условиях происходит активация (экспрессия) онкогенов, синтезируются онкобелки, которые осуществляют процесс превращения нормальной клетки в опухолевую.

К протоонкогенам относятся гены, кодирующие белки, которые играют центральную роль в регуляции роста и развития организма (факторы роста, их рецепторы, транскрипционные факторы и белки, участвующие в трансдукции сигналов, тирозинкиназы, регуляторы клеточного цикла или апоптоза). Обозначаются онкогены кодом из трех строчных латинских букв, за которым может следовать буква или цифра (*ras*, *erbA*, *bcl 1*). Для обозначения вирусных онкогенов перед названием добавляют букву *v* (*v-onc*), для клеточных – *c* (*c-onc*).

К настоящему времени известны как минимум пять механизмов, ведущих к нарушению структуры и экспрессии протоонкогенов и превращающих их в онкогены, которые и вызывают перерождение клеток.

### **Механизмы активации онкогенов**

**Точечная мутация.** Протоонкоген может превратиться в онкоген в результате замены только одной пары нуклеотидов в ДНК, что в итоге ведет к замене аминокислоты в кодируемом белке и изменению свойств этого белка.

**Амплификация генов** представляет собой множественные повторы участков генетического материала. В этом случае увеличение количества онкобелков способствует превращению опухолевой клетки в злокачественную.

**Инсерция (вставка) промотора.** кДНК некоторых ретровирусов, встраиваясь в геном хозяина, способна действовать как промотор и запускать транскрипцию онкогена.

**Инсерция энхансера.** При реализации данного механизма кДНК вируса встраивается за геном и может действовать как энхансер – регуляторный элемент, вызывающий активацию вышерасположенного онкогена и его транскрипцию.

**Транслокации** – один из видов хромосомных мутаций, при которых части одной хромосомы перемещаются на другую. Такое перемещение ведет к активации онкогенов.

Более половины онкогенов кодируют тирозиновые протеинкиназы. Эти ферменты катализируют перенос фосфатной группы на остатки тирозина в молекуле белка. Остальные несут информацию об укороченном факторе роста тромбоцитов, укороченном эпидермальном факторе роста и его рецепторе, ДНК-связывающих, ГТФ-связывающих и ряде других регуляторных

белков. Надо сказать, что некоторые белки организма также проявляют активность тирозинкиназ, но она очень низкая. Соответственно, и количество фосфотирозина в нормальных клетках очень малое (не более 1% от всех фосфорилированных аминокислот). При опухолевом перерождении ткани активность тирозинкиназ существенно возрастает, количество фосфотирозина в составе белков заметно увеличивается.

Наряду с онкогенами существует и другой класс генов – антипролиферативные гены (или *гены-супрессоры опухолей*). Такими генами являются *rb1*, *p53*, *p21*, *p16* и ряд других. Их функция заключается в подавлении клеточной пролиферации, механизм их действия пока недостаточно ясен. Известно, что продукты данных генов – это ядерные белки, поэтому могут действовать как репрессоры синтеза ДНК и таким образом влиять на экспрессию других генов. Мутации, происходящие в генах-супрессорах опухолей, ведут к неконтролируемой пролиферации клеток.

По функциям гены-супрессоры делятся на «привратников» и «попечителей». Белковые продукты генов-«привратников» контролируют клеточную пролиферацию, регулируют клеточный цикл и апоптоз. Гены-«попечители» несут информацию о белках, которые сохраняют интеграцию генома (участвуют в распознавании и исправлении повреждений ДНК, поддерживают целостность хромосом во время деления).

### **Апоптоз, его биологическая роль и механизмы**

Апоптоз, или запрограммированная гибель клетки, – это механизм, запускающий суицидальную гибель клетки с одновременным уменьшением количества сигналов, обеспечивающих ее выживание. Апоптоз запускается либо в том случае, когда клетка не должна работать в организме человека, либо, когда она становится опасной для его здоровья. Развитие апоптоза могут стимулировать как внутренние, так и внешние факторы: активация специфических рецепторов, рентгеновское излучение, химиотерапевтические препараты, снижение концентрации факторов роста. Во всех случаях программа апоптоза в клетке включается вследствие двух основных причин:

- 1) неудовлетворительное состояние самой клетки;

2) негативная внеклеточная сигнализация, передающаяся через специальные рецепторы.

Важную роль в развитии апоптоза играют *каспазы*, или цистеинзависимые аспартат-специфичные протеазы. В зависимости от функциональной нагрузки они классифицируются на *инициаторы и эффекторы апоптоза*. Каспазы-активаторы апоптоза стимулируют процессы аутокатализа, чем обеспечивают связь между сигналами гибели клетки и каспазной активацией. Каспазы-эффекторы апоптоза активируют протеазный каскад и являются пусковыми стимулами для каспаз-инициаторов апоптоза. Каспазы-эффекторы вовлечены в процессы разрушения клеточных субстратов. Активации каспаз препятствует группа *ингибиторов белков апоптоза*.

Нарушение механизмов апоптоза может вести к возникновению рака. Кроме того, опухолевые клетки обладают способностью избегать запрограммированной гибели, продолжая рост и деление. В целом механизмы ухода от апоптоза сводятся к мутациям, ведущим к потере функций проапоптотических белков либо к сверхэкспрессии антиапоптотических генов.

### **Биохимическая диагностика рака**

В конце XIX века в моче пациентов со множественной миеломой были обнаружены специфические белки, получившие название «белки Бенс-Джонса», спустя 80 лет в крови пациентов с гепатомой был открыт  $\alpha$ -фетопротеин. Эти исследования положили начало изучению факторов, ассоциированных с ростом злокачественных опухолей, и привели к обнаружению целого ряда соединений, получивших название «опухолевые маркеры». К онкомаркерам относят вещества разной природы: антигены, гормоны, ферменты, гликопротеины, липиды, белки, метаболиты, концентрация которых коррелирует с массой опухоли, ее пролиферативной активностью, а в некоторых случаях – со степенью злокачественности новообразования. Их определение используют для диагностики опухолей. Здесь надо отметить, что существенное повышение концентрации отдельных маркеров может встречаться и при разных незлокачественных состояниях. Этот факт означает, что определение большинства онкомаркеров не является ключевым и в диагностике рака. В основном определение онкомаркеров используют для оценки эффективности лечения и

выявления ранних рецидивов. Как и в отношении других лабораторных тестов, при интерпретации результатов измерения онкомаркеров необходимо учитывать всю клиническую картину.

В настоящее время анализ транскриптома и полногеномное секвенирование опухолевых клеток выявили много потенциальных онкомаркеров, которые могут найти применение в персонализированной медицине. Например, признаком инициации опухолевого процесса может служить микросателлитная нестабильность, связанная с нарушением системы репарации ДНК.

## Глава 11

### ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ

Клиническая биохимия – это раздел клинической лабораторной диагностики, основные цели которой – количественное и качественное определение биохимических показателей в организме, изучение характера изменений этих показателей при патологии и ряде физиологических состояний, а также разработка методов их определения.

Клиническая биохимия – важнейший раздел лабораторной диагностики наряду с клинической гематологией, иммунологией, клинической серологией и микробиологией, фармакокинетикой, клинической токсикологией.

Каждый из разделов обладает специфическим набором аналитического оборудования, включает сотни диагностических методов, многие из которых дают клиницисту возможность разобраться в вопросах как патогенеза патологического процесса, так и его этиологии. Наибольшим числом диагностических тестов, наибольшим объемом информации и перспективами развития располагает клиническая биохимия.

