

**О. А. Наконечна, Н. В. Ярмиш, І. М. Васильєва**

**МАРКЕРИ ДИСФУНКЦІЇ  
ЕНДОТЕЛІЮ СУДИН**

***Навчально-методичний посібник  
для підготовки до практичних занять  
з клінічної біохімії здобувачів вищої освіти  
медичних та стоматологічного факультетів***

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**Харківський національний медичний університет**

О. А. Наконечна, Н. В. Ярмиш, І. М. Васильєва

# **МАРКЕРИ ДИСФУНКЦІЇ ЕНДОТЕЛІЮ СУДИН**

***Навчально-методичний посібник  
для підготовки до практичних занять  
з клінічної біохімії здобувачів вищої освіти  
медичних та стоматологічного факультетів***

**Харків  
ХНМУ  
2025**

УДК 577.1:616.13/.14-018.74-078(075.8)

Н22

*Затверджено  
Вченою радою ХНМУ  
Протокол № 4 від 27.02.2025.*

**Р е ц е н з е н т и:**

*Кравченко В. М.* – д-р біол. наук, проф. (Національний фармацевтичний університет МОЗ України).

*Седова К. В.* – канд. біол. наук, доц. (ХНУ ім. В. Н. Каразіна).

**Наконечна О. А., Ярмиш Н. В., Васильєва І. М.**

Н22 Маркери дисфункції ендотелію судин : навч.-метод. посіб. для підготовки до практ. занять з клін. біохімії здобувачів вищої освіти мед. та стомат. фак-тів. Харків : ХНМУ, 2024. 128 с.

У навчально-методичному посібнику підсумовані сучасні дані про моніторингові та метаболічні процеси, які можуть виникати при дисфункції ендотелію судин. Порушення функції ендотелію є одним з універсальних механізмів патогенезу багатьох захворювань, у тому числі таких, як атеросклероз, гіпертонічна хвороба, цукровий діабет, інфаркт міокарда, інсульт головного мозку.

Посібник може слугувати допомогою здобувачам медичних ЗВО усіх спеціальностей для систематизації та отримання сучасних уявлень про маркерні показники ендотеліальної дисфункції судин, а також може бути використаний у вивчанні впливу фармакологічних препаратів на функціональний стан ендотелію.

УДК577.1:616.13/.14-018.74-078(075.8)

© Харківський національний  
медичний університет, 2025

© Наконечна О. А., Ярмиш Н. В.,  
Васильєва І. М., 2025

## ЗМІСТ

Список скорочень . . . . .	4
Вступ . . . . .	5
Частина 1. Чинники, що ушкоджують ендотелій . . . . .	7
Частина 2. Ендотелій та регуляція судинного тонуусу . . . . .	14
Частина 3. Ендотелій та тромбогенність . . . . .	21
Частина 4. Ендотелій та фібриноліз . . . . .	23
Частина 5. Ендотелій та ангіогенез . . . . .	24
Частина 6. Ендотелій та адгезія лейкоцитів . . . . .	25
Частина 7. Маркери ушкодження міокарда . . . . .	26
Частина 8. Маркери серцево-судинної недостатності . . . . .	32
Частина 9. Цитокіни та серцево-судинні захворювання . . . . .	64
Частина 10. Зв'язок ризику ССЗ з гемостатичними факторами . . . . .	79
Частина 11. Молекули адгезії при ССЗ . . . . .	81
Висновок . . . . .	85
Деякі питання лабораторної справи . . . . .	85
Контрольні питання . . . . .	119
Тестові завдання для самоконтролю . . . . .	119
Ситуаційні завдання . . . . .	123
Література . . . . .	127

## СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

АГ	– артеріальна гіпертензія	ADMA	– асиметричний диметиларгінін
Апо	– аполіпопротеїни	ANP	– передсердний натрійуретичний пептид
АС	– атеросклероз	BNP	– мозковий натрійуретичний пептид
АСБ	– атеросклеротична бляшка	EDHF	– ендотеліальний фактор деполаризації
АТ	– артеріальний тиск	eNOS	– ендотеліальна NO-синтаза
ГГЦ	– гіпергомоцистеїнемія	FGFb	– основний фактор росту фібробластів
ГІМ	– гострий інфаркт міокарда	GFAP	– гліальний кислий фібрилярний протеїн
ГХ	– гіпертонічна хвороба	HbA1c	– глікозильований гемоглобін
ЕД	– ендотеліальна дисфункція	hsCRP	– високочутливий С-реактивний протеїн
ЕКГ	– електрокардіограма	ICAM-1	– молекула міжклітинної адгезії-1
ЕРФ	– ендотеліальні релаксуючі фактори	NO	– оксид азоту
ІЛ	– інтерлейкіни	PAI	– інгібітор активатора плазміногену
ІМ	– інфаркт міокарда	PDGF	– тромбоцитарний ростовий фактор
ІнМ	– інсульт мозку	t-PA	– тканинний активатор плазміногену
ІХС	– ішемічна хвороба серця	VCAM-1	– молекула адгезії судинного ендотелію-1
КІМ	– комплекс інтима медіа	VEGF	– судинний ендотеліальний фактор росту
КТ	– комп'ютерна томографія		
ЛПВЩ	– ліпопротеїни високої щільності		
ЛПНЩ	– ліпопротеїни низької щільності		
ЛПДНЩ	– ліпопротеїни дуже низької щільності		
ММР	– матриксна металопротеїназа		
МРТ	– магнітно-резонансна томографія		
МС	– метаболічний синдром		
охЛПНЩ	– окислені ліпопротеїни низької щільності		
ССЗ	– серцево-судинні захворювання		
ТХА <sub>2</sub>	– тромбоксан А <sub>2</sub>		
УЗД	– ультразвукове дослідження		
ФНП	– фактор некрозу пухлини		
ХСН	– хронічна серцева недостатність		
ШОЕ	– швидкість осідання еритроцитів		
ЦД	– цукровий діабет		

## ВСТУП

Ендотелій (внутрішня вистилка судин) складається приблизно з  $1-6 \times 10^{13}$  клітин. Протягом минулих десятиліть стало очевидним, що судинний ендотелій відповідальний за все, що відбувається всередині судини: регулювання тонуусу судинної стінки, підтримка стабільності складу крові, забезпечення балансу локальних запальних, вільнорадикальних, метаболічних та проліферативних реакцій. Ендотелій інтими судин виконує бар'єрну, секреторну, гемостатичну, вазотонічну функції, відіграє важливу роль у процесах запалення та ремоделювання судинної стінки, регуляції адгезії лейкоцитів та регуляції тонуусу і росту судин.

Порушення функції ендотелію є одним з універсальних механізмів патогенезу багатьох захворювань, у тому числі таких, як атеросклероз, гіпертонічна хвороба, цукровий діабет, інфаркт міокарда, інсульт головного мозку та ін. Задовго до клінічних проявів атеросклерозу в інтимі та субендотеліальному шарі артерій запускається складний патогенетичний механізм формування атероми. Дисфункція ендотелію має значення в розвитку тромбозу, неоангіогенезу, ремоделюванні судин, внутрішньосудинної активації тромбоцитів та лейкоцитів тощо. Переважне порушення тієї чи іншої функції ендотелію залежить від локалізації патологічних процесів, переважання тих чи інших медіаторів запалення, гемодинамічних порушень.

За швидкістю утворення в ендотелії різних факторів та за напрямком секреції цих речовин (внутрішньоклітинний або позаклітинний) можна розділити речовини ендотеліального походження на такі групи:

- фактори, які постійно утворюються в ендотелії і виділяються з клітин у базолатеральному напрямку або у кров (NO, простаглілін);
- фактори, що накопичуються в ендотелії та виділяються з нього при стимуляції (фактор Віллебранда, P-селектин, тканинний активатор плазміногену);
- фактори, синтез яких за нормальних умов практично не відбувається, проте різко збільшується при активації ендотелію (ендотелін-1, ICAM-1, VCAM-1, E-селектин, PAI-1);
- фактори, що синтезуються та накопичуються в ендотелії (t-PA) або є мембранними білками (рецепторами) ендотелію (тромбомодулін, рецептор протеїну C).

Дисфункція ендотелію може бути самостійною причиною порушення кровообігу в органі, оскільки нерідко провокує ангіоспазм або тромбоз судин, що зокрема спостерігається при деяких формах ішемічної хвороби серця. Порушення регіонарного кровообігу (ішемія, венозний застій) також можуть призводити до дисфункції ендотелію.

Результати сучасних досліджень дозволяють вважати, що ендотеліальна дисфункція – один із найважливіших незалежних факторів ризику при діабеті, атеросклерозі, гіпертонії, сепсисі, зростанні злоякісних захворювань.

Одним із методів оцінки ступеня ураження ендотелію є оцінка вмісту в крові речовин, що вивільняються самою тканиною, або дослідження вмісту в крові факторів, що ушкоджують ендотелій, рівень яких корелює з ендотеліальною дисфункцією. До таких факторів (медіаторів ушкодження ендотелію) належать:

- ✓ гіперхолестеринемія;
- ✓ гіпергомоцистемія;
- ✓ підвищення вмісту прозапальних цитокіні (ІЛ-1 $\beta$ , ФНП- $\alpha$ , ІЛ-8 та ін.).

Численними дослідженнями було показано, що порушення функції ендотелію буває при артеріальній гіпертензії (АГ), цукровому діабеті (ЦД), серцевій недостатності (СН) та інших серцево-судинних захворюваннях, у тому числі при хворобах периферичних судин. З клінічної точки зору важливо вибрати відповідне лікування, яке могло б покращити ендотеліальну функцію.

Дослідження вмісту в крові факторів – маркерів дисфункції ендотелію – проводять як моніторинг терапії антигіпертензивними препаратами, статинами, тіазолідинонами та лікування препаратом L-аргініну (субстрат для утворення оксиду азоту [NO]), естроген-замісною терапією, модифікації способу життя тощо.

## Частина 1

### ЧИННИКИ, ЩО УШКОДЖУЮТЬ ЕНДОТЕЛІЙ

Непрямым методом оцінки стану ендотелію є дослідження вмісту в крові факторів, що його пошкоджують (рис. 1):

- гіперхолестеринемія, рівень ЛПНЩ, ЛПДНЩ;
- антифосфоліпідні антитіла;
- ангіотензин II;
- гіпергомоцистеїнемія;
- асиметричний диметиларгінін (ADMA);
- ліпопротеїн (а);
- ксантиноксидаза;
- цитокіни (ІЛ-1β; ФНП-α; ІЛ-8 тощо).

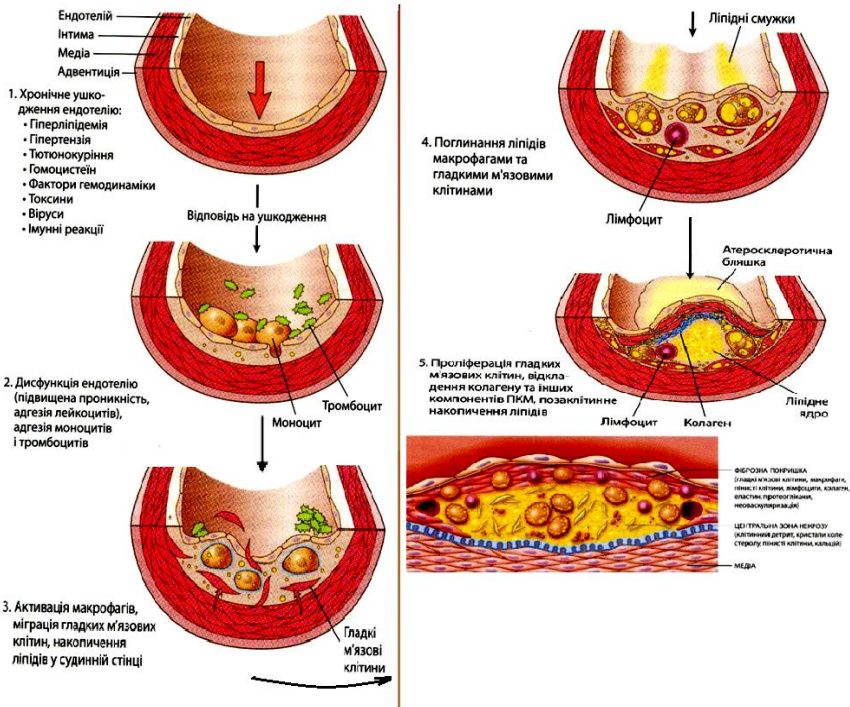


Рис. 1. Етапи розвитку ендотеліальної дисфункції

### Типові форми дисфункції ендотелію:

✓ **Вазомоторна:** порушення утворення оксиду азоту, простагліну, EDHF, підвищення синтезу ендотелію-1 (артеріальна гіпертензія, ангіоспастична ішемія).

✓ **Гемостатична:** зміни утворення тромбогенних та атромбогенних ендотеліальних факторів (хвороба Віллебранда, артеріальний або венозний тромбоз).

✓ **Адгезивна:** гіперекспресія ендотеліальних молекул адгезії (гіперцитокінемія, системна запальна реакція, септичний шок).

✓ **Ангіогенна:** надлишкове утворення ангіогенних факторів (пухлинний ріст, хронічне запалення).

**Ангіотензин II** утворюється при активації ренін-ангіотензинової системи і є одним із найсильніших вазоконстрикторів. Ангіотензин II викликає звуження судин, активуючи ангіотензинові рецептори 1-го типу гладком'язових та ендотеліальних клітин (**AT1R**). Під дією ангіотензину II прискорюється апоптоз ендотеліоцитів і відбувається міграція та проліферація гладких міоцитів, що має значення при ремоделюванні судин. Стимуляція ендотеліальних рецепторів 2-го типу (**AT2R**) посилює утворення в ендотелії NO, що послаблює констрикторну реакцію, спричинену ангіотензином II, а також пригнічує проліферацію гладких міоцитів (рис. 2).



**Рис. 2.** Механізм дії ангіотензину II.

*Ang (1-12) – сигнальний пептид; Ang I – ангіотензин I; Ang II – ангіотензин II; AT1R – рецептори ангіотензину 1-го типу в гладком'язових та ендотеліальних клітинах; AT2R – рецептори ангіотензину 2-го типу в ендотелії судин*

Таким чином, активація ренін-ангіотензинової системи призводить до зменшення тромборезистентності судин, що може сприяти схильності до тромботичних ускладнень.

## Оксид азоту

Ендотеліальні клітини чутливі до різних ушкоджуючих факторів, таких як деформація зсуву, вільні радикали, запальні цитокіни або холестерин. Найбільш вірогідною ланкою, що ушкоджується в ендотелії при згаданих вище порушеннях, є система синтезу ендотеліального фактора – оксиду азоту (NO).

NO постійно утворюється з L-аргініну за участю NO-синтаз (NOS) та виділяється з ендотелію (рис. 3). Активність NOS найбільше виражена в ендотелії артеріальних судин і мінімальна в ендотелії капілярів і вен. NO характеризується як потужний медіатор супресорних клітин у кістковому мозку. Встановлено, що інтерферон- $\gamma$  є індуктором синтезу NO. NO має різноманітні гомеостатичні впливи як активатор розчинної гуанілатциклази, стимулятор нейронів, нейротрансмітер периферичної нервової системи та регулятор скорочення гладенької мускулатури та судинного ендотелію.

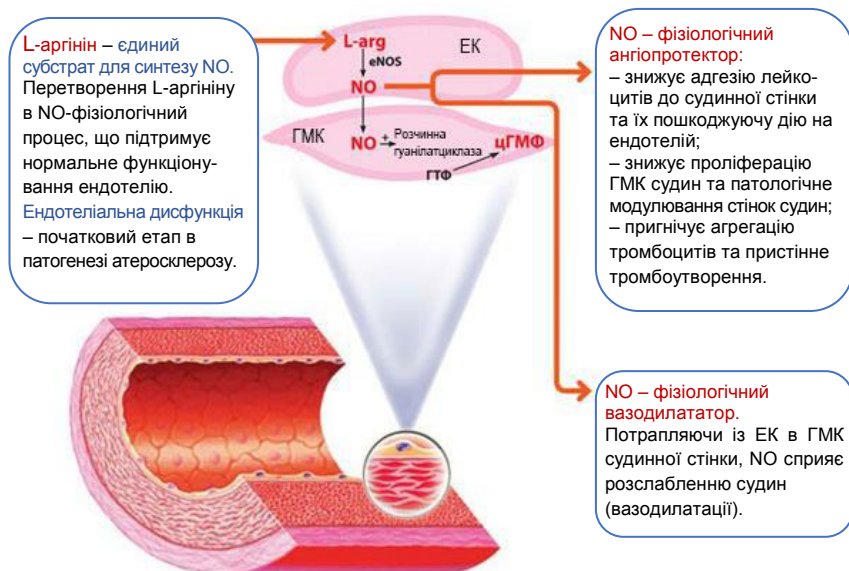
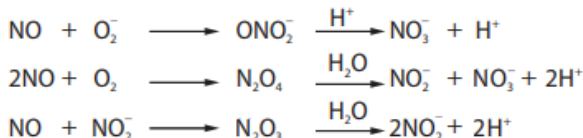


Рис. 3. Утворення і механізм дії оксиду азоту:

ГМК – гладком'язова клітина; ЕК – ендотеліальна клітина; NO – оксид азоту; eNOS – ендотеліальна NO-синтаза; цГМФ – циклічний гуанідинмонофосфат; L-arg – L-аргінін

Однією з головних умов ангіогенезу є підвищення проникності ендотелію, що пов'язують з дією NO. Підвищення проникності судин необхідне для білків плазми крові, й в першу чергу фібриногену, що призводить до утворення фібринової основи наступної міграції ендотеліоцитів. NO

відповідає за вазодилататорний ефект релаксуючого фактора, що виділяється ендотелієм. У відповідь на пошкодження ендотелій судин виробляє сімейство амінопептидів (*ендомелінів*). Вважають, що вазодилататорна дія NO спрямована проти вазоконстрикторного ефекту ендотелінів. Нестабільність NO унеможливило стандартні методи його визначення. Оскільки більшість NO окислюється до нітриту ( $\text{NO}_2^-$ ) і нітрату ( $\text{NO}_3^-$ ),  $\text{NO}_2^-$  вимірюють спектрофотометричним методом, використовуючи реакцію Грісса:



### Синтази оксиду азоту (NOS)

NOS існує у трьох ізоформах: нейрональна NO-синтаза (nNOS або NOS-1), індукована NO-синтаза (iNOS або NOS-2) та ендотеліальна NO-синтаза (eNOS або NOS-3). Всі три форми каталізують утворення NO і L-цитруліну з L-аргініну та  $\text{O}_2$ . Вони представлені в різних тканинах і типах клітин, структурно і за механізмом каталітичної активності подібні, всі потребують кофакторів: флавінаденіндинуклеотид (ФАД) і флавінмононуклеотид (ФМН), кальмодулін і тетрагідробіоптерин (ТГБ). Для синтезу NO потрібна гомодимерна форма синтази (м.м. мономерних субодиниць становить 160 кДа (nNOS), 135 кДа (eNOS) та 130 кДа (iNOS)) (рис. 4).



Рис. 4. Порівняння різних ізоформ NO-синтази

**iNOS** була вперше виділена з макрофагів при їх активації цитокінами або ендотоксином, у більшості випадків вона індуцибельно синтезується при запальній реакції. Активність iNOS найменше залежить від концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ .

**Підвищений рівень iNOS** може свідчити про різні патології, а саме: септичний шок, гіперактивацію макрофагів при інфекціях бактеріальної природи, при запальних процесах (ревматоїдному артриті, хворобі Крона, астмі). Внаслідок гіперпродукції NO кров'яний тиск може значно знижуватися, що призводить до поліорганної дисфункції.

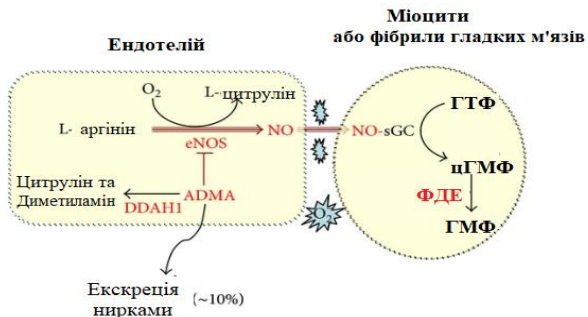
**eNOS** продукується різними типами клітин, але найбільшою мірою ендотеліоцитами судин та кардіоміоцитами, виконує функцію вазодилататора, що регулює реологічні властивості крові та кров'яний тиск. Хоча eNOS експресується постійно, її *рівень підвищується* при напрузі зсуву, фізичному навантаженні, хронічній гіпоксії, серцевій недостатності. eNOS має у N-кінцевому фрагменті унікальну послідовність з 70 амінокислотами (АМК), за допомогою якої фермент закріплюється на мембрані. У серцево-судинній системі eNOS виконує захисну функцію.

При порівнянні функції eNOS та **nNOS** показано, що саме eNOS захищає від ішемії головний мозок, підтримуючи циркуляцію крові у його судинах. При запаленні та атеросклерозі *низькі концентрації NO* захищають ендотеліальні клітини від апоптозу. NO також пригнічує агрегацію тромбоцитів, експресію молекул адгезії та проліферацію клітин гладенької мускулатури.

**Підвищена продукція NO** пов'язана з такими патологіями, як артеріальна гіпертензія, гіперхолестеринемія, цукровий діабет, серцева недостатність.

**Асиметричний диметиларгінін (АДМА)** – ендогенний інгібітор NO-синтази, що бере участь у патогенезі атеросклерозу. АДМА запобігає перетворенню аргініну на цитрулін під дією NO-синтази, тобто порушує синтез антиатерогенного NO (рис. 5). Спостерігається кореляція між концентрацією АДМА у плазмі крові та рівнем загальної продукції NO.

Останні дослідження визначили **референтне значення рівня АДМА** близько **0,5 мкмоль/л**, який був достовірно підвищеним при ішемічному інсульті мозку, зокрема при транзиторній ішемічній атаці, але не спостерігалось підвищення при геморагічному інсульті мозку (0,51 мкмоль/л).



**Рис. 5.** Диметиларгінін диметиламіногідролаза-1 (DDANH1) руйнує АДМА і тим самим посилює передачу сигналів NO/цГМФ.  
ФДЕ – фосфодіестераза; sGC – розчинна гуанілатциклаза

АДМА є маркером ризику інсульту та транзиторних ішемічних атак (ТІА). Оскільки АДМА є конкурентним аналогом аргініну, то зниження співвідношення L-аргінін/АДМА також достовірно пов'язане зі зростанням цереброваскулярного ризику.

АДМА є слабким незалежним предиктором гострого інфаркту міокарда (ГІМ) та сильним предиктором ГІА. Рівень АДМА асоціюється з ризиком серцево-судинних ускладнень у людей з гіперглікемією, причому для цієї групи пацієнтів АДМА має більш прогностичне значення, ніж тест на hsCRP.

**Гомоцистеїн (ГЦ)** – це сірковмісна амінокислота, що утворюється в циклі відновлення метіоніну (рис. 6).

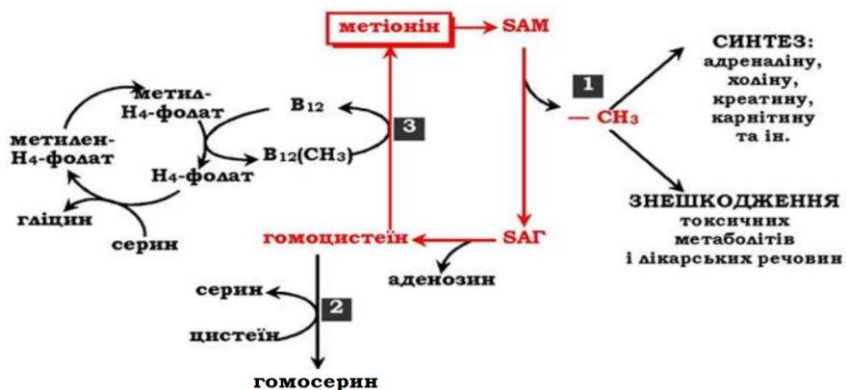


Рис. 6. Метаболізм метіоніну:

1 – реакції трансамінування (метилтрансферази); 2 – синтез цистеїну (цистатіонін-β-синтаза); 3 – відновлення метіоніну (метіонін-синтаза).

ГЦ має виражену токсичну дію на клітину, тому для її захисту існують спеціальні механізми виведення ГЦ із клітини. У нормі надлишок ГЦ катаболізується різними шляхами: за участю активної форми фолієвої кислоти та вітаміну  $V_{12}$  або за допомогою вітаміну  $V_6$  (рис. 7).

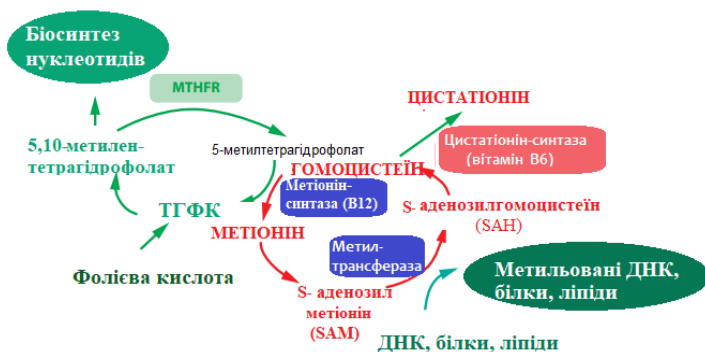


Рис. 7. Катаболізм надлишку гомоцистеїну.

*MTHFR* – 5,10-метилентетрагідрофолатредуктаза

Для перетворення надлишку ГЦ знов на метіонін потрібен фермент **5,10-метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR)**. Мутація в гені, що кодує *MTHFR*, найпоширеніша генетична причина підвищеного рівня ГЦ. Ген *MTHFR* локалізовано на хромосомі 1p36.3. Відомо близько двох десятків мутацій цього гена, які порушують функцію ферменту.

Найбільш вивченою мутацією є варіант, у якому нуклеотид цитозин (С) у позиції 677 замінений тимідином (Т), що призводить до заміни амінокислотного залишку аланіну на залишок валіну (позиція 222) в центрі зв'язування фолату. Такий поліморфізм *MTHFR* позначається як **С677Т мутація**. В осіб, гомозиготних за цією мутацією (генотип Т/Т), відзначається зниження активності ферменту приблизно до 35 % від середнього значення. Іншим варіантом поліморфізму гена *MTHFR* є заміна нуклеотиду аденін (А) на цитозин (С) у позиції 1298, тобто **А1298С мутація**, яка призводить до зміни структури ферменту, в якому глутамінова кислота в позиції 429 замінюється аланіном. Комбінація генотипів С677Т та А1298С супроводжується не тільки зниженням активності ферменту, але й підвищенням концентрації гомоцистеїну в плазмі та зниженням рівня фолієвої кислоти. **Мутація С677Т** гена *MTHFR* досить поширена у представників європейської раси – 35–55 % випадків. Така мутація супроводжується підвищенням рівня гомоцистеїну крові, що є ризиком розвитку нефропатії у вагітних, гестоза та інших ускладнень вагітності (відшарування плаценти, затримка росту плода, антенатальна смерть плода, дефекти розвитку нервової трубки плода, «заяча губа»). Серед європейців носіями генотипу Т/Т є приблизно 10 % населення, тоді як в африканців немає жодного генотипу Т/Т.

ГЦ швидко окислюється в плазмі крові, в результаті утворюється велика кількість радикалів активного кисню, які пошкоджують клітини ендотелію, призводять до втрати еластичності судини, а також окислення ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), що у свою чергу також сприяє розвитку серцево-судинних захворювань. Безпосередньо ушкоджуючи внутрішню артеріальну вистилку, ГЦ також пригнічує синтез оксиду азоту (NO) та сульфатованих глікозаміногліканів, що посилює агрегацію тромбоцитів. При більших концентраціях ГЦ знижується синтез простагліну, а також посилюється ріст артеріальних клітин та синтез ІЛ-6, який стимулює проліферацію гладком'язових клітин судинної стінки та призводить до розвитку тромбоваскулярної патології.

До причин збільшення вмісту ГЦ у плазмі відносять такі:

- Генетичні дефекти, що викликають зниження активності ферментів, відповідальних за метаболізм метіоніну та ГЦ.
- Недостатнє надходження вітамінів з їжею – кофакторів ферментів, необхідних для метаболізму ГЦ (фолієва кислота, вітаміни В<sub>12</sub> та В<sub>6</sub>), або внаслідок порушення всмоктування в кишечнику, підвищене надходження метіоніну з їжею, споживання кави понад 6 чашок на день.

• Ряд захворювань та використання деяких лікарських препаратів, а також паління, алкоголізм та гіподинамія.

• Демографічні чинники: вік, стать, раса.

**Референтні значення:**

Чоловіки: 6–15 мкмоль/л.

Жінки: 3–12 мкмоль/л.

Літні (понад 60 років): 15–20 мкмоль/л.

Довгожителі: 25–27 мкмоль/л.

**Підвищений рівень гомоцистеїну (гіпергомоцистеїнемія, ГГЦ):**

• Незалежний фактор розвитку тромбозів та порушень мозкового кровообігу (атеросклерозу, інсультів).

• Одна з ланок патогенезу ранньої тромбоваскулярної хвороби у хворих на інсулін-незалежний цукровий діабет.

• У період вагітності може спричинити різноманітні патології, аж до спонтанних абортів.

• У літньому віці збільшує схильність до хвороби Альцгеймера та старечого недоумства.

• Викликає депресивні стани, розвиток синдрому хронічної втоми.

• Сприяє зниженню щільності кісткової тканини та виникненню остеопорозу.

**Профілактикою пошкодження ендотелію** вважається використання фолієвої кислоти, а також вітамінів В<sub>6</sub> та В<sub>12</sub>. Високий рівень антиоксидантів може блокувати шкідливий вплив ГЦ на вистилання судин.

## Частина 2

### ЕНДОТЕЛІЙ ТА РЕГУЛЯЦІЯ СУДИННОГО ТОНУСУ

За дією вазоактивні речовини, що синтезуються ендотелієм, поділяються на вазоконстриктори та вазодилататори (*табл. 1*).

Таблиця 1

#### Основні ендотеліальні фактори, що впливають на тонус судин

Вазоконстриктори	Вазодилататори
Ендотелін-1	NO
Тромбоксан А2	Простациклін
20-НЕТЕ (20-гідроксиейкозотетраєнова кислота)	Натрійуретичний пептид С
Ангіотензин-II	Кініни

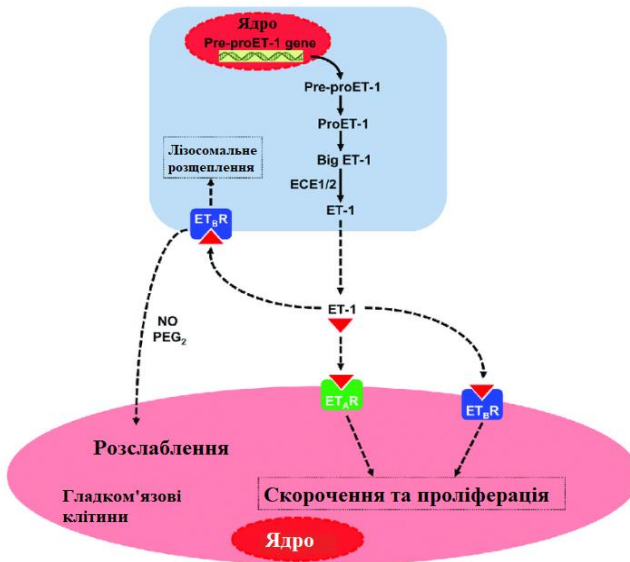
#### Ендотелін та Big-ендотелін

Ендотелін (ЕТ) є головним вазоконстрикторним пептидом, його потенціал у 10 разів вищий, ніж у ангіотензину II. На сьогодні виділено три ізоформи ЕТ: ЕТ-1, -2 і -3. Усі ізоформи складаються з 21 АМК залишку. Подібно до інших пептидних гормонів, ЕТ утворюються в результаті обмеженого протеолізу специфічного пре-ЕТ, відомого як Big-ЕТ, який складається із 38 залишків АМК.

## Пре-проендотелін

Процес перетворення Big-ET на ET здійснюється під дією мембранозв'язаної металопротеїнази – **ЕТ-перетворюючого ферменту**. ET має дуже короткий період напіврозпаду (близько 40 с) (рис. 8).

ET ідентифіковано у різних тканинах, таких як легені, нирки, мозок, периферичні ендокринні тканини, плацента. ET-1, на відміну від ET-2 і -3, продукується також ендотеліальними клітинами (рис. 8). ET-3 вважається відносно специфічним для головного мозку, де він утворюється у найбільшій кількості. ET-1 не накопичується в ендотеліальних клітинах, але дуже швидко утворюється під впливом багатьох факторів: адреналіну, ангіотензину-II, вазопресину, тромбіну, цитокінів та механічних впливів.



**Рис. 8.** Утворення ендотеліну-I (ET-I) із специфічного попередника пре-ET (Big-ET). *ETR* – рецептори ендотеліну; *PGI<sub>2</sub>* – простагландин I<sub>2</sub>; *NO* – оксид азоту

У **фізіологічних концентраціях ET** діє на ендотеліальні рецептори, викликаючи вивільнення факторів релаксації, а у більш високих активує рецептори на гладком'язових клітинах, стимулюючи стійку вазоконстрикцію. Таким чином, за допомогою того самого фактора реалізуються дві протилежні судинні реакції (скорочення і розслаблення), що викликаються різними механізмами.

Показано, що ET та Big-ET мають прогностичне значення при порушенні серцевої діяльності, при інфаркті міокарда. Крім того, ET є маркером коронарного атеросклерозу та коронарної ендотеліальної дисфункції,

порушення функціонування печінки, зниження функції нирок. Високі рівні ET у плазмі спостерігаються при різних станах: ішемії, після гемодіалізу та сильної гіпертензії, після трансплантації серця, печінки, нирок та кісткового мозку. Оскільки ET діє переважно локально, припускають, що підвищення його утворення та надходження до крові може бути причиною виникнення та посилення тяжкості перебігу ішемічної хвороби серця.

### Натрійуретичні пептиди (NP)

Передсердний (ANP), мозковий (BNP) та С-натрійуретичний (CNP) пептиди належать до сімейства гормонів, що секретуються передсердям, шлуночком та ендотеліальними клітинами (ЕК) судин відповідно. У мозку, судинах, нирках, надниркових залозах та легенях ідентифіковано рецептори для NP – А, В та С. Деградація NP здійснюється ферментом – **нейтральною ендопептидазою**, найбільша кількість якої визначається в епітеліальних клітинах проксимальних каналців нефрону (рис. 9).

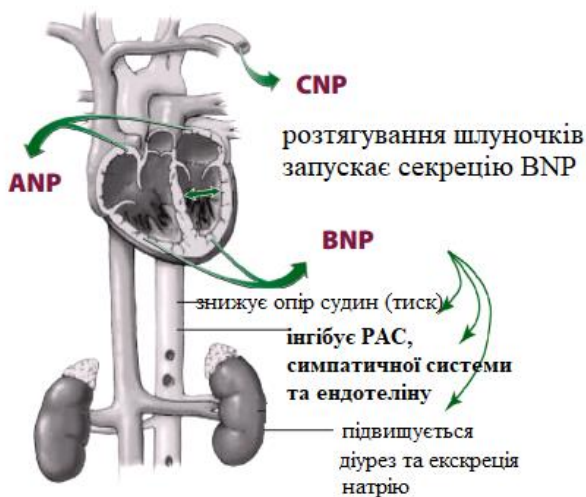
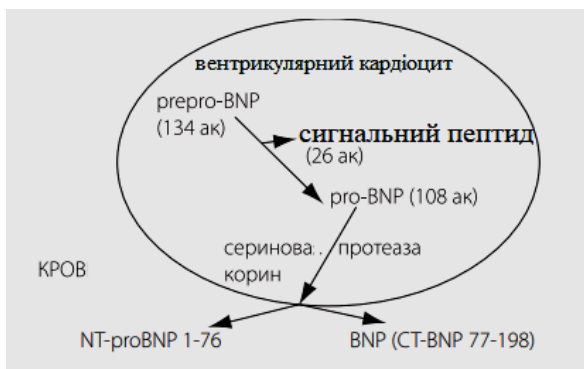


Рис. 9. Механізм дії натрійуретичних пептидів

Основним стимулом секреції NP є підвищення напруги міокарда зі збільшенням тиску в лівому шлуночку серця. При ССЗ NP корелює зі скорочувальною функцією серця, тому може бути використано для діагностики серцевої недостатності.

**Мозковий натрійуретичний пептид (BNP).** Зріла форма BNP, що секретується переважно у шлуночках серця, походить з високомолекулярного попередника pro-BNP. Біологічно активний BNP (BNP-32) людини складається з 32 С-термінальних амінокислотних залишків pro-BNP (рис. 10).



**Рис. 10.** Формування мозкового натрійуретичного пептиду (BNP)

BNP накопичується в серцевій тканині людини головним чином як BNP-32 та в менших кількостях у вигляді попередника pro-BNP. У плазмі циркулюють BNP-32, високомолекулярна форма BNP та N-термінальна частина pro-BNP, що згодом розщеплюється на Nt-proBNP та mid-proBNP (рис. 11). BNP викликає ряд діуретичних, натрійуретичних та гіпотензивних ефектів, подібних до тих, що характерні для ANP.

Рівень BNP у плазмі **суттєво збільшений** при порушенні функції серця, ниркової недостатності, хворобах печінки та у пацієнтів з різними формами вторинної гіпертонії. Високі концентрації BNP та pro-BNP спостерігаються у пацієнтів з дисфункцією лівого шлуночка, особливо перед ІМ. Рівень BNP дає можливість прогнозувати ризик раптової смерті у пацієнтів із систолічною дисфункцією лівого шлуночка.

**Підвищені рівні BNP** з'являються раніше в плазмі крові, ніж стають помітні клініко-інструментальні ознаки дисфункції лівого шлуночка та застійної серцевої недостатності. BNP незамінний для діагностики даної патології на ранніх стадіях, виявляючись чутливішим від ехокардіографії. За рівнем BNP можна чітко визначити рівень розвитку застійної серцевої недостатності за класифікацією NYHA (Нью-Йоркської кардіологічної асоціації).

**Передсердний натрійуретичний пептид (ANP)** – гормон білкової природи, що синтезується міоцитами передсердя як прогормон і накопичується в секреторних гранулах у вигляді 126 АМК залишків. Невеликі кількості ANP утворюються у клітинах шлуночків, в легенях та в нейронах центральної та периферичної нервової систем. ANP секретується у відповідь на розтягнення передсердь (збільшення об'єму внутрішньосудинної рідини при різних патологічних станах, зміна положення тіла з вертикального в горизонтальне, фізичне навантаження). При вивільненні у плазму крові прогормон виділяється в еквімолярних кількостях у вигляді pro-ANP (99-126)

з високою біологічною активністю (також відомий як  $\alpha$ -ANP (ANP 1-28)) та N-термінальної частини – proANP (1-98).  $\alpha$ -ANP зв'язується зі специфічними рецепторами (рис. 11).