Клиническую биохимию можно охарактеризовать как биохимию на службе диагноза и лечения. Только за последнее десятилетие клиническая биохимия пополнилась несколькими сотнями новых диагностических исследований, включая цитокины, онкомаркеры, тесты оценки некротического процесса и апоптоза, факторы функционального межклеточного взаимодействия, ДНК-диагностику.

Клиническая лабораторная диагностика доминирует в постановке диагноза в эндокринологии, патологии паренхиматозных органов и миокарда, в гастроэнтерологии, токсикологии, при нарушениях иммунного статуса, оценке этиологии инфекционного процесса, диагностике и мониторинге состояния пациента в неотложных состояниях, в отделении реанимации и в блоке интенсивной терапии.

Высокая потребность в клинических лабораторных исследованиях является основой становления автоматизации лабораторного диагностического процесса. В современной

лаборатории задействованы биохимические, иммунологические, иммунохимические, микробиологические анализаторы. Большое распространение получили методы «сухой химии» (диагностические полоски и слайды), принцип полимеразной цепной реакции, технология микрочипов для ДНК-диагностики.

Клиническому биохимику обычно недоступны для анализа органы и ткани, в которых развивается патологический процесс, – он довольствуется исследованием жидкостей организма и по содержанию или структуре специфических молекул-маркеров, перешедших в эти жидкости, осуществляет диагностику заболевания.

Во многих случаях для диагностики патологического процесса необходимо проведение функциональных проб с одновременным выполнением биохимических исследований: тесты с нагрузкой глюкозой, функциональные тесты оценки детоксикационной функции печени, многократное взятие крови на исследование, многократный сбор мочи при проведении функциональных тестов почек. Особенно большие трудности возникают при взятии крови на исследование у пациентов в отделении реанимации и неотложной терапии. В этих ситуациях при централизации кровообращения единственный достоверный способ взятия крови на исследование – использование подключичного катетера.

Чаще всего биохимические лаборатории выполняют **«базовые»**, или **«основные», исследования** – наиболее часто затребуемые врачами тесты, диагностически значимые у многих пациентов. Распространены определенные комбинации биохимических исследований (мочевина и электролиты, тесты функции печени, газы крови).

Не каждая лаборатория оборудована для выполнения всех возможных биохимических тестов. Ряд специальных исследований для диагностики редких заболеваний может выполняться только в крупных лабораториях или диагностических центрах.

Еще одна группа биохимических исследований связана с необходимостью срочного принятия решения клиницистами в экстренных ситуациях – это так называемые **ургентные тесты**, или **тесты при неотложных состояниях** (табл. 11.1).

Таблица 11.1. – Спектр клинико-биохимических исследований

<b>Основные биохимические исследования</b>	
Натрий, калий, хлориды и бикарбонаты. Мочевина и креатинин. Кальций и фосфаты. Общий белок и альбумин. Билирубин и щелочная фосфатаза. Аланиновая трансаминаза (АЛТ) и аспарагиновая трансаминаза (АСТ). Тироксин (Т <sub>4</sub> ) и тиреотропный гормон (ТТГ). γ-глутамилтранспептидаза. Креатинкиназа. Н <sup>+</sup> , Р <sub>СО2</sub> и Р <sub>О2</sub> (газы крови). Глюкоза. Амилаза	
<b>Специальные исследования</b>	<b>Исследования при неотложных состояниях</b>
Гормоны. Специфические белки. Микроэлементы. Витамины. Лекарственные вещества. Липиды и липопротеины. Анализ ДНК	Мочевина и электролиты. Газы крови. Амилаза. Глюкоза. Салицилат. Парацетамол. Кальций

В настоящее время в биохимических лабораториях выполняется около 400 разных тестов: от очень простых (определение содержания натрия) до очень сложных (ДНК-анализ, скрининг лекарственных рецепторов, разделение липопротеиновых фракций).

Многие трудоемкие тесты выполняются с использованием автоматических и полуавтоматических биохимических анализаторов. В арсенале биохимических лабораторий находится широкий спектр коммерческих наборов реагентов для определения разных клинически значимых показателей.

### **Порядок проведения биохимических исследований**

Биохимическое исследование проводится с целью ответа на клинический вопрос, возникающий у врача в отношении пациента.

Проведение лабораторного обследования можно разделить на следующие этапы:

- назначение исследования;

- подготовка обследуемого лица;
- взятие материала;
- хранение и доставка его для исследования;
- регистрация анализа;
- выбор метода, подготовка, выполнение и оформление анализа;
- трактовка полученных результатов.

При заболевании наблюдаются изменения, вызванные как самим патологическим процессом, так и возникающими метаболическими перестройками организма. При этом может происходить увеличение или уменьшение содержания веществ, повышение или снижение активности ферментов, появление метаболитов или аномальных форм, не встречающихся у здорового человека, неадекватная реакция на нагрузку определенными веществами и др.

Для разных патологических состояний (кроме генетически обусловленных) биохимические сдвиги не являются строго специфическими, и поэтому учитываются главным образом такие критерии, как «больше-меньше», «продолжительнее-быстрее», «наличие-отсутствие» органоспецифических показателей, изоферментов и т. п. По сути дела, оцениваются (по сравнению с показателями у здоровых людей) степень и время возникновения в организме изменения уровня того или иного показателя, продолжительность развившихся нарушений. Поэтому диагностическая чувствительность того или иного теста тем больше, чем адекватнее его выбор, чем больше различия между показателями у здоровых и больных людей, чем продолжительнее период изменений, отражающих динамику болезни. Обнаружение соответствующих изменений – цель биохимических исследований.

Правильно выбрать биохимический тест – значит, учесть совокупность анамнестических и клинических данных, которые могли бы ориентировать на предполагаемый диагноз, а в ходе дальнейших наблюдений позволили бы учитывать особенности динамики того или иного избранного показателя, связанного как с самим патологическим процессом, так и с особенностями пациента, возможным влиянием факторов, в том числе лекарственных препаратов.

## Взятие материала

Любой биологический материал для анализа должен быть взят по определенным правилам, с учетом суточных, месячных и других колебаний отдельных показателей. Должны четко соблюдаться условия его хранения и транспортировки.

В таблице 11.2 представлены биологические материалы, используемые для биохимических исследований.

Биохимическое исследование крови в клинике получило наиболее широкое распространение. Кровь – жидкая ткань, осуществляющая в организме интеграцию биохимических процессов, протекающих в разных клетках, в единую систему.

Таблица 11.2. – Образцы, используемые для биохимических исследований

Венозная кровь, сыворотка и плазма. Артериальная кровь. Капиллярная кровь
Моча. Кал
Цереброспинальная жидкость
Мокрота и слюна
Ткани и клетки
Аспираты, например: плевральная жидкость, асцитная жидкость, синовиальная жидкость, кишечное содержимое
Камни (почечные, желчные и т. д.)

Интегративная функция крови реализуется благодаря транспорту химических веществ между разными органами и тканями. Кроме интегративной функции кровь выполняет защитную, питательную, регуляторную, терморегуляторную и другие функции.

Химический состав крови отражает состояние обмена веществ в организме. Разные заболевания сопровождаются изменением содержания в крови тех или иных веществ.

Здоровый человек имеет постоянный биохимический состав крови. Содержание ее компонентов находится в определенных пределах (*референтные уровни*), характерных для человеческой

популяции. Постоянство биохимического состава крови поддерживается за счет регулярного поступления разных веществ из желудочно-кишечного тракта, через дыхательную систему, кожу, а также в результате непрерывно происходящего обмена веществ в организме при взаимодействии и взаимообусловленности функций разных органов и систем.

Для биохимических исследований, как правило, кровь берут путем венепункции. Связанное с этим эмоциональное влияние следует максимально исключить. Увеличение времени сдавливания сосудов жгутом вызывает локальный стаз и гипоксию, приводящие к изменению содержания ряда веществ: уменьшению концентрации сахара, увеличению лактата, аммиака, кальция, общего белка, белковых фракций и др. Продолжительное сдавливание или травма вены может вызывать повышение фибринолитической активности.

Величина многих биохимических показателей зависит от положения тела пациента во время взятия крови (стоя, лежа). Так, в зависимости от этого могут изменяться концентрация белка, содержание калия, кальция, альбумина, фосфора, холестерина, активность ферментов: АСТ, щелочной и кислой фосфатаз. Концентрация белка, содержание альдостерона в положении пациента лежа ниже, чем в положении стоя.

На результаты исследования многих показателей влияет гемолиз, возникающий вследствие неправильного взятия крови. При гемолизе в сыворотку (или плазму) крови выделяются разные вещества из разрушенных эритроцитов.

**Моча** – биологическая жидкость, вырабатываемая почками. С мочой из организма удаляются конечные продукты обмена веществ (шлаки), избыток воды и солей, токсические вещества, поступающие в организм извне или образующиеся в ходе метаболизма.

Образование и отделение мочи – составная часть поддержания гомеостаза организма.

Биохимический анализ мочи дает представление о функциональном состоянии почек, процессах обмена веществ в разных органах, о состоянии организма в целом, способствует выяснению характера патологического процесса, установлению патогенеза и прогноза заболевания, позволяет судить об эффективности проводимого лечения.

Результат исследования мочи в значительной степени зависит от того, как она собрана и в каком виде доставлена в лабораторию для анализа. Собирать мочу следует в тщательно вымытую посуду, доставлять в лабораторию в бутылках или склянках из бесцветного стекла с плоским дном. Необходимо объяснить пациентам, что перед сбором мочи на анализ как женщинам, так и мужчинам необходим тщательный туалет половых органов кипяченой водой для исключения попадания в мочу посторонних примесей.

### **Трактовка результатов**

Правильная интерпретация результатов исследования возможна только при достаточном знании особенностей биохимических сдвигов при разных состояниях организма и механизмов возникающих нарушений.

При трактовке полученных результатов необходимо учитывать ряд методологических моментов:

1. Химический состав крови и мочи отражает состояние обмена веществ организма человека. Подавляющее большинство заболеваний сопровождается изменениями в содержании отдельных веществ и ионов в крови и моче, других биологических жидкостях. Многовековой опыт медицины позволяет рассматривать кровь как зеркало обмена веществ.

2. Содержание каждого отдельного биохимического компонента в крови и моче отражает деятельность многих органов и систем, а также собственную функцию данной жидкости. В силу этого, оценивая полученные результаты, следует их рассматривать в свете одновременного воздействия многих, нередко конкурирующих друг с другом факторов, взвешивать их относительное влияние на определяемый биохимический компонент.

3. Содержание ряда веществ в крови и в моче подвержено ритмическим изменениям, отражающим периодические воздействия внешних и внутренних факторов (смена времени года, лунные месяцы, смена времени суток и т. д.). Это надо учитывать при интерпретации данных.

4. Биохимический состав крови, мочи, других биожидкостей, его изменения под влиянием стандартных нагрузок могут иметь индивидуальные колебания у отдельных людей, отражающие

влияние биологических факторов (гено- и фенотип, возраст, пол, суточные, месячные ритмы отдельных показателей), факторов социальных (особенности образа жизни, питания, трудовой деятельности; вредные привычки – курение, прием алкоголя) и факторов природных (климатические особенности географических зон – солнечная радиация, колебания температуры, влажность окружающей среды, вода).

5. При принятии решения об отклонении биохимического параметра от нормы следует ориентироваться не на средние показатели, а на справочные величины, получаемые с учетом влияния факторов, указанных в пп. 3 и 4.

6. Для получения достоверных результатов биохимических исследований необходимо обеспечить строгое соблюдение правил взятия образцов крови и мочи, правильного их хранения и транспортировки в лабораторию. Выполнение этих правил полностью зависит от клинического персонала, самого обследуемого и должно находиться под контролем врача.

7. Диагностическое значение результатов биохимического анализа зависит от степени связи исследуемых параметров с патологическим процессом. Поскольку содержание большинства биохимических компонентов крови, мочи, биожидкостей зависит не от одного, а от нескольких факторов, большая часть установленных в ходе исследований изменений должна рассматриваться с позиций вероятностного, многофакторного подхода. Должны учитываться величины диагностической чувствительности, специфичности, эффективности используемых биохимических тестов.

8. Никогда не следует забывать, что результаты биохимических исследований – это лишь часть сведений об исследуемом человеке. Учитывая высокую вариабельность физиологических и патологических процессов в клинической диагностике, никогда нельзя опираться только на данные биохимических параметров.

### **Вариабельность результатов исследований**

Биохимические измерения могут варьировать по двум причинам: аналитическим и биологическим.

*Аналитические вариации.* Достоверность полученных результатов определяется соблюдением ряда условий при

выполнении биохимических исследований. Ряд понятий обуславливают результаты биохимических определений:

- точность и аккуратность;
- чувствительность и специфичность;
- референтные уровни.

*Точность* – это воспроизводимость аналитического метода.

*Аккуратность* определяют как соответствие измеренных уровней реальным уровням.

*Чувствительность* определяется наименьшим количеством вещества, которое может быть идентифицировано.

*Специфичность* отражает способность метода определять исследуемое вещество при наличии потенциально похожих веществ.

***Референтные уровни.*** Аналитические причины вариабельности результатов исследований менее существенны, чем причины биологические. Результаты биохимических исследований обычно сравнивают с референтными уровнями показателей, характерными для здоровых людей. Референтные уровни – это пределы значений биохимических показателей, определенные на большой популяции здоровых людей. Исследуемые показатели у 95% населения находятся в пределах  $M \pm 2\sigma$  ( $M$  – среднее значение,  $\sigma$  – среднеквадратичное отклонение), и только у 5% здорового населения значение показателей может выходить за эти референтные пределы.

На практике жесткие разграничения биохимических показателей у здоровых и больных людей отсутствуют. Однако чем больше результат отличается от нижних или верхних пределов референтных уровней, тем больше вероятность наличия патологии.

Довольно часто возникает ситуация «перекрывания» показателей, характерных для состояния болезни и состояния здоровья.

Пациенты с ненормальными результатами, не обнаруживающие признаков заболевания, считаются ***ложнопозитивными***. Тестируемые, у которых определяются «нормальные» значения показателей, – ***ложнонегативными***.

**Биологические и другие факторы, влияющие на интерпретацию результатов исследований.** Результат лабораторного анализа – это итог ряда процессов, протекающих в организме пациента наряду с патологическим процессом. Этот результат зависит от потребляемой пищи, принимаемых лекарственных препаратов, лечебных и диагностических процедур, некоторых физиологических состояний. Каждый из этих факторов, в зависимости от силы его воздействия, способен повлиять на результат исследования вне связи с основным патологическим процессом. Поскольку эти факторы носят внелабораторный характер, учет их влияния на лабораторные результаты должен осуществлять клиницист. Некоторые из этих факторов имеют закономерный характер, влияние их легко обнаруживается и оценивается (суточные изменения содержания железа в крови, месячные изменения содержания эстрогенов у женщин в репродуктивном возрасте, изменения содержания глюкозы после приема пищи и т. п.) (рис. 11.1).

### **Биохимические исследования, проводимые вне лабораторий**

Методы определения и измерения некоторых биологических веществ в крови и моче стали такими простыми и доступными, что они могут выполняться вне лабораторий самими пациентами, врачами или медсестрами. Желание и необходимость получения быстрых результатов со стороны пациентов, ожидаемая коммерческая прибыль производителями – хорошие стимулы для разработки необходимого оборудования и наборов реагентов.