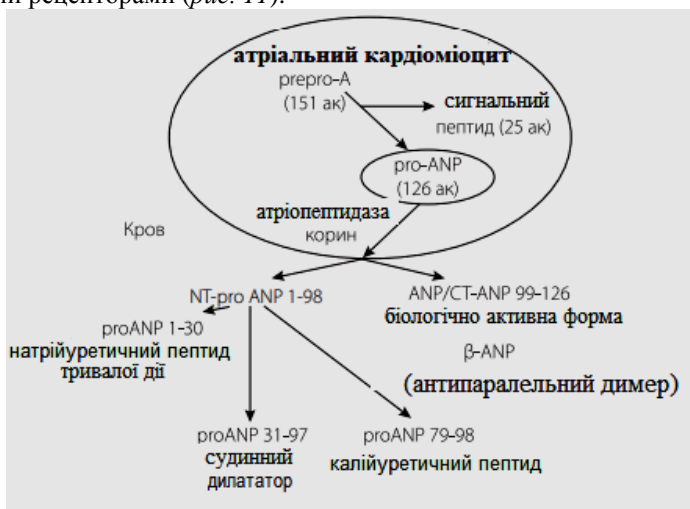


Рис. 11. Формування передсердного натрійуретичного пептиду (ANP)

У клінічних дослідженнях було показано, що в ранньому періоді серцевої дисфункції рівень pro-ANP (1-98) у плазмі у 50 разів вищий, ніж рівень  $\alpha$ -ANP. ProANP (1-98) далі розщеплюється на дві форми: pro-ANP (1-30) та pro-ANP (31-67). Pro-ANP (31-67) є доміантним імунореактивним епітопом у сечі.

Концентрація ANP у плазмі **підвищується** у пацієнтів з недостатністю мітрального клапана з прогресуючим погіршенням гемодинаміки. При миготливій аритмії вміст у плазмі ANP з часом знижується, що відображає зменшення секреторної активності передсердь.

**Натрійуретичний пептид С-типу (CNP)** утворюється переважно ендотелієм. CNP має вазоактивну дію, паракринно впливає на рецептори гладком'язових клітин, викликаючи збільшення утворення цГМФ і вазодилатацію. У крові концентрація CNP становить **2–3 пмоль/л**.

ANP та BNP мають менше значення в регуляції судинного тонуусу. Усі натрійуретичні пептиди беруть участь у регуляції артеріального тиску, підтримуючи водно-сольовий баланс та впливаючи на тонус судин. Усі пептиди швидко метаболізуються – час напіввиведення ANP, BNP, CNP становить близько 2–3 хв. Синтез CNP посилюється в умовах дефіциту NO, що має компенсаторне значення при артеріальній гіпертензії та атеросклерозі.

Підсумковий огляд загальних ефектів натрійуретичних пептидів представлено на *рис. 12*.

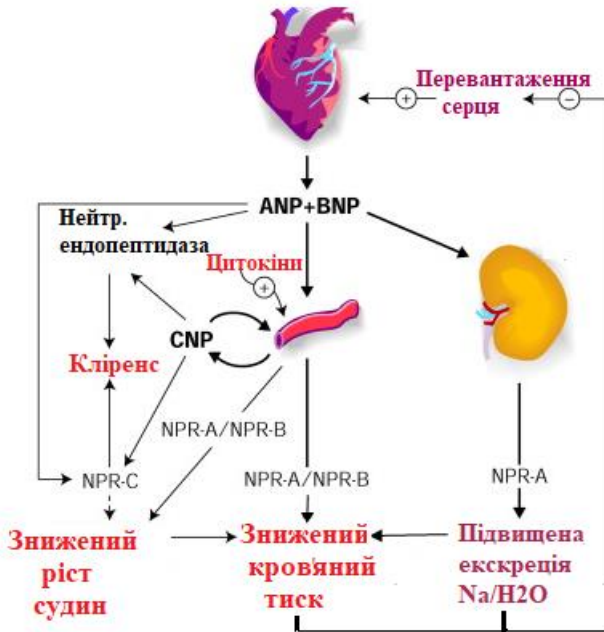


Рис. 12. Огляд загальних ефектів натрійуретичних пептидів.

**Простациклін (ПГІ2)** та **тромбоксан (ТхА2)** є продуктами арахідонової кислоти. Вони відіграють важливу роль у регуляції судинного гомеостазу, є антагоністами за дією на тромбоцити та гладку мускулатуру (*рис. 13*).

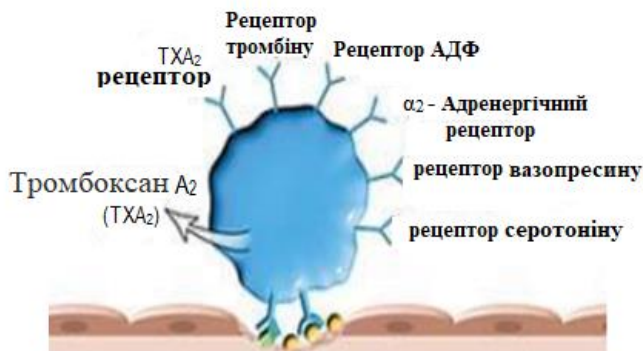


Рис. 13. Синтез ейкозаноїдів

Синтез простагліцину відбувається постійно з подальшою секрецією у кров. На відміну від інших простагландинів, простагліцин не повністю руйнується, проходячи через легені, і тому в разі локального збільшення його синтезу можуть спостерігатися системні ефекти. Основним механізмом, що регулює його утворення, є активність **циклооксигенази**.

Простагліцин є вазодилататором завдяки стимуляції специфічних рецепторів гладком'язових клітин судин, що призводить до підвищення активності в них аденілатциклази та до збільшення утворення в них цАМФ. Основна локалізація рецепторів простагліцину – гладком'язові клітини артеріальних судин, у венозних судинах ці рецептори не виявлено.

**ТхА<sub>2</sub>**, що утворюється в тромбоцитах і виділяється у кровотік, є потужним вазоконстриктором. При адгезії тромбоцитів до місця пошкодженої судини з тромбоцитів виділяється ТхА<sub>2</sub>, який діє як синергіст АДФ, тромбіну та колагену. Судинозвужувальний ефект також мають серотонін, адреналін, які виділяються із тромбоцитів, що викликає вторинний спазм судин (*рис. 14*).



**Рис. 14.** Рецептори на поверхні тромбоцита

Одночасно із ендотеліальних клітин виділяється ПГІ<sub>2</sub>, обмежуючи або запобігаючи тромбоутворенню. Збільшення продукції простагліцину спостерігається при пошкодженні ендотелію, гіпоксії під впливом вазоактивних речовин (адреналін, гістамін, брадикінін, ангіотензин II, ендотелін-1), цитокінів, тромбіну, гемодинамічних факторів.

Внаслідок дисбалансу динамічної рівноваги ТхА<sub>2</sub> і ПГІ<sub>2</sub> може розвиватися спазм коронарних артерій, що може бути результатом дисфункції ендотелію, або порушення реакції судини в місці самої атеросклеротичної бляшки (АСБ). При спазмі судини підвищується потреба міокарда у кисні, збільшується навантаження на серце, знижується коронарний кровотік та доставка кисню.

Таким чином, дисбаланс у системі ТхА<sub>2</sub>/ПГІ<sub>2</sub> сприяє розвитку гострого коронарного синдрому.

### Частина 3 ЕНДОТЕЛІЙ ТА ТРОМБОГЕННІСТЬ

Усі речовини, що секретуються ендотелієм і беруть участь у гемостазі та тромбозі, можна поділити на дві групи – *тромбогенні* та *атромбогенні*. До речовин, що ініціюють адгезію та агрегацію тромбоцитів, належать фактор Віллебранда, фактор активації тромбоцитів, АДФ, ТхА2.

Секреція атромбогенних речовин забезпечує тромборезистентність кровоносних судин. У механізмі швидких реакцій велике значення мають активація калієвих каналів (протягом мілісекунд), зміна концентрації  $Ca^{2+}$ , гіперполяризація мембрани ендотеліоциту, активація G-білків. Повільні реакції пов'язані зі збільшенням синтезу тромборегуляторів (t-PA, PAI-1), а також ендотеліальної NO-синтази.

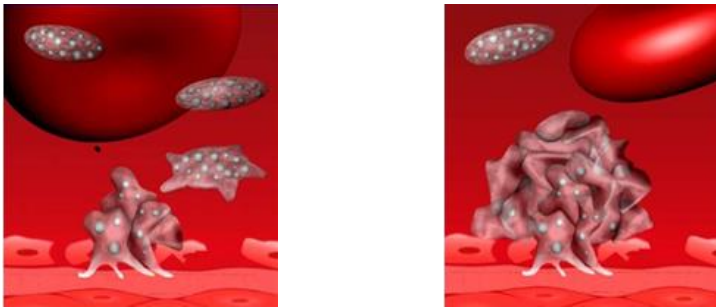


Рис. 15. Формування тромбу

#### Тромборезистентність судин

**Тромбомодулін (CD141)** – рецептор тромбіну, експресований на мембранах ендотеліальних клітин. При взаємодії з тромбіном тромбомодулін/тромбіновий комплекс, що утворюється, активує протеїн С, який у свою чергу інактивує фактори Va, VIIIa, Ха та XIIIa (рис. 16).

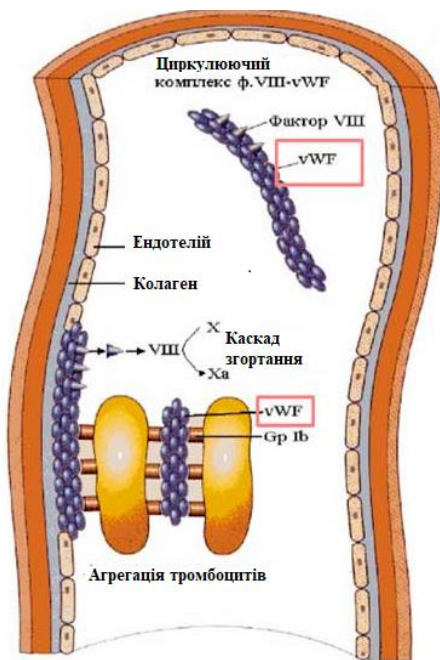


Рис. 16. Активация протеїнів С комплексом «тромбін–тромбомодулін–ендотеліальний рецептор протеїну С (А) та інактивация факторів Va і VIIIa коагуляційного каскаду (В)

Крім того, CD141 інгібує перетворення фібриногену до фібрину, прискорює інактивацію тромбіну антитромбіном III. Зв'язування тромбіну з CD141 перешкоджає інактивації протеїну S та активації тромбоцитів, моноцитів, Т-лімфоцитів та опасистих клітин. Концентрація тромбомодуліну (трансмембранної форми) зростає зі збільшенням співвідношення поверхні судин до об'єму крові.

**Підвищена концентрація рівня тромбомодуліну** у плазмі вказує нашкодження судинного ендотелію.

**Фактор Віллебранда (vWF)** – мультимерний адгезивний глікопротеїн, що синтезується ендотеліальними клітинами та мегакаріоцитами. Найважливіша функція цього фактора полягає в тому, що він є носієм-стабілізатором для прокоагулянтного протеїну **ф.VIII:C**, який циркулює у сироватці у вигляді нековалентно зв'язаного комплексу та є білком адгезії у процесах гемостазу (рис. 17).



**Рис. 17.** Функція фактора Віллебранда (vWF)

**Підвищені рівні антигену vWF/активності** є індикатором ушкодження ендотелію при судинних захворюваннях. При багатьох захворюваннях, що супроводжуються гострим та хронічним пошкодженням ендотелію (цукровий діабет, атеросклероз, пухлини різної локалізації, гестоз тощо),

рівень vWF у крові значно підвищується. При пошкодженні кровоносної судини vWF сприяє адгезії тромбоцитів, зв'язуючись з адгезивним рецептором глікопротеїну GPIb. Такий механізм, можливо, є одним із головних етапів початкового приєднання тромбоцитів до пошкодженої судинної стінки. Зниження концентрації vWF знайдено при гіпотиреозі та системному червоному вовчаку. Набуті форми захворювання описані при аутоімунних порушеннях, хворобі Вальденстрему, доброякісних моноклональних гаммапатіях, карциномі надниркових залоз, ревматоїдних васкулітах та діабеті.

#### Частина 4 ЕНДОТЕЛІЙ ТА ФІБРИНОЛІЗ

Порушення участі ендотелію в регуляції фібринолізу є важливою ланкою в патогенезі багатьох захворювань, у тому числі атеросклерозу, й істотно впливає на динаміку тромбозу.

##### Тканинний та урокіназний активатори плазміногену (t-PA та u-PA)

В ендотелії утворюються і секретуються тканинний та урокіназний активатори плазміногену та їх інгібітори PAI-1 та PAI-2. **t-PA**, подібно до vWF, секретується постійно, але «викид» його з ендотеліоцитів може різко збільшуватися у певних ситуаціях (фізичне навантаження, катехоламінемія, венозна оклюзія тощо).

Активатори плазміногену – урокіназний активатор плазміногену (**u-PA**) і тканинний активатор плазміногену (**t-PA**) – циркулюють у плазмі у вигляді зворотного комплексу з PAI-1. Коли утворюється фібриновий згусток, плазміноген і t-PA або u-PA зв'язуються із згустком і утворюють плазмін, що призводить до лізису зшитого фібрину до продуктів розпаду фібрину. PAI-1 також зв'язується з фібрином і, будучи зв'язаним, може необоротно інгібувати активатори плазміногену (рис. 18).

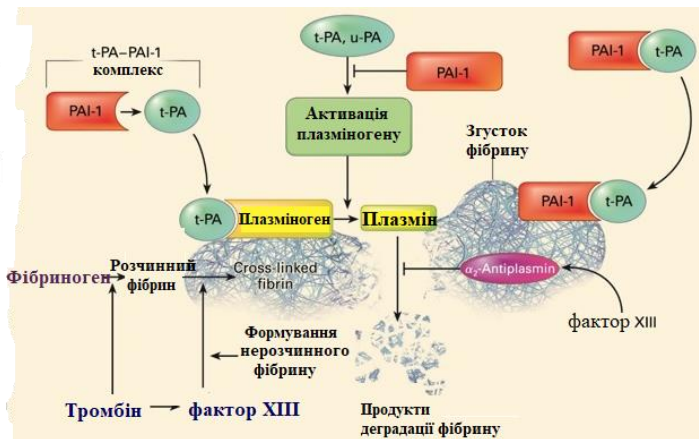


Рис. 18. Фактори фібринолітичної системи крові

Протеолітична система плазміноген-t-PA-PAI-1 має значення не тільки для фібринолізу, але й залучена до багатьох інших фізіологічних та патологічних процесів: ангіогенез, овуляцію, хвороби сполучної тканини, сепсис, пухлинний ріст, тромболітичні та геморагічні розлади та інші.

Однією з умов міграції ендотеліальних клітин є вивільнення активаторів плазміногену (тканинного та урокіназного) та матриксних металопротеїназ, джерелами яких є самі ендотеліоцити й навколишні клітини. Активація протеаз та руйнування екстрацелюлярного матриксу, процеси підвищення проникності ендотелію та руйнування базальної мембрани є найважливішими умовами для міграції ендотеліальних клітин.

**Концентрація циркулюючого t-PA у плазмі** становить приблизно 2–8 нг/мл. Однак 95 % циркулюючого t-PA входить до складу комплексу з інгібітором активатора плазміногену (PAI-1), отже, знаходиться не в активному стані.

#### **Підвищений рівень t-PA:**

- спостерігається у пацієнтів із тромботичними порушеннями;
- використовується для оцінки ризику інфаркту міокарда;
- зв'язаний з ризиком розвитку ішемічного інсульту.

#### **Рецептор активатора плазміногену урокіназного типу (u-PA)**

Рецептори u-PA синтезуються як нормальними, так і клітинами пухлин, присутні на моноцитах, фіробластах, тромбоцитах та ендотеліальних клітинах. u-PA рецептор зв'язаний з поверхнею мембрани через глікозил-фосфатидилінозит. Такий зв'язок дозволяє йому функціонувати як внутрішньому мембранному білку. u-PA може відігравати роль у виникненні станів гіперкоагуляції. Рецептор зв'язується як з урокіназою, так і з плазміногеном, утворюючи міцний комплекс, який збільшує кількість плазміногену, синтезованого на поверхні ендотеліальної клітини.

## **Частина 5**

### **ЕНДОТЕЛІЙ ТА АНГІОГЕНЕЗ**

При гіпоксії або в умовах пошкодження тканин відбувається активація зростання судин, при якій ендотелій бере безпосередню участь. У стабільному стані ендотеліоцити не проліферують і лише зрідка (1 раз на 7–10 років) діляться. Під дією ангіогенних факторів росту та цитокінів відбувається активація проліферації ендотеліоцитів, яка завершується їх диференціюванням та подальшим «дозріванням» судини (або її ремоделюванням), після чого знову сформована судина переходить у стабільний стан. Процес ангіогенезу необхідний для тривалої адаптації тканин за умов ушкодження. При цьому відбувається часткове надходження факторів росту в кров, що має діагностичне значення.

## Частина 6

### ЕНДОТЕЛІЙ ТА АДГЕЗІЯ ЛЕЙКОЦИТІВ

Взаємодія лейкоцитів з ендотелієм судин відбувається за допомогою спеціальних адгезивних молекул, які є як на ендотеліоцитах, так і на лейкоцитах. Основним регулятором процесу адгезії лейкоцитів є ендотелій. Лейкоцити активуються у фазу альтерації різними хемоатрактантами (з групи медіаторів запалення), які надалі сприяють міграції лейкоцитів та їх подальшому виходу до тканини (рис. 19). Виділяють дві групи атрактантів:

✓ «класичні» – N-формільні бактеріальні пептидні антигени, білки системи комплементу C3a і C5a, а також різні ліпідні молекули за типом лейкотрієну B<sub>4</sub>;

✓ «селективні» – група білків суперсімейства хемокінів, які можна умовно поділити на 4 групи: CXС, CX3С, СС і С (названі так за наявності двох перших залишків цистеїну – парних та висококонсервативних).

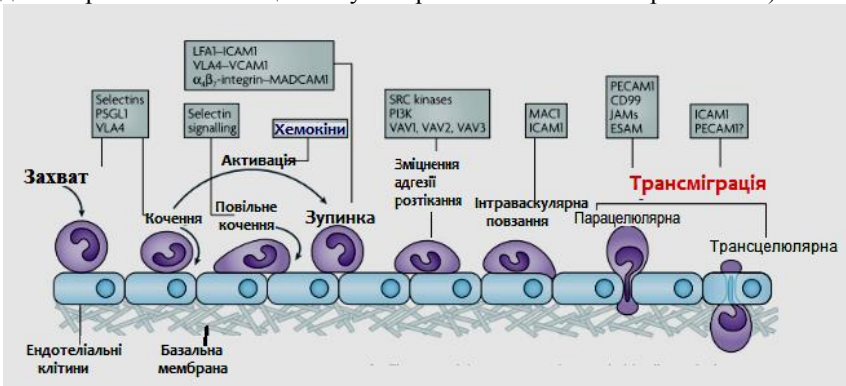


Рис. 19. Взаємодія лейкоцитів з ендотелієм.

MAC1 – макрофазальний антиген 1; VVO – везикуло-вакуолярні органели; GFTP – переносник (англ. GDP-fucose transport protein), що кодується геном *SLC35C1* (він же *FUCT1*); GPCR – рецептор G-білка (або G-protein coupled receptor)

Хемоатрактанти зв'язуються зі специфічними рецепторами лейкоцитів і викликають їх переміщення «градієнтом хемоатракції», тобто до місця запалення. У людини відомо близько 18 хемокінових рецепторів, усі вони пов'язані з G-білками і складаються з 7 трансмембранних доменів, що є типовим для багатьох рецепторів. При активації цих рецепторів починає синтезуватися група молекул адгезії, яка потрібна для послідовного каскадного переходу лейкоцитів у тканини. Спочатку лейкоцити рухаються з потоком крові, поступово виходячи з осьового потоку на периферію і наближаючись до стінки судини (маргінація), після чого лейкоцити прикріплюються до ендотелію і просочуються крізь нього безпосередньо

до місця ушкодження. Класично виділяють три етапи у процесі досягнення тканинного вогнища запалення: «хитання» («rolling»), обумовлене селектинами; активація лейкоцитів під впливом хемокінів та впровадження у тканину, опосередковане інтегринами.

Першим етапом залишається «хитання» або «перекочування» лейкоцитів, зумовлене особливими білками – селектинами та інтегринами.

**Селектини** можна назвати молекулами розпізнавання та прикріплення. Більшість лейкоцитів секретують селектин Р, клітини ендотелію (запальні) – селектини Е та L. Основний рецептор для всіх них – Р-селективний глікозильований рецептор-1 (**PSGR-1**), завдяки якому лейкоцити здатні міцно прикріплюватися до ендотелію, а також лейкоцити, які не мають необхідного «рецепторного паспорта», не можуть пройти в осередок запалення.

**Інтегрини** – ще одна група білків з адгезивними властивостями:  $\beta$ 1- і  $\beta$ 2-інтегрини та ін. Найбільш важливими є такі представники:

- $\alpha$ 4 $\beta$ 7-інтегрин – необхідний для прикріплення до рецепторів клітинної адгезії слизової оболонки судини MADCAM-1 (*mucosal vascular addressin cell-adhesion molecule-1*);

- $\alpha$ 4 $\beta$ 1-інтегрин або VLA4 (англ. *very late antigen-4*) – необхідний для прикріплення до позаклітинного рецептора адгезії VCAM-1 (англ. *vascular cell-adhesion molecule-1*);

- $\beta$ 2-інтегрин – необхідний для з'єднання з внутрішньоклітинним рецептором адгезії ICAM-1 (англ. *intracellular adhesion molecule-1*);

- $\alpha$ L $\beta$ 2-інтегрин, який має абревіатуру LFA-1 (*lymphocyte function-associated antigen-1*), що зв'язується з ICAM-1 рецептором.

Підвищення адгезивності ендотелію має велике значення у патогенезі дисфункції ендотелію при запаленні, атеросклерозі, септичному шоці та інших патологічних процесах.

## Частина 7

### МАРКЕРИ УШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА

**Креатинфосфокіназа (КФК)** є ферментом, який знаходиться у високій концентрації в міокарді та скелетних м'язах і в набагато низьких концентраціях – в головному мозку. Має димерну структуру та чотири форми: мітохондріальний та цитозольні ізоферменти з трьома фракціями:

- КФК ММ (КФК-ММ, м'язова);
- КФК МВ (КФК-МВ, серцева);
- КФК ВВ (КФК-ВВ, мозкова).

У здорових людей рівень загальної КФК представлений майже повністю ферментом КФК ММ. Загальна КК у серцевому м'язі складається з двох ізоферментів: КФК-ММ (близько 60 % загальної активності) та КФК-МВ (близько 40 %); КФК-ВВ у крові відсутня.

**КФК-МВ** – димер, що складається з двох субодиниць: М (м'язова) та В (мозкова). Вважається кардіоспецифічним. Скелетні м'язи містять до 3 % цього білка. Підвищення у крові активності КФК-МВ є найбільш специфічним для ІМ. Розмір підвищення КФК-МВ відповідає величині ураженої зони міокарда. Якщо в перші години ІМ хворому почали проводити тромболітичну терапію, то пік активності КФК-МВ може виникнути раніше, ніж зазвичай, що пояснюється швидким вимиванням ферменту з ураженої зони. Активність КФК-МВ при ІМ коливається від 6 до 25 %.

**Референтні значення, Од/л:**

Чоловіки: 38,0–174,0.

Жінки: 26,0–140,0.

**Коефіцієнт перерахунку:** Од/л  $\times$  0,0167 = мкат/л.

**Підвищений рівень:**

• Гострий інфаркт міокарда (через 4–8 год після гострого нападу і досягає максимуму через 12–24 год, на третю добу активність ферменту вертається до нормальних значень).

- Міокардит.
- Після хірургічного втручання на серці.
- М'язова дистрофія Дюшена, поліміозит/дерматомиозит, травми м'язів.
- Синдром міалгії.
- Злоякісна гіпертермія.
- Субарахноїдальна геморагія.

**Знижений рівень:**

- При зниженні м'язової маси, пов'язаної із метастазами пухлин.
- Лікування кортикостероїдами.
- Алкогольна інтоксикація печінки.
- Колагенози.

**Інтерферуючі фактори:** постійні фізичні навантаження, підняття важких речей та інші види важких робіт можуть зумовити збільшення КФК. Внутрішньом'язові ін'єкції можуть іноді призводити до підвищених значень до 2–6 разів. Ушкодження скелетної мускулатури супроводжується збільшенням КК-ММ, яка може «симулювати» підвищення КК-МВ.

**Міоглобін** – гемовмісний хромопротеїн (*рис. 20*). Він є легким ланцюгом міозину з м.м. 17,6 кДа. Це білок, що транспортує кисень у скелетних м'язах та міокарді. Міоглобін зв'язується із білками крові; при ушкодженні міокарда та скелетних м'язів легко та швидко потрапляє в кров і потім швидко видаляється нирками.

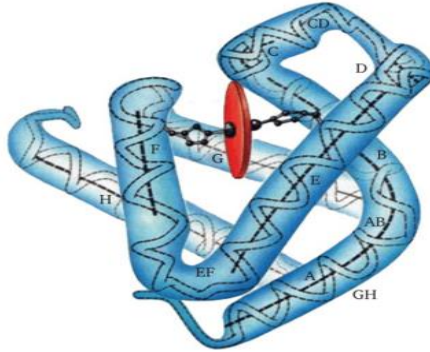


Рис. 20. Міоглобін

**Підвищення рівня міоглобіну в крові** спостерігається вже через 2–3 год після появи болю при ІМ і зберігається 2–3 доби. Зростання міоглобіну в перші 2 год виявляється у 50 %, до 3-ї години – у 92 %, до 5-ї години – у 100 % хворих з ІМ. Рівень міоглобіну при ІМ може підвищуватись у 4–10 разів та більше і залежить від площі ушкодження міокарда. Нормалізація рівня міоглобіну відзначається у хворих на ІМ на 2–3-ю добу.

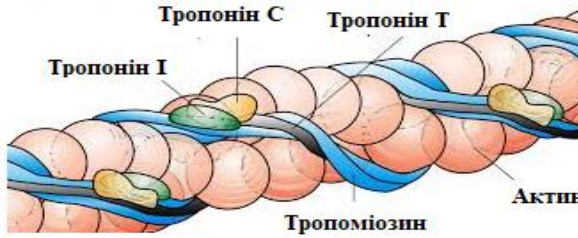
Міоглобін є цитозольним білком, тому він підвищується у крові першим. При розвитку ускладнень ІМ рівень міоглобіну залишається підвищеним понад 3 доби. Повторні підвищення рівня міоглобіну в крові на тлі нормалізації, що вже почалася, можуть свідчити про розширення зони ІМ або утворення нових некротичних вогнищ. Визначення концентрації міоглобіну в крові має велике значення у хворих із синдромом тривалого здавлення, при великих травмах м'язів, найчастішим ускладненням яких є гостра ниркова недостатність.

Рівень міоглобіну в крові збільшується при тяжкому електрошоці, термічних опіках, вторинній токсичній міоглобінурії, пошкодженні скелетних м'язів, артеріальній оклюзії з ішемією м'язової маси.

### Тропоніни

Тропонін є білковим комплексом з м.м. 39,7 кДа, що бере участь у механізмі регуляції скорочень серцевих м'язів і винятково перебуває у міокарді (рис. 21). Взаємодія актину та міозину через опосередковану участь кальцію веде до скорочення та розслаблення поперечносмугастих м'язів, регулюється білковим комплексом, відомим як «**тропонін**», комплексом з трьома субодиницями:

- тропонін С, який зв'язується з іонами кальцію ( $\text{Ca}^{2+}$ );
- тропонін І, який перешкоджає взаємодії між актином та міозином;
- тропонін Т, який приєднує тропоніновий комплекс до тонких ниток шляхом зв'язування з тропоміозином.



**Рис. 21.** Формування актин-тропоміозинового комплексу

Вміст тропоніну ТнТ у кардіоцитах приблизно у 2 рази перевищує рівень тропоніну І. Для тропоніну І відмінності в АМК послідовності між серцевою та скелетною ізоформами становлять близько 40 %. Ця різниця дозволила синтезувати моноклональні антитіла до серцевих тропонінів зі зниженою реактивністю на відміну від відповідних ізоформ у скелетних м'язах.

**У здорових осіб тропоніни у крові не виявляються.**

При ГІМ **підвищення рівня ТнТ** протягом перших 48 год має таке саме значення, як і КФК-МВ, але має більш високу специфічність: 97,37 % на відміну від 89,5 % порівняно з КФК. Висока специфічність тропонінів робить їх особливо цінними у діагностиці ІМ після електроімпульсної терапії, реанімаційних заходів, хірургічних втручань, оскільки КФК у подібних ситуаціях суттєво «реагує» на пошкодження скелетних м'язів.

**Підвищення рівня тропоніну І** у крові відзначається через 4–6 год після гострого нападу (у 50 % хворих), досягає максимуму на 2-й день і повертається до норми між 6-ю та 8-ю добами. Процес вивільнення тропоніну І має однофазний характер, а тропоніну Т – двофазний, що обумовлено великим вмістом його у цитоплазматичній фракції. Якщо розчинені в цитозолі білки (міоглобін) відносно швидко вимиваються із зони некрозу, деградація скорочувального апарату кардіоміоцитів триваліша за часом, тому збільшення рівня тропонінів визначається протягом 8–10 днів після початку ІМ (рис. 22).

**Підвищений рівень тропонінів**

**Тропонін І:**

- інфаркт міокарда;
- хронічна ішемічна хвороба серця;
- гостре ушкодження скелетних м'язів.

**Тропонін Т:**

- інфаркт міокарда;
- нестабільна стенокардія;
- міокардит;
- пошкодження міокарда після ангіопластики/шунтування.

**Диференційний діагноз ІМ** можливий при концентрації тропоніну І близько **2,5 нг/мл**. Рівень тропоніну І підвищується у хворих на нестабільну стенокардію при розвитку мікронекрозів. При стабільній стенокардії підвищення вмісту тропоніну І не відзначається.

Концентрації **вище 2,0 нг/мл** мають високе прогностичне значення щодо розвитку ІМ та смерті, що дозволяє оцінювати рівень ризику у пацієнтів зі стенокардією.

На відміну від тропоніну Т, рівень тропоніну І **не підвищується** у хворих з нирковою недостатністю, при політравмах та захворюваннях м'язів.

**Негативний результат тропонінового тесту** у хворих з больовим синдромом у серці дозволяє з високим ступенем ймовірності виключити осіб з високим ризиком подальших коронарних ускладнень.

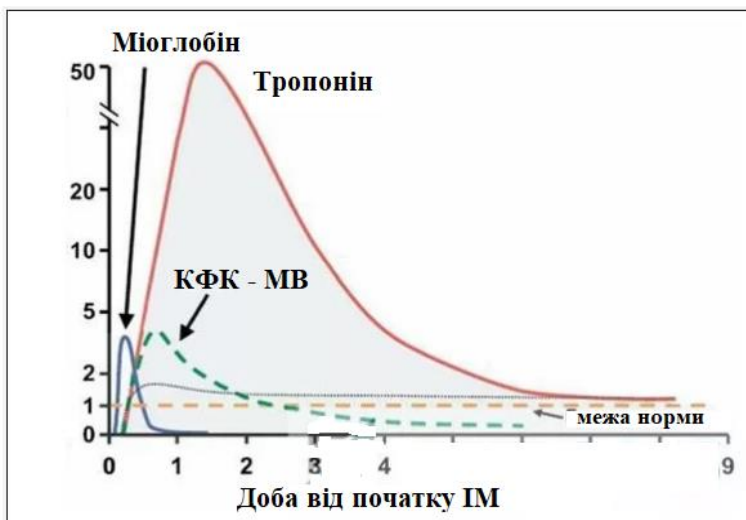
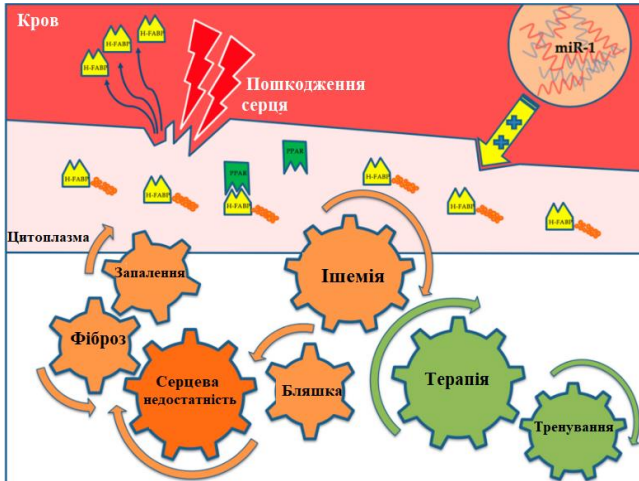


Рис. 22. Динаміка активності ферментів-маркерів при ІМ протягом 9 діб

**Білок, який зв'язує жирні кислоти, серцева форма (H-FABP; FABP3; heart type fatty acid binding protein)** – клас цитоплазматичних протеїнів, які пов'язують довгі ланцюги жирних кислот. Вони широко представлені в різних типах клітин та відіграють важливу роль у внутрішньоклітинному катаболізмі жирних кислот. При некрозі H-FABP швидко виходить у кровоток; кінетика подібна до міоглобіну.

Відомо **6** тканиноспецифічних форм FABP. У міокарді FABP міститься у високій концентрації – 10–20 % усіх цитоплазматичних білків. H-FABP (FABP3) – невеликий білок із м.м. 15 кДа, який при ГІМ вивільняється в кров (рис. 23). Найбільша концентрація H-FABP спостерігається через

2–3 год після загрудинного болю, досягає максимального рівня через 8–10 год і нормалізується через 18–30 год. Завдяки таким властивостям Н-FABP використовують як чутливий маркер для ранньої діагностики ГІМ та для моніторингу його перебігу.



**Рис. 23.** Огляд Н-FABP за фізіологічних і патофізіологічних умов.

*miR-1 – мікроРНК 1; PPAR – рецептор, який активується проліфератором пероксисом (PPAR); H-FABP – білок серцевого типу, що зв'язує жирні кислоти*

У фізіологічних умовах Н-FABP виконує роль транспортного білка в клітинному метаболізмі і зворотно зв'язує жирні кислоти. Він може активувати PPAR і відіграє важливу роль у ліпідному обміні та енергетичному гомеостазі. Експресія Н-FABP регулюється мікроРНК miR-1. У відповідь на ураження серця Н-FABP швидко вивільняється в кровотік, де його можна кількісно визначити. Фізичні вправи, а також фармакологічна терапія, такі як терапія тахікардії, знижують рівні Н-FABP у плазмі.

Наприклад, при обстеженні 2 287 хворих на гострий коронарний синдром у 332 (14,5 %) було виявлено **підвищені рівні Н-FABP (> 8 нг/мл)**, що дозволяє виявити осіб з більшим ризиком небажаних подій навіть серед хворих із нормальним рівнем тропоніну І.

У сироватці плазми здорових людей – близько **1,6 нг/мл Н-FABP**. З віком рівень даного показника незначно зростає.

## Частина 8

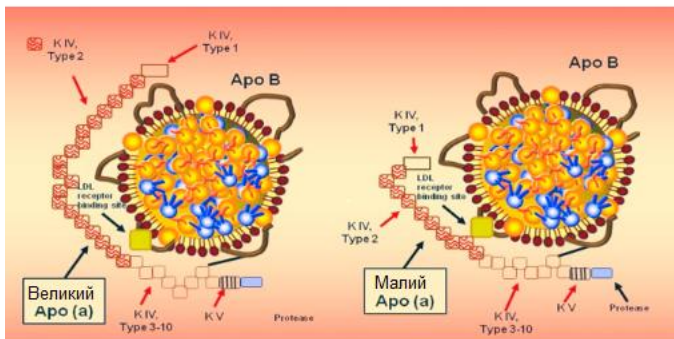
### МАРКЕРИ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

#### Маркери ризику ССЗ

Виявлені наступні фактори, що сприяють розвитку і прогресуванню ІХС: підвищений рівень холестерину в плазмі крові (ХС), особливо міститься в ліпопротеїнах низької щільності (ЛПНЩ), знижений рівень ХС ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), підвищений рівень тригліцеридів (ТАГ), куріння, високий артеріальний тиск, низька фізична активність, надлишкова маса тіла, зловживання алкоголем. Серйозними факторами, що підвищують ризик несприятливого розвитку ССЗ, є ЦД, прояви тромбофілії, запальні та оксидативні процеси, що пошкоджують судинний ендотелій. При визначенні ступеня важкості ІХС необхідно враховувати, що більшість факторів ризику взаємопов'язані і при одночасній дії посилюють вплив одного на інший, різко підвищуючи ймовірність небажаних подій.

**Аполіпопротеїн А (апо-А)** – це глікопротеїн, пов'язаний дисульфідними містками з аполіпопротеїном В (Апо-В). Ці два аполіпопротеїни, зв'язуючись з ліпідами, утворюють ліпопротеїнову частинку А, що позначається **Лп(а)**.

**Лп(а)** – це атерогенна частка із щільністю 1,051–1,082 г/мл, із середнім діаметром 26 нм. Лп(а) дуже схожий на ЛПНЩ, але у Апо-А Лп(а) ковалентно зв'язаний з Апо-В (рис. 24). Показано, що первинна структура активних ділянок Апо-А має високий рівень гомології (до 98 %) з білками каскаду коагуляції: плазміногеном, тканинним активатором плазміногену та фактором XII.



**Рис. 24.** Ізоформа великого Апо(а) з більшою молекулярною масою (НМВ) завдяки множинним повторам KIV-2 менш атерогенна, ніж ізоформа (LMW) з меншою кількістю повторів KIV-2

Ця структурна гомологія забезпечує участь Лп(а) у процесах атеротромбогенезу шляхом прикріплення тромбу в ділянках судинної стінки, багатих на Лп(а).

Останні дослідження показали, що Апо-А та Лп(а) конкурують із плазміногеном за зв'язування з його рецептором. Ця властивість Апо-А, можливо, пояснює взаємозв'язок високих концентрацій Лп(а) з ІМ. Концентрація Лп(а) у крові людини безпосередньо залежить від тяжкості атеросклеротичних (АС) уражень коронарних, каротидних та периферичних артерій. Нині Лп(а) сприймається як незалежний біохімічний маркер АС. Численні роботи доводять, що рівень циркулюючого Лп(а) є незалежним фактором ризику розвитку ССЗ.

**Підвищена концентрація Лп(а):**

- успадкований фактор ризику ІХС;
- сімейна гіперхолестеринемія;
- індикатор захворювань судин головного мозку;
- показник балансу атерогенних та антиатерогенних частинок Апо-В/Апо-А є найбільш точним індикатором ризику ССЗ у осіб з відсутністю симптомів та осіб, які страждають на діабет;
- показник Апо-В/Апо-А – найадекватніший показник ефективності терапії, спрямованої на зниження рівнів ЛПНЩ-ХС.

**Референтні значення, г/л:**

*Апо-А:* Жінки: 1,08–2,25.  
Чоловіки: 1,04–2,02.  
*Апо-В:* Жінки: 0,60–1,17.  
Чоловіки: 0,66–1,33.

**Коефіцієнт перерахунку:**

*Апо-А:*  $\text{г/л} \times 35,7 = \text{мкмоль/л}$ .  
 $\text{г/л} \times 100 = \text{мг/дл}$ .  
 $\text{мг/дл} \times 0,01 = \text{г/л}$ .  
*Апо-В:*  $\text{г/л} \times 1,95 = \text{мкмоль/л}$ .  
 $\text{г/л} \times 100 = \text{мг/дл}$ .  
 $\text{мг/дл} \times 0,01 = \text{г/л}$ .

**Підвищений рівень:**

***Апо-А:***

- спадкова гіперальфаліпопротеїнемія;
- вагітність;
- лікування естрогенами;
- прийом алкоголю;
- фізичні навантаження.

***Апо-В:***

- гіперліпопротеїнемія;
- дефіцит апопротеїну Е;
- спадкова гіперапобеталіпопротеїнемія;
- нефротичний синдром;
- вагітність;
- обструкція жовчних шляхів;

- гемодіаліз;
- цукровий діабет;
- паління;
- дисглобулінемія;
- гіпотиреоз.