В таблице 11.4 приведены тесты с использованием образцов крови, выполняемые вне лабораторий. Наиболее частый из них – определение концентрации глюкозы в образце крови, полученной из пальца. Особенно это важно для пациентов с сахарным диабетом, нуждающихся в постоянном контроле за уровнем глюкозы. Промышленностью выпускаются соответствующие компактные приборы для взятия пробы и определения содержания глюкозы.



**Рисунок 11.1. – Непатологические факторы variability результатов лабораторных исследований**

**Таблица 11.4. – Исследования крови, выполняемые вне лабораторий**

Анализируемый показатель	Случаи применения
Газы крови.	Кислотно-основной статус.
Глюкоза.	Сахарный диабет.
Мочевина.	Болезни почек.
Креатинин.	Болезни почек.
Билирубин.	Желтуха новорожденных.
Холестерин.	Риск ИБС.
Лекарственные средства.	Переносимость и токсичность.
Салицилаты.	Диагностика отравления.
Парацетамол	Диагностика отравления

В таблице 11.5 приведены показатели, определяемые вне лабораторий при исследовании мочи. Многие используемые тест-системы – полуколичественные; чаще всего выполнены в виде бумажных полосок, на которые наносится небольшое количество свежей мочи. Результат обычно оценивается спустя определенное время сравнением полученного результата (изменение или появление окраски) со стандартной шкалой, находящейся на контейнере с тест-полосками.

Таблица 11.5. – Исследования мочи, выполняемые вне лабораторий

Анализируемый показатель	Случаи применения
Кетоны.	Диабетический кетоацидоз.
Белок.	Болезни почек.
Эритроциты/гемоглобин.	Болезни почек.
Билирубин.	Болезни печени, желтуха.
Уробилиноген.	Желтуха/гемолиз.
рН.	Почечный тубулярный ацидоз.
Глюкоза.	Сахарный диабет.
Хорионический гонадотропин	Тест на беременность

Оценка порой разрозненной диагностической лабораторной информации, ее обобщение и формирование диагноза – основа диагностического процесса в клинико-диагностической лаборатории. В настоящее время совершенствование диагностического процесса проходит путем внедрения в диагностический процесс большего числа количественных показателей при доминировании в технологии лабораторной диагностики спектрофотометрии, электрофореза и хроматографии, иммунохимии и ионоселективного анализа. Интегрирование же полученной информации проводит клинический патолог, руководствуясь при этом общими принципами патологии.

## Глава 12

### ОТДЕЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПАТОНЕЙРОХИМИИ

#### Болезнь Альцгеймера

Болезнь Альцгеймера – наиболее распространенная форма деменции, нейродегенеративное заболевание, характеризующееся распадом высших корковых функций и ведущее к слабоумию в результате диффузной атрофии головного мозга.

Болезнь Альцгеймера (БА) – наиболее часто встречающимся в мире нейродегенеративное заболевание: по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) на 2016 г., в мире зарегистрировано около 31 млн пожилых людей, страдающих БА. БА – наиболее частая причина деградации когнитивной функции (деменции), поэтому у пациентов наблюдаются полная или частичная потеря памяти, нарушение способности ориентироваться в пространстве, снижение функциональности речевого аппарата и способности запоминать и анализировать информацию.

Болезнь Альцгеймера представляет собой прогрессирующее нейродегенеративное заболевание с характерными клиническими и патоморфологическими признаками, каждый случай которого имеет свои особенности течения и степень выраженности симптомов. Впервые описано баварским психиатром Алоисом Альцгеймером в 1907 г. Речь шла о пациенте, заболевшем в возрасте 51 года – возникло глубокое расстройство памяти на недавние события. В дальнейшем наблюдались нарушения ориентировки в пространстве, речевые расстройства и нарастающая утрата навыков. Постепенно развивалось тотальное слабоумие, через 4,5 года наступила смерть.

При вскрытии наблюдалась резко выраженная атрофия мозга – уменьшение его массы. Кроме того, в мозге обнаружили аномальные образования – скопления аморфного материала, получившие название сенильных бляшек, и нейрофибриллярные клубки.

Вероятность развития данной болезни увеличивается с возрастом. Поэтому параллельно с улучшением состояния здоровья населения и с увеличением числа пожилых людей растет и число тех, у кого может возникнуть БА.

На сегодняшний день диагностика БА, опека и уход за пациентами обходится США более чем в 80 млрд долларов в год. И нет никакого лечения, которое бы остановило развитие болезни. Если в ближайшее время процент людей старше 70 лет удвоится – примерно с 10 до 20%, то число заболевших БА в США может достичь нескольких млн человек.

Средний возраст начала заболевания 53-56 лет. Средняя продолжительность болезни 9 лет. Женщины заболевают чаще в 3-5 раз.

Центральные проявления в клинике БА – прогрессирующие нарушения памяти, расстройства ориентировки в пространстве при сохранении сознания своей психической несостоятельности. Постепенно наступает полная психическая дезориентировка, причем аутопсихическая дезориентировка может достигнуть степени неузнавания собственного изображения в зеркале.

Этиология заболевания до сих пор до конца не изучена. Существует большое количество гипотез развития БА, наиболее распространенные из которых – амилоидная гипотеза и теория патогенеза с участием  $\tau$ -протеина. Накопление токсичного амилоидного пептида A $\beta$ 42 преимущественно в ткани гиппокампа вызывает формирование сенильных бляшек, нарушающих межнейронные взаимодействия. Теория патогенеза БА с участием  $\tau$ -протеина заключается в том, что гиперфосфорилированный  $\tau$ -белок формирует фибриллярные клубки внутри нейронов, что вызывает дезинтеграцию микротрубочек и нарушение аксонального транспорта. По данным некоторых исследователей, наличие у пациента нескольких факторов риска (ожирение, дислипидемия, гипертензия, резистентность к инсулину, черепно-мозговая травма и др.) может повышать вероятность развития БА.

При морфологическом изучении мозга пациентов с БА выявлены диффузно разбросанные мелкие очаги, являющиеся результатом накопления специфической субстанции., которую называют амилоидным  $\beta$ -белком. Отложения амилоида называют еще амилоидными, или сенильными, бляшками. Сенильная бляшка – это сложное, медленно образующееся соединение, для ее полного формирования нужны годы или даже десятилетия. Зрелая бляшка содержит сердцевину, состоящую из амилоидного  $\beta$ -белка, и окружающие ее аномальные отростки нейронов с измененными глиальными клетками. В центре бляшки обычно находятся

микроглиальные клетки, которые играют роль «мусорщиков» и способны реагировать на воспаление или разрушение нервной ткани. Во внешней части бляшки располагаются реактивные астроциты, которые часто присутствуют в поврежденных участках мозга.

Наряду с сенильными бляшками, ткань мозга при БА характеризуется варьирующим числом нейрофибриллярных клубков – плотных пучков аномальных белковых волокон в цитоплазме некоторых нейронов. Эти волокна представляют собой парные спиральные филаменты, состоящие не из амилоидного  $\beta$ -белка, а из модифицированной формы нормального белка нейронов.

Надо отметить, что амилоидные отложения и нейрофибриллярные клубки характерны не только для БА, но могут встречаться и при других хронических заболеваниях мозга человека. У большинства людей к 80 годам образуется хотя бы несколько сенильных бляшек и нейрофибриллярных клубков, особенно в гиппокампе и других областях мозга, важных для памяти. Большей частью разница между нормальным старением мозга и БА скорее количественная, чем качественная.

Непременный симптом БА – большое количество амилоидных бляшек в тех отделах мозга, которые важны для умственной деятельности.

Амилоидный  $\beta$ -белок – всего лишь небольшой фрагмент (40 аминокислот) белка, состоящего из 695 аминокислот, который называют предшественником амилоидного  $\beta$ -белка. Этот белок-предшественник кодируется геном, расположенным у человека в хромосоме 21.

$\beta$ -фрагмент занимает с 597 по 636-е аминокислотные остатки в белке-предшественнике, причем 28 его аминокислотных остатков расположены снаружи от поверхности клеточной мембраны, а первые 12 аминокислот – в ее толще. В связи с этим возникает вопрос – каким образом фрагмент белка-предшественника, который в норме прочно прикрепляет молекулу белка к клеточной мембране, появляется во внеклеточном пространстве в виде отложений амилоида? Как ферменты, расщепляющие белок-предшественник, получают доступ к его трансмембранной части?

Характерным фактом оказалось и то, что ген, кодирующий первичную структуру белка-предшественника, расположен в

хромосоме 21. После этого стало понятно, почему у пациентов с синдромом Дауна, имеющих дополнительную копию хромосомы 21, обычно развиваются амилоидные отложения в относительно раннем возрасте.

Считают, что синдром, называемый БА, существует в разных формах и причиной его могут быть различные генетические нарушения – мутации в гене белка-предшественника амилоидного  $\beta$ -белка. Они проявляются через общий механизм, который включает усиленное отложение амилоидного  $\beta$ -белка.

Вполне вероятно, что факторы окружающей среды тоже оказывают влияние на возникновение БА. В пользу этого говорит то, что у однояйцевых близнецов симптомы заболевания могут проявляться в совершенно разном возрасте. Однако поиски факторов окружающей среды, инициирующих начало БА, пока остаются безуспешными.

Амилоидные отложения в небольших количествах при БА обнаружены и вне мозга – например, в кровеносных сосудах, что указывает на определенный параллелизм между БА и системными амилоидозами, происхождение которых связано с кровеносной системой.

Не выяснено, какие типы клеток, нарабатывающие белок-предшественник, выделяют амилоидный  $\beta$ -белок. Наиболее вероятно, что это делают циркулирующие кровяные клетки (тромбоциты) и эндотелиальные клетки, выстилающие стенки кровеносных сосудов, хотя возможно также участие нейронов и глиальных клеток.

Этап созревания амилоидных бляшек сопровождается биохимическими и структурными изменениями, в том числе утратой синапсов между нейронами и, как следствие, снижением уровней ацетилхолина и других нейромедиаторов в ткани мозга.

**Характеризуя нейрохимические отклонения при БА, выделяют три основных типа изменений:**

1. Главные потери несут холинергические нейроны, от которых идут связи в коре.
- 2-3. Почти столь же обширны потери нейронов, посылающих к коре норадреналиновые и дофаминовые волокна.

«Биохимическую картину» при БА, как и многих других нейродегенеративных заболеваниях, во многом обуславливают

нарушения в системах нейротрофических ростовых факторов и цитокинов. Обычно процессы дегенерации сопровождаются компенсаторным усилением образования нейротрофинов. Так, почти двукратное повышение уровня белка-предшественника фактора роста нервов (NGF) обнаружена в отделах мозга, наиболее пораженных при данном заболевании – в гиппокампе и париетальной коре, в то же время экспрессия высокоаффинных *trkA*-рецепторов нейротрофинов в данных отделах мозга заметно снижена. В результате в спинномозговой жидкости и сыворотке крови пациентов с БА повышено содержание фактора роста нервов по сравнению с количеством его у здоровых людей таких же возрастных групп. Эти изменения коррелируют с выраженностью деменции и, по мнению ряда авторов, могут служить маркерным признаком БА.

Данные о содержании еще одного нейротрофина –BDNF, – противоречивы, что может быть объяснено разной стадией заболевания. В постмортальном материале установлено накопление этого нейротрофического фактора в гиппокампе и париетальной коре, соответствующее нейроморфологическим признакам поражения зон мозга. Напротив, другие исследователи, обнаружившие снижение количества BDNF, подчеркивают значение недостаточности данного нейротрофина (особенно в холинергических структурах переднего мозга) в патогенезе БА.

Хотя клинические симптомы БА достаточно характерны, пока нет способов достоверной ее прижизненной диагностики, за исключением взятия кусочка мозговой ткани для гистологического исследования. Однако подобную процедуру вряд ли можно считать оправданной, т. к. методов лечения данной патологии пока не существует.

Учитывая разнообразие этиологических факторов, индивидуальные особенности течения заболевания и отсутствие единого молекулярно-клеточного механизма развития патологии, ее социальную значимость, вопрос терапии БА в настоящее время остается актуальным. Существует несколько подходов к лечению БА, но ни один из них не приводит к устранению причины заболевания и полному излечению. Патогенетическое лечение, направленное, в частности, на устранение церебрального амилоидоза, в сочетании с симптоматической терапией и

коррекцией поведенческих и эмоциональных расстройств, позволяет замедлить темп прогрессирования БА.

В соответствии с выявленными морфологическими и биохимическими характеристиками данной патологии стратегия поиска препаратов для лечения БА может быть представлена следующими основными направлениями:

1. Холиномиметические средства, направленные на прямую компенсацию гипofункций холинергической системы при БА.
2. Препараты, действующие на процессы образования и свойства бета-амилоидного пептида.
3. Препараты, защищающие нервные клетки от токсических метаболитов, образующихся в ходе нейродегенеративных процессов.
4. Препараты, активирующие другие нейромедиаторные системы и опосредованно компенсирующие дефицит холинергических функций.
5. Препараты, действующие на процесс образования нейрофибриллярных филаментов.
6. Противовоспалительные препараты, действие которых направлено на купирование негативного ответа нервных клеток на патологический процесс.

Как показывает анализ публикаций за последние 5 лет, перспективными в терапии БА признаны препараты на основе пептидов. Их изучают в экспериментах по предотвращению развития нейродегенеративных расстройств, основываясь на отсутствии побочных эффектов. С этой точки зрения интерес для изучения при БА представляют пептидные субстанции Церебролизин, Кортексин, Семакс и Пинеалон, в экспериментах и клинических исследованиях показавшие нейропротекторные свойства, в том числе при БА. Тетрапептиды НАЕЕ и RADD в экспериментах на животных показали нейропротекторный эффект, реализуемый через предотвращение агрегации  $\beta$ -амилоида.

### **Болезнь Паркинсона**

Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, преимущественно связанное с гибелью нейронов черной субстанции и приводящее к изменению

функции базальных ганглиев в условиях дофаминергического дефицита. БП проявляется сочетанием гипокинезии и ригидности, тремора покоя, постуральной неустойчивостью, психическими и вегетативными расстройствами

В 1817 г. английский врач Джеймс Паркинсон впервые охарактеризовал основные проявления паркинсонизма в «Эссе о дрожательном параличе», описав у пациентов тремор покоя, характерную походку, пропульсии. Французский невролог Шарко указал на мышечную ригидность, изменение почерка и психические расстройства при БП.

БП считается наиболее распространенным дегенеративным заболеванием после болезни Альцгеймера (БА). Основное отличие БП от БА в том, что последнему присущи когнитивные расстройства – в частности, ухудшение памяти и поведенческих функций. В основе БП лежит расстройство двигательной активности. По данным Всемирной организации здравоохранения, в мире БП страдают более 4 млн человек. В 2005 г. число лиц с БП в возрасте старше 50 лет составляло 4,1-4,6 млн чел., а к 2030 г. их количество удвоится и достигнет 8,7-9,3 млн человек.