### **Знижений рівень**

#### ***Апо-А1:***

- дієта;
- паління;
- спадкова гіперальфаліпопротеїнемія;
- цукровий діабет;
- гемодіаліз;
- інфекції;
- β-ліпопротеїнемія;
- дефіцит АпоС5ІІ, АпоА5СІІІ;
- гепатоцелюлярна патологія;
- нефротичний синдром і хвороби нирок.

#### ***Апо-В:***

- захворювання печінки;
- гіпо- та абеталіпопротеїнемія;
- мальабсорбція/мальнутриція;
- гіпотиреоз;
- дефіцит АпоС5ІІ;
- гіперліпідемія типу І, альфаеталіпопротеїнемія;
- фізичні навантаження;
- інфекції.

### **Ліпідний профіль: загальний ХС, тригліцериди, ЛПВЩ-ХС, ЛПНЩ-ХС ЛПДНЩ-ХС**

Рівні в крові ХС та тригліцеридів є найбільш важливими показниками стану ліпідного обміну у хворих. Існує залежність між зростанням концентрації ХС у крові та зростанням ризику розвитку ІХС. В осіб, які входять до групи ризику ІХС, визначення ХС в крові рекомендується проводити 1 раз на 3 міс.

При концентрації **загального холестеролу** в діапазоні **5,2–6,5 ммоль/л** рекомендується проводити дослідження вмісту в крові ЛПНЩ-ХС, які є атерогенними ліпопротеїнами. ЛПНЩ-ХС є основною транспортною формою ХС для потреб клітин судинної стінки, а при патологічних станах – джерелом накопичення його в стінці судини. Саме тому при ІІ типі гіперліпопротеїнемії, яка характеризується високим рівнем ЛПНЩ-ХС, часто спостерігаються відносно ранній та різко виражений АС та ІХС.

**ЛПДНЩ** є головною транспортною формою для ендogenous тригліцеринів. Збільшення вмісту ЛПДНЩ-ХС завжди корелює зі збільшенням рівня тригліцеринів. Окреме визначення ЛПДНЩ-ХС самостійного діагностичного значення не має і розглядається в комплексі з ЛПНЩ-ХС та ЛПВЩ-ХС. Визначення рівня ЛПДНЩ у клінічній практиці використовується головним чином для диференційної діагностики дисліпопротеїнемії:

$$\text{ХС ЛПДНЩ} = \text{Загальний ХС} - \text{ХС ЛПВЩ} - \text{ХС ЛПНЩ}$$

або за другою формулою:

$$\text{ХС ЛПДНЩ} = \text{ТГ} / 2,18 \text{ (ммоль/л)}.$$

Встановлено, що пацієнти з низькою концентрацією ЛПВЩ-ХС характеризуються підвищеним ризиком ІХС, навіть при низьких значеннях вмісту загального холестеролу в сироватці крові, тому визначення концентрації ЛПВЩ-ХС є обов'язковим для оцінки ліпопротеїнового спектра крові. Для оцінки співвідношення атерогенних та антиатерогенних ліпопротеїнів найбільш простим та високоінформативним показником є **холестериновий коефіцієнт атерогенності**, що розраховується на підставі визначення загального ХС та ЛПВЩ-ХС:

$$\text{Коефіцієнт атерогенності} = (\text{загальний холестерин} - \text{ХСЛПВЩ}) / \text{ХСЛПВЩ}.$$

У нормі у здорових чоловіків у віці 40–60 років без клінічних ознак атеросклерозу він коливається до 3,0.

**Референтні значення загального холестеролу:**

- < 5,2 ммоль/л – відсутність ризику;
- 5,2–7,8 ммоль/л – умовний ризик;
- > 7,8 ммоль/л – високий ризик.

**Коефіцієнт перерахунку:** ммоль/л × 38,66 = мг/дл.

**Підвищений рівень:**

- гіперліпопротеїнемія типу ІІb, ІІІ, V;
- спадкова гіперхолестеринемія типу ІІa;
- обструкція жовчних шляхів (холестази, біліарний цироз);
- нефроз;
- захворювання підшлункової залози;
- гіпотиреоз, цукровий діабет;
- дієти з високим вмістом жирів та холестерину, ожиріння.

**Знижений рівень:**

- гіпо/абеталіпопротеїнемія;
- тяжкі гепатоцелюлярні ушкодження;
- гіпертиреоз;
- мієлопроліферативні захворювання;

- стеаторея із мальабсорбцією;
- мальнутриція, голод;
- хронічні анемії (мегалобластна/сидеробластна);
- гострі захворювання, запалення, інфекції.

**Референтні значення ЛПВЩ (HDL):**

*Жінки:*

- 1,68 ммоль/л – відсутність ризику;
- 1,15–1,68 ммоль/л – умовний ризик;
- < 1,15 ммоль/л – високий ризик.

*Чоловіки:*

- > 1,45 ммоль/л – відсутність ризику;
- 0,90–1,45 ммоль/л – умовний ризик;
- < 0,90 ммоль/л – високий ризик.

**Коефіцієнт перерахунку:** ммоль/л × 38,66 = мг/дл;  
мг/дл × 0,0259 = ммоль/л.

**Референтні значення ЛПДНЩ (VLDL):** 0,26–1,00 ммоль/л.

**Підвищений рівень:**

- гіперальфаліпопротеїнемія;
- гіпобеталіпопротеїнемія;
- хронічні захворювання печінки.

**Знижений рівень:**

- спадкова гіпоальфаліпопротеїнемія;
- дефіцит АпоАІ та АпоСІІ;
- спадкова гіпертригліцеринемія;
- гепатоцелюлярна патологія, холестази;
- хронічні захворювання нирок, уремія, нефротичний синдром;
- анемії та хронічні мієлопроліферативні хвороби;
- цукровий діабет.

**Референтні значення ЛПНЩ (LDL):**

- < 2,59 ммоль/л – відсутність ризику;
- 2,59–4,12 ммоль/л – умовний ризик;
- 4,14 ммоль/л – високий ризик.

**Коефіцієнт перерахунку ЛПНЩ:** ммоль/л × 38,66 = мг/дл.

**Підвищений рівень:**

- спадкова гіперхолестеринемія (тип ІІа);
- гіперліпопротеїнемії ІІБ та ІІІ;
- дієта з високим вмістом холестерину та насичених жирів;
- гіпотиреоз;
- захворювання нирок з нефротичним синдромом;
- цукровий діабет;
- множинні мієломи та інші дисгаммаглобулінемії;

- хронічна ниркова недостатність;
- порфірії;
- нервова анорексія.

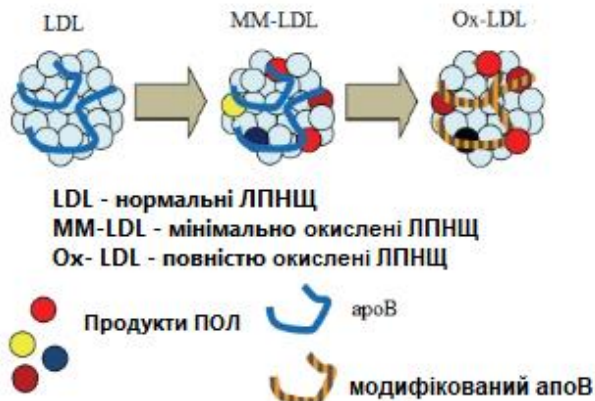
#### **Знижений рівень:**

- гіпо/беталіпопротеїнемія;
- Гіпертиреоз;
- хронічна анемія;
- тяжкі гепатоцелюлярні захворювання;
- гострий стрес;
- запальні захворювання суглобів;
- хронічні захворювання легень.

#### **Окислені ЛПНЩ (*Oxidized LDL, oxLDL*) та антитіла до них (*oxLAB*)**

Окислення ліпідів – природний метаболічний процес, необхідний для оновлення клітин. Однак захисні антиокислювальні клітинні механізми перешкоджають перевищенню нормальних концентрацій окислених ліпопротеїнів. OxLDL відіграють критичну роль у розвитку та прогресуванні АС. Провідний шлях хімічної трансформації ліпопротеїнів – надлишкове перекисне окиснення ліпідів, що входять до їх складу. Найбільшою мірою до перекисної модифікації схильні ліпіди «атерогенної» фракції – ЛПНЩ.

Перекисно-модифіковані ЛПНЩ піддаються нерегульованому захопленню макрофагами та гладком'язовими клітинами артеріальної стінки, що призводить до масивного накопичення в них ефірів холестерину та трансформації таких клітин у «пінисті» (рис. 25). Останні швидко гинуть, звільняючи в міжклітинні простори інтими значну кількість ефірів ХС та його моногідрату, що ініціює утворення атеросклеротичної бляшки (АСБ).



**Рис. 25.** Перекисна модифікація ЛПНЩ

З іншого боку, перекисна модифікація ЛПНЩ супроводжується суттєвим підвищенням їхньої імуногенності (рис. 26).

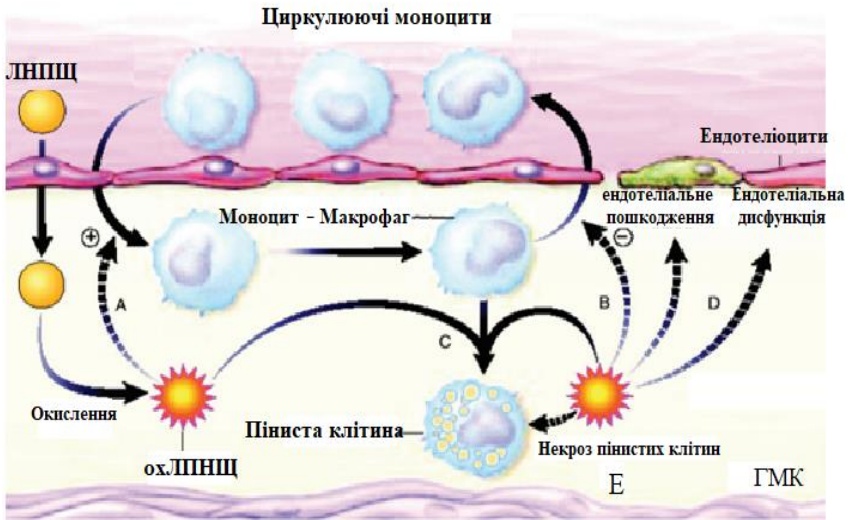


Рис. 26. Підвищення імуногенності ЛПНЩ

Утворення антитіл до окЛПНЩ, які захоплюються клітинами артеріальної стінки, є додатковим фактором ушкодження артерій. Антитіла проти окЛПНЩ (oxLAB) можуть використовуватися як параметр, який точно відображає окислювальні процеси, що відбуваються *in vivo*.

**Високі концентрації сироваткових oxLAB** спостерігаються при різних захворюваннях, наприклад, при преєклампсії та системному червоному вовчаку. З розвитком атеросклерозу підвищені титри oxLAB зазвичай асоційовані з падінням рівня окЛПНЩ. Таким чином, антитіла можуть виступати як захист від прогресуючого атеросклерозу, знижуючи рівень oxЛПНЩ. Високий рівень маркера асоціювався з нижчим рівнем глікозильованого гемоглобіну (HbA1c), з меншим ступенем розвитку мікроангіопатії та відсутністю специфічних oxLAB-oxLDL комплексів. Останні дослідження не скасовують значення oxLAB як незалежного маркера атеросклерозу, але показують, що високі титри oxLAB асоційовані зі зниженням ризику ускладнень ССЗ.

**Високочутливий С-реактивний протеїн (hsCRP)** є білком гострої фази і синтезується виключно у печінці. Цей білок був відкритий в 1930 р. у плазмі крові пацієнтів, які страждали на пневмонію, і отримав назву за здатність зв'язувати С-полісахарид пневмококів (рис. 27).

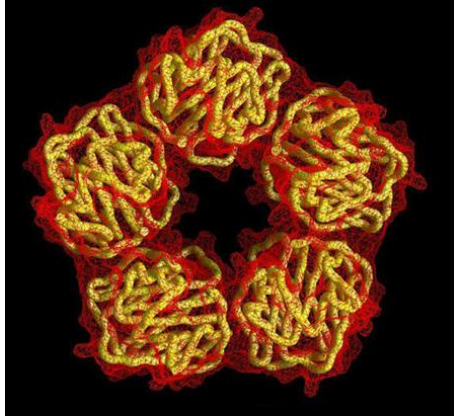


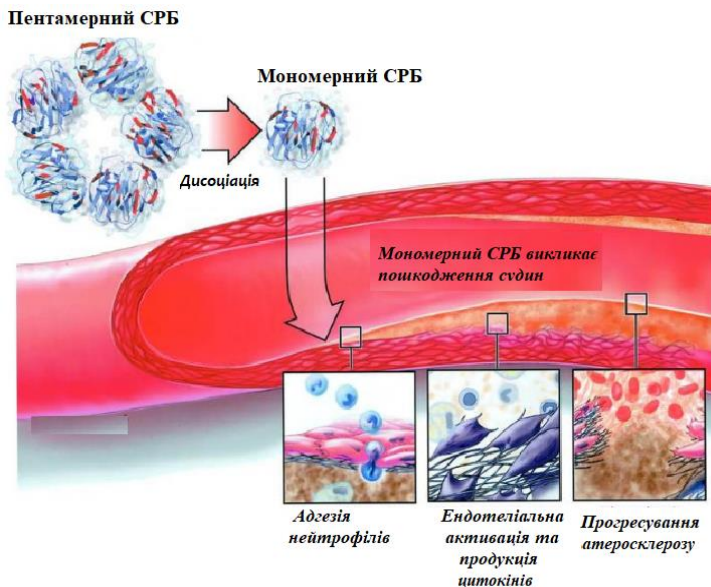
Рис. 27. Структура С-реактивного білка

СРБ відноситься до сімейства пентраксинів, для якого характерний комплекс із 5 дископодібних субодиниць. Кожна субодиниця має м.м. 23 кДа, а загальна маса СРБ – 110–115 кДа. Він є активатором гострої фази, який підвищується швидко, але неспецифічно, як реакція на пошкодження тканин та запалення, будучи більш чутливим і оперативним показником, ніж ШОЕ.

**Фізіологічна роль СРБ** є досить складною:

- шляхом  $\text{Ca}^{2+}$ -залежного механізму зв'язується з фосфохоліном фосфоліпідів та особливо з пневмококовим полісахаридом С;
- зв'язується з хроматином та гістоном, беручи участь у кліренсі клітинних залишків;
- основний фактор опсонізації (зв'язується з фагоцитами і прискорює фагоцитоз антигенів та мікроорганізмів);
- зв'язується з фракцією С1q комплементу, зумовлюючи активацію комплементу з класичного шляху.

СРБ вважається дуже високочутливим маркером запальних процесів, оскільки стимулює моноцитарний синтез ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6 і ФНП- $\alpha$ . Нормальна концентрація СРБ у сироватці становить **близько 1 мкг/мл**, але при острофазному процесі вона швидко зростає до 1–2 мг/мл. У той же час базовий рівень СРБ, що визначається високочутливим методом (hsCRP), відображає низькоградієнтне запалення в інтимі судини і проспективно визначає ризик розвитку судинних ускладнень, доповнюючи прогностичну інформацію, яку дають класичні фактори ризику, такі як куріння, ожиріння, інсулінорезистентність та ін. (рис. 28). Концентрація СРБ у сироватці або плазмі зростає протягом 24–48 год після гострого пошкодження тканин, досягає піку в гострій стадії та знижується після розв'язання запалення або травми.



**Рис. 28.** Роль СРБ в пошкодженні ендотеліальної функції судин

**Базовий рівень СРБ** – концентрація, яка стабільно виявляється у практично здорових осіб, а також у пацієнтів за відсутності гострого запального процесу або під час ремісії. Величина базового рівня СРБ безпосередньо пов'язана з ризиком розвитку тяжких ССЗ та їх ускладнень – гострого ІМ та інсульту головного мозку (ІнМ). Найбільше прогностичне значення має одночасне визначення hsСРБ та індексу атерогенності. Порівняно з гострим підвищенням рівнів СРБ, низькоградієнтне запалення, що лежить в основі інсулінорезистентності та пов'язане із серцево-судинними захворюваннями або діабетом 2-го типу, демонструє незначні рівні СРБ в крові у діапазоні **3–10 мг/л**.

Значення СРБ **понад 3 мг/л** пов'язані з підвищеними ризиками розвитку ССЗ. Ці ризики визначаються такими критеріями:

- низький ризик: рівень СРБ нижче 1 мг/л;
- середній ризик: рівень СРБ в межах (1–3) мг/л;
- високий ризик: > 3 мг/л;
- дуже високий ризик: 5–10 мг/л;
- запальні процеси, які потребують негайного усунення: вище 10 мг/л.

СРБ виробляється в основному в печінці у відповідь на запалення та пошкодження тканин в будь-якій частині, наприклад, артерії, легені або нирки. Його синтез регулюється цитокінами, зокрема ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-17 та ФНП- $\alpha$  (*TNF- $\alpha$* ).

СРБ виконує також роль проатеросклеротичного фактора, який сприяє розвитку атеросклерозу. Запальний ефект впливу СРБ на кровоносні судини та їх ендотелій може бути причиною розвитку проблем із кровоносними судинами:

- СРБ може активувати клітини, які вистилають внутрішні стінки судин, і може призвести до їхньої дисфункції;
- СРБ знижує синтез NO та простацикліну, одночасно підвищуючи рівень моноцитарного хемоатрактантного протеїну-1 (CCL2), IL-8 та інгібітору активатора плазміногену-1 артеріальними та венозними клітинами;
- рівень СРБ зворотно збільшується у крові на стадії накопичення атеросклеротичних бляшок в артеріях, що продовжує цикл затвердіння та перекриття артерій бляшками;
- підвищення рівня ЛПНЩ у пацієнтів із серцево-судинними ризиками стимулює кровоносні судини для збільшення СРБ, який у свою чергу підвищує поглинання ЛПНЩ із крові в клітини судин.

Крім гострої інфекції чи травми, зростання значень СРБ – це ознака хронічного/системного запалення. Збільшення рівня СРБ є частиною біологічної реакції хронічного стресу.

**Підвищення вмісту СРБ** було виявлено в ряді хронічних захворювань, таких як передгіпертонія (підвищений кров'яний тиск), ожиріння, діабет 2-го типу, інсулінорезистентність, гіпертонія та ССЗ, паління та захворювання ясен (пародонтоз).

Коли показники **СРБ** та **холестеролу** одночасно демонструють підвищені значення, то ризик розвитку серйозних хвороб серця збільшується у 9 разів порівняно з пацієнтами з низькими значеннями вказаних вище показників.

У моноцитах-макрофагах СРБ збільшує кількість активних форм кисню та продукцію прозапальних цитокінів. У кровоносних судинах СРБ також збільшує активні форми кисню та прискорює проліферацію клітин.

#### **Референтні значення СРБ, мг/л:**

*Діти:*

- новонароджені – до 0,6;
- 1 тиж життя – до 1,6.

*Дорослі:* 5,0 мг/л.

**Коефіцієнт перерахунку:**  $\text{мг/л} \times 0,1 = \text{мг/дл}$ .

#### **Підвищений рівень:**

- інфаркт міокарда (з'являється на 2–5-й день захворювання, зникає із сироватки через 2–3 тиж, але при стенокардії СРБ у сироватці крові відсутній);
- хвороби шлунково-кишкового тракту;
- реакція відторгнення трансплантату;
- злоякісні пухлини;

- вторинний амілоїдоз;
- системні ревматичні захворювання;
- сепсис новонароджених;
- менінгіт;
- туберкульоз;
- післяопераційні ускладнення;
- нейтропенія;
- прийом естрогенів, оральних контрацептивів.

### Антитіла до кардіоліпіну (АКА)

Кардіоліпін є складним ліпідом, який містить фосфорну кислоту і сполучені з нею ефіри багатоатомних спиртів (рис. 29). Ця речовина входить до структури внутрішньої клітинної мембрани і присутня в циркулюючій крові у складі ліпопротеїнів.

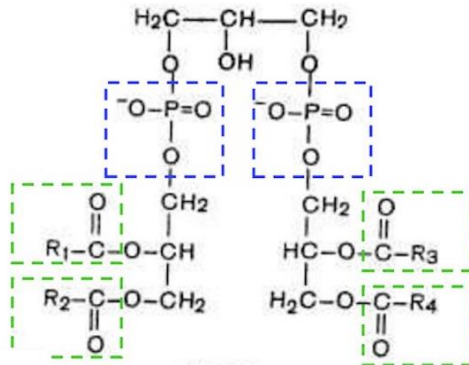
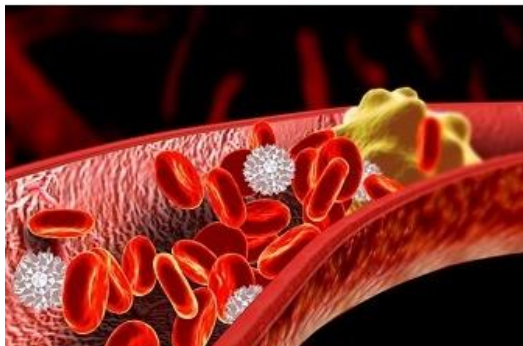


Рис. 29. Структура кардіоліпіну

При ряді аутоімунних, інфекційних, злоякісних захворюваннях в організмі людини до кардіоліпіну виробляються специфічні аутоімунні антитіла (Ig), що мають високий тромбогенний потенціал. Активність антикардіоліпінових антитіл (АКА) спрямована до тромбоцитів та судинного ендотелію – аутоімунний процес викликає їх руйнування та призводить до розвитку тромбозів та тромбоемболічних ускладнень.

При підвищенні рівня даних антитіл у пацієнтів спостерігаються зміни гемостазу. Таких пацієнтів відносять до групи ризику розвитку тромбозу (рис. 30). У період вагітності через тромботичні пошкодження ембріобласту та плаценти можливі відшарування «дитячого місця», гіпоксія та гіпотрофія плода, викидень.



**Рис. 30.** Утворення тромбу

**Високий рівень АКА** є незалежним фактором ризику ІМ. Реальна частота цього захворювання у пацієнтів з **антифосфоліпідним синдромом (АФС)** відносно низька і коливається від 0 до 10 %. У той же час у молодих пацієнтів з антифосфоліпідними антитілами (АФЛ), які перенесли ІМ до 45 років, ризик повторних тромбозів високий: у 8 із 13 пацієнтів з високим рівнем АФЛ розвинулися повторні кардіоваскулярні тромбози. Тромбози включали ІМ, артеріальну оклюзію нижніх кінцівок та тромбоз глибоких вен. Однією з частих кардіологічних ознак АФС є ураження клапанів серця, яке варіює від мінімальних порушень, що виявляються лише при ехокардіографічному дослідженні, до тяжких вад серця (стеноз або недостатність мітрального, рідше аортального клапанів).

Іншою формою коронарної патології при АФС є гострий або хронічний рецидивуючий тромбоз дрібних внутрішньоміокардіальних коронарних судин, що розвивається без ознак запального або АС-ураження основних гілок коронарних артерій.

**Показник норми:** титр IgA, IgM, IgG не повинен перевищувати 12,0 відн. Од/мл.

**Високий рівень АКА** характерний для таких патологій:

- гемолітична анемія;
- тромбоцитопенія;
- аутоімунні патології;
- ревматизм;
- системний атеросклероз;
- нестабільна стенокардія;
- інфаркт міокарда;
- артеріальна гіпертензія;
- інсульт;
- інфекційні захворювання – туберкульоз, кір, краснуха, мононуклеоз,

ВІЛ;

- облітеруючий ендартеріт;
- розвиток тромботичних ускладнень;
- акушерські патології із розвитком антифосфоліпідного синдрому.

**Низький рівень імуноглобулінів класу М** може бути у пацієнтів з ревматоїдним артритом, сифілісом, хворобою Лайма, синдромом Шегрена, хворобою Брутона. Їхня концентрація швидко знижується при ефективному лікуванні АФС.

**Антиміокардіальні антитіла** можуть бути визначені при ревматичному ураженні серця, кардіоміопатії, постторакотомічному синдромі та після ІМ. Специфічні аутоантитіла до тканини серця виявляються приблизно у 25 % пацієнтів з кардіоміопатією. Рівень антитіл до тканини серця знижується під час прогресування захворювання.

**Матриксний білок, що містить  $\gamma$ -карбоксиглутамат (MGP)**, синтезується хондроцитами і клітинами гладкої мускулатури судинної стінки. Хоча молекулярний механізм дії залишився досі нез'ясованим, отримані дані показують, що MGP відіграє ключову роль у пригніченні утворення тканинних кальцифікатів.

**MGP** – пептид, що складається з 84 АМК залишків, спочатку ідентифікований у кістковій тканині. Він належить до групи вітамін К-залежних білків. У клітинах MGP піддається посттрансляційній модифікації, яка полягає в карбоксилуванні п'яти залишків глутамінової кислоти (Glu) з утворенням  $\gamma$ -карбоксиглутамінової кислоти (Gla). Зазначена реакція каталізується ферментом  **$\gamma$ -глутаміл-карбоксилазою (GGCX)** і пов'язана з окисленням відновленої форми **вітаміну К** (гідрохінону) у 2,3-епоксид вітаміну К.

Таким чином, без окислення вітаміну К не може відбуватися карбоксилування залишків глутамінової кислоти молекули MGP. Достатня кількість вітаміну К для реакції карбоксилування MGP залежить від стану зворотної реакції його відновлення, яка здійснюється за допомогою **вітамін К-епоксидредуктазного комплексу (VKOR)**. На додаток до  $\gamma$ -карбоксилування MGP може піддаватися й іншим посттрансляційним модифікаціям, зокрема:

- специфічному протеолітичному розщепленню С-термінальної області молекули;
- фосфорилуванню трьох серинових залишків у N-кінцевій області.

Ген *MGP* у людини представлено однією копією, яка міститься у короткому плечі 12-ї хромосоми (12p12.3-13.1).

**Регуляція експресії гена *MGP*** відбувається під впливом:

- вітаміну D;
- ретиноевої кислоти;
- позаклітинних іонів  $Ca^{2+}$ ;
- деяких цитокінів та гормонів.

Функція MGP спочатку була визначена у трансгенних MGP-дефіцитних мишей, які народжувалися нормальними, але протягом перших тижнів життя у них розвивалися великі кальцифікати в артеріях, що призводило до розриву аорти та загибелі тварин.

MGP може бути виявлений у тканинах, де він накопичується, наприклад, в хрящах та судинах, особливо навколо зон ризику утворення кальцифікатів та навколо вже наявних відкладень солей кальцію. Підвищений синтез у цих зонах може бути тканинною відповіддю на локальне зростання концентрації кальцію (рис. 31).

**Можливі діагностичні застосування:** атеросклероз, склероз Монкеберга, кальцифікати серцевих клапанів, остеоартрит, спондиліт, хвороба Бехтерева.

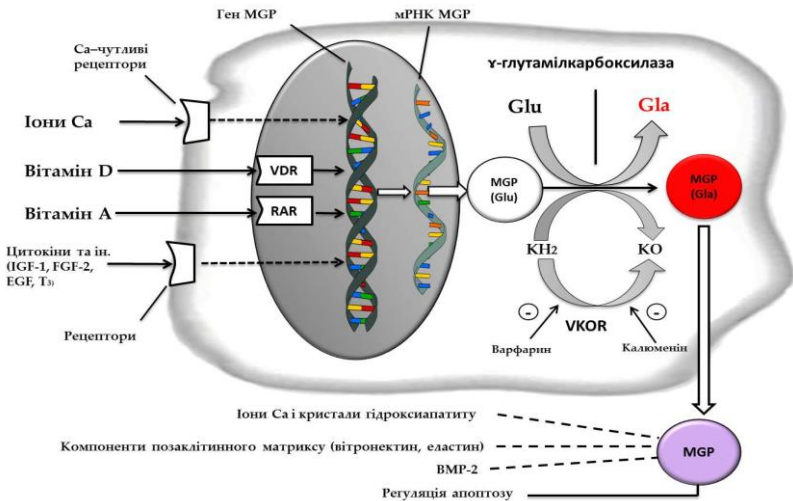


Рис. 31. Функції пептиду MGP

**Бета-амілоїдний пептид (ABP), сироватковий (SAA)** є білком гострої фази з 39–43 амінокислотами та м.м. 4–6 кДа. Термін «амілоїд» (*кромалеподібний*) вказує на той факт, що накопичення цього білка нагадують гранули крохмалю в резервних тканинах рослин. Сьогодні цей термін асоціюється з пептидами та білками, що мають певну морфологію клітковини в нервовій системі. Амілоїдні пептиди походять від ферментативного розщеплення білка-попередника APP, який експресується на високому рівні в мозку і швидко метаболізується складним чином.

Цей білок належить до сімейства трансмембранних глікопротеїнів I типу, та виконує роль везикулярного рецептора для моторного білка кінезину I, що бере участь у регуляції синапсів та клітинному транспорті іонів заліза.

Білок APP синтезується в ендоплазматичному ретикулумі, глікозилюється і направляється в комплекс Гольджі для подальшої упаковки в транспортні везикули, які доставляють його до плазматичної мембрани. Він має єдиний трансмембранний домен, довгий N-кінцевий фрагмент і невелику внутрішньоклітинну С-кінцеву частину. Він обробляється ферментативно двома різними шляхами: **неамілоїдогенним** та **амілоїдогенним** (рис. 32). Коли він розщеплюється  **$\alpha$ -секретазою** в середині  $\beta$ -амілоїдного домену (A $\beta$ ), він не є амілоїдогенним. Відбувається індуковане  $\alpha$ -секретазою розщеплення білкового фрагмента, відомого як sAPP $\alpha$ , з поверхні клітини; в мембрані залишається сегмент менше 100 амінокислот із С-кінця. Ця частина мембрани розрізається  $\beta$ -секретазою, продукт якої може багаторазово перероблятися комплексом  $\gamma$ -секретази, утворюючи фрагменти різної довжини (від 43 до 51 АМК). Однак, коли APP розщеплюється ферментами  **$\beta$ -** і  **$\gamma$ -секретазою**, вивільняються нейротоксичні пептиди A $\beta$ , які можуть утворити олігомерний агрегат.

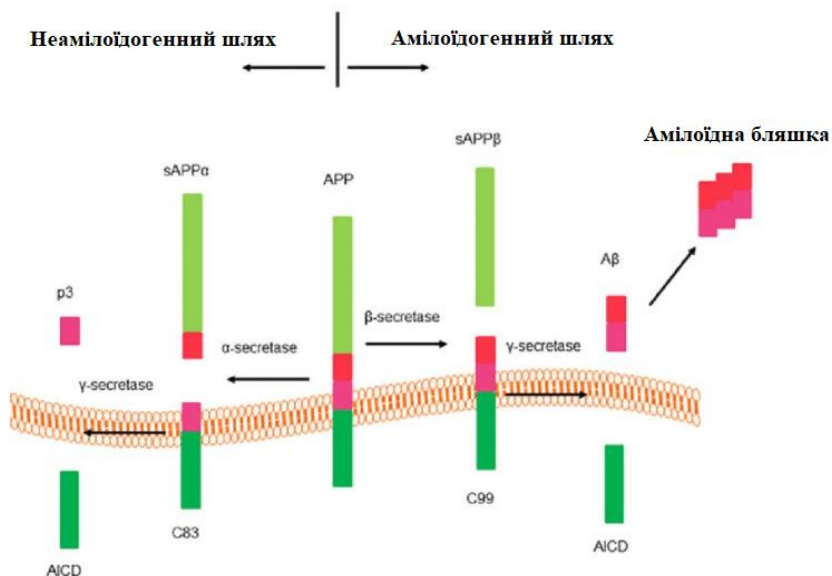


Рис. 32. Синтез білка APP

Багато амілоїдних пептидів мають вторинну структуру у вигляді  $\alpha$ -спіралі (рис. 33), яка може еволюціонувати в більш компактні форми залежно від середовища, де вона знаходиться. Оскільки близько 25 % поверхні цих молекул має сильний гідрофобний характер, зазвичай можна спостерігати напівстійкі спіралі, що призводять до  $\beta$ -складчастих конформацій, які відіграють основну роль в агрегаційних станах таких пептидів.



Частина патофізіологічних маркерів хвороби Альцгеймера пов'язана з антитілами, особливо з утворенням бляшок в клітинах нейронів, утворенням фібрилярних клубків або синаптичною дегенерацією. Концентрація в сироватці цього білка, що виробляється в печінці, підвищується через кілька годин після ІМ. SAA, як і СРБ, є предиктором серцево-судинного ризику, проте лише SAA асоціюється з ангіографічно підтвердженим наявністю ІХС. Припускають, що SAA асоційований із сироватковими фракціями ЛПВЩ.

**Неоптерин (НП)** є проміжним продуктом у синтезі біоптерину, що бере участь в активації лімфоцитів. Неоптерин вперше був виявлений у бджіл. Хімічна структура його була визначена шляхом порівняння із синтезованою речовиною: 2-аміно-4-гідрокси-6-(D-еритро-1',2',3'-тригідроксипропіл)-птеридин (рис. 35).

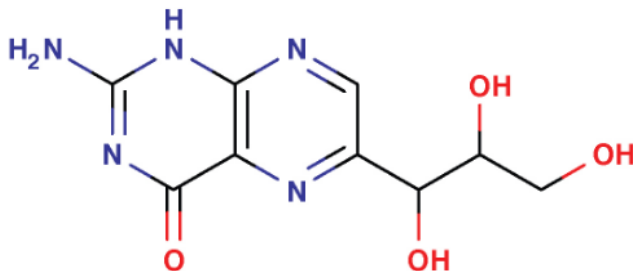


Рис. 35. Структура неоптерину

Вимірювання рівня неоптерину в крові дозволяє визначити загальний стан імунної системи та взаємодії в популяції моноцитів/макрофагів.

#### **Неоптерин:**

- індукує апоптоз, який розглядається як один із фундаментальних механізмів незворотного порушення скорочувальної здатності міокарда;
- стимулює синтез NO в судинних гладком'язових клітинах через активацію ядерного фактора транскрипції каппа-В (NF-κB);
- стимулює утворення ФНП-α моноцитами та гладком'язовими клітинами судин.

**Референтне значення:**  $7,08 \pm 9,54$  нмоль/л.

**Підвищені концентрації НП** виявляються у хворих з АС аорти, сонних, коронарних та периферичних артерій. Рівень НП у цих хворих корелює із поширеністю атеросклеротичного процесу, ступенем стенозування артерій, концентрацією гомоцистеїну, фібриногену, сечової кислоти та ін. Є дані про зміну концентрації НП при ІМ. У пацієнтів із гострим коронарним синдромом до лікування рівень НП значно вищий, ніж у хворих із хронічним коронарним синдромом, а також у здорових осіб.

Гіперпродукція НП особливо характерна для застійної серцевої недостатності, що є результатом різних ССЗ запальної (міокардит) та незапальної природи (ІХС, артеріальна гіпертензія, гіпертрофічна та рестриктивна кардіоміопатія).

Мінімальні рівні НП виявляються через 4 год від початку ІМ, найбільший вміст досягається через 72 год.

**Супероксиддисмутаза (SOD)** є одним із ферментів антиоксидантної системи клітини. SOD входить до сімейства металопротеїнів, які каталізують реакцію дисмутації – взаємодію двох супероксидних радикалів ( $O_2^-$ ) один з одним, перетворюючи токсичний  $O_2^-$  на менш токсичний перекис водню ( $H_2O_2$ ) і кисень ( $O_2$ ).

Розрізняють чотири типи SOD за кофакторами-металами та їх локалізацією.

**Марганець-залежна SOD (Mn-SOD)** переважно локалізується в матриксі мітохондрій усіх аеробів, **мідь/цинк-залежна SOD (Cu/Zn-SOD)** присутня в цитоплазмі еукаріотичних клітин, **залізо-залежна SOD (Fe-SOD)** переважає в цитозолі, **екстрацелюлярну SOD (EC-SOD)** знайдено в екстрацелюлярних рідинах або у складі клітинних мембран у ссавців. Експресія гена *Cu/Zn-SOD* викликається медіаторами оксидативного стресу, як і продукцією сульфгідрильних антиоксидантів, ІЛ-1, ФНП. Експресія мРНК *Cu/Zn-SOD* найбільш сильно виражена в клітинах, що діляться.

Фермент має м.м. близько 32 кДа, складається з двох субодиниць, кожна з яких має по одному атому  $Cu^{2+}$  і по одному атому  $Zn^{2+}$  (рис. 36).

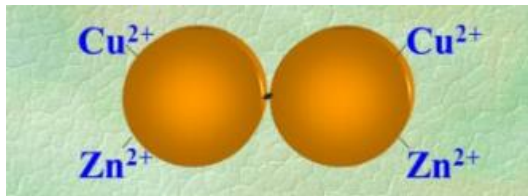


Рис. 36. Структура SOD

Реакція, що каталізується SOD, складається з двох стадій і полягає у перенесенні електрона з одного супероксидного радикала на інший:



Проміжним акцептором цього електрону є атом міді, що входить до активного центру SOD. Атоми  $Zn^{2+}$  не беруть участі в каталізі, хоча й входять до активного центру. Іони металів захищають молекулу SOD від дій різних протеаз.

SOD – фермент, залучений до метаболізму кисню в клітинах і захищає ці клітини від прямого та непрямого пошкодження вільними радикалами, опосередкованого реакціями перетворення кисню. Зокрема, фермент захищає серцевий м'яз від дії вільних радикалів, що утворюються під час ішемії. При ІМ активність SOD у сироватці крові різко підвищується. Ступінь підвищення SOD обернено пропорційна скоротливій функції лівого шлуночка та використовується як маркер для оцінки пошкодження міокарда та м'язової дистрофії. Також при ішемічному ІМ рівень SOD значно підвищується, що захищає нейрони від руйнування. Визначення Cu/Zn-SOD є інформативним для контролю лікування хронічного запалення, наприклад, ішемічного міокардиту в стадії реперфузії.

**Високі концентрації Cu/Zn-SOD** у біологічних рідинах організму пов'язані з різними захворюваннями:

- нефропатії різного генезу;
- трисомія 21-ої хромосоми (*синдром Дауна*).

**Мієлопероксидаза (МПО)** – глікопротеїн, альфа-2/бета-2 гетеромультимер, який експресують усі клітини мієлоїдного ряду. МПО в надлишку є в азурофільних гранулах ПМЯЛ.

Це важливий фермент, який використовується в процесі лізису захоплених шляхом фагоцитозу сторонніх частинок, до якого залучено дуже сильний окислювач – гіпохлориста кислота (НОСІ). МПО швидко вивільняється активованими ПМЯЛ (*рис. 37*).



**Рис. 37.** Участь мієлопероксидази у фагоцитозі

Ця сполука відіграє важливу роль при різних захворюваннях, таких як атеросклероз, рак легень, хвороба Альцгеймера, розсіяний склероз. Аутоантитіла до МПО описані при гранулематозі Вегенера. Дефіцит МПО спочатку вважався рідкісним і діагноз ставився тільки у пацієнтів, які страждали на тяжкі інфекційні захворювання. Однак сьогодні МПО привертає велику увагу клініцистів, оскільки вона може бути раннім маркером системного запалення. Класичним методом визначення активності МПО є ферментативний метод або метод ІФА.

## Перекисні радикали (тест *OxyStat*)

Вільнорадикальне (перекисне) окислення ліпідів (ПОЛ) є невід'ємною частиною багатьох життєво важливих процесів, таких, як постійне оновлення ліпідного складу клітинних мембран та підтримання активності ліпід-залежних та пов'язаних з мембраною рецепторів, синтез попередників простагландинів, окисне фосфорилування. Проте надмірне утворення продуктів ПОЛ веде до накопичення перекисів ліпідів. Перекисні радикали вступають у взаємодію з молекулами жирних кислот, утворюють високо-токсичні гідроперекиси та новий вільний радикал. Цей процес, протікаючи лавиноподібно, може призвести до швидкого руйнування клітинних структур. У патогенезі багатьох захворювань лежить порушення рівноваги між процесами утворення та нейтралізації продуктів ПОЛ. Окислення ЛПНЩ відображає особливості процесу ПОЛ, в якому відокремлюють три послідовні стадії (табл. 2).