Рост числа пациентов с нейродегенеративными заболеваниями, в том числе с БП, связывают с тем, что, благодаря достижениям современной медицины, существенно увеличивается продолжительность жизни населения. Однако, несмотря на увеличение количества пациентов, большинство проведенных исследований не показывают значимого роста частоты встречаемости БП. БП встречается во всех странах мира, распространенность в среднем составляет 120-180 случаев на 100 тыс. населения. Показатель заболеваемости при БП колеблется от 5 до 25 на 100 тыс. населения в год. БП редко встречается у людей в возрасте до 40 лет. Среди лиц старше 60 лет распространенность БП достигает 1%, а среди лиц старше 80 лет – 4%. Показатели заболеваемости БП занижены в связи с трудностью диагностики на начальной стадии заболевания и сложностями дифференциальной диагностики с другой экстрапирамидной патологией.

Около 30% случаев БП – наследственно обусловленные формы. Большая вариабельность данных свидетельствует об отсутствии стандартов диагностики БП, что затрудняет проведение сравнительного анализа для разных возрастных групп. Клинико-эпидемиологическое исследование БП необходимо для ранней

диагностики и повышения эффективности лечения этого заболевания, а также для формирования подходов к наиболее рациональному использованию фармацевтического рынка с учетом данных фармакоэпидемиологии и фармакоэкономики. Наиболее высокая распространенность БП показана в США, Австралии, Испании и Нидерландах, что может объясняться повышением продолжительности жизни населения, а также особым вниманием органов здравоохранения этих стран к рассматриваемой проблеме с проведением эпидемиологических исследований. Более низкие показатели распространенности БП в Японии (169 случаев на 100 тыс. населения) могут быть обусловлены тотальным скринингом БП среди населения страны, а не только среди лиц старше 40 лет, как показано по данным эпидемиологических исследований в США и Восточной Европе. Эти же причины, вероятнее всего, обуславливают крайне широкий размах распространенности БП в странах Западной Европы (65,6-12 500 случаев на 100 тыс. населения). В России наблюдается большой разброс распространенности БП – от 48,9 до 139,9 случаев на 100 тыс. населения.

Основу клинической картины заболевания составляет синдром паркинсонизма, который характеризуется гипокинезией, мышечной ригидностью и тремором покоя. Клинические проявления БП также включают немоторные проявления: когнитивные, эмоциональные, вегетативные расстройства, болевой синдром, нарушение цикла «сон-бодрствование». Эти проявления БП могут предшествовать развитию двигательного дефицита на начальных стадиях, а на более поздних этапах стать основной причиной инвалидизации.

В зависимости от преобладания в клинической картине того или иного симптома выделяют несколько форм БП: дрожательно-ригидная форма – 37%, акинетико-ригидная форма, при которой дрожание может отсутствовать или проявляться незначительно – 33%, ригидно-дрожательная форма, признаком которой – замедленность движений и повышение тонуса мышц – 21%, дрожательная форма – 7%, акинетическая форма, для которой характерно отсутствие произвольных движений – 2%.

Клинические проявления паркинсонизма достаточно тяжелые – характерны гипо- и акинезия. Появляется своеобразная сгибательная поза: голова и туловище наклонены вперед, руки полусогнуты в локтевых, лучезапястных и фаланговых суставах.

Темп производных движений с развитием заболевания постепенно замедляется, иногда довольно рано может наступить полная обездвиженность. Походка характеризуется медленными шаркающими шагами.

**Тремор** – характерный симптом для паркинсонизма. Это регулярные непроизвольные движения конечностей, лицевой мускулатуры, головы, нижней челюсти чаще в вертикальной плоскости, более выраженные в покое, исчезающие при активных движениях.

Психические нарушения проявляются утратой инициативы, активности, сужением кругозора и интересов, резким понижением разных эмоциональных реакций, а также некоторой поверхностности и медлительности мышления. Наблюдается трудное активное переключение с одной мысли на другую, прилипчивость, вязкость, эгоцентризм.

Основное патогенетическое звено паркинсонизма – нарушение обмена катехоламинов (дофамина, ацетилхолина, норадреналина) в экстрапирамидной системе. Термином *экстрапирамидная система* обозначаются моторные пути, которые не проходят через пирамиды продолговатого мозга. Они оказывают регулирующее влияние на двигательные кольца обратной связи в спинном мозге, стволе, мозжечке, коре больших полушарий. Экстрапирамидная система состоит из следующих основных структур – хвостатого ядра, скорлупы чечевицеобразного ядра, бледного шара, субталамического ядра, черного вещества.

Дофамин выполняет самостоятельную медиаторную функцию в реализации двигательных актов. В норме концентрация дофамина в базальных узлах во много раз превышает его содержание в других структурах нервной системы. Ацетилхолин – это медиатор возбуждения между полосатым телом, бледным шаром и черным веществом. Дофамин является его антагонистом, действуя тормозяще. При поражении черного вещества и бледного шара снижается уровень дофамина в хвостатом ядре и скорлупе, нарушается пропорция между дофамином и норадреналином, возникает расстройство функций экстрапирамидной системы. В норме импульсация моделируется в сторону подавления хвостатого ядра, скорлупы, черного вещества и стимулирования бледного шара. При выключении функции черного вещества возникает блокада импульсов, поступающих из экстрапирамидных зон коры мозга

и стриатума к передним рогам спинного мозга. В то же время к клеткам передних рогов поступают патологические импульсы из паллидума и черного вещества. В результате устанавливается циркуляция импульсов в системе  $\alpha$ - и гамма-мотонейронов спинного мозга с преобладанием  $\alpha$ -активности, что приводит к возникновению паллидарно-нигральной ригидности мышечных волокон и тремора – основных признаков паркинсонизма.

Твердо установленным фактором является связь болезни Паркинсона с недостаточностью дофаминергической функции головного мозга. Химически это расстройство характеризуется значительным снижением содержания дофамина (ДА) и его метаболита – гомованилиновой кислоты, а также основного синтезируемого фермента – тирозингидроксилазы. При болезни Паркинсона отмечаются дегенеративные изменения восходящего дофаминергического пути, главная функция которого – инициация и регуляция движений.

Кроме снижения уровня ДА в неостриатуме при паркинсонизме отмечается значительное его снижение в лимбической области. Это может обуславливать амнезию и эмоциональные расстройства, часто встречающиеся при болезни Паркинсона.

Однако вследствие увлечения гипотезой о роли дофаминергической системы, гораздо меньше внимания уделялось возможному значению других нейромедиаторов в возникновении болезни Паркинсона. Прежде всего речь идет о *холинергической* и *серотонинергической* системах. Косвенными доказательствами возможного участия этих систем служат данные о том, что введение животным серотонина в стриатум вызывает тремор и ригидность; повышение уровней ацетилхолина и серотонина в стриатуме усиливает двигательные нарушения, характерные для паркинсонизма. Прием пациентами (или волонтерами) предшественника серотонина 5-гидрокситриптофана приводит к усилению гипокинезии и гипертонуса мышц. На основании таких наблюдений Р. Хасслер предложил при оценке состояния пациента учитывать “равновесие” нейромедиаторов:

[дофамин]

---

[серотонин, ацетилхолин]

Все факторы и воздействия, способствующие увеличению числителя этой дроби, улучшают состояние больного паркинсонизмом – снижается ригидность мышц, тремор, акинезия. Напротив, факторы, увеличивающие знаменатель, способствуют углублению нарушений двигательной активности.

При паркинсонизме отмечены и выраженные изменения ГАМК-ергической системы: установлено замедление связывания [<sup>3</sup>H]-ГАМК с мембранами гиппокампа и черной субстанции. Поскольку L-ДОФА и другие антипаркинсонические препараты не возвращают данный показатель к норме, можно считать это доказательством того, что при болезни Паркинсона в нейронах черной субстанции происходит дегенерация дофаминергических окончаний, на пресинаптических мембранах которых локализованы ГАМК-рецепторы.

В последнее время исследователи обращают внимание и на роль нейропептидов в развитии паркинсонизма, которая подтверждается значительным снижением в мозге пациентов концентрации холецистокинина-8, тормозящего дофаминергическую передачу, и уменьшением количества мет-энкефалина, также участвующего в модуляции данной трансмиссии.

То есть к настоящему времени накопились сведения о причастности других, кроме дофаминергической, нейромедиаторных систем в возникновении и развитии болезни Паркинсона. Однако в настоящее время невозможно дифференцировать патологию, являющуюся следствием заболевания, от патологии, выступающей первопричиной расстройств. При паркинсонизме действительно выражено повреждаются стриатум, бледный шар, ствол мозга, черное вещество. *В то же время нейрохимические исследования показывают выраженное снижение концентрации других нейромедиаторов:*

- Норадреналина;
- Серотонина;
- ГАМК.

Кроме того, что, возможно, более важно, снижена активность ферментов, участвующих в их синтезе. Это далее развивает представления о новых аспектах болезни Паркинсона.

Для лечения паркинсонизма широко используется предшественник дофамина L-ДОФА, хорошо проникающий (в отличие от медиатора) через ГЭБ. Препарат оказывает главным образом симптоматическое действие, облегчая состояние пациентов, устраняя амнезию. Отметим, что L-ДОФА – предшественник не только ДА, но и норадреналина. Поэтому его клинические эффекты обусловлены стимуляцией не только дофаминовой, но и катехоламиновой системы мозга.

Однако длительное введение больших количеств ДОФА (терапевтические дозы до 8 г в день) не только усиливает синтез дофамина в нигростриатной системе, но и значительно стимулирует синтез всех катехоламинов во всех структурах мозга. Это, к сожалению, приводит к развитию симптомов, сходных с шизофренией, для которой характерна повышенная активность катехоламинергических медиаторных систем. Для того чтобы избежать подобных осложнений, в настоящее время чаще применяются синтетические аналоги ДОФА, которые могут быть использованы в гораздо меньших количествах (леводопа).

Действия ряда весьма эффективных антипаркинсонических препаратов направлено на стимуляцию выброса дофамина в синаптическую щель и повышение аффинности рецепторов к медиатору (мидантан и др.) или ингибирование моноаминоксидазы (депренил и др.). Кроме того, для облегчения состояния пациентов, страдающих паркинсонизмом, применяют также холинолитические препараты (например циклодол).

Успешное использование антихолинергических лекарственных препаратов при лечении паркинсонизма указывает на наличие реципрокного баланса между ДА и ацетилхолином в стриатуме. Дофаминергические входы в стриатум в норме тормозят его холинергические нейроны. Нарушение дофаминергического входа при паркинсонизме вызывает гиперреактивность стриатной холинергической системы, что ведет к некоторым двигательным нарушениям, таким как тремор.

В последние годы проверяются возможности принципиально нового подхода к лечению паркинсонизма, который заключается в пересадке способных к синтезу дофамина участков мозга из мезенцефалона человеческого плода (абортивный материал, клетки культуры ткани) либо стволовых клеток в черную субстанцию или в другие участки нигростриатной системы пациента. Результаты

первых серий подобных операций показывают перспективность данного метода.

### **Биохимические аспекты алкоголизма и наркоманий**

Алкогольная зависимость (АЗ) – одна из главных текущих угроз здоровью и безопасности людей не только на постсоветском пространстве, но и в большинстве других стран. По данным ВОЗ, 67-84% от всего населения стран Европы и Северной Америки потребляют алкоголь. Затраты на ликвидацию медицинских и социальных последствий, связанных с массовым употреблением алкоголя, – большое бремя для бюджетов государств и разрушительны для самих пьющих и их семей.

Ни одно вещество не оказывало столь продолжительного пагубного воздействия на людей, как алкоголь. Борьба за его производство, контроль оборота и сбыт играют значительную роль в истории человечества.

В конце XX века описан феномен, называемый «тенденцией века» (secular trends). Он заключается в том, что на протяжении XX века с каждым десятилетием наблюдалась тенденция к снижению возраста начала алкоголизма и к увеличению риска его возникновения. Так, для мужчин 1938 года рождения этот риск составляет 8,9%, 1953 года рождения – 20,3%. Феномен проявляется в увеличении потребления алкоголя и терпимого отношения к тяжелому пьянству. При определении степени риска развития зависимости от алкоголя необходимо учитывать подушевое потребление алкоголя, установившееся отношение к нему, а в среде подростков наблюдается психологическое давление референтной группы. В настоящее время статистические данные показывают, что 20-30% от всех госпитализаций и затрат здравоохранения могут быть отнесены к проблемам злоупотребления алкоголем. Употребление алкоголя на душу населения, которое неуклонно растет, приводит к снижению периода трудоспособности, особенно в странах с высокими показателями потребления спиртного.

По данным Европейского доклада о наркотиках, в 2014 г. свыше 90 млн взрослых людей, или чуть более одной четвертой части населения Европейского союза в возрасте от 15 до 64 лет, пробовали запрещенные препараты в тот или иной период своей

жизни. Случаи потребления наркотиков чаще регистрируются среди мужчин (54,3 млн), чем среди женщин (34,8 млн).

На протяжении всей жизни наиболее популярным наркотиком в Европейских странах признан каннабис, его употребляют 51,5 млн мужчин и 32,4 млн женщин. Второе ранговое место занимает кокаин, который употребляют 11,9 млн мужчин и 5,3 млн женщин. MDMA экстази занимает третье место в структуре потребляемых наркотиков, его потребляют 9,1 млн мужчин и 3,9 млн женщин. Четвертое место отводится амфетаминам, которые употребляют 8,3 млн мужчин и 3,8 млн женщин. Население Европейских стран имеет свои особенности по частоте употребления указанных выше наркотиков на протяжении жизни.

Влияние наркотиков, алкоголя, других психоактивных веществ (ПАВ) на организм человека, его жизнедеятельность и функции проявляются в разных направлениях. Во-первых, ПАВ специфически влияют на определенные системы и структуры мозга, вызывая таким образом развитие синдрома зависимости. Именно этот синдром ведущий, стержневой в клинической картине наркологических заболеваний.

Как свидетельствуют современные научные факты, нейрофизиологические механизмы развития зависимости от ПАВ базируются в стволовых и лимбических структурах мозга, в тех его областях, где располагается так называемая система подкрепления. Эта система участвует в обеспечении регуляции эмоционального состояния, настроения, мотивационной сферы, психофизического тонуса, поведения человека в целом, его адаптации к окружающей среде. В свое время Olds было показано, что если при вживлении в данные «зоны» микроэлектродов животное получает возможность произвольно раздражать их электрическим током, то оно делает это безостановочно в течение длительного времени – вплоть до полного истощения. Несомненно, что психоактивные вещества, обладающие наркогенным потенциалом, т. е. способные привести к развитию зависимости, также воздействуют химическим путем на указанную систему подкрепления, активируя ее и влияя на метаболизм нейромедиаторов.