Таблиця 2

Стадії перекисного окислення ліпідів

Фаза	Процес	Тривалість, год
Лаг-фаза	Захоплення радикалів антиоксидантами	0,5–2
Розповсюдження	ПОЛ	1–2
Розкладання	Руйнування гідроперекисів ліпідів	15

**При отриманні високих результатів (> 400 мкмоль/л)** необхідно встановити причини збільшення перекисного окислення.

**Можливі причини:** надлишок ксенобіотиків або токсинів; порушення активності системи цитохрому P<sub>450</sub>; процеси запалення, інфекція, дисбіоз кишечника, травма, радіація, ішемія, зниження резервів антиоксидантів.

**Можливі дії:** ідентифікація та усунення отруєння або інших джерел вільних радикалів, посилення антиоксидантного захисту, введення їх ззовні.

**Маркер продуктів окислення білків** (*advanced oxidation protein products* або АОРР) відображає окисне ушкодження білків, що спостерігається у пацієнтів при оксидативному стресі. При кожній процедурі гемодіалізу у пацієнтів спостерігається масоване утворення активних форм кисню (АФК) у поєднанні із хронічною недостатністю основних антиоксидантних систем.

Вимірювання параметра АОРР може бути використане як надійний маркер для оцінки ступеня окисного пошкодження білків у пацієнтів з уремією та для прогнозування можливої ефективності різних терапевтичних стратегій, спрямованих на зниження оксидативного стресу (рис. 38).



**Рис. 38.** Набори для визначення основних маркерів ПОЛ

Застосовується також у таких випадках:

- моніторинг оксидативного стресу (наприклад, у пацієнтів, які регулярно проходять гемодіаліз);
- наявність запальні процеси.

### **Матриксні металопротеїнази (ММР-1, ММР-3, ММР-9)**

Сімейство ММР, цинк- та кальцій-залежних ендопептидаз, складається не менше ніж з 20 протеолітичних ферментів. Всі вони характеризуються наявністю наступних загальних властивостей: руйнують екстрацелюлярний матрикс, секретуються як профермент і для активації потребують протеолітичного розщеплення, активні в нейтральному середовищі. Вони відіграють важливу роль у багатьох нормальних фізіологічних процесах, таких як ембріональний розвиток, морфогенез, репродукція та ремоделювання тканини, а також при різних патологічних процесах: артритах, злоякісному рості та ССЗ (рис. 38). Кількість новостворених ММР регулюється в основному на рівні транскрипції, а протеолітична активність існуючих ММР контролюється як активацією проферментів, так і пригніченням активних ферментів ендogenous інгібіторами,  $\alpha 2$ -макроглобуліном та тканинними інгібіторами металопротеїназ (**TIMPs**). За специфічністю ММР можна розділити на такі:

- колагенази (ММР-1, -8 та -13);
- желатинази (ММР-2 та -9);
- стромелізини (ММР-3, -7, -10 та -11);
- ММР мембранного типу.

Колагенази розщеплюють колагени типів 1–3, 7 та 10, желатинами – колаген 4-го типу та денатуровані колагени. Стромелізини руйнують фібронектин, ламінін, колаген 4-го, 5-го та 7-го типів, а також протеоглікани. Всі ферменти мають однакові характеристики:

- мають загальні ділянки АМК послідовності;
- синтезуються в неактивній формі;
- атом цинку ( $Zn^{2+}$ ) потрібен як кофактор.

Охарактеризовано тканинні інгібітори ММП, які блокують їх активність і, таким чином, беруть участь у регуляції їхнього ефекту.

Товщина фіброзної капсули залежить від активності ММП, оскільки вони здатні розщеплювати білки міжклітинного матриксу при нейтральному рН. У найбільш уразливій ділянці атеросклеротичної «бляшки» (АСБ) виявляється найбільша активність ММП. З усіх ММП у нормальній ділянці судинної стінки можна виявити тільки ММП-2, тоді як в атеромі визначається не менше п'яти ферментів, що експресуються макрофагами: ММП-1, -2, -7, -9 та -12 (табл. 3). Є дані про відмінності в експресії ММП ендотеліальними та гладком'язовими клітинами. Показано, що під впливом ІЛ-1 $\beta$  та ФПН- $\alpha$  гладком'язові клітини секретують ММП-1 та ММП-3. Джерелом утворення цих цитокінів в атеромі є макрофаги. «Пінисті» клітини зберігають здатність активно утворювати різні ММП. Найбільшою мірою нестабільність атером визначається активностями ММП-1, -3 і -9. Активне вивільнення ММП макрофагами може призводити до руйнування фіброзної капсули та відриву АСБ.

Таблиця 3

**Субстратна специфічність відомих матриксних металопротеїназ**

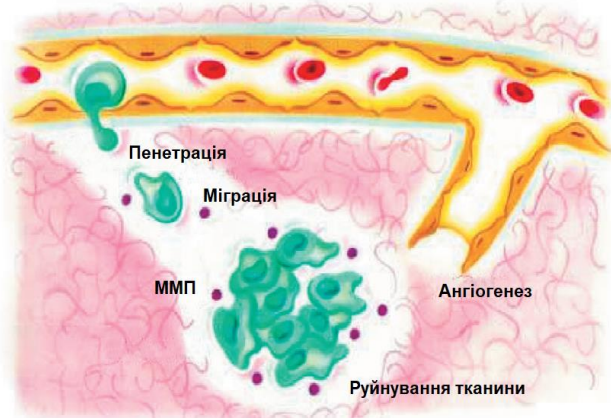
<b>ММП</b>	<b>Альтернативна назва</b>	<b>Субстрат</b>
ММП-1	Колагеназа Колагеназа фібробластів Міжтканинна металопротеїназа	Колагени (I, II, III, VII, VIII, X), желатин, агрекан, протеоглікан, антитрипсин, макроглобулін, ІЛ-1 $\beta$ , L-селектин, сироватковий амілоїд А, IGF- $\beta$ P5, IGF- $\beta$ P3, ММП-2, ММП-9
ММП-2	Желатиназа А Желатинази >92 кДа Нейтрофільна желатиназа Колагеназа типу IV	Колагени (I, IV, V, VII, X, XI, XVI), желатин, еластин, фібронектин, ламінін-1, галектин-3, агрекан, протеоглікан-зв'язаний білок, остеоонектин, IGF- $\beta$ P5, IGF- $\beta$ P3, FGF-R1, MBP, ММП-1, 9, 13
ММП-3	Стромелізін-1 Транзит	Колагени (III, IV, V, IX), желатин, агрекан, протеоглікан-зв'язаний білок, фібронектин, ламінін, енактин, остеоонектин, еластин, антитромбін, плазміноген, фібрин, фібриноген, ММП-1, ММП-2/TIMP-2 комплекс, ММП-7, 8
ММП-7	Матрилізін PUMP	Колагени (V, X), желатин, агрекан, протеоглікан-зв'язаний білок, остеоонектин, $\beta_4$ -інтегрин, еластин, казеїн, трансфери, ММП-1, 2, 9, MBP
ММП-8	Нейтрофільна колагеназа Колагеназа 1	Колагени (I, II, III, V, VII, VIII, X), желатин, агреман, фібронектин, $\alpha$ -AT, $\alpha$ -антиплазмінін
ММП-9	Желатинази > 92 кДа Желатиназа B	Колаген (IV, V, VII, VIII, X), желатин, еластин, галектин-3, фібронектин, остеоонектин, плазміноген, GST-TNF/TNF пептид, MBP, ІЛ-1 $\beta$
ММП-10	Стромелізін-2	Колагени (III, IV, V), желатин, еластин, казеїн, протеоглікан-зв'язаний білок, ММП-1, ММП-8
ММП-11	Стромелізін-3	Ферменти людини, $\alpha$ -AT, $\alpha$ -AM, казеїн, ламінін, фібронектин, колаген

MMP	Альтернативна назва	Субстрат
MMP-12	Макрофагальна металоеластаза	Колаген IV, желатин, еластин, казеїн, К-еластин, фібронектин, вітронектин, ламінін, фібриноген, фібрин, GST-TNF, MBP, плазміноген
MMP-13	Колагеназа-3	Колаген (I, II, III, IV, X, XIV), желатин, інгібітор активатора плазміногену 2, агреман, остеонектин, MMP-9

**Попередник матриксної металопротеїнази-1 (проMMP-1)** (також відома як інтестинальна колагеназа, колагеназа хребта, фібробластів та колагеназа I) синтезується фібробластиами, хондроцитами, макрофагами, кератиноцитами, ендотелієм. Синтез MMP-1 стимулюється різними агентами, включаючи цитокіни (епідермальний фактор росту, інтерлейкіни та TNF- $\alpha$ ) та хімічні сполуки, такі як цАМФ та ефіри форболу. MMP-1 пригнічується TIMP-1 та -2, а також  $\alpha$ 2-макроглобуліном. MMP-1 бере участь у деградації колагенових волокон у процесі ремоделювання екстрацелюлярного матриксу.

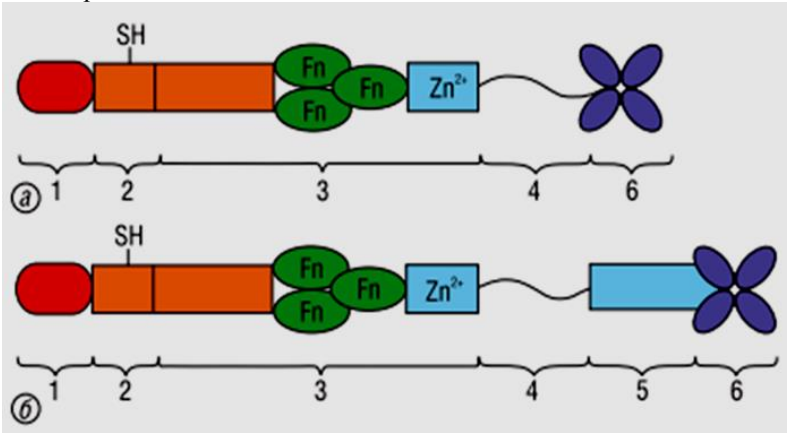
Рівень MMP-1 визначають при ревматоїдному артриті, остеоартриті, інвазії пухлини, виразці рогівки, тканинному ремоделюванні, запальних захворюваннях кишечника, атеросклерозі, анеризмі та рестенозі.

**Матриксна металопротеїназа-2 (MMP-2; желатиназа А)** насамперед експресується в мезенхімальних клітинах (головним чином в фіброблестах) у період розвитку та регенерації тканини, а також синтезується нейтрофілами, макрофагами та моноцитами. MMP-2 необхідна для інгібування процесу ангіогенезу в пухлинах, її рівень підвищений в ендотелії судин пухлини та в сечі пацієнтів з різними пухлинними утвореннями (рис. 39). Разом з MMP-9 вона бере участь у деградації колагену IV типу, головного компонента базальних мембран та желатину (денатурованого колагену).



**Рис. 39.** Матриксні металопротеїнази (ММП) стимулюють розвиток метастазів пухлини і ангіогенез

ММР-2 може також руйнувати інші типи колагенів (V, VII і X), еластин та фібронектин. Вона бере участь у процесингу багатьох інших молекул, модулюючи їх функції. Наприклад, розщеплює моноцитарний хемотаксичний білок-3, що призводить до зменшення запалення та забезпечує вазоконстрикцію.



**Рис. 40.** Доменна структура желатиназа А (а) та В (б):

1 – продомен; 2 – продомен; 3 – каталітичний домен; 4 – шарнірна ділянка;  
5 – колагеноподібний домен; 6 – гемопексиновий домен

**Матриксна металопротеїназа-3 (ММР-3, стромелізін-1)** каталізує деградацію багатьох компонентів сполучної тканини, включаючи протеоглікани, лінк-білок, колаген типів II, IV, IX та XI, ламінін та фібронектин. ММР-3 може також впливати на деградацію екстрацелюлярного матриксу через активацію проколагенази-1.

ММР-3 секретується як профермент м.м. 57 кДа та активується *in vivo* шляхом обмеженого протеолізу тканинними та плазматичними ендопептидазами. Активність ММР-3 інігується TIMP, який взаємодіє з активною ММР-3 у співвідношенні 1:1. Рівновага між ММР-3 та TIMP – визначальний фактор у руйнуванні міжклітинного матриксу. Активність ММР-3 також може пригнічуватися  $\alpha$ 2-макроглобуліном. Вважають, що ММР-3 відіграє важливу роль у природних процесах тканинного ремоделювання та патологічних процесах (остеоартритах та ревматоїдних артритах).

**Матриксна металопротеїназа-9 (ММР-9)** (або желатиназа В) секретується як зимоген з м.м. 92 кДа. Субстратами для ММР-9 є денатурований колаген I типу (желатин), нативні колагени типів IV, V, VII, X і XI, фібриноген, вітронектин, IL-1 та ентактин, який з'єднує ламінін та колаген IV типу.

ММР-9 бере участь у процесах запалення, ремоделювання та репарації тканини, мобілізації зв'язаних із матриксом факторів росту та процесингу

цитокинів. Її експресія корелює з десмоплазією (неввірна орієнтація колагену), що супроводжує рак підшлункової залози, метастазами лімфатичних вузлів при раку молочної залози. Рівень MMP-9 може підвищуватися в слині пацієнтів з гінгівітами та хворобами періодонту.

### Тканинні інгібітори металопротеїназ (TIMPs)

Активність MMPs суворо контролюється та інгібується так званими інгібіторами тканинних металопротеїназ (TIMPs), які можуть блокувати руйнування екстрацелюлярного матриксу. Є чотири відомих TIMPs (TIMPs 1–4), які складаються з двох доменів, що фіксуються шістьма дисульфідними зв'язками. Один домен переважно відповідальний за інгібування, тоді як інший може зв'язуватися з про-желатиназами, а також стимулювати клітинну проліферацію. Сполучна тканина містить TIMPs. Основні місця експресії TIMP-1 знаходяться в яєчниках та кістковій тканині. TIMPs пригнічують розвиток пухлини, метастазування та ангіогенез. TIMP-1 стимулює синтез MMP-1 у фібробластах.

**Тканинний інгібітор металопротеїнази-2 (TIMP-2).** Експресія TIMP-2 спостерігається як у нормальних, так й у пухлинних тканинах. Концентрація TIMP-2 у сироватці корелює як із тривалістю ремісії, так і виживанням у пацієнок із раком молочної залози. Сироваткові рівні TIMP-2 підвищені у пацієнтів із системним склерозом. Передбачається використання цього тесту з метою оцінки ступеня малігнізації пухлини.

**Тканинний інгібітор металопротеїназ 4 (TIMP-4).** мРНК TIMP-4 експресується на високому рівні у серці, на низькому рівні у нирках, підшлунковій залозі, товстій кишці та тестикулах. Рівень TIMP-4 у плазмі знижений у пацієнтів із гіпертрофічною обструктивною кардіоміопатією після етанолової абляції міжшлуночнової перетинки, що вказує на важливу роль TIMP-4 у міокардальному ремоделюванні. Крім того, експресія TIMP-4 порушується при різних типах пухлин, включаючи рак молочної залози, шийки матки та ендометрію, гліоми та хоріокарциноми.

**Секреторна фосфоліпаза A2 типу ІІА (sPLA2 ІІА; PLA2)** – група близьких за дією ферментів, які після активації каталізують гідроліз складноэфірного зв'язку в положенні 2 у гліцерофосфоліпідів, при цьому утворюються вільна жирна кислота та лізофосфоліпід (рис. 41):

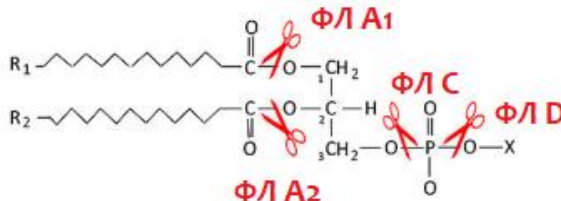
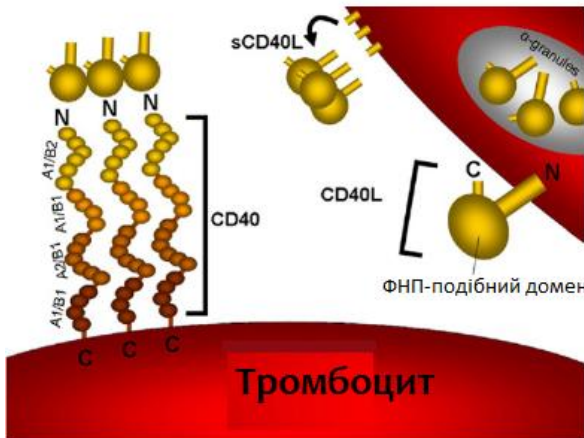


Рис. 41. Типи фосфоліпаз

**Секреторні ФЛ А2** – ферменти із м.м. ~14 кДа, які активні при мМ концентраціях  $\text{Ca}^{2+}$ . Секреція ФЛ А2 відбувається у відповідь на викид деяких білків запалення, таких як ФНП та ІЛ-1. Для діагностики АС, ішемії та ішемічної реперфузії можуть бути важливими ФЛ А кількох груп (ІА, V і X). Було показано, що ще до ангіопластики у пацієнтів з ІХС рівні sФЛ А2 та СРБ були суттєво вищими, ніж у групі контролю. У жодній із груп ангіографія на концентрацію обох маркерів не впливала. Ангіопластика асоціювалася із швидким підвищенням рівня sФЛ А2 (p25'000). Показано, що активність sФЛ А2 і концентрація СРБ приблизно з рівною точністю дозволяють оцінювати ризик небажаного перебігу через ССЗ, причому визначення sФЛ А2 на додаток до hsCRP покращувало прогноз.

**sCD40L-ліганд (CD40L або CD154)** належить до сімейства ФНП. У крові присутня розчинна ізоформа ліганду (sCD40L), яка є гомотримером з м.м. 18 кДа, що бере участь у В-клітинній проліферації та диференціюванні, і здатна захищати В-клітини від апоптозу.

Розчинний CD40L бере участь у патогенезі АС та гострих коронарних синдромів, будучи одночасно медіатором запалення та тромбоемболоутворення. Розрив бляшки викликає активацію тромбоцитів через вивільнення колагену, тромбіну та аденозин-5'-дифосфату (АДФ) (рис. 42).



**Рис. 42.** Структура рецепторів CD40, CD40L та sCD40L

Активация тромбоцитів призводить до підвищеної поверхневої експресії CD40L, який згодом відщеплюється від поверхні мембрани. Вивільнений sCD40L може активувати CD40 на ендотеліальних клітинах та індукувати прозапальний каскад у стінці судини. Крім того, sCD40L може активувати CD40, який також експресується на запальних клітинах, таких як моноцити та Т-клітини (рис. 43).

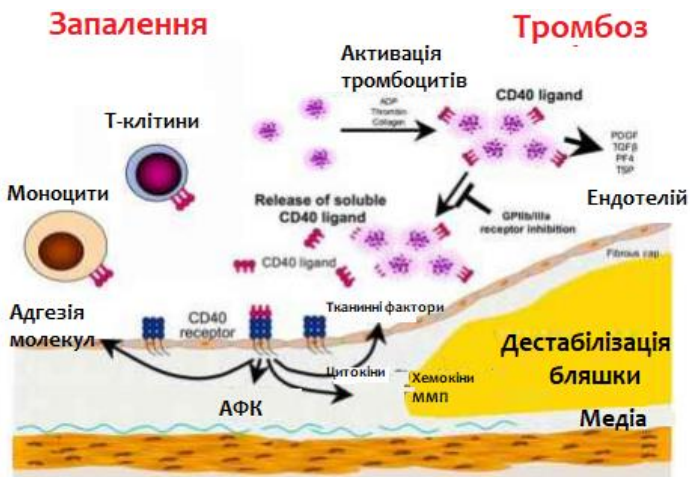


Рис. 43. Дестабілізація атеросклеротичної бляшки

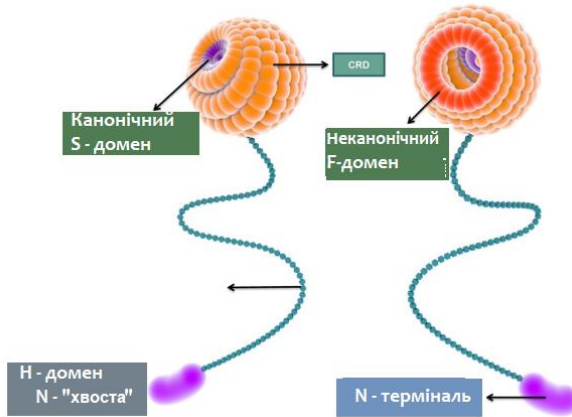
Наступна активація цих запальних клітин та їх проникнення в розірвану або ерозовану «бляшку» призводить до подальшого запального порушення стінки судини. Крім того, sCD40L є потужним біохімічним маркером тромботичної запальної активації у пацієнтів з гострим коронарним синдромом (ГКС), підтверджуючи тісний зв'язок між запаленням, тромботичною активацією та ГКС (див. рис. 43).

Визначення вмісту в крові sCD40L має прогностичне значення у хворих з різними формами ІХС. Так, у хворих з ІХС при високому рівні sCD40L ( $> 1,5$  нг/мл) ризик розвитку ішемічного ІнМ або ІМ був суттєво вищим (80 %) порівняно з хворими на ІХС з більш низьким рівнем sCD40L, з хворими на гіперхолестеринемію, гостру ішемію мозку, ЦД, а також у курців та пацієнтів з первинною і вторинною легеневою гіпертензією.

Таким чином, підвищення рівня sCD40L є фактором ризику ССЗ та пов'язане з несприятливим прогнозом у хворих на ІХС.

**Кластерин (аполіпопротеїн J; апо J; SP-40; TRPM2; SGP-2; pADHC-9; CLJ; T64; GP III; XIР8)** – висококонсервативний секреторний глікопротеїн з м.м.  $\sim 75$ – $80$  кДа, гетеродимер, субодиниці якого поєднані дисульфідними зв'язками. Кластерин (АpoJ) зв'язується з ліпідами, включаючи холестерол, і переміщує їх окремо або з ApoA-I чи/або ApoE-комплексами через гемато-енцефалічний бар'єр. Сучасні дослідження продемонстрували, що сироватковий рівень кластерину значно підвищений у пацієнтів з діабетом II типу та у пацієнтів з розвитком коронарної хвороби серця або ІМ. Наведені дані підтверджують, що підвищені рівні кластерину в сироватці можуть бути показником пошкодження судин.

**Галектин-3** – це  $\beta$ -галактозид-зв'язуючий білок з м.м. 26 кДа, який належить до сімейства галектинів (рис. 44). Галектин-3 взаємодіє з різними лігандами всередині клітини для запуску кількох біологічних процесів.



**Рис. 44.** Структура галектину-3.

*CRD – домен розпізнавання вуглеводів (є глобулярним і складається з кількох вуглеводних кишень). Центри зв'язування вуглеводів мають канонічну S-структуру і еканонічну F-структуру: S-структура зв'язує  $\beta$ -галактозиди, тоді як F-структура зв'язує лактозу та галактоманнан (GM). CRD продовжується у вигляді довгого та тонкого «хвоста», який закінчується в N-кінцевому домені; N-кінець не виявляє активності щодо зв'язування вуглеводів*

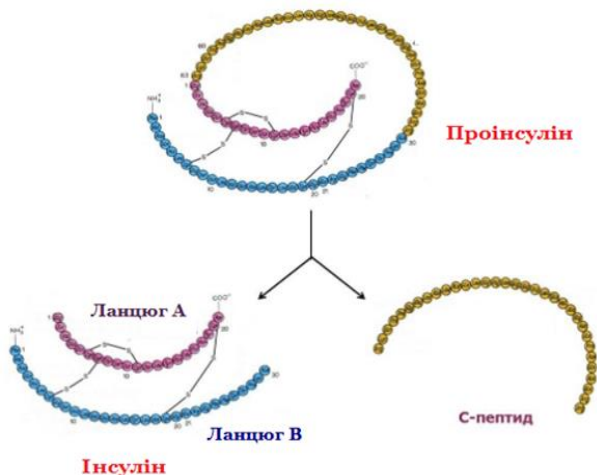
Потенціальні партнери внутрішньоклітинного зв'язування включають антиапоптозні молекули, такі як Bcl-2, і сигнальні молекули, такі як Gemin-4 і  $\beta$ -catenin. Внутрішньоклітинне зв'язування відбувається через білок-білкові взаємодії з використанням N-кінцевого домену або через домену для розпізнавання вуглеводів (CRD) без участі цукрових фрагментів, тобто відбувається без білково-вуглеводних взаємодій.

Галектин-3 є медіатором міжклітинних і клітин-матрикс взаємодіючих і діє як раніше невідомий хемоатрактант моноцитів і макрофагів.

**Підвищені рівні** в крові галектини-3 відмічені у людей при АС коронарних судин.

### Проінсулін

Останні десятиліття ознаменувалися бурхливим зростанням кількості хворих, які страждають на ЦД. Чисельність хворих на ЦД у світі нині становить 177 млн. Вже на стадії порушеної толерантності до глюкози частота розвитку ІХС вдвічі вище, а смертність від ССЗ в 1,5 раза вище, ніж в осіб, у яких немає порушень вуглеводного обміну. Процес утворення інсуліну з проінсуліну відображено на рис. 45.



**Рис. 45.** Процес утворення інсуліну та С-пептиду

Проінсулін – поліпептид, прогормон, що виробляється бета-клітинами острівців Лангерганса підшлункової залози, є попередником у біосинтезі інсуліну. Окрім двох ланцюгів, що є в молекулі інсуліну (А- та В-ланцюг), він має також третій, або С-пептид, що відщеплюється у процесі утворення інсуліну (*див. рис. 45*). Сам проінсулін практично не активний, але стимулює адипогенез, підвищує інсулінорезистентність, блокує фібриноліз, може бути причиною розвитку гіпертензії.

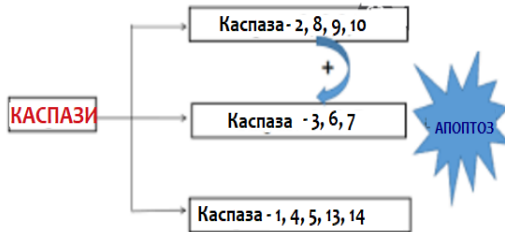
Рівень проінсуліну в плазмі крові є незалежним маркером ризику ССЗ. Рівень інтактного проінсуліну в ЕДТА-плазмі **вище 11 пмоль/л** свідчить про дисфункцію  $\beta$ -клітин та підвищений ризик ССЗ.

**Референтні значення інсуліну, С-пептиду та проінсуліну у сироватці крові:**

- **При 12-годинному голодуванні:**  
 Інсулін: 6–25 мОд/л (або 36–150 пмоль/л).  
 С-пептид: 0,7–2 мкг/л (або 0,2–0,6 пмоль/л).  
 Проінсулін: 25 нг/л.
- **Подовжене голодування зі зниженням рівня глюкози до 3,3 ммоль/л:**  
 Інсулін: < 6 мОд/л (або < 36 пмоль/л).  
 С-пептид: < 0,7 мкг/л (або < 0,2 пмоль/л).  
 Проінсулін: < 25 нг/л (або < 3 пмоль/л).
- **Максимальне значення після стимулювання глюкозою або глюкагоном:**  
 Інсулін: > 200 мОд/л (або > 1200 пмоль/л).  
 С-пептид: 2,7–5,7 мкг/л (або 0,9–1,9 пмоль/л).  
 Проінсулін: 77–102 нг/л (або 8,5–11,3 пмоль/л).

**Каспази** – це сімейство цистеїнових протеаз (рис. 46). Нині відомо понад 10 каспаз. Ці ферменти синтезуються та присутні у вигляді проензимів. Каспази підрозділяються на наступні групи:

- активатори цитокінів (К 1, 4, 5, 13);
- індуктори активації ефекторних каспаз (К 2, 8, 9, 10);
- ефекторні каспази – виконавці апоптозу.



**Рис. 46.** Класифікація каспаз

Активация каспаз призводить до серйозних морфологічних змін у клітині та до апоптозу. ГІМ викликає підвищення рівнів кількох каспаз: -2, -3 та -8.

**Каспаза-8** – білок із м.м. 55 кДа, що вважається ключовим компонентом у розвитку апоптозу, будучи посередником між DED-рецептором (рецептором смерті) та групою інших каспаз. Каспази опосередковують зовнішній і внутрішній шляхи апоптозу (табл. 4).

Таблиця 4

### Шляхи апоптозу

<b>Зовнішній</b>	<b>Внутрішній (мітохондріальний)</b>
<p>Активується на поверхні клітини специфічними зовнішньоклітинними чинниками (<i>лігандами</i>), які зв'язуються з рецепторами ФНП (TNFR, «рецептори смерті»). До них відносяться Fas-рецептори, APO-1, TNFR1, DR3, які присутні на плазматичній мембрані більшості клітин організму.</p> <p>✓ Активовані рецептори взаємодіють з внутрішньоклітинними чинниками (<i>адаптерами</i>), а потім з ефекторами прокаспазами – неактивними попередниками протеолітичних ферментів каспаз. В результаті ланцюжка взаємодії «<b>ліганд – рецептор – адаптер – ефектор</b>» формуються сигнальні комплекси (<i>апоптосоми</i>), в яких активуються каспази.</p> <p>✓ Каспази запускають процеси руйнування білків всередині клітини. Активована каспаза-8 розщеплює та активує каспазу-3 та інші ефектори каспаз</p>	<p>Індукується в мітохондріях вивільненням особливих апоптогенних білків – цитохрому С та флавопротеїну, або AIF-протеаз (apoptosis inducible factor) із міжмембранного простору мітохондрій у цитоплазму внаслідок розриву мембран мітохондрій або відкриття у них особливих каналів у зовнішній мембрані. Згадані білки мітохондрій також беруть участь у формуванні апоптосом і активуванні каспаз.</p> <p>✓ Ініціатор прокаспаза-9 утворює комплекс з мітохондріальним білком цитохромом С і фактором активації апоптотичної протеази (<b>APAF-1</b>) для утворення апоптосоми.</p> <p>✓ Активована каспаза-9 розщеплює і активує каспазу-3</p>

Апоптоз індукується, коли CD95 (Fas/APO-1) рецептор та ФНП перетворюють зимоген (про-каспазу-8) на активну каспазу-8 (К-8), що далі активує каспазу-3 та Bid (рис. 47). Зовнішній і внутрішній шляхи взаємодіють, коли каспаза-8 розщеплює агоніст смерті взаємодіючого домену BH3 (**Bid**); утворений **BID (tBid)** порушує зовнішню мітохондріальну мембрану, викликаючи вивільнення цитохрому С, який активує каспазу-9.

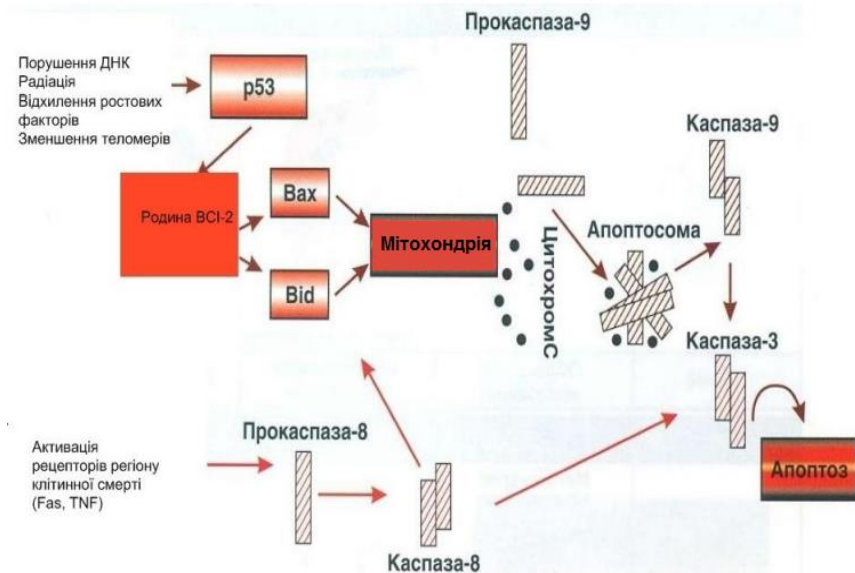


Рис. 47. Молекулярні механізми апоптозу

Разом ці шляхи викликають апоптичний процесинг клітини.

К-8 відіграє важливу роль у розвитку пухлин та ССЗ. Численні експерименти показали, що пригнічення К-8 захищає лабораторних тварин від розвитку постішемичної кардіоміопатії та ІнМ.

### Васкулоендотеліальний фактор росту (VEGF) та фактор росту фіброblastів (FGFb)

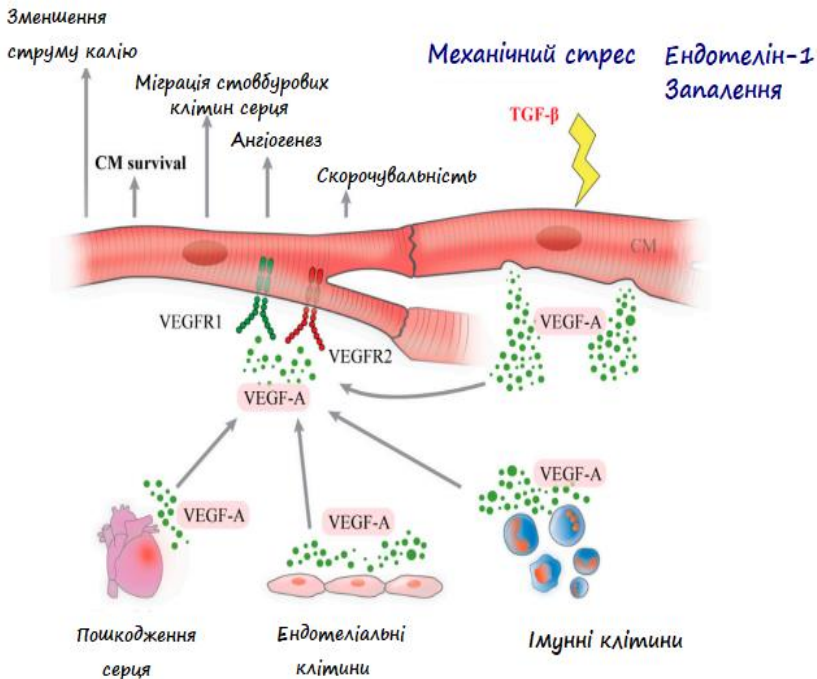
В основі ангіогенезу (зростання судин) лежить процес проліферації та міграції ендотеліальних клітин (ЕК) углиб атероми, внаслідок чого утворюється мережа дрібних новоутворених мікросудин, що пронизують атеросклеротичну бляшку (АСБ). У складі атероми дентифіковано цілу низку сполук, які потенційно є стимуляторами неоангіогенезу (VEGF, FGFb).

Стимули, такі як запалення, механічний стрес, ендотелін-1 та трансформуючий фактор росту- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) індукують кардіоміоцити продукувати та вивільняти VEGF-A, функцією якого є сприяння ангіогенезу в тканині

міокарда. Кардіоміоцити також є мішенню для дії VEGF-A, що виробляється декількома клітинами та під час пошкодження серця через зв'язування з VEGFR1 та VEGFR2, які експресуються на їх поверхні.

Активация кардіоміоцитів, індукована VEGF-A, покращує виживання серця, скорочувальну здатність, залучення серцевих стовбурових клітин, серцевий ангиогенез і зменшення струму калію ( $I_{Ks}$ ).

Утворення нових судин збільшує доступ до ядра атерому великої кількості лейкоцитів, що виділяють медіатори запалення та інші біологічно активні речовини та посилюють процес ангиогенезу (рис. 48).



**Рис. 48.** Процес проліферації та міграції ендотеліальних клітин (ЕК) углиб атерому

Неоангіогенез в АСБ сприяє створенню умов безперервного зростання атерому. Крім того, мікровазуляризація атерому сприяє зростанню останньої завдяки поліпшенню живлення та постачання кисню, в результаті чого посилюються функціональні можливості гладком'язових клітин до синтезу міжклітинного матриксу, що також сприяє збільшенню розмірів АСБ.

## Частина 9

### ЦИТОКІНИ ТА СЕРЦЕВО-СУДИННІ ЗАХВОРЮВАННЯ

**Цитокіни (ЦК)** – це гормоноподібні молекули, дія яких на клітину-мішень опосередковується високоспецифічними високоафінними мембранними рецепторами (рис. 49).

Всі рецептори ЦК є трансмембранними глікопротеїнами, у яких позаклітинна частина відповідає за зв'язування ЦК. Ці рецептори складаються більш ніж з однієї субодиниці, причому високоафінне зв'язування є наслідком взаємодії з різними субодиницями, кожна з яких сама здатна зв'язувати відповідний ЦК, але з нижчою спорідненістю.

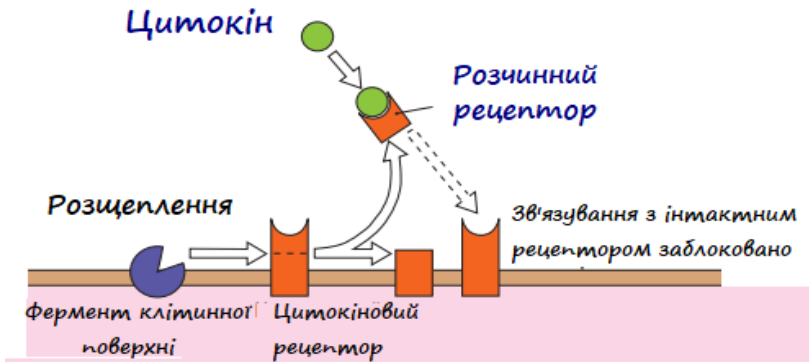


Рис. 49. Механізм дії цитокіну на клітину-мішень

Одні субодиниці рецепторів реагують тільки з певним ЦК, у той час як інші здатні формувати спільні рецептори для різних ЦК. Наявність загальних структур у рецепторах може зумовлювати функціональну подібність низки ЦК. Крім того, існують спільні групові рецептори, що сприяють усуненню надлишку ЦК в осередку ураження.

Синтез рецепторів відбувається інтенсивніше і триваліше, ніж синтез відповідних ЦК, що зумовлює їх більш повну та швидку елімінацію із судинного русла і реалізацію біологічного ефекту в осередку ураження. **Розчинний рецептор**, що зв'язується з ЦК, – це відщеплений ферментом позаклітинний домен мембранного рецептора. Розчинні рецептори зберігають високу афінність щодо своїх лігандів і завдяки цьому здатні нейтралізувати ЦК, перешкоджають їх доступу до інтактних мембранних рецепторів; їх можна виявити в сироватці та сечі. Розчинні рецептори можуть виконувати функції конкуруючих антагоністів, а також брати участь у транспорті, доставці ЦК у центр ураження, виведення їх із організму. Внаслідок взаємодії ЦК з рецептором ініціюється сигнал, передача якого в клітину зазвичай відбувається за участю янус-кінази (JAK)-STAT або кінази Ras-MAP.

На сьогодні до системи ЦК відносять близько 300 індивідуальних поліпептидних речовин. Найбільш добре вивченими і у зв'язку з цим найчастіше використовуваними в діагностичною метою є фактори зростання і ЦК імунної системи (ІС).

Класифікація ЦК може проводитись за їх біохімічними та біологічними властивостями, а також за типами рецепторів. Залежно від того, які клітини ІС переважно синтезують той чи інший ЦК, розрізняють **інтерлейкіни** (ІЛ), **монокіни** та **лімфокіни**. Нині 37 інтерлейкінів мають цифрові позначення (ІЛ-(1–37)), інші ЦК позначаються літерами: CSF (колонієстимулюючі фактори), OSM (онкостатин М), LIF (фактор, що інгібує лейкозні клітини), TGF (трансформуючі фактори зростання), CNTF (циліарний нейротрофічний фактор), TNF (фактор некрозу пухлин), інтерферони (ІFN) та ін.

За механізмом дії ЦК ІС можна умовно поділити на наступні групи:

1. **Прозапальні ЦК** (ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-12, ФПН $\alpha$ , ІFN $\alpha$ , ІFN $\beta$ , ІFN $\gamma$ , хемокіни – ІЛ-8, MCP-1, RANTES та ін.) продукуються та діють на імунокомпетентні клітини, ініціюючи запальну відповідь. Зазначають, що високий рівень цих ЦК є відображенням активності й тяжкості патологічного процесу.

2. **Противозапальні ЦК** (ІЛ-4, ІЛ-10, TGF $\beta$  та ін.) регулюють специфічні імунні реакції та обмежують розвиток запалення.

3. **Регулятори клітинного та гуморального імунітету** (природного або специфічного), що володіють власними ефекторними функціями (протівірусними, цитотоксичними).

Спектри біологічних активностей ЦК ІС значною мірою перекриваються: той самий процес може стимулюватися в клітині більш ніж одним ЦК. У багатьох випадках у діях ЦК спостерігається **синергізм**. Антигенна (АГ) стимуляція призводить до секреції **ЦК «першого покоління»** – ІЛ-1 та -6, ФНП- $\alpha$ , які індуюють біосинтез центрального регуляторного ЦК: ІЛ-2, а також ІЛ-3–5, ІFN- $\gamma$  та ін. **ЦК «другого покоління»** впливають на біосинтез ранніх ЦК. Такий принцип дії дозволяє не тільки регулювати імунну відповідь, а й ампліфікувати її, залучаючи до реакції все зростаючу кількість клітин. ІЛ-2 з'являється в цитоплазмі Т-клітин через 2 год після стимуляції; ІЛ-4 – через 4 год, ІЛ-10 – через 6 год, ІЛ-9 – через 24 год. Пік синтезу різних лімфокінів варіює: 12 год – для ІЛ-2, 48 год – для ІЛ-4 та ІЛ-5, 72 год – для ІЛ-9 та ІFN $\gamma$ .

Дія ЦК тісно пов'язана з фізіологічними та патофізіологічними реакціями організму. Однією з найважливіших функцій системи ЦК є забезпечення узгодженої дії імунної, ендокринної та нервової систем у відповідь на стрес. Оцінюючи рівні ЦК, необхідно пам'ятати, що вони є **АГ-неспецифічними факторами**. Отже специфічна діагностика інфекційних, аутоімунних та алергічних захворювань за допомогою визначення рівня тих чи інших ЦК неможлива. Однак вивчення вмісту ЦК дозволяє отримати інформацію щодо функціональної активності різних типів імунокомпетентних клітин, про тяжкість запального процесу, його перехід на системний рівень та

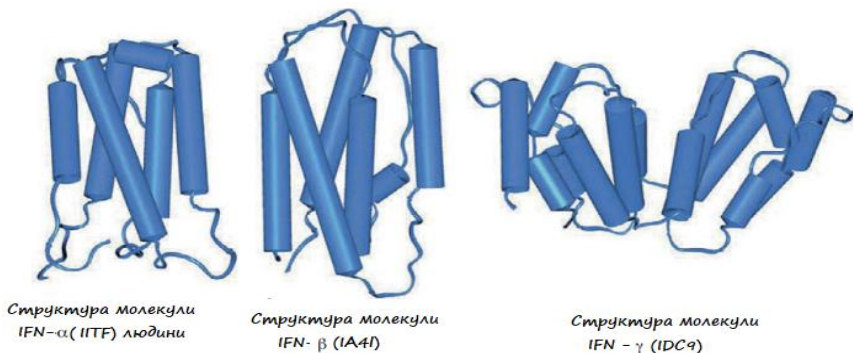
прогнози, про співвідношення процесів активації Тх1 та 2, що дуже важливо при диференційній діагностиці ряду інфекційних та імунopatологічних процесів, про стадії розвитку алергічних та аутоімунних захворювань.

**Інтерлейкіни ІЛ-1 та ІЛ-6** ініціюють синтез білків гострої фази:

- Підвищення рівнів ІЛ-1 та -6 асоціюється з повторними коронарними змінами у хворих на ІХС.
- Високий вміст ІЛ-6 в крові пацієнтів має важливе прогностичне значення порівняно з hsCRP для підвищення ризику смерті від серцево-судинних захворювань.
- У хворих на ГКС відзначалось достовірне підвищення рівнів ІЛ-1, -4 та -10 проти здорових осіб.
- Виявлено суттєве підвищення рівнів ІЛ-2, -4, -6, -12 та -18 у хворих на ІХС порівняно зі здоровими особами, причому рівень ІЛ-6 був ще вищим у пацієнтів з ІМ. ФНП-α володіє в основному імунотулюючою і прозапальною дією. Концентрація циркулюючого ФНП-α зазвичай дуже низька, проте різко зростає (максимум за 1,5 год) у разі виникнення гострої ситуації.
- Визначення рівнів ФНП-α та ІЛ-6 в крові відіграє важливу роль у діагностиці застійної серцевої недостатності.

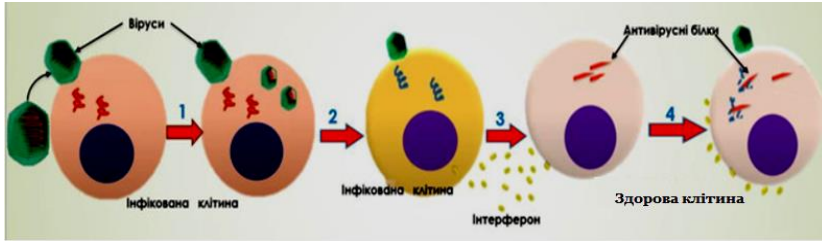
**Інтерферони (IFN)** – це білки, які мають противірусну та імунотулюючу активність. Залежно від походження та, відповідно, будови IFN людини діляться на 3 основні типи:

- IFN-α, продуцентами якого переважно є макрофаги та В-клітини;
- IFN-β, що продукується фібробластами;
- IFN-γ, який синтезують переважно активовані Тх1 (*рис. 50*).



**Рис. 50.** Будова різних типів інтерферонів (IFN)

Механізм дії IFN показано на *рис. 51*. Це запобігає поширенню вірусу по організму.



**Рис. 51.** Механізм дії інтерферонів:

- 1 – інфіковані вірусом клітини; 2 – розмноження вірусів у зараженій клітині;
- 3 – виділення *IFN* інфікованою клітиною, який дифундує в навколишні клітини;
- 4 – здорові клітини виробляють білок-протеїнказу *R*, що перешкоджає синтезу вірусних білків

**IFN- $\alpha$**  існує як мінімум у 20 варіантах з м.м. 19–26 кДа. Він має виражену антивірусну, антипаразитарну та антипроліферативну активність, продукується макрофагами, моноцитами, лімфоцитами та фібробластами, а також різними типами вірус-активованих клітин, використовується при лікуванні карциноми нирки та саркоми Капоші. *IFN- $\alpha$*  підвищується у плазмі при СНІДі, міастенії.

**IFN- $\omega$**  виділяється лейкоцитами у місці вірусних інфекцій та пухлин. Визначення *IFN- $\omega$*  використовується при моніторингу лікування різних захворювань, наприклад, при лікуванні хронічного гепатиту С.

**Інтерферон- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ , інтерферон II типу)** являє собою гомодимерний глікопротеїн, що містить субодиниці з м.м. 21–24 кДа. Продукція *IFN- $\gamma$*  здійснюється Т-лімфоцитами (CD8+ цитотоксичними і Th1), а також НК-клітинами. *IFN- $\gamma$*  значною мірою визначає ризик небажаних наслідків (ІМ, ішемічний ІнМ) на фоні АС. У місці розриву АСБ переважають клітини з ознаками запальної активації (макрофаги і Т-лімфоцити), на тлі недостатньої кількості гладком'язових клітин. *IFN- $\gamma$*  забезпечує поділ гладком'язових клітин і синтез колагену. Цитокіни активованих макрофагів (ФНП- $\alpha$  та ІЛ-1), а також *IFN- $\gamma$*  викликають синтез протеази, що руйнує міжклітинну речовину фіброзна оболонки. Таким чином, цитокіни порушують синтез і прискорюють розпад колагену, що полегшує розрив АСБ. У той же час АСБ з великою кількістю міжклітинних речовин, товстою фіброзна оболонкою і низьким вмістом атероматозної маси, як правило, не розриваються і не ведуть до тромбозу.

*IFN- $\gamma$*  є плейотропним ЦК, ефекти якого можна підсумувати наступним чином:

- має великий спектр противірусної, протипаразитарної та протипухлинної дії;
- має численні імуномодуючі ефекти, включаючи стимуляцію експресії антигенів тканинної сумісності класів I та II;

- має необоротну цитотоксичну дію на трансформовані клітини;
- посилює цитотоксичні реакції, опосередковані Т-лімфоцитами та НК-клітинами;
- одночасно селективно підвищує резистентність нормальних клітин до цитопатичних ефектів НК-клітин.

**Зниження продукції IFN- $\gamma$**  встановлено при синдромі Сезарі, гострому лімфолейкозі, неходжкінських лімфомах, хронічному лімфолейкозі. У ВІЛ-інфікованих осіб більшою мірою порушена функція T $\alpha$ 1 (що продукують IL-2 та IFN- $\gamma$ , що знижують функціональну активність НК-клітин), ніж T $\alpha$ 2 (що продукують IL-4 і -5, що підсилюють утворення антитіл). Було показано, що у хворих на СНІД у початковий період захворювання значно **збільшується концентрація IFN- $\gamma$** . Також IFN- $\gamma$  підвищується в плазмі при тяжкій цитомегаловірусній інфекції. IFN- $\gamma$  та IFN- $\beta$  підвищуються в плазмі при хворобах ЦНС, розсіяному склерозі.

До групи **факторів некрозу пухлин (TNF; ФНП)** включають ФНП- $\alpha$  та - $\beta$  (лімфотоксин). Вони є поліпептидами з м.м.  $\sim$ 17 кДа. ФНП- $\alpha$  є продуктом моноцитів/макрофагів, ендотеліальних, мієлоїдних клітин, лімфокін-активованих кілерів (ЛІАК), клітин нейроглії, в особливих випадках – активованих Т-лімфоцитів. Останні є основними продуцентами ФНП- $\beta$ , який утворюється при дії на Т-клітини антигенів та мітогенів значно пізніше, ніж ФНП- $\alpha$  (2–3 доби після активації).

Існує три основні напрямки дії ФНП:

- цитотоксична, спрямована на клітини пухлини або клітини, уражені вірусами;
- імуномодулююча та протизапальна, викликана активацією макрофагів, нейтрофілів, еозинофілів та ендотеліальних клітин;
- вплив на метаболізм, здатний призвести до гіперглікемії, резорбції кісткової тканини та збільшення м'язового глікогенолізу, тобто кахексії, яка спостерігається при деяких паразитарних інфекціях.

Внаслідок вивільнення TNF підвищується проникність капілярів, ушкоджується ендотелій судин, виникає внутрішньосудинний тромбоз.

**Фактор некрозу пухлини- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ , також кахектин)** є цитокіном, продукованим моноцитами та макрофагами. Він діє як мультипотентний модулятор імунної відповіді. ФНП- $\alpha$  відіграє важливу роль у патогенезі запальних захворювань зв'язків. Визначення рівня ФНП- $\alpha$  в крові є корисним у трансплантології.

Концентрація циркулюючого ФНП- $\alpha$  зазвичай дуже низька (< 5 пг/мл), проте вона різко зростає (максимум за 90 хв) після введення ЛПС та вертається до норми протягом 4 год.

**Високі рівні ФНП- $\alpha$  (> 300 пг/мл)** виявляють під час септичного шоку. Збереження високих рівнів свідчить про можливість виникнення небажаних

наслідків. У ВІЛ-інфікованих осіб у початковий період захворювання значно збільшуються концентрації ФНП- $\alpha$  та ІFN- $\gamma$ . Підвищений рівень ФНП- $\alpha$  при СНІДі індукує реплікацію вірусу в інфікованих клітинах ауто- або паракринному шляху. Крім того, ФНП здійснює знищення клітин, уражених вірусом, викликає зараження нових лімфоцитів.

### **Остеопротегерин (OPG)**

Останніми роками отримані дані, які свідчать, що остеопороз, кальцифікація аорти та клапанів серця, а також АС ураження судин – це взаємозалежні патологічні процеси. OPG претендує на роль ланки між остеопорозом і ураженням артерій – ці два стани дуже часто поєднуються.

OPG, що близький за структурою до ФНП, є незалежним фактором ризику прогресування АС та розвитку ССЗ. При визначенні рівня OPG у 915 осіб паралельно проводили оцінку ступеня атеросклеротичного ураження сонних артерій (1990 р.) з моніторингом через 10 років. Залежно від концентрації OPG всі учасники були розділені на три групи: 0,30–3,16 пмоль/л; 3,17–3,95 пмоль/л; 3,96–24,12 пмоль/л. Виявилось, що рівень OPG асоціюється з такими факторами серцево-судинного ризику, як вік, діабет, системне запалення, хронічні інфекції, паління. За даними мультиваріаційного аналізу, рівні OPG були достовірно пов'язані з тяжкістю та прогресуванням каротидного АС. Серед пацієнтів у віці 60 років і старше особи з максимальними рівнями OPG мали ризик ураження судин у 3,3 раза вище, а ризик смерті від серцево-судинних причин – у 4 рази вищий, ніж пацієнти з мінімальною його концентрацією.

**Інтерлейкін-1 (ІЛ-1, або ендогенний медіатор лейкоцитів (LEM))** вперше описаний у 1972 р. через його дію на тимоцити як фактор активації лімфоцитів. Він є цитокином, який має три ізоформи: ІЛ-1 $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-1Ra (антагоніст рецептора ІЛ-1), та два типи рецепторів R1 та R2.

**ІЛ-1 $\alpha$**  та **- $\beta$**  кодуються різними (хоча і тісно зчепленими) генами і розрізняються за структурою та pI (pI  $\alpha$  = 5,0; pI  $\beta$  = 7,0). Гомологія їхньої структури становить лише 26 %. Незважаючи на незначну гомологію, І-1 $\alpha$  і  $-\beta$  конкурують за той самий рецептор. Обидві форми мають ідентичну біологічну дію, зокрема, синтез білків гострої фази гепатоцитами, хемотаксис поліморфноядерних гранулоцитів, вивільнення поліморфноядерних гранулоцитів із крові та кісткового мозку. Проте спостерігається різниця в їх дії. ІЛ-1 $\alpha$  активує переважно Т-лімфоцити, має аутокринну та паракринну дію, в той час як ІЛ-1 $\beta$  ініціює та регулює запальні, імунні процеси, що активує нейтрофіли, Т- і В-лімфоцити, стимулює синтез білків гострої фази, ЦК (ІЛ-2, -3, -6, ФНП- $\alpha$ ), молекул адгезії (Е-селектинів), прокоагулянтів, простагландинів. ІЛ-1 $\beta$  підвищує хемотаксис, фагоцитоз, гемопоез, проникність судинної стінки, цитотоксичну та бактерицидну активність, надає пірогенний ефект та ін. (рис. 52).

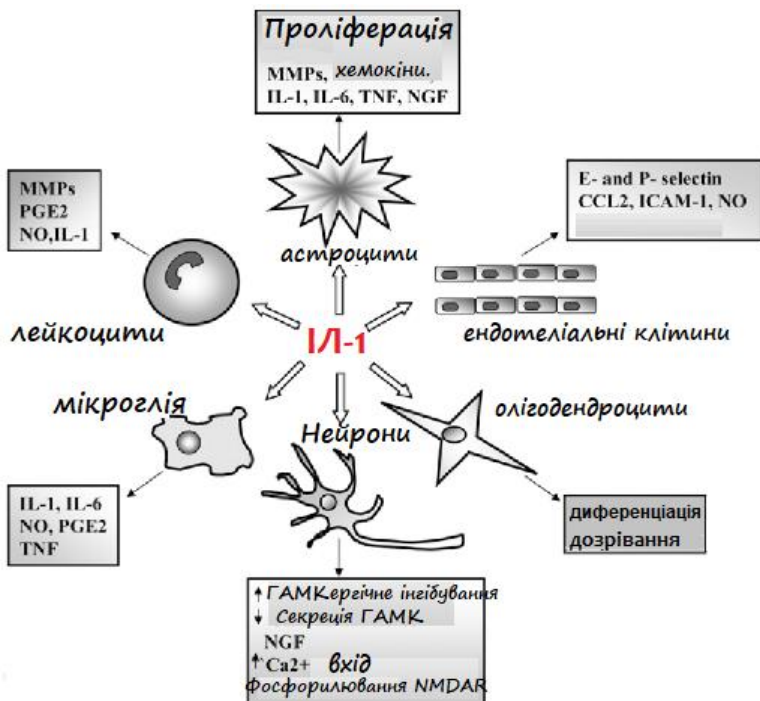


Рис. 52. Механізми дії інтерлейкіну (ІЛ)-1

Переважаючою формою ІЛ-1 є **ІЛ-1 $\beta$** . У нормі в сироватці виявляється низький рівень ІЛ-1 $\beta$ . Імовірно, ген ІЛ-1 активується при пошкодженні тканин та інфекції. Основними продуцентами ІЛ-1 $\beta$  є макрофаги та моноцити. У синтезі цього ЦК також можуть брати участь лімфоцити, фібробласти. *Клітини-мішені* – імункомпетентні, ендотеліальні, епітеліальні клітини, фібробласти та ін.

ІЛ-1 бере участь у регуляції температури тіла, а його підвищена продукція призводить до розвитку лихоманки. Глюкокортикоїди, простагландини, циклоспорин А знижують біологічну активність ІЛ-1. У сироватці крові осіб, яким було введено ендотоксин, у сечі хворих з лихоманкою, а також у культуральній рідині моноцитів, активованих *in vitro*, може бути виявлений поліпептид, що специфічно знижує активність ІЛ-1. Ендотеліальні клітини судин людини під впливом ІЛ-1 $\alpha$  та - $\beta$  секретують поліпептиди, подібні до тромбоцитарного фактору росту. Ці поліпептиди можуть стимулювати клітинну міграцію, проліферацію та викликати звільнення судинних медіаторів запалення, що при значному збільшенні зазначених ЦК може призвести до *дисемінованої внутрішньосудинної коагуляції*.

Поряд з ФНП- $\alpha$  та IFN- $\gamma$ , IL-1 бере участь у процесі руйнування АСБ, тим самим підвищуючи загрозу ІМ та ішемічного ІнМ. У разі виникнення оклюзії артерій мозку IL-1 також відіграє патогенну роль, сприяє розвитку ішемічного ураження. При множинних травмах у плазмі крові спостерігається високий рівень IL-1, -2, -6, особливо різко збільшений рівень ФНП. Відторгнення ниркового трансплантату супроводжується збільшенням рівня IL-1, -6, ФНП у плазмі. Загроза переривання вагітності супроводжується збільшенням продукції мононуклеарами периферичної крові IL-1 та збільшенням експресії рецептора IL-2 у субпопуляції Т-клітин. IL-1 $\beta$  належить істотна роль у патогенезі СНІДу. При ссоріазі синтез IL-1 $\alpha$  та - $\beta$  не знижується, але падає їхня функціональна активність. Низька активність IL-1 може бути зумовлена генетично (можливе успадкування алелі гена *IL-1*, що визначає синтез IL-1 нормального вмісту, але зі слабкою функціональною активністю).

**Підвищений рівень IL-1** в крові виявлений у пацієнтів при ревматоїдному артриті, при різних запальних захворюваннях, зокрема септичному шоку, ентероколіті, при цукровому діабеті I типу, нейрозапаленнях та ІМ, при гострому та хронічному мієлоїдному лейкозі. Значне підвищення рівня IL-1 призводить до гіпотензії, анорексії, руйнування хрящів у суглобах. IL-1 стимулює мієлопоез та ранні етапи еритропоезу (пізні – пригнічує, будучи антагоністом еритропоетину).

**Попередник інтерлейкіну 1 $\beta$  (пре-IL-1 $\beta$ ).** IL-1 синтезується у формі попередників макрофагами, ендотеліальними та мезенхімальними клітинами, В-лімфоцитами, а також клітинами інших тканин. IL-1 $\beta$  здатний зв'язуватися з рецептором тільки після ферментативного розщеплення, в результаті якого утворюється кінцевий продукт з м.м. 17,5 кДа. Цей процес каталізується ферментом **IL-1 $\beta$ -конвертуючим ензимом (каспаза-1)**. В ендотеліальних клітинах та клітинах артерій стимуляція за допомогою ліганда CD40 веде до процесингу пре-IL-1 $\beta$  і вивільнення біологічно активного ЦК, вказуючи як на механізм ICE-активації в запальному процесі при атерогенезі та інших патологічних станах, так і на новий механізм активації IL-1 $\beta$  у клітинах судин.

**Рецептор інтерлейкіну 1 (IL-1R2)** експресується на багатьох клітинах: Т-лімфоцитах, тимоцитах, фібробластах, ендотеліальних клітинах, гепатоцитах та ін. Рецептори типу 2 (IL-1R2) характерні для В-клітин, макрофагів та моноцитів. Ці два рецептори мають різні характеристики зв'язування з IL-1 $\alpha$  та - $\beta$ . Зазвичай IL-1 $\alpha$  краще зв'язується з R1, а IL-1 $\beta$  – з R2. У сироватці було виявлено розчинні форми обох рецепторів. Крім того, було виявлено додатковий рецептор – білок (IL-1R-АсР), який утворює комплекси з IL-1R1, після чого він збільшує афінність цього рецептора до IL-1, зв'язуючись або з IL-1 $\alpha$ , або з IL-1 $\beta$ . Кількість рецепторів на клітинах невелика і становить кілька десятків чи сотень. Обидва типи рецепторів є трансмембранними глікопротеїнами з Ig-подібною структурою позаклітинної ділянки молекули.

**Антагоніст рецептора ІЛ-1 (ІЛ-1 Ra)** є мономерним глікозилізованим білком із м.м. 25 кДа, який продукується моноцитами та іншими клітинами. Він зв'язується з ІЛ-1 $\alpha$ R з тією ж афінністю, що ІЛ-1, але не викликає подальшого проведення внутрішньоклітинного сигналу. Таким чином, ІЛ-1Ra виступає як інгібітор і, мабуть, є важливим фізіологічним регулятором експресії ІЛ-1. Спостерігається максимальне підвищення рівня ІЛ-1Ra при сепсисі, концентрації ІЛ-1Ra прямо корелюють зі сприятливим прогнозом. Недостатня продукція ІЛ-1Ra значно погіршує тяжкість ураження тканин при хворобі Лайма, туберкульозі, саркоїдозі. Інші дослідження показали значущість ІЛ-1Ra як ендогенного протизапального агенту при ішемічних ураження головного мозку, запальних захворюваннях кишечника, респіраторному дистрес-синдромі, бронхіальній астмі, пієлонефриті.

**Інтерлейкін-6 (ІЛ-6)**, що регулює імунну відповідь, реакції гострої фази та гемопоєз, відіграє одну з головних ролей у захисних механізмах організму. Цей мономер із м.м. 19–34 кДа є фактором диференціювання В-лімфоцитів в антитіла-продукуючі клітини.

**Підвищений рівень** циркулюючого ІЛ-6 виявлено у пацієнтів із хворобою Каслмена, ревматоїдним артритом, мікседемою, серцевою недостатністю, псоріазом, мезангіопроліферативним гломерулонефритом, саркомою Капоші, алкогольним цирозом, лімфомаю, мієломаю та карциномаю нирок. Рівень ІЛ-6 разом із вмістом ІЛ-18 різко збільшується відразу після ГІМ. У ВІЛ-інфікованих осіб В-лімфоцити продукують збільшену кількість ФНП- $\alpha$  та ІЛ-6. Даний ЦК регулює проліферацію епітеліальних клітин жовчних проток, клітин печінки, утворення гранульом, формування фіброзу при цирозі печінки. Підвищення концентрації ІЛ-6 відзначено при загостреннях виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки, панкреатиту, глютенової ентеропатії, хвороби Крона, неспецифічного виразкового коліту, вірусного гепатиту, первинного біліарного цирозу.

**Розчинний рецептор ІЛ-6 (sIL-6R).** Мембранний ІЛ-6R містить два ланцюги: ІЛ-6 $\alpha$  (глікопротеїн із м.м. 80 кДа) та ІЛ-6R $\beta$  (глікопротеїн із м.м. 130 кДа). Мембранний ІЛ-6R розщеплюється з утворенням sIL-6R із м.м. 55 кДа. ІЛ-6 спочатку зв'язується з ІЛ-6R $\alpha$  та ІЛ-6R $\beta$  з утворенням бінарного комплексу. Цей комплекс потім асоціюється з двома молекулами ІЛ-6R $\beta$ , і утворені молекули потім фосфорилуються. Відповідальним за сигнальну трансдукцію є гомодимер ІЛ-6R $\beta$ , який активується також LIF, CNTF, онкостатином М та ІЛ-11. sIL-6R бере участь у процесах, що відбуваються в печінці при гострому та хронічному запальному процесі. Високий вміст спостерігається у ВІЛ-інфікованих осіб та у пацієнтів з множинними мієломами та В-лімфоцитарними лейкозами.

**Інтерлейкін-8 (ІЛ-8/нейтрофіл-активуючий пептид-1 (ІЛ-8/NAP-1))** вибірково стимулює здатність нейтрофілів і Т-ліфоцитів мігрувати в пошкоджені та запальні тканини. ІЛ-8, виділений з ендотелію, може регулювати запальний процес шляхом впливу на взаємодію нейтрофілів

та цитокін-активованих ЕК. Залучення ІЛ-8 виявлено за багатьох клініко-патологічних умов: бактеріальні та вірусні інфекції, сепсис, різні злоякісні пухлини, відторгнення трансплантату, ІМ.

**Інтерлейкін-18 (ІЛ-18)** є низькомолекулярним ЦК запалення, що належить до сімейства хемокінів. Продукується під впливом бактеріальних ендотоксинів та ЦК, головним чином ФНП та ІЛ-1. Утворюючись із загального для різних хемокінів попередника, що складається з 99 АМК залишків, після протеолітичного розщеплення під впливом ICE (інтерлейкін-1 $\beta$ -перетворюючого ензиму) або іншої каспази, ІЛ-8 містить 72 АМК залишки та існує у розчині у вигляді димеру з м.м. 18 кДа. Ця речовина також відома як NAP-1 (пептид, що активує нейтрофіли), NAF (фактор активації нейтрофілів), GCF (хемотактильний фактор гранулоцитів) або NCF (хемотактильний фактор нейтрофілів). Активність ІЛ-18 тісно пов'язана з активністю ІЛ-1 (рис. 53).

ІЛ-18 є цитокіном, що відіграє важливу роль в імунній реакції Th1, насамперед завдяки своїй здатності індукувати продукцію IFN- $\gamma$  Т- і НК-клітинами.

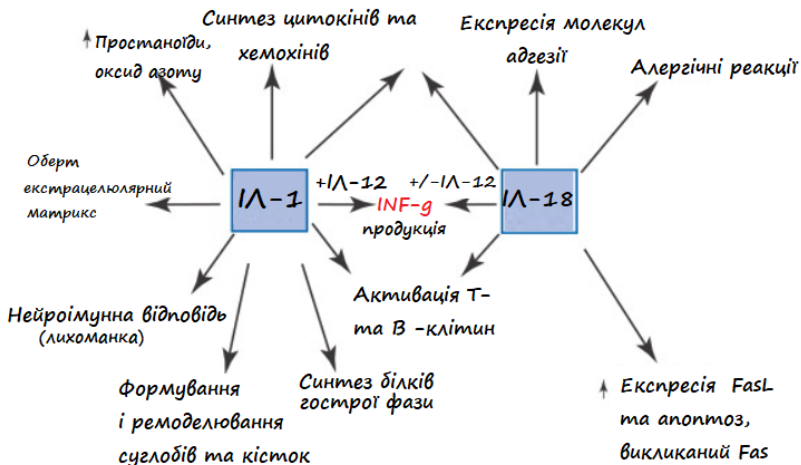


Рис. 53. Взаємодія ефектів ІЛ-1 та ІЛ-18 на різні типи клітин

### Функції ІЛ-18:

- відіграє роль модулятора при пухлинних, інфекційних, аутоімунних та запальних захворюваннях;
- відіграє критичну роль у процесах запалення та дегенерації нервової тканини, у тому числі при гіпоксії мозку, обумовленої ішемічним ІМ;
- рівень ІЛ-6 та ІЛ-18 різко збільшується відразу після ГІМ;
- активує нейтрофіли і моноцити, викликає їх хемотаксис у вогнищі запалення.

**Підвищений рівень ІЛ-18** асоціюється з хронічними та гострими запальними станами та корелює з тканинною інфільтрацією нейтрофілів при ревматоїдному артриті, з виразковим колітом.

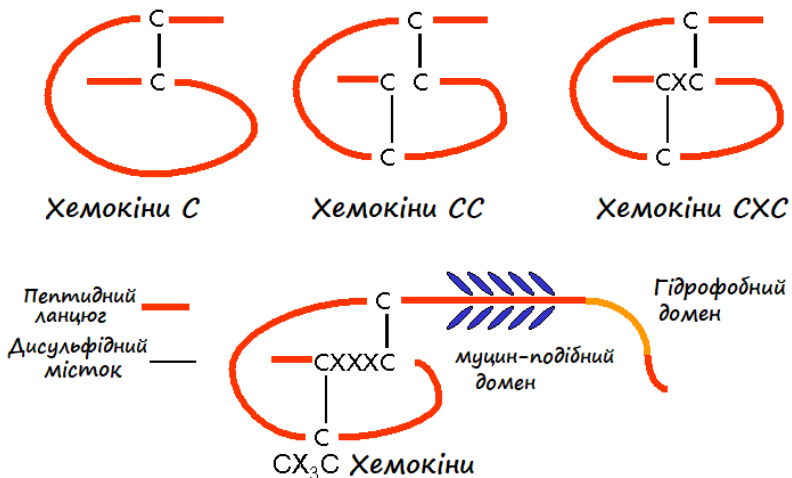
**Хемокіни** – суперсімейство малих протеїнів, що секретуються і функціонують як міжклітинні посередники для контролю активації та міграції різних клітин крові (наприклад: Т- та В-лімфоцитів, моноцитів, нейтрофілів, еозинофілів, базофілів) до вогнища запалення у разі алергічних та інших імунних реакцій.

Виділяють два основні класи хемокінів:

- $\alpha$ -хемокіни (опосередковують переважно хемотаксис нейтрофілів);
- $\beta$ -хемокіни (сприяють хемотаксису моноцитів і лімфоцитів).

Хемокіни містять чотири консервативні цистеїни, пов'язані дисульфідними містками (рис. 54). На підставі кількості та розташування N-кінцевих залишків цистеїну хемокіни поділяють на чотири сімейства:

1. **CC** (або  $\beta$ ) – хемокіни, у яких два перші залишки цистеїну розташовуються безпосередньо поруч один з одним.
2. **CXC** (або  $\alpha$ ) – хемокіни, у яких вони розділені одним амінокислотним залишком.
3. **C** – сімейство хемокінів мають один залишок цистеїну на N-кінці;
4. **CX3C** – сімейства хемокінів мають два залишки цистеїну на N-кінці, розділені трьома амінокислотними залишками.

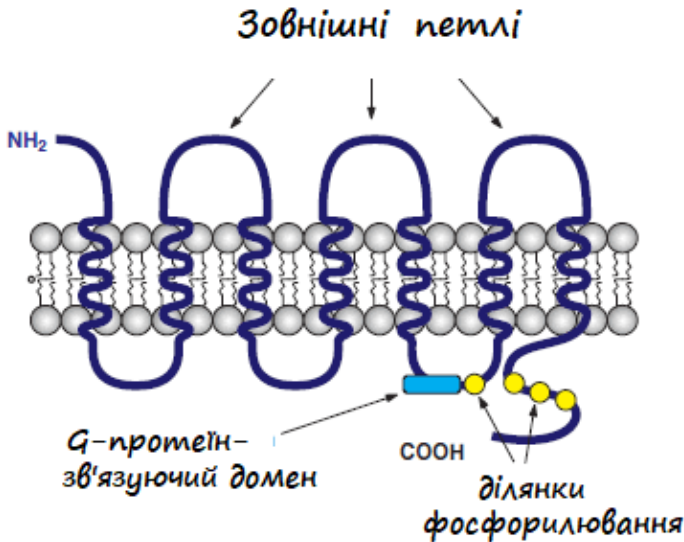


**Рис. 54.** Структура різних класів хемокінів

Хемокіни різних сімейств, поліпептиди з м.м. 8–10 кДа, кодуються різними кластерами генів.

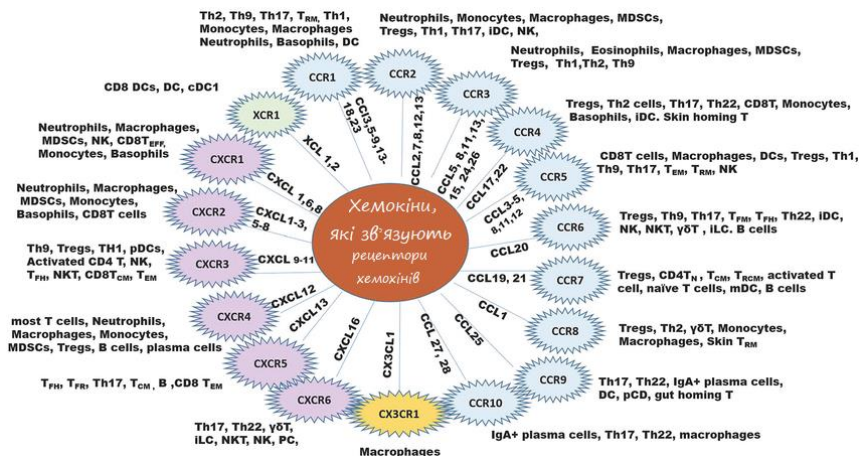
**Сімейство CXC** включає такі молекули, як PF4, ІЛ-8, ІЛ-10, MIG, SDF-1, GRO- $\alpha$ , GCP-2, I-TAC. Ці хемокини служать хемоатрактантами для нейтрофілів. Крім того, багато CXC-хемокинів здатні активувати клітини ендотелію і тим самим впливати на ангиогенез. Таку здатність мають білки з послідовністю Glu-Leu-Arg (ІЛ-8, GRO- $\alpha/\beta$ , MIP-2). До членів **сімейства CC**, об'єднаних назвою «**RANTES/SIS**», відносяться: RANTES, I-309, MCP-1-5, MIP-1 $\alpha$ , -1 $\beta$ , -3 $\alpha$ , -3 $\beta$ , а також Eotaxin-1-3, TARC, MDC, LARC, PARC, TECK, MIPF, STACK, 6Ckine, SCL. Хемокини цієї групи служать хемоатрактантами переважно для моноцитів та макрофагів, а також Т-лімфоцитів.

На сьогодні відомо більше 25 типів рецепторів до хемокинів з різним ступенем афінності (рис. 55). Рецепторами хемокинів служать семісегментні трансмембранні білки. Згідно з сучасною номенклатурою, рецептори CXC-хемокинів позначаються як CXCR, CC-хемокинів – CCR, CX3, C – CX3, CR. На поверхні еритроцитів, клітин ендотелію, глії головного мозку виявлено DARC-рецептор, що специфічно зв'язується з деякими хемокинами. Деякі віруси, що здатні продукувати білки, теж специфічно зв'язуються з молекулами хемокинів.



**Рис. 55.** Рецептори хемокинів

Всі ці рецептори пов'язані з G-білком, що запускає сигнал в середину клітини та для її активації. При цьому змінюється метаболізм фагоцитів, посилюється секреторний процес, підвищується сприйнятливість клітин до дії інших активуючих агентів (рис. 56).



**Рис. 56.** Сімейство хемокинів, хемокинових лігандів і хемокинових рецепторів. В – В-клітина; iDC – незрілий DC; NK – природна клітина-кілер; NKT – природні Т-клітини-кілери; MDSCs – супресорні клітини мієлоїдного походження; pDC – плазмоцитоподібний DC; Th – Т-хелпер; T<sub>CM</sub> = Т-клітина центральної пам'яті; T<sub>EFF</sub> – ефекторна Т-клітина; T<sub>FH</sub> – фолікулярна хелперна Т-клітина; T<sub>FR</sub> – фолікулярна регуляторна Т-клітина; TN – нативні Т-клітини; T<sub>RCM</sub> – рециркулюючі Т-клітини пам'яті. Рецептор хемокину XC позначено зеленим кольором, рецептори хемокину CC позначено синім кольором, рецептор хемокину CX3CR позначено жовтим кольором, а рецептори хемокину CXCL позначено бузковим кольором. Внутрішні лінії, що ведуть до кожного хемокинового рецептора, показують ліганди, які зв'язуються з рецептором. Поза колеса хемокинових рецепторів показано типи клітин, які експресують рецептор для відповіді на ліганди для кожного хемокинового рецептора.

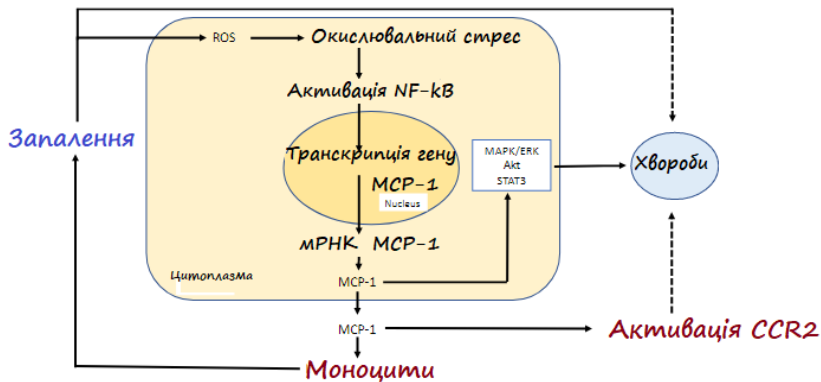
**RANTES** належить до CC сімейства β-хемокинів. Активність хемокину RANTES не обмежується лише хемотаксисом. Вона виявляється при гострих та хронічних запальних процесах.

**Зростаючий рівень RANTES** визначається після ІМ та зберігається підвищеним протягом тижня. Причому концентрація RANTES корелює зі ступенем тяжкості інфаркту: 32±2 нг/мл (n=17) (при ГІМ II та III ступеня тяжкості за Кіліпом) проти 16±1 нг/мл (n=18) при I ступені; значення у контрольній групі – 12±1 нг/мл.

**Низький базовий рівень RANTES** є незалежним предиктором інфаркту міокарда та смертності від серцевої недостатності. RANTES/SIS відіграють важливу роль у регуляції руху лімфоцитів, зокрема міграції різних популяцій лейкоцитів у місце ушкодження або застосування інфекційного агента. Ці ЦК залучені до регуляції розвитку різних гемопоетичних клітин-попередників. Синтез RANTES здійснюється циркулюючими Т-клітинами,

активованими ІЛ-1 та ФНП- $\alpha$ . Він також пов'язаний з процесом вивільнення гістаміну та з адгезією моноцитів на клітинах ендотелію. RANTES належить до головних ВІЛ-супресивних факторів.

**Моноцитарний хемотаксичний протеїн-1 (MCP-1)** був охарактеризований як моноцит-специфічний хемоатрактант, але пізніше було показано, що він взаємодіє з Т-лімфоцитами та NK-клітинами. В основному MCP-1 експресується макрофагами у відповідь на широкий спектр ЦК (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ФНП- $\alpha$ ), але може при стимуляції також продукуватися фібробластами, ендотеліальними або пухлинними клітинами. MCP-1 відіграє роль при різних захворювань, що характеризуються інфільтрацією мононуклеарних клітин, включаючи атеросклероз, ревматоїдний артрит та алергічну реакцію (рис. 57).