Результаты многочисленных исследований позволяют сделать заключение, что именно влияние ПАВ на нейрохимические процессы мозга – основа развития синдрома зависимости. При этом следует отметить, что массивное воздействие наркотических

препаратов приводит к дисфункции почти всех нейрохимических систем мозга, однако далеко не все из этих нарушений имеют связь с развитием синдрома наркотической зависимости. Изучение механизмов действия психоактивных препаратов показало, что каждый из них имеет свой фармакологический спектр действия. Однако у всех веществ, способных вызвать синдром зависимости, имеется общее звено фармакологического действия – это характерное влияние на катехоламиную нейромедиацию в лимбических структурах мозга, в частности в «системе подкрепления».

Воздействие психоактивных веществ приводит к интенсивному выбросу из депо в этих отделах мозга нейромедиаторов из группы катехоламинов (КА), в первую очередь дофамина (ДА), а, следовательно – к значительно более сильному возбуждению системы подкрепления. Такое возбуждение нередко сопровождается положительно окрашенными эмоциональными переживаниями. Свободные КА подвергаются действию ферментов метаболизма и быстро разрушаются. Часть свободного медиатора при помощи механизма обратного захвата возвращается в депо. Повторные приемы ПАВ приводят к истощению запасов нейромедиаторов, что проявляется недостаточно выраженным возбуждением системы подкрепления при поступлении «нормального» импульса. Психофизически у человека это выражается падением настроения, ощущением вялости, слабости, переживаниями скуки, эмоционального дискомфорта, депрессивными симптомами. Прием психоактивных веществ на этом фоне временно компенсирует их дефицит в синаптической щели и нормализует деятельность лимбических структур мозга. Этот процесс сопровождается субъективным ощущением улучшения состояния, эмоциональным, психическим возбуждением и т. д. Однако свободные КА вновь быстро разрушаются, что приводит к дальнейшему падению уровня их содержания, ухудшению психоэмоционального состояния и, соответственно, к стремлению вновь использовать наркотик.

Этот «порочный круг» лежит в основе формирования психической зависимости от алкоголя и наркотических средств. Описанные механизмы ведущие, однако они сопровождаются и многими другими расстройствами нейрохимических процессов, функций мозга и поведения.

При длительном употреблении алкоголя и наркотиков может развиваться дефицит нейромедиаторов, причем угрожающий жизнедеятельности организма. В качестве механизма компенсации этого явления выступают усиленный синтез катехоламинов и подавление активности ферментов их метаболизма, в первую очередь моноаминоксидазы (МАО) и дофаминбетагидроксилазы (ДБГ), контролирующей превращение дофамина в норадреналин. Таким образом, стимулируемый очередным приемом ПАВ выброс КА и их ускоренное, избыточное разрушение сочетаются с компенсаторно усиленным синтезом этих нейромедиаторов. Происходит формирование ускоренного кругооборота КА. Теперь при прекращении приема наркотика, т. е. в период абстиненции, усиленного высвобождения катехоламинов из депо не происходит, но остается их ускоренный синтез. Вследствие изменения активности ферментов в биологических жидкостях и тканях (главным образом, в мозге) накапливается один из КА – дофамин. Именно этот процесс обеспечивает развитие основных клинических признаков абстинентного синдрома: высокой тревожности, напряженности, возбуждения, подъема артериального давления, ускорения пульса, появления других вегетативных расстройств, нарушения сна, возникновения психотических состояний и т.п.

Описанные выше изменения нейрохимических функций мозга являются основой формирования физической зависимости от психоактивных препаратов. Уровень дофамина в крови четко коррелирует с клинической тяжестью абстинентного синдрома (АС); превышение его исходных показателей в 2 раза сочетается с картиной тяжелого абстинентного синдрома, а при превышении в 3 раза, как правило, развивается острое психотическое состояние – алкогольный делирий.

В динамике ремиссии у больных со сформированной физической зависимостью наблюдаются типичные колебания уровня дофамина: в начальном ее периоде он несколько повышен, затем, как правило, остается ниже нормы. Очевидно, дефицит ДА в подкрепляющих структурах мозга является основой остающегося патологического влечения к наркотикам и алкоголю и высокой вероятности рецидива заболевания.

Важную роль в реализации действия наркотиков играют и другие биологически активные вещества – так называемые эндогенные опиаты пептидной и непептидной природы,

участвующие в механизмах боли, в эмоциональных и мотивационных процессах, серотонинергическая и ГАМК-ергическая нейромедиаторные системы, холецистокинин и другие нейропептиды и т.д. Однако расстройства функционирования этих систем, как правило, не обнаруживают четкой корреляции с развитием синдрома зависимости, хотя они, несомненно, определяют некоторые симптомы заболевания. Необходимо также учитывать тесную функциональную связь всех нейрхимических систем мозга. Изменение деятельности одной из них неизбежно ведет к расстройству других. Именно поэтому для понимания патогенеза наркологических заболеваний важно выделить первоначальное, ведущее звено патологии. Следует отметить, что нарушения функций нейромедиаторной системы являются конечным, решающим звеном патогенеза, которое обуславливает основные проявления клинической картины зависимости от ПАВ. Скорее всего, ПАВ воздействуют на ДА нейромедиацию не непосредственно, а через другие системы, которые могут быть различными при взаимодействии с различными ПАВ. В 80-х годах Davis была предложена концепция, согласно которой при использовании алкоголя в организме происходит конденсация продукта метаболизма этанола – ацетальдегида с избытком свободного ДА. В результате образуются опиатоподобные вещества (тетрагидроизохинолины, папаверолины и др.), которые влияют на опиатные рецепторы мозга. Таким образом, пути патогенеза алкоголизма и опиоидной наркомании сближаются.

Хорошо известно, что алкоголизм, наркомании и депрессивные состояния часто сочетаются. С одной стороны, лица с легкими депрессивными расстройствами используют алкоголь и наркотики с целью улучшения состояния, что понятно, так как ПАВ временно компенсируют дефицит КА нейромедиаторной системы. С другой стороны, алкоголизм и наркомании, как правило, приводят к развитию депрессивных состояний различной тяжести. Как было сказано выше, для больных с алкогольной и наркотической зависимостью, как при употреблении ПАВ, так и при длительной абстиненции (исключая АС), в том числе и в период терапевтической ремиссии, характерно низкое содержание КА в мозге и крови и снижение чувствительности постсинаптических ДА рецепторов.

Таким образом, при алкоголизме и наркоманиях формируются нейрохимические сдвиги в мозге, которые, несомненно, могут служить биологической базой формирования депрессивного синдрома.

Ведущие клиницисты полагают, что депрессивный синдром входит в структуру патологического влечения к алкоголю и наркотикам, хотя и не всегда осознается пациентами как проявление влечения.

Таким образом, результаты нейрохимических и клинических исследований свидетельствуют о том, что депрессивные расстройства при алкоголизме и наркоманиях обусловлены патогенетическими механизмами заболевания и являются одним из проявлений патологического влечения к алкоголю и наркотикам – главного симптома алкогольной и наркотической зависимости. Сказанное выше приводит к заключению, что применение антидепрессантов – патогенетический метод лечения зависимости от ПАВ.

Для заметок

Учебное издание

**Лелевич** Владимир Валерьянович  
**Шейбак** Владимир Михайлович  
**Петушок** Наталья Эдуардовна

## БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Пособие

Ответственный за выпуск В. В. Воробьев

Компьютерная верстка С. В. Петрушиной  
Корректор Л. С. Засельская

Подписано в печать 12.10.2021  
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.  
Гарнитура Таймс. Ризография.  
Усл. печ. л. 12,32. Уч.-изд. л. 9,79. Тираж 170 экз. Заказ 108.

Издатель и полиграфическое исполнение  
учреждение образования  
«Гродненский государственный медицинский университет».  
Ул. Горького, 80, 230009, Гродно. ЛП № 02330/445 от 18.12.2013