**Рис. 57.** Механізм залучення моноцитів до вогнища запалення при захворюваннях за участю MCP-1.

*MCP-1* – моноцитарний хемотаксичний протеїн-1; *ROS* – реактивні форми кисню; *CCR* – рецептори *СС*-хемокінів; *NF-kB* – ядерний фактор *kB*

Відомо, що ендотеліальні клітини контролюють клітинну адгезію, тромборезистентність, проліферацію гладком'язових клітин і запалення стінки судин шляхом утворення широкого спектра факторів. Порушена біодоступність NO є причиною, характерною для ендотеліальної дисфункції. Пошкодження ендотелію судин сприяє запаленню шляхом секреції цитокинів і хемокінів (MCP-1) і сприяє експресії молекул адгезії пошкодженим ендотелієм. Активація CCR2 MCP-1 відповідає за оновлення ендотелію судин після травми, в процесі ангиогенезу та формування колатералей. MCP-1 відповідає за міграцію моноцитів до субендотелію та залучення лейкоцитів до місця пошкодження, таким чином, сприяє атерогенним і тромбоемболічним процесам. Моноцити дозрівають як макрофаги, вивільняють цитокіни і поєднуються з накопиченими окисленими ЛПНЩ, утворюючи «пінисті» клітини. Гладком'язові клітини також розмножу-

ються та мігрують у субендотеліальний простір завдяки дії прозапальних цитокінів та взаємодії факторів росту. Після формування жирової стрічки спостерігається утворення атеросклеротичної бляшки. Рівень MCP-1 при атеросклерозі у людини корелює з уразливістю бляшок. MCP-1 належить до головних ВІЛ-супресивних факторів.

**Підвищений рівень MCP-1** був також виявлений у зв'язку із запаленням кісткової тканини та хворобою Альцгеймера, а також при ішемії міокарда та вірусній інфекції. Як і RANTES, рівень MCP-1 зростає при ІМ та корелює зі ступенем його тяжкості:  $295 \pm 11$  пг/мл ( $n = 17$ ) при ГІМ II та III ступеня проти  $203 \pm 9$  пг/мл ( $n = 18$ ) при ГІМ I ступеня (при **контрольному значенні** ( $125 \pm 7$ ) пг/мл). При гострому та хронічному розсіяному склерозі імунореактивність MCP-1 підвищена, але MCP-1 помітно знижується в спинно-мозковій рідині (CSF) та при хронічних ураженнях пацієнтів із розсіяним склерозом. MCP-1 відіграє важливу роль у процесах тканинної інфільтрації моноцитами. MCP-1 належить до головних ВІЛ-супресивних факторів.

**Фракталкін** – єдиний представник CX3C підсімейства хемокінів, з трьома АМК залишками між C1 і C2 цистеїнами в хемокіновому домені. Фракталкін є лігандом CX3CR1.

Унікальність фракталкіну порівняно з іншими хемокінами полягає в тому, що він існує не тільки в розчиненій, але і в мембранозв'язаній формі, де хемокіновий домен пов'язаний з муциновою частиною молекули. Розчинена форма фракталкіну викликає хемотаксис моноцитів, T- і NK-клітин (*рис. 58*). Показано, що фракталкін відіграє важливу роль у патогенезі АС (у тому числі на фоні ЦД), при ураженні судинного ендотелію та при відторгненні трансплантованих органів.

ішемія-реперфузійне пошкодження (ІРІ), яке індуковане фракталкіном ендотеліальних клітин судин, мігрує до CX3CR1<sup>+</sup> клітин



**Рис. 58.** Механізм дії фракталкіну

Антитіла проти фракталкіну або CX3CR1 знижують ризик розвитку АС, реакції відторгнення трансплантанту. Мутантна (неактивна) форма CX3CR1 асоційована зі зниженим ризиком виникнення АС і серцево-судинної дисфункції.

## Частина 10

### ЗВ'ЯЗОК РИЗИКУ ССЗ З ГЕМОСТАТИЧНИМИ ФАКТОРАМИ

У ряді епідеміологічних досліджень показано, що деякі фактори, які беруть участь у процесі згортання крові, підвищують ризик розвитку ССЗ: підвищені рівні I, II і VII факторів згортання у плазмі, підвищена агрегація тромбоцитів, знижена фібринолітична активність (табл. 5).

Таблиця 5

#### Взаємозв'язок вмісту гемостатичних факторів з ризиком розвитку ССЗ

Фактори гемостазу	Стенокардія	ІМ	Ішемічний інсульт	Небажані події, асоційовані з ССЗ
Фібриноген (г/л)	2,23–3,3	2,32–3,22	2,55–3,52	2,35–3,3
vWF (МОД/дл)	178,5–135,5	81–156	92–151,5	84–149,5
t-PA (нг/мл)	6,2–10,2	6,6–10,8	8,3–12,3	6,5–10,7
Фактор VII (МОД/дл)	77–122	65–115	69–118	69–119
D-димер (нг/мл)	62–118	66–135	79–181	66–139

**D-димер** є незалежним маркером ризику цереброваскулярних патологій, його рівень пов'язаний з розвитком АС в артеріях головного мозку і виражає протромботичні стани, що в будь-якому випадку підвищує ризик ішемічного ІНМ (рис. 59).

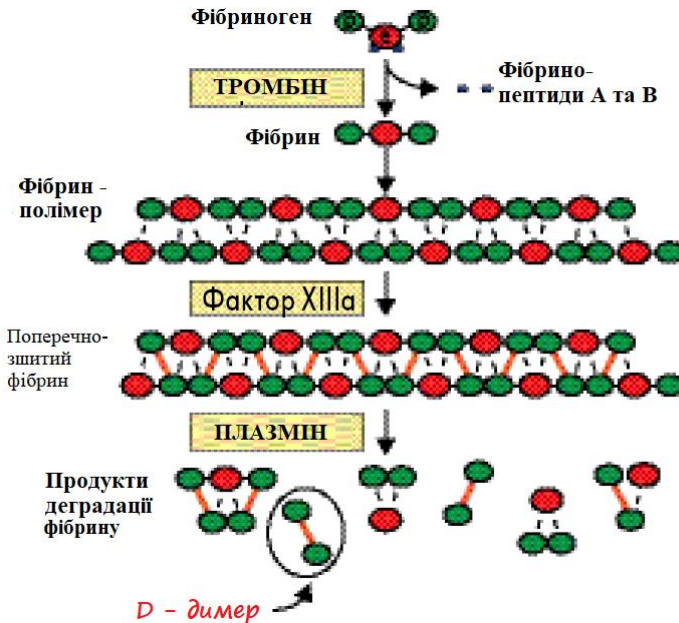


Рис. 59. Механізм утворення D-димерів

Крім того, D-димер є предиктором ІМ. Однак визначення D-димера підходить швидше для прогнозування ризику контролю цього стану. D-димер також бере участь у процесі ангіогенезу, викликає проліферацію клітин гладкої мускулатури та хемотаксис моноцитів. Стимулюючи активність моноцитів, D-димер збільшує синтез фібриногену в гепатоцитах.

**Референтні значення:** 0–0,55 ФЕУ/мл (де ФЕУ в мг/мл еквівалент фібриногену).

**Помірне підвищення концентрації D-димера** часто спостерігається у таких випадках:

- нещодавно перенесені хірургічні операції;
- травми;
- серцево-судинні захворювання;
- онкологічні захворювання;
- захворювання печінки;
- COVID-19;
- тромбоемболії;
- вагітність (на пізніх термінах).

**Фібронектин** є високомолекулярним глікопротеїном з м.м. 220 кДа, який синтезується фібробластами, ЕК, хондроцитами, гліальними клітинами та міоцитами. Існує у двох фракціях:

- 1) присутня у плазмі крові;
- 2) на поверхні численних клітин (макрофагів, ендотеліальних клітин, тромбоцитів, фібробластів).

Активна форма представлена як димер, з'єднаний на С-кінці S-S-зв'язком. Фібронектин має гнучкий і жорсткий домени, RGD-домени для зв'язку з клітинами (Арг; Глі; Асп), RGD-домени також поєднуються з колагеном I, II та III типів, гепарин сульфатом, гіалуроновою кислотою, фібрином (рис. 60).

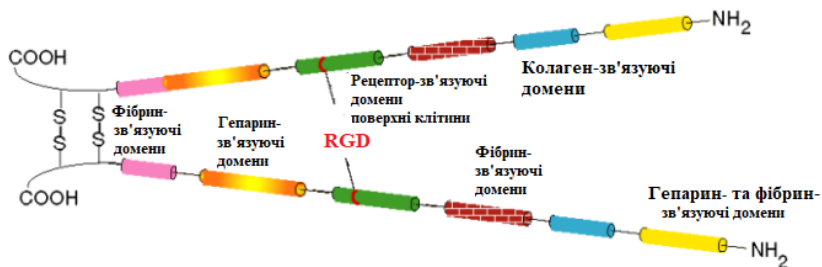


Рис. 60. Структура фібронектину

#### Функції фібронектину:

- забезпечує взаємодію клітин одна з одною;
- сприяє адгезії тромбоцитів;
- запобігає метастазуванню пухлин;

- як опсонін посилює фагоцитоз;
- очищує кров від продуктів розпаду (колагену);
- бере участь у регуляції процесів згортання крові.

Він відіграє важливу роль у серцево-судинній системі, в системі згортання крові, є діагностично значущим для виявлення АС, гіпертензії та ІМ.

**Підвищений вміст фібронектину** свідчить про пошкодження ендотелію судин, що є додатковим фактором розвитку АС і нестабільності фіброзної капсули. Велика діагностична значущість рівня фібронектину в плазмі для хворих з ішемічним ураженням головного мозку, які проходять тромболітичну терапію. Показано, що така терапія повинна проводитись при моніторингу рівня фібронектину, оскільки високі концентрації цього маркера пов'язані з геморагічною трансформацією та підвищеним ризиком геморагічного інфаркту та крововиливу у мозок.

## Частина 11

### МОЛЕКУЛИ АДГЕЗІЇ ПРИ ССЗ

Встановлено, що судинні (VCAM-1), міжклітинні (ICAM-1) молекули адгезії, E-селектин беруть участь в атерогенезі, сприяють проникненню лейкоцитів у стінку судин та відкладенню ліпідів. Рівень розчинних форм молекул адгезії є чутливим індикатором ступеня АС ушкодження артерій. У фізіологічних умовах ЕК не експресують молекули адгезії. Збільшення концентрації останніх на поверхні ЕК виникає при дії різних факторів, що пошкоджують їх: збільшення напруги лінійного зсуву в певній ділянці артерії, накопичення в субендотеліальному просторі окислених ліпідів і ліпопротеїнів тощо.

В експериментальних дослідженнях доведено важливість експресії молекул адгезії у розвитку реперфузійного пошкодження та хвороби коронарних артерій трансплантованого серця. Регенераційний процес після ІМ починається з адгезії мезенхімальних стовбурових клітин у ділянці пошкодженого кардіального мікроvasкулярного ендотелію, відповідно провідну роль у цьому процесі відіграють молекули міжклітинної адгезії.

**Селектини** є мономерними білками. Їх N-кінцевий домен має властивості лектинів, тобто має специфічну спорідненість до того чи іншого кінцевого моносахариду олігосахаридних ланцюгів (манози, фукози). Таким чином, селектини впізнають певні вуглеводні компоненти на поверхні клітин.

За лектиновим доменом (С-тип) йде серія з трьох-десяти інших доменів (рис. 61). З них одні впливають на конформацію першого домену, а інші беруть участь у зв'язуванні вуглеводів. Для зв'язування С-селектинів з лігандами необхідні іони  $Ca^{2+}$ . Селектини поділяються на такі групи: P (від platelet – тромбоцитарний; експресований на активованих тромбоцитах і ендотеліальних клітинах), E (від endothelial – ендотеліальний; експресований на активованих ендотеліальних клітинах) та L (від lymphocyte – лимфоцитарний; експресований на лейкоцитах).

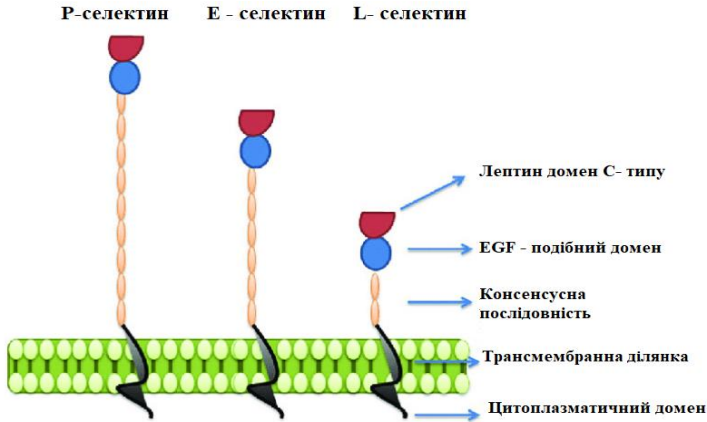


Рис. 61. Типи селектинів

Існують п'ять доменів, спільних для селектинів: домен лектину С-типу; домен, подібний до епідермального фактора росту (EGF); різна кількість коротких консенсусних (погоджувальних) повторів (L – 2; E – 6; P – 9), які мають гомологію для доповнення регуляторних білків; трансмембранна ділянка; короткий цитоплазматичний домен, що зв'язується з молекулами кальмодуліну, актину. Кальмодулін запобігає «змиванню» («шедингу») селектинів. Селектини відіграють важливу роль у процесі трансміграції лейкоцитів у ділянку ушкодження при запальній реакції. Модель адгезії та міграції клітин циркулюючої крові представлена на рис. 62.

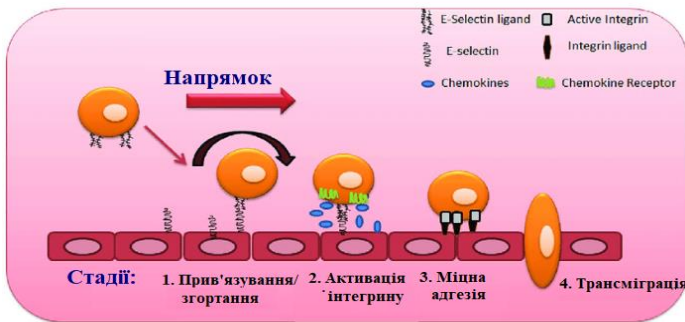


Рис. 62. Модель адгезії та міграції клітин циркулюючої крові вздовж ендотелію судин. Клітини встановлюють адгезивні контакти із запаленою поверхнею ендотелію через залучення їх гліканових детермінант до судинного E-селектину (стадія 1 – прив'язування («tethering»)) та згортання («rolling»). Подальше залучення хемокінових рецепторів призводить до активації інтегрину (стадія 2) і міцної адгезії лейкоцитів до ендотелію (стадія 3), що забезпечує їх трансміграцію («extravasation») (стадія 4)

## Р-селектин

Р-селектин-опосередкована адгезія спрямована на міжклітинну взаємодію (лейкоцити-ендотелій) і, ймовірно, дуже важлива у процесах розвитку запалення та гемостазу. Надмірне накопичення нейтрофілів на поверхні ендотелію, що супроводжується високим рівнем Р-селектину, пов'язане із запальними процесами, включаючи ушкодження при ішемії-реперфузії (рис. 63).

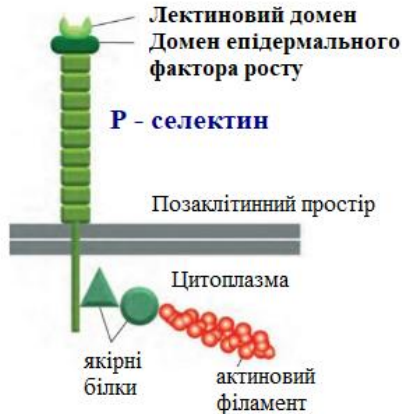


Рис. 63. Будова Р-селектину

Циркулююча форма або розчинний **Е-селектин (sE-селектин)** виконує роль хемотаксичного сигналу для нейтрофілів. Викликаючи хемотаксис і адгезію імунокомпетентних клітин, Е-селектин відіграє важливу роль у розвитку патологій, таких як алергічні реакції, хвороби очей, септичний шок, внутрішньосудинне запалення, реакції відторгнення трансплантата. Е-селектин максимально експресується через 2–4 год після клітинної активації. У наступні 24–48 год Е-селектин звільняється з поверхні цитоплазматичних мембран і потрапляє у кровообіг крові та лімфи.

**Молекула міжклітинної адгезії (ICAM-1)** складається з 5 імуноглобуліноподібних (Ig-подібних) доменів (D1–D5), трансмембранного та цитоплазматичного домену і містить 8 N-зв'язаних сайтів глікозилування. Дисульфідні зв'язки в Ig-подібних доменах утворюються між залишками цистеїну, які стабілізують структуру (рис. 64).

Експресія ICAM-1 корелює з інфільтрацією лімфоцитів в осередку запалення (рис. 65) і посилюється при відторгненні капілярного ендотелію, міокарда та ендокарда в трансплантованому серці. У осіб з інсулінозалежним ЦД або з підвищеним ризиком даного захворювання виявлено високі рівні ICAM-1 і L-селектину у сироватці крові. У перші 12–24 год ГІМ відзначається зниження рівня sICAM-1, що може слугувати прогностичним фактором для розвитку ішемії міокарда та реперфузії.

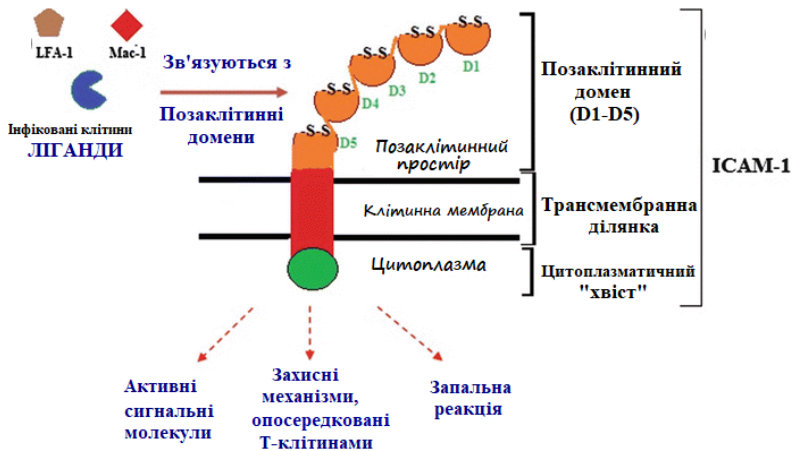


Рис. 64. Структура молекули міжклітинної адгезії (ICAM-1)

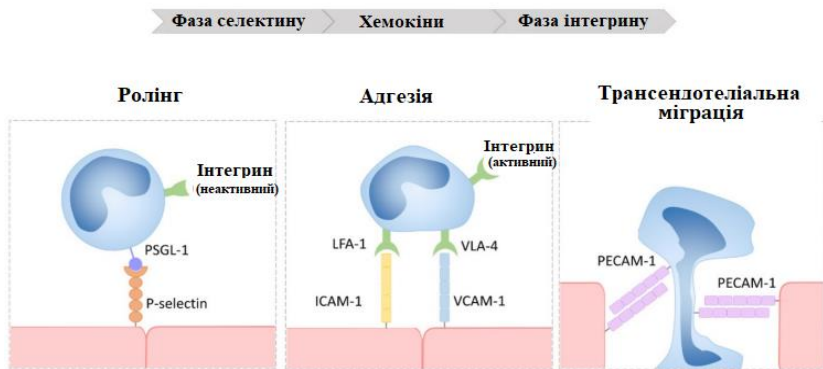


Рис. 65. Роль молекул міжклітинної адгезії в реакціях запалення ендотелію. *LFA-1* – пов'язаний з функцією лімфоцитів антиген-1; *VLA-4* – дуже пізній антиген-4; *PSGL-1* – *P*-селектин глікопротеїновий ліганд-1; *VCAM-1* – молекула адгезії судинних клітин-1; *ICAM-1* – молекула міжклітинної адгезії-1; *PECAM-1* – молекула адгезії тромбоцитів ендотеліальною клітиною-1

sICAM-1 також є надійним маркером запалення ЦНС, пов'язаним з крововиливом і порушенням гематоенцефалічного бар'єра.

При запальних станах лейкоцити спочатку взаємодіють з селектинами, які експресуються ендотелієм, що дозволяє їм «котитися» до стінки судини («rolling»). Таким чином, рухомі лейкоцити сприймають хемокіни, які індукують їх активацію, активацію інтегринів і подальшу взаємодію з молекулами адгезії (VCAM-1 і ICAM-1). Потім лейкоцити мігрують через ендотеліальний шар за допомогою PECAM-1-залежного механізму.

## ВИСНОВОК

ЕД відіграє особливу роль у розвитку та прогресуванні ССЗ. Тому розробка надійної методики кількісного вимірювання біомаркерів ЕД із застосуванням їх у клінічних умовах ставить найважливіше завдання перед науковим світом. Класичні ендотеліальні маркери мають обмежене діагностичне значення при їх ізольованому вимірі, що вимагає пошуку нових, більш чутливих, більш специфічних біомаркерів при різних ССЗ. Наприклад, перспективним напрямком є проточна цитометрія у наномедицині, яка дозволить визначити потенційну значущість маркерів в оцінці ЕД. Мультибіомаркерний підхід, що включає комбінацію класичних та нових біомаркерів, може розглядатися найближчим часом.

## ДЕЯКІ ПИТАННЯ ЛАБОРАТОРНОЇ СПРАВИ

Клініко-біохімічні дослідження становлять понад одну третину всіх лабораторних досліджень.

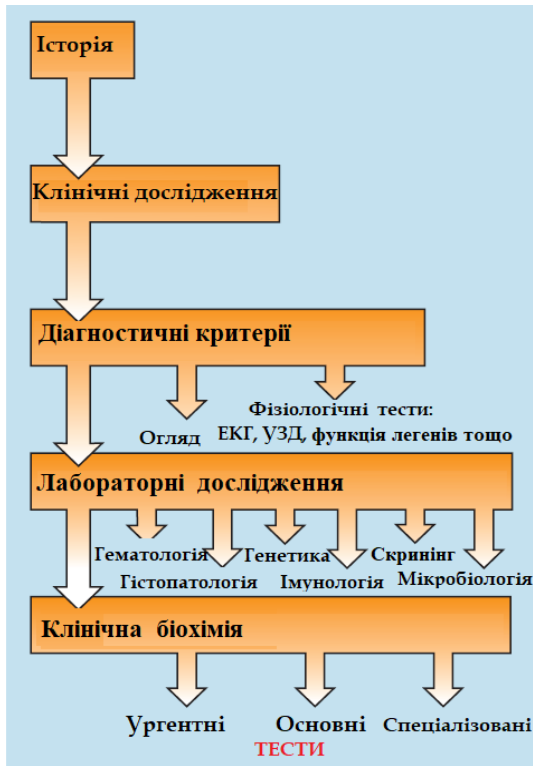


Рис. 66. Місце клінічної біохімії в медицині

## Лабораторія клінічної біохімії

✓ Біохімічні тести використовуються для діагностики, моніторингу лікування, скринінгу та прогнозу патологічних станів.

Існує понад 400 різних тестів, які можна проводити в клініко-біохімічних лабораторіях. Вони бувають дуже прості, наприклад визначення рівня натрію, або складні, такі як аналіз ДНК, скринінг на наркотичні речовини, ідентифікація проміжних метаболітів або диференціювання ліпопротеїнів. Великий обсяг біохімічних тестів виконується на автоматизованих аналізаторах з використанням комерційних наборів реагентів, а деякі аналізи роблять вручну.

Таблиця 6

### Приклади вибору тестів для клінічного дослідження пацієнтів

Категорія	Приклад
Підтвердження діагнозу	Сироватковий вільний T <sub>4</sub> і тиреотропний гормон (ТТГ) при підозрі на гіпертиреоз
Диференційна діагностика	Розрізнення різних форми жовтяниць
Уточнення діагнозу	Використання адренкортикотропного гормону (АКТГ)/кортизолу для локалізації синдрому/хвороби Іценка–Кушинга
Оцінка тяжкості хвороби	Сироватковий креатинін та сечовина при захворюваннях нирок
Моніторинг показників	Рівень глюкози в плазмі та рівень К <sup>+</sup> в сироватці крові для подальшого лікування хворих на цукровий діабет

Тести також можна використовувати для оцінки майбутнього ризику захворювання (наприклад, загальний рівень холестерину та вміст холестеролу ЛПВЩ сприяють індивідуальній оцінці ризику серцево-судинних захворювань) або для прогнозу захворювання (наприклад, біохімічні тести для оцінки прогнозу при гострому панкреатиті або печінковій недостатності), або для скринінгу на хворобу без будь-якої її специфічної ознаки присутності в індивіда (наприклад, скринінг матері на дефекти нервової трубки плода).

*Скринінг* може мати кілька форм:

- популяційний скринінг – певний набір тестів проводиться серед явно здорових осіб для виявлення передсимптоматичного або раннього захворювання, але легко не помітити важливі аномалії серед великої кількості даних, наданих до лабораторії;

- мета-аналіз містить тести, що проводяться на відомій вибірці населення, яке має високий ризик певного захворювання; ці дослідження за своєю суттю є більш вибірковими та мають високий відсоток корисних результатів (табл. 7).

**Приклади тестів, які використовуються для виявлення захворювань**

Програми для виявлення захворювання	Біохімічні дослідження
<b>Новонароджені</b> Фенілкетонурія (ФКУ) Гіпотиреоз	Фенілаланін у сироватці крові Сироватковий ТТГ
<b>Підлітки та молодь</b> Зловживання психоактивними речовинами	Скринінг ліків
<b>Вагітність</b> Цукровий діабет у матері Відкритий дефект нервової трубки (NTD) у плода	Глюкоза плазми Материнський сироватковий $\alpha$ -фетопротеїн
<b>Промисловість</b> Експозиція на свинець Експозиція на пестициди	Свинець в крові Активність холінестерази в сироватці крові
<b>Люди похилого віку</b> Недоїдання Порушення функції щитоподібної залози	Рівень вітаміну D у сироватці крові Сироваткові ТТГ та тироксин

✓ Базові біохімічні дослідження проводяться в кожній біохімічній лабораторії.

Передбачається біохімічне обладнання в кожній лікарні, хоча і не обов'язково однаковою мірою. Всі біохімічні лабораторії виконують «основні аналізи», часто запитувані тести, які мають значення для багатьох хворих. Клініцисти часто запитують конкретні групи тестів, наприклад, сечовина та електроліти, «печінкові фракції» або «гази крові» (рис. 67).



Рис. 67. Діапазон можливостей клінічної біохімії

Аналізи, які виконуються нечасто, можуть надсилатися до іншої спеціалізованої лабораторії, де тести проводяться регулярно. Це має переваги щодо витрат та надійності. Не кожна лабораторія обладнана для проведення всіх відомих тестів з біохімії. Науково-дослідні інститути або відділи (генетичні центри) можуть виконувати роль опорних лабораторій, де проводяться вузькоспеціалізовані випробування, наприклад, для діагностики спадкових або тяжких форм захворювань.

✓ У всіх лікарнях передбачено термінове обстеження пацієнтів в «ургентних лабораторіях». Такі лабораторії працюють в умовах 24/7. Обґрунтування виконання таких тестів засновані на тому, що результат тесту потрібен негайно для діагностики або екстреної допомоги хворому (відділення, де лікують цукровий діабет, хірургічні відділення тощо).

✓ Співробітники лабораторії надають результати на основі своїх знань і досвіду, відповідного підбору аналізів та інтерпретації результатів.

### Навіщо робити біохімічні тести?

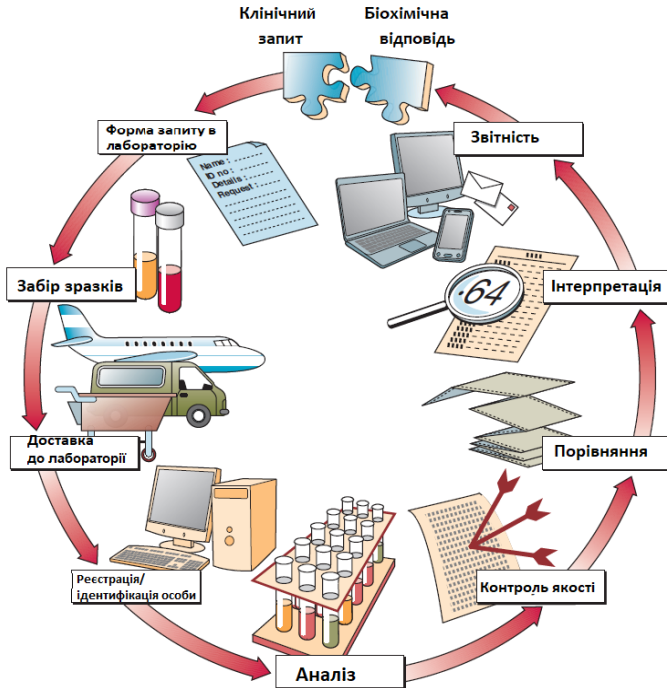
Біохімічні тести найчастіше *дискреційні*, тобто тест потрібен для певної діагностичної мети. Обґрунтування дискреційного тестування було узагальнено Ашером (1954 р.):

1. Чому мені необхідно провести даний біохімічний тест?
2. Що я буду шукати в результаті?
3. Якщо я знайду те, що шукаю, чи вплине це на діагноз?
4. Як це дослідження вплине на лікування пацієнта?
5. Чи принесе це дослідження користь пацієнту?

Пацієнти рідко звертаються до лікарів із готовими діагнозами, зазвичай вони мають лише скарги, симптоми або ознаки. Головне завдання медицини – це обговорити проблеми і скарги з пацієнтом та зібрати анамнез, а потім провести медичний огляд, шукаючи ознаки, які вказують на ймовірний діагноз. У сучасному світі клініцисти мають величезний арсенал доступних лабораторних та інших досліджень. Неможна ігнорувати той факт, що досягнення науки й техніки породили дивовижну низку дуже корисних і складних тестів, що допомагають підтвердити остаточний діагноз.

Під *«тестом»* розуміється вимірювання компонентів крові або іншої біологічної рідини організму, фізіологічних параметрів для визначення того, що показник, який вимірюється, знаходиться в межах або поза межами нормального діапазону.

Тести вимагають однозначної ідентифікації пацієнта (ім'я, стать, дата народження та інша інформація), разом з ім'ям лікаря, який звернувся за запитом, а також датою та часом взяття зразка (рис. 68).



**Рис. 68.** Принципова схема процесу клінічної біохімії

Помилки трапляються на різних стадіях від забору зразків біологічного матеріалу до отримання результатів:

- *Переданалітична.* Помилки виникають до фактичного вимірювання і можуть відбуватися до надходження зразків до лабораторії. Більшість помилок відноситься до цієї категорії (табл. 8).
- *Аналітична.* Лабораторні аналітичні помилки є рідкісними, але можуть бути, наприклад, забруднення реагенту, помилки піпетування, пов'язані з малими об'ємами зразків, обчислювальні помилки.
- *Постаналітична.* Це рідкісні помилки, що включають, наприклад, помилки введення результатів з іншої лабораторії в комп'ютер вручну; неправильно почуті результати, помилка в ідентифікації зразка відносно пацієнта, наприклад, два зразки були позначені для одного пацієнта.

Для проведення біохімічних досліджень необхідна упевненість, що зразки біоматеріалу зібрані правильно, тест, який проводиться, є необхідним й інтерпретація результату буде правильною. Ця інформація може бути дуже важливою при оцінюванні стану пацієнта протягом певного періоду або у разі переоцінки діагностики. Ідентифікація пацієнта повинна бути правильною.

**Деякі найбільш поширені причини переданалітичних помилок,  
що виникають у результаті лабораторного використання**

<i>Помилка</i>	<i>Наслідки</i>
Перехресний обмін ідентифікації між різними пацієнтами	Це може призвести до того, що два пацієнти отримають один і той же набір результатів. Пацієнт отримує абсолютно неправильний набір результатів, важливо провести повторне дослідження обох пацієнтів
Помилка, пов'язана з часом збору біоматеріалу	Існує багато прикладів, коли час важливий для проведення біохімічного дослідження. Збір зразків крові занадто рано після введення препарату може призвести до хибновисоких значень при терапевтичному моніторингу. Інтерпретація деяких тестів (наприклад, рівні кортизолу, мелатоніну) критично залежить від часу доби, коли зібрана кров
Помилка пробірки для збору зразків	Для деяких тестів є критичним використання різних типів антикоагулянтів для збору зразків. Наприклад, плазма з літій-гепарином як антикоагулянт не підходить для вимірювання терапевтичного рівня літію. Для електрофорезу потрібна сироватка крові, а не плазма крові, щоб фібриноген не заважав виявленню будь-яких моноклональних смуг. Добавка EDTA (калію етилендіамінтетраоцтової кислоти) до пробірки з гематологічним зразком призводить до підвищеного рівня кальцію та зниження рівня кальцію
Зразок взятий близько до внутрішньовенного введення розчину	Зразок крові буде розведений, усі показники будуть хибно-низькими. Наприклад, використання фізіологічного розчину як рідини для інфузії призводить до зниження всіх результатів тестів, але показники рівнів натрію та хлориду, ймовірно, будуть підвищеними.

- ✓ Венозна кров, сироватка або плазма
- ✓ Артеріальна кров
- ✓ Капілярна кров
- ✓ Пляма крові на фільтрувальному папері (картка Гатрі)
- ✓ Сеча
- ✓ Фекалії
- ✓ Спинномозкова рідина (СМР)
- ✓ Мокротиння і слина
- ✓ Тканини та клітини
- ✓ Аспірати, наприклад, плевральна рідина, асцит, суглобова (синовіальна) рідина, кишкова (дванадцятипала), псевдокісти підшлункової залози
- ✓ Камені

**Рис. 69.** Зразки, що використовуються для біохімічних аналізів

## Зразки крові

*Плазма* – рідинний компонент крові, в якому відсутні формені елементи, але зберігаються усі фактори згортання. Плазму збирають для дослідження системи гемостазу, тому головна умова – зберегти властивості та вихідну кількість неактивних коагуляційних факторів. Для цього при заборі венотної крові джгут накладають не триваліше ніж на 30 с, щоб не активувати триаду Вірхова, яка ініціює внутрішньосудинне утворення тромбу.

Кров збирають вакуумною системою у спеціальні пробірки, в які вміщують рідкий антикоагулянт – цитрат натрію. Змішування його з кров'ю (обертання пробірки 3–4 рази) приводить до з'єднання цитрату із кальцієм – важливим елементом формування нерозчинного фібрину через утворення цитрату кальцію, що гальмує на деякий час активне природне формування згустку. В результаті в пробірці кров не згортається і зберігаються усі компоненти, які важливі для дослідження гемостазу. При вертикальному відстоюванні формуються 3 шари: верхній – бідна на тромбоцити плазма, середній (маленький прошарок) – концентрація клітин (лейкоцитів та тромбоцитів), нижній – осад із еритроцитів. Для отримання плазми пробірку додатково центрифугують і акуратно відбирають плазму. В плазмі, як і в сироватці, можна визначати абсолютно усі речовини, які є в цільній крові: біохімічні речовини, гормони, регуляторні протеїни, активно біологічні молекули, інтерлейкіни, онкомаркери, імуноглобуліни, антитіла і тощо (рис. 70).

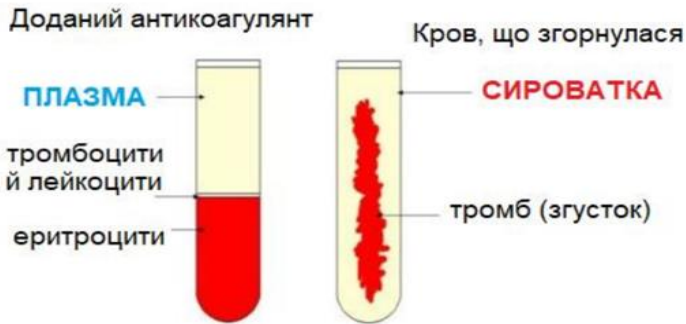


Рис. 70. Відмінності плазми від сироватки

*Сироватка крові* є рідкою фазою крові, яка утворюється після згортання та центрифугування. Якщо венотну кров помістити у чисту суху пробірку (скляну або пластикову), то через 15–20 хв у пробірці відтворяться міцні фібринові нитки, які зберуть формені елементи та сформують згусток крові. Уся решта рідка частина – це сироватка. Відібрати її дуже легко, без загрози зачепити клітини. Збільшити її об'єм можна додатковим центрифугуванням згустку.

### Зразки сечі

Контейнери для зразків сечі (рис. 71) можуть містити консервант для пригнічення росту бактерій або кислоти для стабілізації певних метаболітів. Вони можуть бути достатньо великими, щоб вмістити повний 24-годинний збір, або невеликі («універсальні» контейнери) для рандомних зразків сечі.

### Інші типи зразків

Для деяких тестів потрібні специфічні рідини або тканини організму. Існують спеціальні протоколи для обробки й транспортування цих зразків до лабораторії.

### Небезпечні зразки

Усі біологічні зразки від пацієнтів є потенційно небезпечними!

Зразки з небезпечними заздалегідь відомими інфекціями повинні бути позначеними як на емкості зберігання біологічного матеріалу, так й на направленні (різні форми гепатитів, ВІЛ, туберкульоз, менінгококова інфекція, ковід тощо).

### Фактори, що впливають на зміни параметрів організму людини

Лабораторні показники організму можуть змінюватися впродовж життя як за фізіологічними умовами, так й при патологічних станах (табл. 9). Наприклад, новонароджена дитина має надзвичайно високий рівень фетального гемоглобіну, який поступово знижується після пологів; це абсолютно фізіологічно. Такий високий рівень гемоглобіну у дорослої людини є патологічним станом.

Таблиця 9

### Фактори, що впливають на лабораторні показники

<b>Вік</b>	Старіння викликає обмеження пристосувальних механізмів організму, що призводить до різкого скорочення резервних можливостей функціонування органів і систем. При старінні ряд біологічних параметрів прогресивно зростає (артеріальний тиск, загальний периферичний судинний опір, концентрація холестеролу в крові, резистентність до інсуліну та ін.). У той же час величини інших біологічних параметрів (активність багатьох ферментів, основний обмін, серцевий викид, м'язовий кровотік та ін.) знижуються. Інші підтримуються на відносно стабільному рівні (склад крові, КОС). У випадку пацієнтів середнього віку лабораторна діагностика допомагає виявити хворобу і встановити точний діагноз. У літніх людей діагноз (або діагнози) зазвичай відомий, і головна ціль досліджень – контроль стану здоров'я цих пацієнтів, вірна оцінка резервних можливостей функціональних систем організму, щоб уникнути декомпенсації стану літньої людини. Приклади включають сироватковий фосфат, активність лужної фосфатази (ЛФ), концентрації гонадотропінів у сечі і статеві гормони
------------	--



Рис. 71. Контейнер для зразків сечі

<b>Стать</b>	Наприклад, у чоловіків концентрації сироваткового креатиніну, заліза та уратів вище, ніж у жінок
<b>Етнічна приналежність</b>	Расові відмінності були описані для сироваткового холестеролу і загального білка. Важко відрізнити вплив етнічних факторів на величини показників під впливом факторів навколишнього середовища
<b>Дієта</b>	Склад дієти може вплинути на результати багатьох тестів, включаючи сироваткові триацилгліцериди та холестерол, тест на толерантність до глюкози та виведення кальцію із сечею
<b>Час забору зразків</b>	Зміна часу доби або цикл сну/неспання впливають на декілька компонентів плазми – концентрації заліза, адренкортикотропного гормону (АКТГ) і кортизолу
<b>Положення тіла пацієнта</b>	Білки та всі білково-зв'язані компоненти плазми показують відмінності у своїх концентраціях в зразках крові, взятої в положенні пацієнта стоячи та лежачи, а саме: концентрації сироваткового кальцію, холестеролу, кортизолу і загального тироксину
<b>Вагітність</b>	У період виношування дитини у жінки відбуваються істотні зміни гематологічних показників, зумовлені гормональними перебудовами, зменшується кількість жіночих гормонів (які раніше регулювали менструальний цикл), зростає вміст прогестерону та простагландинів (гормонів, що підтримують вагітність)
<b>Менструальний цикл</b>	Вміст у сироватці крові заліза, гонадотропних гормонів, жіночих стероїдних гормонів та їх метаболітів, а також кількість гормонів та їх метаболітів в сечі демонструють різні варіації залежно від фази циклу
<b>Фізіологічні стани (наприклад, у спокої, після фізичних вправ, стоячи, лежачи)</b>	Фізичні вправи (інтенсивні або надмірні) можуть підвищити рівень активності креатинкінази (КК) та рівень лактату на тлі зниження рівня пірувату
<b>Медична історія (анамнез)</b>	Наявність хвороби, історія її лікування тощо
<b>Вживання лікарських засобів</b>	Лікарські засоби, що використовуються пацієнтом, здатні впливати на об'єктивність результатів лабораторних досліджень. Лікар повинен знати і враховувати ці ефекти при оцінюванні результатів аналізів. Наприклад, наркотики можуть мати помітний вплив на результат. Численні ефекти оральних контрацептивів, що містять естроген, впливають на деякі компоненти сироватки крові
<b>Методи взяття проб</b>	Наприклад, із застосуванням джгута або без нього
<b>Дотримання вимог збору та умов зберігання зразків</b>	Методичні рекомендації щодо організації переданалітичного етапу. Наказ МОЗ України «Про затвердження Методичних рекомендацій щодо організації переданалітичного етапу» № 4/24 від 19 січня 2024 року. Київ. 2024 44 с. <a href="https://medlabtest.ua/uploads/documents/guidelines/preanalytical.pdf">https://medlabtest.ua/uploads/documents/guidelines/preanalytical.pdf</a>
<b>Метод аналізу</b>	

## Помилки при взятті зразків

Усі аналітичні процедури відбуваються під суворим контролем якості. Однак існує ряд потенційних помилок, які можуть впливати на результати тестів. Деякі з цих проблем виникають, коли клініцист вперше отримує біологічні зразки від пацієнта.

- *Техніка забору крові.* Помилки при отриманні зразка крові можуть призводити до гемолізу з наступним виділенням калію та інших клітин крові. Гемоліз найчастіше спостерігається під час взяття зразка (наприклад, через вузький діаметра голки або тривалий час забору крові отримуємо «гемолізований» зразок).

- *Тривале перетискання під час венепункції.* Вода плазми дифундує в інтерстиціальний простір, а отримані зразки сироватки або плазми будуть концентрованими. Білки та зв'язані з ними компоненти плазми, наприклад, як кальцій або тироксин, будуть хибно завищеними.

- *Недостатня кількість зразка.* Це може викликати неможливість для лабораторії виконати весь обсяг досліджень.

- *Швидкість доставки зразків до лабораторії та їх зберігання.* Зразки крові, які тривалий час зберігалися при неналежній температурі, дають хибні результати, наприклад, змінені еритроцити або аномальну форму лейкоцитів. Зразки крові, що зберігалися протягом ночі з моменту відправлення до лабораторії, показують помилково високі рівні калію, фосфату та ферментів еритроцитів (наприклад, ЛДГ) через їх витік з клітин у позаклітинну рідину.

## Недоцільне тестування

Не має певних правил щодо доцільності лабораторних тестів. Клініцисти повинні узгодити з лабораторією запит на біохімічні дослідження відповідно до ймовірного діагнозу.

### Яка зона відповідальності клініциста?

**Клініцист** визначає коло необхідних пацієнту тестів, виходячи зі свого діагностичного припущення, і **несе повну відповідальність** за обґрунтованість призначених аналізів. Також обов'язком клініциста є **підготовка пацієнта** до лабораторного дослідження та організація процесу **отримання відповідних біоматеріалів пацієнта**.

## Інтерпретація результатів

### *В яких одиницях виражаються біохімічні результати?*

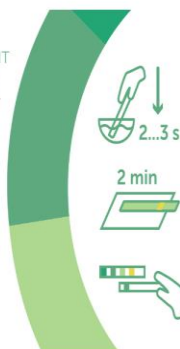
Більшість біохімічних аналізів є кількісними, напівкількісними та якісними (наприклад, тест на наявність глюкози в сечі) (рис. 72). Багато тестів вимірюють кількість досліджуваної речовини в невеликому об'ємі крові, плазми, сироватки, сечі або рідини чи тканини.

# ГлюкотЕСТ 25 шт

**СМУЖКИ ІНДИКАТОРНІ «НОРМА»**  
для визначення глюкози в сечі ГЛЮКОТЕСТ

ТУ у 24.4-16292890-009-2011

**КОЛІРНА ШКАЛА**



1. Занурте індикаторну зону смужки у сечу на 2-3 с(с).
2. Витягніть смужку та покладіть її на горизонтальну поверхню на 2 min (хв).
3. Порівняйте з колірною шкалою.

Зберігати в щільно закритій упаковці за температури від 1°C до 25°C.

Після відкриття упаковки використати протягом 30 д (д) за температури від 15°C до 35°C.

Для самоконтролю та професійного використання.



**Рис. 72.** Приклад якісного тесту – «Глюкотест»

У медичних дослідженнях концентрацію речовини (аналіту) представляють в одиницях Міжнародної системи СІ (фр. «Le Système International d'Unités», або SI), сучасної форми метричної системи, як кількість молей в одному літрі (моль/л) або в похідних одиницях (наприклад, в ммоль/мл):

Моль	Абревіатура	Визначення
Мілімоль	mmol	$\times 10^{-3}$
Мікромоль	mol	$\times 10^{-6}$
Наномоль	nmol	$\times 10^{-9}$
Пікомоль	pmol	$\times 10^{-12}$
Фентомоль	fmol	$\times 10^{-15}$

Концентрація будь-якого аналіту в компартменті тіла є співвідношенням кількості речовини, розчиненої у відомому об'ємі рідини. Зміни концентрації можуть відбуватися з наступних причин:

- ✓ кількість аналізованої речовини може збільшуватися або зменшуватися;

- ✓ об'єм рідини, в якій розчиняється речовина, відповідно, змінюється.

Ферменти зазвичай не експресуються в молях, тому їх активність виражається в «одиницях». Аналіз функціонуючих ферментів проводиться безпосередньо вимірюванням активності, що пропорційна кількості наявного ферменту. Деякі вимірювання гормонів виражаються як «одиниці» шляхом порівняння зі стандартними еталонними препаратами з відомою біологічною активністю. Концентрація великих молекул, наприклад білків, виражається в одиницях маси (*грами або міліграми*) на літр. Результати аналізу газів крові ( $pCO_2$  або  $pO_2$ ) виражаються в кілоПаскалях (кПа).

## Різниця в результатах

Біохімічні вимірювання відрізняються з двох причин. Їх описують як «аналітична варіація» та «біологічна варіація». Аналітична варіація є функцією аналітичної продуктивності, біологічна варіація пов'язана з фактичними змінами, які відбуваються в рідинах організму пацієнтів за певний проміжок часу.

## Лабораторно-аналітичні дослідження

Звертаючись до лабораторії, клініцист має розуміти основні принципи лабораторних методів та їх характеристики, а саме:

- правильність і точність;
- чутливість і специфічність;
- відтворюваність;
- забезпечення якості;
- еталонні інтервали.

## Точність та правильність

**Точність** – це відтворюваність аналітичного методу. Точність визначає, наскільки близько виміряне значення до фактичного. На *рис. 73* показано розкид результатів, які можуть бути отримані кимось із невеликими навичками лабораторної практики, порівняно з тим, хто має великий досвід і точність в отриманні результатів.

**Правильність методу** дає результат, близький до справжнього значення показника, що вимірюється. Відсутність правильності означає, що результати завжди будуть або високими, або низькими.

**Точність методу** дає результати, близькі один до одного (але не обов'язково близькі до справжнього значення) при повторному аналізі. Якщо декілька вимірювань зроблені на одному зразку, розкид результатів буде малим для точного вимірювання та великим для неточного. Відсутність точності означає, що результати можуть бути «розсіяними» та непередбачувано високими або низькими.

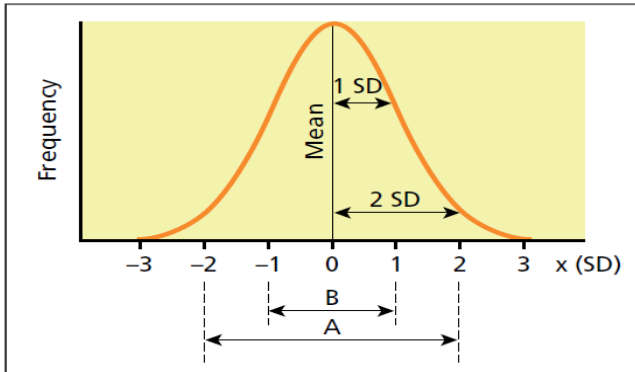


**Рис. 73.** Аналогія з мішенню для ілюстрації точності та правильності вимірювань

Навіть коли результати тестів близькі, вони можуть не потрапити в «центр мішені», тобто точність низька. Мета кожного біохімічного методу – забезпечення високої точності. Автоматизовані аналізатори підвищують точність у більшості випадків.

**Стандартне відхилення (SD)** є мірою розкиду навколо середнього значення. Якщо розкид результатів широкий, SD велике, а якщо вузький, то SD невелике. За розподілом Гауса, форма кривої повністю визначається середнім значенням та SD (рис. 74):

- ✓ близько 67 % результатів знаходяться в діапазоні середнього значення  $\pm 1$  SD;
- ✓ близько 95 % результатів знаходяться в діапазоні середнього значення  $\pm 2$  SD;
- ✓ більше 99 % результатів знаходяться в діапазоні середнього значення  $\pm 3$  SD.



**Рис. 74.** Крива розподілу за Гаусом.

*Розмах (A) кривої, відстань між середнім значенням  $\pm 2$  SD, включає близько 95 % «популяції». Вужчий розмах (B), відстань між середнім значенням  $\pm 1$  SD, включає близько 67 % від «популяції»*

### **Аналітична чутливість та специфічність**

Чутливість тесту – це його здатність правильно визначати тих, хто має захворювання (істинно-позитивний рівень, ІПР), тоді як специфічність – це здатність цього тесту правильно визначати тих, хто цього захворювання не має (істинно-негативний рівень, ІНР).

*Аналітична чутливість аналізу* – це міра, яка показує найменшу концентрацію аналіту, що можна визначити цим методом. Виражається у відсотках від істинно-позитивних результатів в усіх хворих (усі люди з хворобою включатимуть справжньо-позитивні (СП) і помилково-негативні (ПН)). Так:

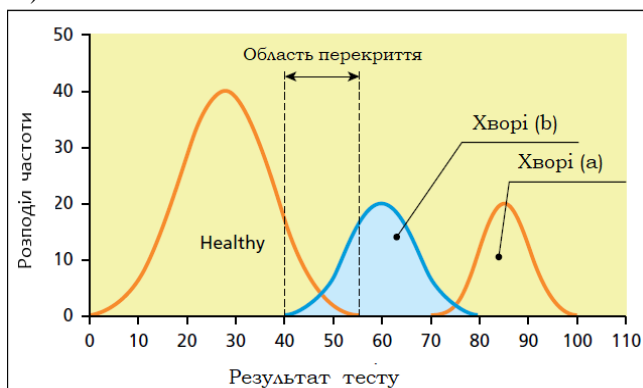
$$\text{Чутливість} = \frac{\text{ІПР}}{(\text{СП} + \text{ПН})} \times 100 \%$$

Чутливість	% пацієнтів із захворюванням та у яких тест буде позитивний
Специфічність	% людей без захворювання, у яких тест буде негативний

*Специфічність тесту* є мірою того, наскільки якісним є тест при виявленні негативного результату за відсутності захворювання. Виражається у відсотках від істинно-негативних у всіх без захворювання (охоплює осіб без захворювання – істинно-негативні (ІН) та помилково-позитивні результати (ПП)). Так:

$$\text{Специфічність} = \frac{\text{ІН}}{\text{ІН} + \text{ПП}} \times 100 \%$$

Ідеальний тест на 100 % чутливий (позитивний у всіх пацієнтів із захворюванням) і 100 % специфічний (негативний у всіх пацієнтів без захворювання) досягається рідко; зазвичай є перекриття між групою здорових і хворих пацієнтів. На практиці ми повинні вирішити, які межі найбільш ефективно відділяють групу «здорових» від групи «хворих» пацієнтів (рис. 75).



**Рис. 75.** Діаграма розподілу результатів, отриманих за допомогою тесту (а), який повністю відокремлює здорових людей від хворих без будь-якого перекриття між кривими розподілу (тобто ідеальний тест зі 100 % чутливістю і 100 % специфічністю), та тест (b), який є менш чутливим і менш специфічним, в якому є область перекриття між кривими розподілу між здоровими людьми і людьми із захворюваннями

Однією із основних характеристик методів є **відтворюваність**, тобто здатність показувати однаковий результат при повторному дослідженні однієї та тієї ж проби в одній лабораторії. Наприклад, відтворюваність візуального підрахунку та диференціювання клітин крові на склі у мазку дуже низька, не більше 70 %, оскільки суттєво залежить від багатьох факторів, починаючи від фіксації клітин, фарбування, оптики мікроскопу, досвіду спеціаліста, кількості клітин для аналізу і т. п. Відтворюваність вимірювання клітин гематологічним аналізатором досягає 98–99 %.

### **Внутрішньолабораторний контроль якості та зовнішня оцінка якості досліджень**

Обов'язкова регулярна процедура проведення контролю якості для підтвердження, що метод працює задовільно в даних умовах лабораторії на даних приладах зі зразками, взятими у пацієнтів.

Додатковим підтвердженням якісної послуги може бути сертифікат від незалежної агенції про впроваджену в роботу лабораторії систему якості відповідно до міжнародних стандартів ДСТУ ISO 15189:2015.

### **Внутрішній контроль якості**

Зразки регулярно аналізуються. Відомі значення та фактично отримані результати порівнюються з попередніми значеннями для моніторингу продуктивності. В програмі зовнішнього забезпечення якості ідентичні зразки розподіляються по лабораторіях; потім результати порівнюються.

### **Референтні значення**

Для трактування результатів лабораторних досліджень необхідно порівнювати їх з нормальними (*референтними*) величинами, тому важливо визначити, що таке нормальний показник.

**Нормальні (референтні) показники – це показники, які виявляються у здорових людей.** Проте іноді вони можуть мати різні числові значення. Це обумовлено індивідуальними особливостями обміну речовин, гемопоезу, функціонування тих чи інших органів. Нормальні лабораторні показники визначають шляхом вибіркового обстеження здорової популяції людей, наприклад, спеціально відібраних або згрупованих за віком та статтю (не менш 120 індивідуумів). При проведенні досліджень деякі фактори повинні бути стандартизовані. Наприклад, при дослідженні крові її необхідно забирати натщесерце, спосіб забору та метод визначення досліджуваних показників у всіх обстежуваних повинен бути однаковим. Математичний аналіз результатів, отриманих при таких дослідженнях, дозволив виділити два основні класи параметрів біоматеріалів здорових людей. Одні з них підпорядковуються закону (нормального) розподілу Гауса, інші – біноміальному розподілу.

Разом з тим нормальні лабораторні показники різних речовин, якими нерідко користуються в лабораторній діагностиці, включають тільки загальну біологічну варіацію без урахування окремих чинників, що зменшує діагностичну цінність лабораторних тестів.

Отже на зміну терміну «нормальні лабораторні показники» приходиться концепція *референтних значень*.

**Референтні значення дають уявлення про діапазон, в якому знаходяться нормальні величини.** Результати лабораторного дослідження порівнюють з референтними величинами, отриманими в чітко визначених умовах з урахуванням окремих факторів, що впливають на біологічну варіацію. Референтні величини в даний час встановлені для обмеженої кількості показників (приблизно 150). Встановлення референтних інтервалів коливань для кожного лабораторного параметра має істотне значення для всієї проблеми *надійності* лабораторної інформації, оскільки порівняння з ними служить підставою для прийняття діагностичних та лікувальних рішень.

Стандартний набір біохімічних досліджень, що застосовуються у звичайних лікувальних установах, включає не менше 10–12 тестів. При статистичному аналізі встановлено, що при визначенні 8 показників результат одного з них буде «патологічним» приблизно у 25 % здорових осіб, а при проведенні 20 тестів одне або більше відхилень від норми виявлять у 55 %. Тому кожне лабораторне дослідження слід призначати обдумано, за строгими умовами, а перелік скринінгових тестів повинен бути обмеженим.

Таким чином, приблизно у 5 % здорових людей виявляють «анормальні» лабораторні показники, тому не всі значення, що виходять за межі норми, слід розцінювати як патологічні. І навпаки, не завжди показник, що знаходиться у межах нормальних величин, слід вважати нормальним, оскільки діапазон багатьох параметрів достатньо широкий.

При оцінюванні результатів лабораторних досліджень необхідно враховувати цілий ряд проблем, основними з яких є такі:

- різноманітність факторів, що впливають на результати досліджень;
- біологічна варіація лабораторних параметрів, включаючи поняття «нормативного лабораторного показника» (*референтної величини*);
- діагностично значущі (*патологічні*) відхилення лабораторних результатів;
- діагностична чутливість і специфічність лабораторних тестів, їх значущість для диференційної діагностики;
- межі діагностичних або лікувальних рішень (*порогові величини лабораторних показників, що вимагають прийняття діагностичних або лікувальних рішень*).

## **Вплив результатів аналізів на прийняття клінічного рішення**

Кожен отриманий результат необхідно порівняти з набором результатів із певної визначеної (або еталонної) сукупності. На практиці цей еталонний діапазон визначається шляхом вимірювання набору еталонних значень з вибірки здорових осіб. При трактуванні лабораторних тестів доцільно керуватись поняттям «поріг клінічного рішення».

**Поріг клінічного рішення – це такі значення лабораторних тестів, які вимагають негайних дій лікаря.** Як правило, це граничні величини, на які орієнтуються при підтвердженні або виключенні певних клінічних проявів або при реєстрації критичних фізіологічних ефектів, що відбуваються тоді, коли досліджуваний показник, який забезпечує гомеостаз, досягає цієї величини. Для фізіологічно контрольованих параметрів гомеостазу в організмі (калій, натрій тощо) пороги клінічного рішення тісно пов'язані з референтними інтервалами. Величини досліджуваного параметра вище або нижче референтної межі визначають поріг клінічного рішення. Пороги клінічного рішення для багатьох тестів мають відношення до декількох хвороб. Критичні величини результатів лабораторних досліджень, при яких необхідні негайні дії, зобов'язаний знати кожен клініцист.

Фундаментальні принципи для оцінки результатів лабораторних досліджень такі:

- *Діапазони референтних величин* – це статистичні величини 95 % популяції, відхилення за межі діапазону не обов'язково свідчать про патологію.
- *Діагноз ніколи не ставлять за результатом одного дослідження* – необхідно встановити тенденцію змін отриманих результатів. Якщо відхилення у двох або трьох тестах характерні для даної патології, то це з більшою ймовірністю підтверджує діагноз, ніж якщо виявлено відхилення тільки одного показника. Клініцист повинен скласти список диференційних діагнозів на основі історії пацієнта, симптомів та ознак або мати попередній діагноз. Наприклад, у пацієнта з важким абдомінальним болем, чутливістю і ригідністю може бути декілька діагнозів, які слід розглянути, включаючи гострий панкреатит, перфоративну виразкову хворобу або гострий холецистит. При цьому активність  $\alpha$ -амілази в сироватці може бути підвищеною, вище верхнього контрольного значення для здорових осіб. Дуже висока активність сироваткової  $\alpha$ -амілази, найімовірніше, пов'язана з панкреатитом, ніж з двома іншими.
- *Чим більший ступінь відхилення результату від референтної величини, тим вище вірогідність наявності патології.*
- *Правило Остера:* якщо хворий молодше 60 років, постарайтеся пояснити патологічні результати однією причиною, якщо це зробити не вдається, то шукайте інші причини.

- При отриманні патологічних результатів *необхідні повторні дослідження* для підтвердження та визначення тенденції їх змін. Найважливіший аспект в таких випадках – одночасне проведення внутрішньолабораторного контролю якості.

Щоб адекватно інтерпретувати результати пацієнта, ми повинні знати:

- контрольний діапазон для здорових осіб, відповідний вік і стать;
- значення, очікувані для пацієнтів з захворюванням або хворобою, що розглядаються;
- поширеність захворювання/захворювань у населення, до якого належить пацієнт.

### **Клінічний аудит в лабораторній медицині**

Клінічний аудит – невід’ємна частина безперервного процесу вдосконалення якості роботи медичного закладу. Клінічний аудит є виміром клінічного результату або клінічного процесу, порівняння отриманих параметрів з чітко визначеними стандартами, встановленими на основі принципів доказової медицини.

Клінічний аудит поєднує у собі дві складові:

- систематичний критичний аналіз якості медичної допомоги включає процедури, які застосовуються для профілактики, діагностики й лікування, ефективності використання ресурсів, а також результати проведених втручань і якості життя пацієнта;
- процес, при якому лікарі, медичні сестри, співробітники клінічних лабораторій та інші медичні працівники систематично переглядають й при необхідності змінюють тактику догляду, моніторингу й лікування пацієнтів.



*Благодійна група, яка проводила лабораторні дослідження у сільській місцевості, виявила у хлопчика 11 років рівень глюкози в крові 14,4 ммоль/л. Його родина була стурбована, оскільки у двоюрідного брата хлопчика нещодавно діагностовано цукровий діабет. Того ж дня двоюрідний брат підтвердив гіперглікемію під час свого домашнього моніторингу (глюкозурія +++).*

**Які висновки мають зробити лікарі?**

## ВИЗНАЧЕННЯ ГОМОЦИСТЕЇНУ

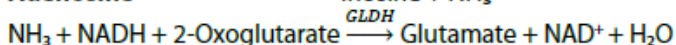
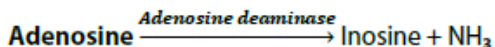
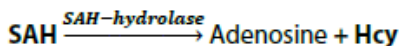
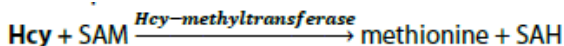
### Ферментативний метод Homocysteine, Enzym. Recycling (виробник – Діалаб GmbH)

Метод:	УФ, 2-точкової кінетичної (фіксований час) реакції, ферментативної циклізації
Довжина хвилі:	340 нм
Температура:	+37 °С
Зразок:	сироватка, ЕДТА плазма, гепаринова плазма
Лінійність:	до 50 мкмоль/л
Чутливість:	нижня межа визначення становить 0,4 мкмоль/л

Підвищений рівень загального гомоцистеїну (**tHcy**) виявився важливим фактором ризику при оцінюванні серцево-судинних захворювань. Надлишок гомоцистеїну (Hcy) в крові може призвести до травм артеріальних судин через його подразнюючу природу і до запалення та утворення атеросклеротичних бляшок, що може призвести до блокування припливу крові до серця. Підвищені рівні tHcy також вказують на хворобу Альцгеймера і остеопороз.

#### Принцип тесту

У цьому аналізі окислений Hcy спочатку відновлюється до вільного Hcy, який потім реагує з ко-субстратом, S-аденозилметіоніном (SAM), каталізується Hcy під дією S-метилтрансферази з утворенням метіоніну (Hcy конверсійний продукт Hcy) і S-аденозилгомоцистеїну (SAH, продукт перетворення ко-субстрату). SAH оцінюють за реакціями зв'язаного ферменту, включаючи гідролазу SAH, аденозиндеаміназу та глутаматдегідрогеназу, де SAH гідролізується в аденозин і Hcy гідролазою SAH. Сформований Hcy, що походить з ко-субстрату SAM, циклічно перетворюється за допомогою Hcy S-метилтрансферази. Це утворює спільний субстратний продукт перетворення на основі ферментної циклічної реакційної системи зі значним посиленням сигналів виявлення. Утворений аденозин негайно перетворюється в інозин і аміак. На останньому етапі фермент глутаматдегідрогеназа (GLDH) каталізує реакцію аміаку з 2-оксоглутаратом і NADH.



Концентрація Нсу у зразку прямо пропорційна кількості NADH, який окислюється до NAD<sup>+</sup>.

### **Забір та обробка зразків**

Для визначення вмісту гомоцистеїну можна використовувати свіжу сироватку, плазму з гепарином або плазму з ЕДТА.

**Центрифугують зразок крові відразу після збору!** Якщо негайне центрифугування неможливе, зібрані зразки крові слід зберігати на льоду і центрифугувати протягом години.

Гемолізовані, каламутні або сильно ліпемічні зразки потрібно викинути. Було запропоновано додавання 3-дезааденозину для інгібування продукції Нсу в еритроцитах.

### **Умови зберігання зразків**

Сироватка, гепаринова плазма або ЕДТА плазма:

При кімнатній температурі:

4 дні

При 0–8 °С:

кілька тижнів

При -20 °С:

> 1 рік

### **Склад реагентів**

<i>Компоненти</i>	<i>Концентрація</i>
S-аденозилметіонін	0,1 мМ
NADH	0,2 мкМ
TCEP	0,5 мкМ
2-оксоглутарат	5,0 мкМ
Глутаматдегідрогеназа	10 кО/л
SAH гідролаза	3,0 кО/л
Аденозиндезаміназа	5,0 кО/л
Гомоцистеїну метил- трансфераза	5,0 кО/л

### **Прилади**

- Аналізатор, здатний вимірювати поглинання при 340 нм.
- Термостат.

### **Процедура аналізу**

Основна довжина хвилі:	340 нм
Друга довжина хвилі:	700 нм
Зразок:	13 мкл
Реагент 1:	240 мкл
Інкубаційний час:	1–5 хв
Реагент 2:	65 мкл
1 зчитування:	3–5 хв після додавання реагенту 2
2 зчитування:	3–5 хв після першого зчитування

**Референсний діапазон** для дорослих: 12–15 мкмоль/л.

### **Специфічність/інтерференції**

Речовини, присутність яких в сироватці дає хибні результати:

Аскорбінова кислот	10 мМ
Білірубін	40 мг/дл
Гемоглобін	500 мг/дл
Тригліцериди	1000 мг/дл
Цистатіонін	100 мкМ

### **Калібрування**

Аналіз вимагає використання Стандарту Гомоцистеїну або Калібратора.

## **ЕКСПРЕС-ТЕСТ НА ТРОПОНІН**

### **З МЕТОЮ РАНЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ІНФАРКТУ МІОКАРДА**

Тропонін – це білок, що міститься в м'язах. Тропоніновий комплекс, що розташований у серці та скелетних м'язах людини, складається з трьох субодиниць: тропонін Т, тропонін І та тропонін С. У скелетних та серцевому м'язах дорослого молекули тропоніну Т та тропоніну І мають різну послідовність амінокислот, тому можна визначити вміст кардіоспецифічного Т у сироватці крові.

Через 2–3 год після пошкодження серцевого м'яза вивільняється тропонін, досягаючи максимальної концентрації на 18–24-у годину і залишається підвищеним до 14 днів від початку захворювання.

Сучасні методи дозволяють визначати дуже малі концентрації тропоніну. Подібний найбільш чутливий метод визначення кардіоспецифічного тропоніну і називається високоспецифічним (*hs = high sensitive*).

### **Показання**

Переважає при діагностиці гострого інфаркту міокарда (ГІМ) та оцінка ризику ускладнень у пацієнтів із ураженням серцевого м'яза:

1. Тропонін І (серцевий, високочутливий) (S-hs-cTnI).

Метод аналізу: Хемілюмінесцентний метод.

2. Тропонін Т (серцевий) (B-cTnT).

**Метод аналізу:** Імунохроматографія.

### **Протокол аналізу**

1. Доведіть температуру зразків та тест-пристрою до кімнатної (15–30 °С).
2. Вийміть тест-пристрій з індивідуальної упаковки та негайно розпочинайте тестування.
3. Покладіть тест-пристрій на чисту, суху поверхню. Тримавши піпетку вертикально, додайте 100 мкл або 3 краплі зразка до лунки для зразка (S) на тест-пристрої.

4. Зачекайте, доки не з'явиться смуга(и).

Результат тестування повинен бути інтерпретований протягом 10 хв, але не пізніше ніж через 15 хв від початку тестування.

### **Інтерпретація результатів**

#### *Позитивний*

У віконці для читання результату видно дві пофарбовані лінії – тестова (Т) та контрольна (С), яка служить контролем належного використання тест-пристрою. Інтенсивність фарбування тестової лінії може відрізнятися від інтенсивності фарбування контрольної лінії.

#### *Негативний*

Поява лише однієї пофарбованої контрольної лінії (С) у віконці для читання результату говорить про негативний результат тестування.

#### *Недійсний*

У віконці для читання результату тестування не видно пофарбованих смуг.

Позитивний результат тестування може бути встановлений тільки в тому випадку, якщо контрольна лінія з'явилася у віконці для читання результату (як і тестова).

Якщо контрольна лінія відсутня, результат тестування вважається не-дійсним і його необхідно повторити з використанням нового тест-пристрою.



### **Клініко-діагностичне значення**

- Визначення високоспецифічного серцевого тропоніну дозволяє отримати найбільш точну та ранню діагностику ГІМ. Вміст тропоніну рекомендується визначати відразу після першого звернення пацієнта зі скаргами на болі в ділянці грудної клітки, потім повторити аналіз через 6 год і при збереженні скарг та підозрі на ураження серцевого м'яза – через 12 год. У 80 % пацієнтів діагностувати ішемію міокарда можна на 4–6-й годині, але впевнено виключити ішемію міокарда можна тільки при негативному значенні тропоніну через 12 год від появи симптомів.

- Позитивний результат свідчить про пошкодження міокарда, але не підтверджує ішемічний механізм ушкодження. Концентрація тропоніну в крові може бути підвищена внаслідок пошкодження серцевого м'яза

неішемічного генезу (наприклад, міокардит, перикардит, серцева недостатність, гіпертензія, тромбоемболія легеневої артерії, контузія серця, амілоїдоз, хіміотерапія, сепсис, шок, ниркова недостатність).

- Для того, щоб відрізнити ішемічну та неішемічну причину ураження міокарда, необхідно відстежувати значення тропоніну в динаміці.

- Чим вище концентрація тропоніну, тим більше як короткочасний, так і тривалий ризик для виникнення кардіоваскулярного ускладнення або навіть смертельного результату. Особливо чітко простежується цей зв'язок при наступних станах:

- ✓ гострий коронарний синдром;
- ✓ гостра серцева недостатність;
- ✓ тромбоемболія легеневої артерії;
- ✓ сепсис;
- ✓ інсульт;
- ✓ контузія серця.

### **НАБІР ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ГАЛЕКТИНУ-3 В СУПЕРНАТАНТІ КЛІТИННИХ КУЛЬТУР, СИРОВАТЦІ ЛЮДИНИ, ПЛАЗМИ ТА ІНШИХ БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ**

**Human Galectin-3: Bender MedSystems, GmbH, Австрія**

**Набір «VIDAS Galectin-3 (галектин)»** – кількісний тест, який використовується для визначення галектину-3 у сироватці або плазмі крові людини методом ELFA (*імуноферментного флуоресцентного аналізу*). Тест «VIDAS Galectin-3» використовується разом із клінічною оцінкою та допомагає при веденні пацієнтів з діагнозом хронічної або гострої серцевої недостатності.

Галектин-3 – це β-галактозид-зв'язуючий білок з молекулярною масою 26 кДа, що належить до сімейства галектинів та складається з більш як десяти білків. Галектин-3 у нормі поширений в епітелії багатьох органів та різних клітинах запального інфільтрату, включаючи макрофаги, а також дендритних клітинах та клітинах Купфера.

Експресія цього лектину підвищується при запаленні, проліферації й диференціюванні клітин та при трансактивації вірусними протеїнами. На його експресію також впливає неопластична трансформація: підвищення спостерігається при різних типах лімфом, раку щитоподібної залози, хоча експресія може й знижуватися при інших типах злоякісних утворень, наприклад, при раку товстої кишки, молочної залози, яєчників та шийки матки.

Експресія галектину-3 суворо корелює зі ступенем гістологічного дедиференціювання та злоякісністю первинної пухлини мозку. Підвищені рівні галектину-3 також виявлено у ділянках людських атеросклеротичних уражень. Ці дані свідчать про те, що на експресію галектину-3 впливають

ці фізіологічні та патологічні процеси. Показано, що галектин-3 діє як позаклітинно, так і внутрішньоклітинно. Він є компонентом гетерогенного ядерного рибонуклеарного білка (hnRNP), фактора сплайсингу пре-mRNA, також показано, що він контролює клітинний цикл та перешкоджає апоптозу Т-клітин шляхом взаємодії із членами сімейства Bcl-2. З іншого боку, показано, що цей білок, секретований моноцитами/макрофагами та епітеліальними клітинами, функціонує як позаклітинна молекула при активації різних типів клітин, таких як моноцити/макрофаги, огрядні клітини (*нефагоцитарні лейкоцити, які допомагають ініціювати запалення шляхом секреції гістаміну*), нейтрофіли та лімфоцити.

Показано, що галектин-3 опосередковує міжклітинні взаємодії та взаємодії клітини та міжклітинного матриксу, і діє як новий хемоатрактант для моноцитів та макрофагів.

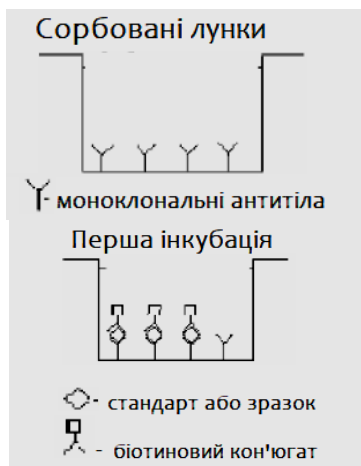
Макрофагальний галектин-3 є важливим медіатором у процесі ремоделювання серця, оскільки стимулює проліферацію кардіальних фібробластів та відкладення колагену.

Виявлено значний зв'язок підвищеного рівня галектину-3 у крові із серцевим фіброзом і тому з більш високим ризиком смерті або повторної госпіталізації пацієнтів з діагнозом СН як у фазі гострої декомпенсації, так і у стабільній хронічній фазі. Ця прогностична інформація не залежить від натрійуретичних пептидів В-типу (мозкового натрійуретичного пептиду та N-кінцевого фрагмента попередника мозкового натрійуретичного пептиду NT-proBNP) та може бути корисною для оптимізації рішень щодо лікування пацієнта.

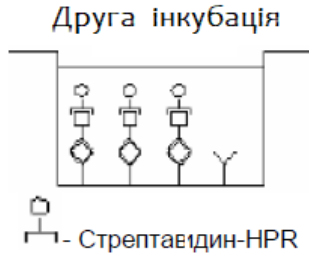
### Принцип тесту

Антитіла, специфічні до галектину-3, сорбовані в лунках планшета.

Галектин-3 людини у зразку або стандарті зв'язується з антитілами в лунках планшета. Додається кон'югат біотин-моноклональні анти-галектин-3 антитіла, які зв'язують галектин-3, захоплений першими антитілами.



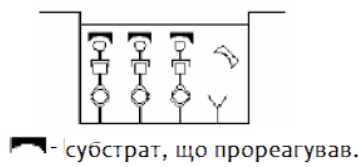
Після інкубації та промивання лунок видалається біотиновий кон'югат, що не зв'язався, та в лунки додається кон'югат стрептавідин-пероксидаза, що зв'язує біотин, кон'югований з галектин-3.



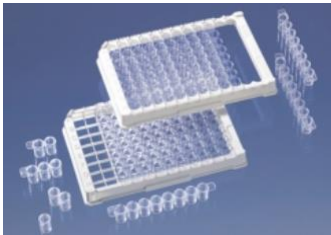
Після другої інкубації та промивання лунок планшета видалається стрептавідиновий кон'югат, що не зв'язався, і в лунки додається субстратний розчин, який взаємодіє з ферментним комплексом з утворенням забарвленого розчину.



Інтенсивність забарвлення, яка вимірюється при довжині хвилі 450 нм, прямо пропорційна концентрації галектину-3, що присутній у зразку. Концентрація галектину-3 у зразках визначається за стандартною кривою, побудованою за 7 приготовленими стандартами.



**Реагенти в наборі Галектин-3 людини ELISA BMS279/2 (96 тестів)**



- Мікропланшет, покритий моноклональними антитілами до людського галектину-3.
- Кон'югат поліклональних анти-галектин-3 антитіл та біотину, 100 мкл.
- Кон'югат стрептавідину з пероксидазою хрому, 150 мкл.
- Стандарт галектин-3, ліофілізований, 50 нг/мл до розведення
- Промивний розчин, концентрат 20x (PBS з 1 % Tween 20), 50 мл.
- Розчин для розведення зразків, 12 мл.
- Концентрат робочого буфера 20x (PBS з 1 % Tween 20 та 10 % BSA), 5 мл.
- Субстратний реагент (ТМБ), 15 мл.
- Стоп-реагент (1М фосфорна кислота), 15 мл.
- Блакитний барвник, 0,4 мл.
- Зелений барвник, 0,4 мл.
- Червоний барвник, 0,4 мл.

### **Забір та умови зберігання зразку**

• Культура клітин супернатанту, сироватка та плазма крові (EDTA) були протестовані за допомогою цього аналізу. Інші біологічні зразки можуть бути придатними для використання в аналізі.

• Відокремити сироватку або плазму від згустку або клітин, якомога швидше після згортання.

• Зразки, що містять осад, необхідно очистити перед використанням в аналізі. Не використовуйте сильно гемолізовані чи ліпемічні зразки.

• Зразки повинні бути аліквотовані і мають зберігатися в замороженому вигляді при **-20 °C**, щоб уникнути втрати біологічно активного галектину-3.

• Якщо зразки будуть тестуватися протягом 24 год, вони можуть зберігатися при температурі від 2 до 8 °C. Уникайте повторних циклів заморожування-відтавання. Перед аналізом заморожені зразки повинні бути доведені до кімнатної температури, повільно та обережно перемішані.

### **Матеріали та обладнання, які необхідні при роботі з набором:**

• Калібровані піпетки одноканальні змінного об'єму з одноразовими наконечниками на 5–1000 мкл.

• Багатоканальні піпетки з одноразовими наконечниками на 50–300 мкл.

• Ванночка для реагентів для використання з багатоканальною піпеткою.

• Калібровані склянки та циліндри, необхідні для приготування реактивів.

• Ручний або автоматичний пристрій для промивання.

• Мікропланшетний рідер з фільтром на 450 нм, фільтр порівняння  $\geq 620$  нм.

• Дистильована або деіонізована вода.

### **Підготовка реагентів**

Буферні концентрати нагріти до кімнатної температури (+18–25 °C) та розвести перед початком аналізу.

Якщо в буферних концентратах утворилися кристали, акуратно підігріти до повного розчинення.

### **Промивний розчин (1x)**

Розведіть 50 мл концентрату дистильованою або деіонізованою водою в мірному циліндрі до кінцевого об'єму 1,0 л. Перемішайте, уникаючи спінювання. Зберігайте промивний розчин при температурі 18–25 °C впродовж 30 днів.

Промивний розчин (1x) також може бути приготовлений згідно з наступною таблицею:

Кількість використовуваних стрипів	Концентрат промиваючого розчину, мл	Дистильована вода
1–6	25	475
1–12	50	950

### Робочий буфер (1х)

Добре перемішайте концентрат робочого буфера. Розведіть 5,0 мл концентрату дистильованою водою в мірному циліндрі до кінцевого об'єму 100 мл. Перемішайте, уникаючи спінювання. Зберігайте розріджувач зразків при 2–8 °С впродовж 30 днів.

Робочий буфер (1 х) також може бути підготовлений згідно з наступною таблицею:

Кількість використовуваних стрипів	Концентрат розріджувача зразків, мл	Дистильована вода
1–6	2,5	47,5
1–12	5,0	95,0

### Кон'югат біотину

Зверніть увагу, що кон'югат біотину має бути використаний протягом 30 хв після розведення.

Розведіть концентрат біотинового кон'югату робочим буфером (Реагент В) у співвідношенні 1:100 у чистому пластиковому посуді. Біотиновий кон'югат готується у необхідній кількості згідно з наведеною нижче таблицею:

Кількість стрипів	Концентрат кон'югата, мл	Робочий буфер
1–6	0,03	2,97
1–12	0,06	5,94

### Стрептавідин-НРР

Зверніть увагу, що стрептавідин-НРР має бути використаний протягом 30 хв після розведення.

Розведіть концентрат кон'югату робочим буфером у співвідношенні 1 : 400 у чистому посуді.

Кількість стрипів	Стрептавідин-НРР, мл	Робочий буфер (1х), мл
1–6	0,015	5,985
1–12	0,30	11,8970

### Стандарт галектину-3 людини

Розчиніть ліофілізований стандарт Галектину-3 в дистильованій воді та залиште на термін від 1 до 30 хв. Необхідний об'єм для розчинення вказано на етикетці флакона, що містить стандарт. Обережно перемішуйте до розчинення. Кінцева концентрація отриманого розчину становитиме 50 нг/мл.

Розведення стандарту можуть проводитися безпосередньо на планшеті або альтернативно у пробірках.

### Розведення стандартів

Позначити 7 пробірок, одну для кожної точки стандарту. S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7. Потім підготувати серійні розведення 1:2 для стандартної кривої як зазначено нижче:

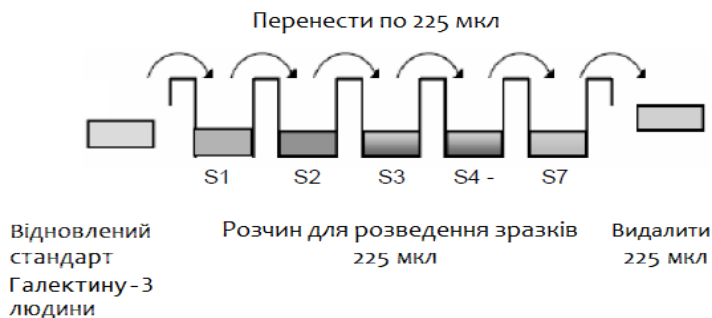
Піпетувати 225 мкл розчину для розведення зразків у кожну пробірку.

Піпетувати 225 мкл відновленого стандарту (концентрація стандарту дорівнює 50 нг/мл) в першу пробірку, позначену S1, та перемішати (концентрація стандарту 1 дорівнює 25 нг/мл).

Піпетувати 225 мкл цього розчину у другу пробірку, помічену S2, і ретельно перемішати перед наступним переміщенням.

Повторити серійні розведення ще 5 разів, таким чином формуючи точки стандартної кривої

Розчин для розведення зразків служить як бланк.



### Додавання реагентів, що фарбують: блакитного, зеленого та червоного.

Для виключення помилок у піпетуванні при роботі з імуноферментними наборами фірма Bender MedSystems тепер пропонує додатковий засіб для контролю піпетування, навіть дуже невеликих обсягів реагентів – кожен реагент буде відрізнятися від інших кольором.

Ця процедура не впливає на результати аналізу та призначена для полегшення роботи лаборанта, тому цей крок інструкції можна пропустити (не виконувати).

Альтернативно можна використовувати основні розчини барвників (блакитний, зелений, червоний), додаючи їх до відповідного реагенту згідно з протоколом:

**1. Розчин для розведення зразків:** перед розведенням зразків додайте блакитний барвник у співвідношенні 1 : 250 в робочий розчин для розведення зразків (1x) та виконуйте далі дослідження, дотримуючись інструкції.

5 мл розчину для розведення зразків	20 мкл голубого барвника
12 мл розчину для розведення зразків	48 мкл голубого барвника
50 мл розчину для розведення зразків	200 мкл голубого барвника

2. **Кон'югат біотину:** перед розведенням концентрату біотинового кон'югата додайте зелений барвник у співвідношенні 1 : 100 до робочого буфера, який використаний для розведення кон'югату.

3 мл робочого буфера (1х)	30 мкл зеленого барвника
6 мл робочого буфера (1х)	48 мкл зеленого барвника

3. **Кон'югат стрептавідину:** перед розведенням концентрату кон'югата стрептавідину з пероксидазою хрому додайте червоний барвник у співвідношенні 1 : 250 до робочого буфера, що використовується для розведення кон'югата.

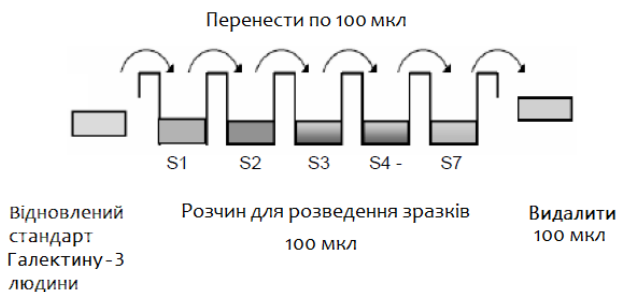
6 мл робочого буфера (1х)	24 мкл червоного барвника
12 мл робочого буфера (1х)	48 мкл червоного барвника

### Протокол аналізу

1. Усі реагенти та зразки перед початком аналізу мають бути витримані за кімнатної температури. Рідкі реагенти ретельно перемішайте обережним перевертанням перед використанням, уникаючи утворення піни. Дістаньте необхідне для проведення аналізу число 8-лункових стрипів. Помістіть необхідну кількість стрипів у тримач (до необхідної кількості лунок для зразків, бланка, стандартів та контролю), які необхідно аналізувати паралелях.

2. Промийте лунки двічі 400 мкл буфера для промивання, повністю видаляючи рідину між промиваннями. Залишити на 10–15 с. Струсіть планшет на фільтрувальному папері після останнього промивання. Не дозволяйте лункам висихати!

3. Розведення стандарту на планшеті. Додайте 100 мкл розчину для розведення зразків у дублях. Приготуйте стандартні розведення з додаванням по 100 мкл розведеного стандарту в лунки A1 та A2 у дублях. Перемішайте вміст лунок A1 та A2 і перенесіть по 100 мкл розчину з лунок A1 і A2 в лунки B1 та B2 відповідно. Повторіть перенесення та розведення стандартів 5 разів, отримавши в результаті 2 ряди розведень стандарту Галектину-3 у діапазоні від 25,00 до 0,39 нг/мл. Видаліть 100 мкл рідини з останніх лунок (G1, G2).



При зовнішньому розведенні стандарту піпетувати 100 мкл цих розведень стандартів (S1–S2) в лунки для стандартів згідно з таблицею.

**Схема розташування зразків, бланка та стандартів на планшеті**

	1	2	3	4
<b>A</b>	Ст #1 (25 нг/мл)	Ст #1 (25 нг/мл)	О 1	О 1
<b>B</b>	Ст #2 (12.50 нг/мл)	Ст #2 (12.50 нг/мл)	О 2	О 2
<b>C</b>	Ст #3 (6.25 нг/мл)	Ст #3 (6.25 нг/мл)	О 3	О 3
<b>D</b>	Ст #4 (3.13 нг/мл)	Ст #4 (3.13 нг/мл)	О 4	О 4
<b>E</b>	Ст #5 (1.56 нг/мл)	Ст #5 (1.56 нг/мл)	О 5	О 5
<b>F</b>	Ст #6 (0.78 нг/мл)	Ст #6 (0.78 нг/мл)	О 6	О 6
<b>G</b>	Ст #7 (0.39 нг/мл)	Ст #7 (0.39 нг/мл)	О 7	О 7
<b>H</b>	Бланк	Бланк	О 8	О 8

Ст – Стандарт, О – Зразок

4. Внесіть по 100 мкл розріджувача зразків у дубляж в лунки «Бланк».
5. Внесіть по 50 мкл розчину для розведення зразків у лунки, призначені для зразків.
6. Внесіть по 50 мкл кожного зразка у відповідні дубльовані лунки.
7. Приготуйте біотиновий кон'югат.
8. Додайте по 50 мкл біотинового кон'югата у всі лунки.
9. Закрийте планшет плівкою та інкубуйте 2 год при кімнатній температурі (18–25 °С), краще використовуйте орбітальний струшувач, встановлений на 400 об/хв.
10. Приготуйте стрептавідиновий кон'югат.
11. Зніміть плівку. Повністю видаліть вміст лунки аспірацією чи декантуванням (зливом). Промийте лунки 4 рази.
12. Внесіть по 100 мкл розведеного стрептавідинового кон'югата у всі лунки, включаючи бланк.
13. Закрийте планшет плівкою та інкубуйте 1 год при кімнатній температурі (18–25 °С), краще використовуйте орбітальний струшувач, встановлений на 400 об/хв.
14. Зніміть плівку. Повністю видаліть вміст лунок аспірацією чи декантуванням (зливом). Промийте лунки 3 рази.
15. Внесіть по 100 мкл субстратного розчину ТМБ у всі лунки.

16. Інкубуйте при кімнатній температурі в темряві протягом приблизно 10 хв. Час інкубації із субстратним розчином визначається типом використовуваного мікропланшетного рідера. Рекомендується додати стоп-розчин, коли найвищий стандарт досягає темно-синього кольору. Реакція має бути зупинена, як тільки Стандарт 1 досяг значення оптичної щільності (ОЩ) 0,9–0,95.

17. Додайте по 100 мкл стоп-реагенту до всіх лунок, включаючи «Бланк», щоб повністю інактивувати фермент. Важливо вносити стоп-реагент швидко і з тією ж послідовністю, що і субстратний розчин. ОЩ вимірювати при 450 нм проти «Бланку» негайно після внесення стоп-реагенту.

### Розрахунок результатів

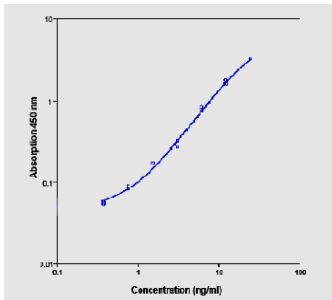
Для цього розрахуйте середнє значення поглинання для кожного стандарту та зразка. Відхилення від середнього має бути не більше 20 %.

На графічному папері позначте точки лічених значень поглинання стандартів на вертикальну вісь Y, а відповідні концентрації Галектину-3 на горизонтальну вісь X. Проведіть оптимальну криву по точках. Визначить концентрацію Галектину-3 у зразках за стандартною кривою. Для цього знайдіть значення на осі ординат (Y), що відповідає середньому значенню отриманої для кожного зразка ОЩ, та проведіть горизонтальну лінію до перетину зі стандартною кривою. Потім з точки перетину проведіть вертикальну лінію до перетину з віссю абсцис (X). Значення на осі X у точці перетину буде відповідати концентрації Галектину-3 у відповідній пробі.

Згідно з даною інструкцією, зразки були розведені 1 : 2, отже концентрації, отримані з калібрувальної кривої, повинні бути помножено на коефіцієнт розведення ( $\times 2$ ).

**Зуваження.** Розрахунок зразків з оптичною щільністю вище 2,0 може бути некоректним – результати будуть занижуватися. Такі зразки необхідно додатково розвести буфером для розведення та протестувати ще раз для отримання результату, що відображає точну концентрацію Галектину-3. В кожну серію аналізу включається контрольний зразок із відомою концентрацією Галектину-3.

Приклад стандартної кривої показаний на рисунку нижче. Стандартна крива повинна бути включена до кожної постановки.



**Приклад стандартної кривої Галектину-3.**  
*Галектин-3 був розведений у серії дворазових послідовних кроків титрування розчином для розведення зразків (представлені середні значення із трьох паралельних титрувань)*

### **Робочі характеристики тесту**

**Чутливість.** Мінімально визначувана концентрація Галектину-3, встановлена як концентрація аналіту, що дає ОЩ значно вище, ніж буфер для розведення (середнє плюс 2 стандартних відхилення), склала **0,12 нг/мл**.

**Відтворюваність.** Коефіцієнт варіації становив у середньому 6,4 %.

**Відтворюваність між серіями** в одній лабораторії визначалася у трьох незалежних серіях аналізу. Коефіцієнт варіації становив середньому 11,4 %.

**Очікувані значення.** Рівень Галектину-3 був виміряний у 16 зразках сироватки та 10 зразках плазми крові у здорових донорів. Виявлені рівні Галектину-3 у зразках сироватки людини склали від **0,0 до 2,28 нг/мл**, середній рівень – 0,54 нг/мл. Виявлені рівні Галектину-3 у зразках плазми крові (ЕДТА) людини коливалися між **4,67 та 10,30 нг/мл** при середньому рівні 7,07 нг/мл.

## **ТЕСТ OxyStat ELISA**

### **Кількісне визначення пероксидів**

*Виробництво «Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG», Австрія*

Клітини і тканини чутливі до окисного стресу, спричиненого утворенням вільних радикалів. Органічні пероксиди та гідрпероксиди є першими продуктами реакції між клітинними компонентами та вільними радикалами або іншими реактивними похідними кисню. Ці пероксиди викликають численні короткострокові та довготривалі розлади, зокрема серцево-судинні захворювання та атеросклероз, вважаються факторами ризику запальних процесів, сепсису, канцерогенезу та нейродегенеративних процесів.

Визначення окисного статусу/окисного стресу є важливим у сучасних медичних дослідженнях і діагностиці.

Тест OxyStat вимірює загальну концентрацію перекису в зразку за допомогою швидкої та простої процедури аналізу. Результати вказують на пряму кореляцію між вільними радикалами та циркулюючими біологічними пероксидами і, таким чином, дозволяють охарактеризувати окислювальний стан у біологічних зразках.

### **Принцип аналізу**

Концентрація перексиду визначається реакцією біологічних пероксидів з пероксидазою та подальшою кольоровою реакцією з використанням ТМВ як субстрату. Після додавання стоп-розчину забарвлену рідину вимірюють фотометрично при 450 нм. Для розрахунку концентрації циркулюючих біологічних пероксидів у зразку використовується калібратор (калібрування за однією точкою).

### Вміст комплекту

- ✓ Мікротитраційний планшет.
- ✓ Розчин А, буфер для зразків, готовий до використання.
- ✓ Розчин В, реакційний буфер, ліофілізований.
- ✓ Розчин С, буферний розчинник, готовий до використання.
- ✓ Розчин D, розчин ферменту, готовий до використання.
- ✓ Розчин Е, розчин для відновлення, готовий до використання.
- ✓ Калібратори, 3 флакони ліофілізовані; концентрація після розчинення вказана на етикетці.

- ✓ Стоп-розчин, готовий до використання.

Усі реагенти слід зберігати при 4 °С до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.

### Необхідні додаткові матеріали та обладнання

- Піпетки 5 мкл, 10 мкл, 50 мкл, 100 мкл, 250 мкл, 600 мкл, 5 мл.
- Вихровий змішувач.
- Інкубатор на 37 °С.
- Планшетний фотометр з фільтром 450 нм.

### Реагенти та пробопідготовка

Стабілізатори зразків	2–8 °С	-20 °С
EDTA-плазма	48 год	5 тиж
сироватка	24 год	48 год

Гепаринізована плазма, ліпемічні або гемолітичні зразки можуть дати помилкові результати. Каламутні зразки слід знову центрифугувати щонайменше 5 хв при 5000х перед використанням.

Усі зразки слід добре перемішати перед аналізом.

### Приготування реагентів

- Позначити позиції для калібратора, контролів і зразків на аркуші протоколу.
- Вийняти смужки мікротитратора з мішка та позначити відповідне.
- Усі реагенти слід зберігати при 4 °С до використання в аналізі.

### Протокол аналізу

1. Розчиніть ліофілізований розчин В у 600 мкл розчину С, перемішайте. Цей буфер є світлочутливим і його слід зберігати в темному посуді. Розчин стабільний при 2–8 °С протягом 3 міс.

2. Розчиніть один калібратор у 250 мкл розчину Е та залиште при кімнатній температурі (18–26 °С) на п'ять хвилин, перемішайте.

3. Наступного об'єму реакційної суміші ABD достатньо для 40 тестів (лунки) і його слід використовувати як орієнтир. Однак брати об'єм на відповідну кількість зразків.

4. Приготуйте ABD-reaction-mix безпосередньо перед аналізом, змішавши 5 мл розчину А + 100 мкл розчину В + 5 мкл розчину D.
5. Внесіть 10 мкл калібратора та зразків у відповідні лунки.
6. Додайте 100 мкл розчину А в усі лунки.
7. *Вимірювання 1*: визначити поглинання за допомогою планшетного фотометра при 450 нм.
8. Додайте 100 мкл ABD-реакційної суміші в усі лунки.
9. Інкубуйте 15 хв при 37 °С.
10. Додайте 50 мкл стоп-розчину в усі лунки.
11. *Вимірювання 2*: визначити поглинання за допомогою планшетного фотометра при 450 нм.

### **Підрахунок результатів**

- Різниця між вимірюваннями 1 і 2 пропорційні концентраціям пероксиду в зразках.
- Для кожного калібратора, контролю та зразка відніміть значення ОЩ вимірювання 1 із значень ОЩ вимірювання 2 (= Δ ОЩ).
- Калібрування за однією точкою виконується за допомогою калібратора. Значення ОЩ калібратора пропорційне його концентрації, яка вказана на етикетці. Ця концентрація вказується як Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>-еквівалент (мкмоль/л).
- Концентрації контролів і зразків розраховуються за такою формулою:

$$[\mu\text{mol/l}] \text{ зразок} = \frac{\Delta \text{ОЩ зразка} \times [\mu\text{mol/l}] \text{ калібратора}}{\Delta \text{ОЩ калібратора}}$$

### **Характеристики аналізу**

**Референтні значення** від умовно здорових людей без документально підтверджених захворювань і ліків:

- EDTA-плазма: < 400 мкмоль/л;
- сироватка: < 350 мкмоль/л.

Кожна лабораторія повинна встановити власний діапазон контрольних значень.

#### **Точність:**

- *в аналізі*: загальний коефіцієнт варіації в аналізі становив 3,1 %;
- *між аналізами*: загальний коефіцієнт варіації між аналізами становив 5,1 %.

**Лінійність:** 600 мкмоль/л.

**Чутливість:** 7 мкмоль/л.

**Типи зразків:** EDTA-плазма, сироватка та інші біологічні рідини.

**Необхідний для аналізу об'єм зразку:** 10 мкл/тест.

**Зберігання:** 4 °С.

## КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Серцево-судинні захворювання: види, фактори ризику, класифікація. Класифікація біохімічних маркерів при серцево-судинній патології.
2. Біохімічні маркери пошкодження міокарда.
3. Клініко-діагностичне значення визначення в крові окремих специфічних білків (С-реактивного білка, ендотеліну-1, тромбоксану A2, інтерлейкіну-1, матричної металопротеїнази ММП-1).
4. Клініко-діагностичне значення визначення в крові ліпідного профілю: холестеролу, триацилгліцеролів, ліпопротеїнів, коефіцієнту атерогенності, аполіпопротеїнів.
5. Клініко-діагностичне значення визначення активності ферментів у крові та сечі (амінотрансфераз, креатинкінази, лактатдегідрогенази, тропонінів Т та І).
6. Класифікація цитокіни за механізмом дії (приклади).
7. Зміни біохімічних показників обміну речовин при атеросклерозі, їх оцінка, шляхи корекції.
8. Зміни біохімічних показників на різних стадіях артеріальної гіпертензії, оцінка лабораторних результатів.
9. Роль розчинного CD40L у патогенезі атеросклерозу та гострих коронарних синдромів.

## ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. У жінки, яка хворіє на ІХС, щотижня виникають напади серцебиття, задишки, перебої у роботі серця. На ЕКГ під час нападу спостерігається: інтервали R-R мають різну тривалість, зубці Р відсутні, хвилі F, зубці R різної амплітуди. На ЕхоКГ виявлено ФВ – 38 %. Призначена схема лікування (аміодарон, варфарин). Який із наведених нижче показників у цьому разі потребує постійного монітування?
  - A. Гемоглобін.
  - B. Рівень фібриногену.
  - C. Міжнародне нормалізоване співвідношення.
  - D. Протромбіновий індекс.
  - E. Рівень тромбоцитів.
2. Чоловік віком 38 років звернувся до лікаря зі скаргами на появу болю та дискомфорту за грудниною, що тривають протягом останніх 4 год. Симптоми виникли після вечері, біль то посилюється, то зщухає, іррадіації в ліву лопатку та руку пацієнт не відзначає. З анамнезу відомо, що батько пацієнта помер у 55 років через гострий інфаркт міокарда. Об'єктивно спостерігається; температура тіла 37,3 °С. АТ – 138/85 мм рт. ст., пульс – 115/хв, ЧД – 16/хв. Під час аускультатії визначається везикулярне дихання. На ЕКГ виявлено синусову тахікардію. Попередньо пацієнт прийняв

3 таблетки нітрогліцерину з інтервалом 5 хв та аспірин, що покращило його стан. Яка подальша тактика у веденні цього пацієнта?

*A. Визначення серцевих біомаркерів (КФК-МВ, тропонін I, N-кінцевий пептид натрійуретичного гормону).*

*B. КТ грудної клітки та ФГДС.*

*C. Проба з фізичним навантаженням.*

*D. Рентгенографія з барієвою сумішшю.*

*E. Дати пацієнту знеболюючий засіб.*

3. До лікарні шпиталізовано чоловіка віком 45 років. В анамнезі пацієнта наявне варикозне розширення вен нижніх кінцівок. Він раптово відчув біль у грудній клітці та ядуху. Об'єктивно спостерігається: набухання шийних вен, ціаноз. На ЕКГ виявлено: ознака Мак–Джина–Уайта (QIII-SI), відхилення електричної осі серця вправо, ознаки перевантаження правих відділів серця. Визначення рівня якої речовини в сироватці крові необхідно провести для підтвердження діагнозу?

*A. Аланінамінотрансферази.*

*D. D-димеру.*

*B. Серцевого тропоніну.*

*E. Креатинфосфокінази.*

*C. Аспартатамінотрансферази.*

4. Чоловік віком 52 роки скаржився на утруднення під час ходьби, раптову слабкість та оніміння в лівих кінцівках. Об'єктивно відзначалися лівобічні гемігіпестезія і легкий геміпарез. Через 4 год стан чоловіка нормалізувався, вогнищева симптоматика регресувала, пацієнт зміг нормально ходити, АТ – 120/80 мм рт. ст. Який імовірний діагноз?

*A. Геморагічний інсульт.*

*D. Ішемічний інсульт.*

*B. Транзиторна ішемічна атака.*

*E. Асоційована мігрень.*

*C. Гіпертензивний криз.*

5. Чоловік віком 48 років скаржиться на стискаючий біль за грудиною, що виник вперше за 1,5 год після фізичного навантаження та не купірується прийманням нітрогліцерину. Об'єктивно спостерігається: ЧСС – 75/хв, ЧД – 16/хв, АТ – 140/80 мм рт. ст. Під час проведення ЕКГ-дослідження виявлено: сегмент ST зміщений донизу від ізолінії на 1–2 мм у відведеннях V4–V6. Визначення рівня якого показника допоможе встановити діагноз пацієнту?

*A. D-димеру.*

*D. Тропоніну.*

*B. КФК.*

*E. АсАТ.*

*C. Натрійуретичного пептиду.*

6. У хворого 52 років ІХС: нестабільна (що вперше виникла) стенокардія. Стенозувальний коронаросклероз, СН I ст. Гіпертонічна хвороба II ст., ст. 3, ризик 4. Зроблено стентування правої коронарної артерії. Кардіолог рекомендував терапію, що включає бета-адреноблокатор, подвійну антиагрегантну комбінацію (плавікс і кардіомагніл), гіполіпідемічні засоби

(статини). Зазначте лабораторні показники, які ви контролюватимете з метою безпечного тривалого застосування статинів.

*A. Тригліцериди, бета-ліпопротеїни в сироватці крові.*

*B. Альфа-амілаза сироватки крові.*

*C. Трансамінази.*

*D. Рівень глюкози в крові.*

*E. Добова протеїнурія.*

**7.** Який фактор не відіграє ролі в патогенезі атеросклерозу?

*A. Порушення ліпідного спектра крові.*

*B. Гостре локальне та хронічне системне запалення судин.*

*C. Генетичні чинники.*

*D. Зсув лейкоцитарної формули крові вліво.*

*E. Дисфункція ендотелію.*

**8.** До нових метаболічних факторів ризику серцево-судинних захворювань не належить наступний:

*A. Лейкоцитоз.*

*B. Гіперурикемія.*

*C. Високий рівень гомоцистеїну.*

*D. Високий рівень С-реактивного білка.*

*E. Гіперфібриногенемія.*

**9.** Який маркер слід визначати, коли інфаркт міокарда триває 7 днів?

*A. КФК.*

*C. Міоглобін.*

*E. АсАТ.*

*B. Тропонін I.*

*D. АЛАТ.*

**10.** В організмі існує п'ять ізоформ лактатдегідрогенази (ЛДГ) та три ізоформи креатинфосфокінази (КФК). Активність серцевої ЛДГ та КФК є важливими показниками при інфаркті міокарда. Вкажіть серцеві ізоферменти.

*A. ЛДГ3 та КФК-BB*

*D. ЛДГ4 та КФК-MM.*

*B. ЛДГ5 та КФК-MB.*

*E. ЛДГ2 та КФК-MM.*

*C. ЛДГ1,2 та КФК-MB.*

**11.** У хворого 55 років з нападом болю за грудиною тривалістю понад 20 хв запідозрений гострий коронарний синдром. Який маркер некрозу міокарда належить до стандарту діагностики інфаркту міокарда?

*A. АСТ.*

*C. Міоглобін.*

*E. Тропоніни I та T.*

*B. MB КФК.*

*D. ЛДГ1.*

**12.** Пацієнт 40 років звернувся до лікаря зі скаргою на біль за грудиною стискаючого характеру. Маса тіла пацієнта в межах норми, АТ – 150/90 мм рт. ст., рівень холестеролу – 7,21 ммоль/л, рівень глюкози крові – 4,8 ммоль/л. Який лабораторний тест необхідний для виключення гострого коронарного синдрому?

*A. Тропоніни.*

*C. Коагулограма.*

*B. Ліпидограма.*

*D. Печінкові проби.*

13. Хворий М., 50 років, поступив у відділення зі скаргами на гострий біль за грудиною. Які лабораторні тести необхідно зробити цьому хворому для ранньої діагностики можливого інфаркту міокарда?

*A. Холінестераза*

*D. Тропоніни*

*B. ЛДГ5*

*E. Альдолаза*

*C. Лужна фосфатаза*

14. У хворого 57 років виявлено підвищення активності ферментів АсАТ, ЛДГ1,2, КФК. З патологічним процесом в якому органі це може бути пов'язано?

*A. Скелетні м'язи*

*D. Простата*

*B. Серцевий м'яз*

*E. Кістки.*

*C. Печінка*

15. Хвора (40 років) звернулася до лікаря з ядухою, яка розвивалася повільно. При обстеженні виявлені зміни на ЕКГ, запідозрена серцева недостатність. Підтвердженням діагнозу може служити збільшення вмісту у крові:

*A. Формених елементів.*

*D. Іонів калію, натрію.*

*B. Загального холестерину.*

*E. Натрійуретичних пептидів.*

*C. МВ-КФК.*

16. З переліченого найбільш інформативним методом виявлення некротичних змін в міокарді є визначення:

*A. Рівня трансаміназ у крові.*

*B. Сумарної креатинфосфокінази в крові.*

*C. Рівня МВ-фракції креатинфосфокінази в крові.*

*D. Лактатдегідрогенази в крові.*

17. Вибрати кардіоспецифічний маркер некрозу міокарда:

*A. Лактатдегідрогеназа.*

*C. Тропонін I.*

*B. Міоглобін.*

*D. Загальна креатинфосфокіназа.*

18. Вказати індикатор пошкодження клітин серцевого м'яза:

*A. АсАТ.*

*D. Лужна фосфатаза.*

*B. Холінестераза.*

*E. Кисла фосфатаза.*

*C. ЛДГ.*

19. Вказати тканинну локалізацію ізофермент ЛДГ3:

*A. Легені.*

*C. Міокард.*

*B. Селезінка.*

*D. Матка.*

20. Скорочення попереочно-посмугованих м'язів неможливе без кальцію. З якою сполукою з'єднується цей іон при утворенні актино-міозинових містків?

*A. Адренорецепторами.*

*D. Холінорецептором.*

*B. Гістаміновими рецепторами.*

*E. Тропоніном.*

*C. Серотоніновими рецепторами.*

## СИТУАЦІЙНІ ЗАВДАННЯ

1. Причиною стенокардії є ішемія та гіпоксія міокарда. При цьому захворюванні для більш економної витрати кисню в серцевому м'язі призначають мілдронат – інгібітор синтезу карнітину.

- *Швидкість якого біохімічного процесу при цьому знижується?*
- *Охарактеризуйте цей біохімічний процес.*

2. Пацієнтам, які страждають на захворювання серцево-судинної системи, для лікування та профілактики уражень міокарда призначають препарат, аналогічний ендogenous креатинфосфату.

- *Яка біологічна роль креатинфосфату?*
- *Де синтезується креатинфосфат?*
- *Який фермент використовується в обміні креатинфосфату? Назвіть його роль в ензимодіагностиці.*
- *Назвіть кінцевий продукт обміну креатинфосфату.*

3. Експериментально доведено, що жирні кислоти – природне енергетичне «пальне» для серця.

- *Підрахуйте та порівняйте енергетичний ефект аеробного окислення глюкози та пальмітинової кислоти.*
- *Для цього напишіть сумарне рівняння  $\beta$ -окислення пальмітинової кислоти та розрахуйте енергетичний вихід окислення пальмітинової кислоти до вуглекислого газу і води.*
- *Напишіть схему аеробного окислення глюкози та розрахуйте енергетичний вихід при окисленні глюкози до вуглекислого газу і води.*

4. Чоловік з надлишковою масою тіла звернувся зі скаргами на періодичний біль в ділянці серця та задишку. Аналіз ліпідів крові натще показав: вміст загального холестеролу – 6,5 мМ/л, холестеролу ЛПВЩ – 1,4 мМ/л, ТАГ – 8 мМ/л.

- *Для якої патології характерні наведені зміни показників плазми крові?*
- *Що таке коефіцієнт атерогенності? Яке його значення в нормі?*
- *Чому дорівнює коефіцієнт атерогенності в даному випадку?*
- *На чому заснована дія препаратів, що знижують вміст холестеролу в крові?*

5. Хворому із серцевою недостатністю рекомендували як біологічну добавку бетаїн (триметилглїцин – донор метильних груп).

*Поясніть цю рекомендацію.*

6. При серцевій недостатності хворому призначили як біодобавки карнітин та аргінін.

*Поясніть мету призначення.*

7. Чому хворому на атеросклероз при виписці з лікарні рекомендують дієту, яка стимулює відтік жовчі та посилює перистальтику кишечника?

8. Виберіть ферменти, які проявляють найбільшу активність в наступних тканинах:

- А – у скелетних м'язах
1. Аспаратамінотрансфераза та ізоферменти ЛДГ1 та ЛДГ2.
  2. Аспаратамінотрансфераза та ізоферменти ЛДГ4 та ЛДГ5.
- Б – у міокарді
3. Ізоформи креатинкінази МВ та ВВ.
  4. Ізофермент креатинкінази МВ та аспаратамінотрансфераза.
- В – у жодній із перелічених тканин
5. Ізоферменти ЛДГ1 та ЛДГ2.
  6. Ізоформа креатинкінази ММ та ЛДГ4 та ЛДГ5.
  7. Аспарат- та аланінамінотрансферази.
  8. Ізоферменти ЛДГ4 та ЛДГ5.

9. Вкажіть особливості, характерні для:

- А – міокарда
1. Тропонін має три центри зв'язування іонів кальцію.
  2. Ресинтез АТФ відбувається переважно за допомогою окисного фосфорилування.
  3. Основним субстратом окиснення є глюкоза.
- Б – скелетного м'яза
4. Ресинтез АТФ відбувається переважно за допомогою анаеробного гліколізу.
  5. Тропонін має чотири центри зв'язування іонів кальцію.
  6.  $Ca^{2+}$ -АТФ-аза має найбільшу спорідненість до іонів кальцію.
  7. Основним субстратом окислення є жирні кислоти і кетонів тіла.

10. Які з наступних тверджень характеризують білок тропонін (А) та тропоміозин (Б):

1. Глобулярний білок.
2. Складається із семи глобул.
3. Зв'язаний із міозином.
4. Фібрилярний білок.
5. За довжиною відповідає семи глобулам актину.
6. Складається з трьох субодиниць.
7. Приєднує іони кальцію.
8. Закриває ділянку актину для взаємодії з міозином.

11. Серед функцій тропоніну та тропоміозину можна виділити такі:

- А. Тропонін та тропоміозин активують зв'язування актину та міозину.
- В. Відсутність  $Ca^{2+}$  тропонін і тропоміозин інгібують взаємодію актину та міозину.
- С. Гідроліз АТФ активує вплив регуляторних білків тропоніну та тропоміозину на утворення актоміозинового комплексу.
- Д. Вивільнення  $Ca^{2+}$  із саркоплазматичного ретикулуму призводить до блокування тропоміозином приєднання актину до головок міозину.

## 12. Заповніть таблицю:

№ з/п	Завдання	Відповідь
1	У хворого через 12 год після гострого нападу за грудиною болю в сироватці крові різко підвищилась активність аспаратаміно-трансферази. Назвіть патологію, для якої характерні ці зміни.	
2	Діагностичним тестом при гострому панкреатиті є визначення в сечі активності ферменту:	
3	У хворого на гострий панкреатит у крові та сечі різко підвищена активність ферменту:	
4	Назвіть фермент, визначення вмісту якого в крові є найбільш інформативним в перші години після інфаркту міокарда.	
5	У хворого гострий панкреатит. Які препарати повинен призначити лікар, щоб уникнути аутолізу підшлункової залози?	
6	Хворому поставили діагноз – інфаркт міокарда. Характерною ознакою цього захворювання є суттєве підвищення в крові активності:	
7	Хворий 49 років, водій за професією, скаржиться на нестерпні стискаючі болі за грудиною, що «віддають» в ділянку шії. Об'єктивно: стан тяжкий, блідість, тони серця ослаблені. Лабораторні обстеження показали високу активність креатинкінази і ЛДГ1. Для якого захворювання характерні такі симптоми?	
8	Для попередження нападів гострого панкреатиту лікар призначив трасилол (контрикал, гордокс), який є інгібітором:	
9	Активність яких ферментів слід визначати з діагностичною та прогностичною метою, якщо в клініку поступив хворий з патологією серцевого м'яза?	
10	Ферменти широко використовуються як лікарські препарати. Який з ферментів використовується для лікування лейкозів?	
11	У 46-річної жінки прогресуюча м'язова дистрофія. Який біохімічний показник має діагностичне значення у цьому випадку?	
12	Ензимотерапія – напрямок медичної ензимології, пов'язаний із застосуванням ферментів для лікування різних захворювань. Назвіть фермент, що застосовується при лікуванні інфаркту міокарда.	
13	До відділення реанімації поступив хворий 47 років з діагнозом «інфаркт міокарда». Яка з фракцій лактатдегідрогенази (ЛДГ) буде переважати в сироватці крові протягом перших двох діб захворювання?	
14	Ензимотерапія – напрямок медичної ензимології, пов'язаний із застосуванням ферментів для лікування різних захворювань. Назвіть фермент, що застосовується в комплексній терапії з усунення набряків, гематом, келоїдних рубців.	

№ з/п	Завдання	Відповідь
15	60-річний чоловік звернувся до лікаря після появи болю в грудній клітці. У сироватці крові виявлено значне наростання активності ферментів: креатинфосфокінази та її МВ-ізоформи, аспартатаміно-трансферази. Про розвиток патологічного процесу в якій тканині свідчать ці зміни?	
16	У клітинах сполучної тканини утворюються ферменти та інші активні речовини, які регулюють її щільність і проникність. Який ферментний препарат використовується з метою розпушення і підвищення проникності сполучнотканинних утворень?	
17	До лікарні доставлено хворого з опіками шкіри. Для очищення ран від мертвих тканин та слизу лікар для локального лікування призначив ферментний препарат. Назвіть цей препарат.	
18	До кардіологічного відділення госпіталізовано хворого з інфарктом міокарда в гострій фазі. Для лізису тромбів у коронарних судинах в перші години використовують фермент:	
19	При дослідженні крові хворого виявлено значне збільшення активності МВ-форми КФК (креатинфосфокінази) та ЛДГ-1. Яку патологію можна припустити?	
20	Для біохімічної діагностики інфаркту міокарда визначають активність в крові ряду ферментів та їх ізоферментних форм. Який ферментативний тест вважається найкращим для підтвердження або виключення діагнозу інфаркту в ранній період після появи болю у грудній клітці?	
21	Через 6 год після інфаркту міокарда у хворого в крові збільшилась активність лактатдегідрогенази. Наявність якого ізоферменту слід очікувати у цьому випадку?	
22	У хворого інфаркт міокарда. Активність якого ферменту буде значно підвищена в сироватці крові хворого в перші години?	

## ЛІТЕРАТУРА

1. Інформативні показники в діагностиці захворювань печінки та жовчовивідних шляхів : монографія / І. Ю. Багмут, В. І. Жуков, І. Л. Колісник та ін. Харків : Золоті сторінки. 2020. 88 с.
2. Катеренчук І. П. Клінічне тлумачення й діагностичне значення лабораторних показників у загальнолікарській практиці. Київ, 2020. 228 с.
3. Клінічна лабораторна діагностика : підручник / Л. Є. Лаповець, Р. Б. Лебідь, О. О. Ястремська та ін. ; за ред. Л. Є. Лаповець. 2-е вид. Львів : Медицина. 2021. 472 с.
4. Endothelial Dysfunction: From Pathophysiology to Novel Therapeutic Approaches / Edited by Byeong Hwa Jeon; Korea: MDPI. 2022. 370 p.
5. Clinical biochemistry / by Ďurovcová Eva, Mareková Mária ; Pavol Jozef Šafárik University in Košice Publishing ŠafárikPress. Košice, 2020. 275 p.
6. Endothelial Dysfunction – A Novel Paradigm / by Alaeddin Abukabda, Christopher Fonner. IntechOpen, 2023. 112 p.
7. Методичні рекомендації щодо організації переданалітичного етапу : Наказ МОЗ України «Про затвердження Методичних рекомендацій щодо організації переданалітичного етапу» № 4/24 від 19 січня 2024 р. Київ. 2024. 44 с. <https://medlabtest.ua/uploads/documents/guidelines/preanalytical.pdf>

**Навчальне видання**

Наконечна Оксана Анатоліївна  
Ярмиш Наталія Василівна  
Васильєва Ірина Михайлівна

# **МАРКЕРИ ДИСФУНКЦІЇ ЕНДОТЕЛІЮ СУДИН**

**Навчально-методичний посібник  
для підготовки до практичних занять  
з клінічної біохімії здобувачів вищої освіти  
медичних та стоматологічного факультетів**

Відповідальний за випуск

О. А. Наконечна



Редактор М. В. Тарасенко  
Комп'ютерна верстка О. Ю. Лавриненко

Формат А5. Ум. друк. арк. 8,0. Зам. № 24-34452.

---

**Редакційно-видавничий відділ  
ХНМУ, пр. Науки, 4, м. Харків, 61022  
izdatknmurio@gmail.com, vid.redact@knmu.edu.ua**

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавництв, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції серії ДК № 3242 від 18.07.2008 р.