**Пигментный обмен**

Под пигментным обменом подразумевают обычно все процессы образования, превращения и распада пигмента крови (гемоглобина), точнее его пигментной небелковой части, и главного деривата этого пигмента— желчного пигмента (билирубина). В настоящее время однако известны и другие пигменты, которые по хим. составу по – видимому, близки НЬ — это-НЬ мышц, цитохромы, дыхательный фермент Варбурга (Warburg) и другие еще весьма мало изученные пигменты. Отделить процессы образования, превращения и распада этих пигментов от процессов обмена НЬ пока невозможно. В более широком смысле под П..о. можно подразумевать процессы образования, превращения и распада всех пигментов организма, т. е. как вышеперечисленных пигментов, группы НЬ, так и всех других пигментов— меланина, липохромов и т. д.

ФИЗИОЛОГИЯ ОБМЕНА БИЛИРУБИНА

Процесс превращения свободного (непрямого) билирубина, образующегося при разрушении эритроцитов и распаде гемоглобина в органах ретикулоэндотелиальной системы (РЭС), в билирубин-диглюкуронид (связанный, или прямой билирубин) в печеночной клетке (рис. 1) осуществляется в три этапа (на рисунке обозначены римскими цифрами):

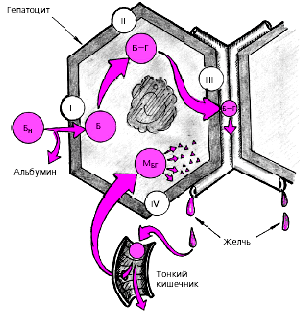


Рис. 1. Процессы обезвреживания свободного (непрямого) билирубина и мезобилиногена (уробилиногена) в печеночной клетке.

Бн - свободный (непрямой) билирубин; Б-Г - билирубин-глюкуронид (связанный, или прямой билирубин); Мбг - мезобилиноген (уробилиноген).

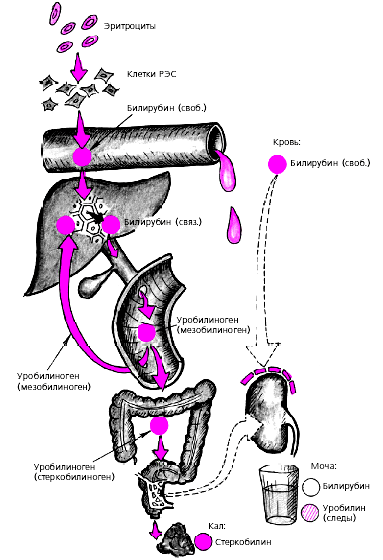
Римскими цифрами обозначены этапы обезвреживания

**1.** I этап — захват билирубина (Б) печеночной клеткой после отщепления альбумина;

**2.** II этап — образование водорастворимого комплекса билирубин-диглюкуронида (Б-Г);

**3.** III этап — выделение образовавшегося связанного (прямого) билирубина (Б-Г) из печеночной клетки в желчные канальцы (проточки).

Дальнейший метаболизм билирубина связан с поступлением его в желчные пути и кишечник. В нижних отделах желчевыводящих путей и кишечнике под воздействием микробной флоры происходит постепенное восстановление связанного билирубина до уробилиногена. Часть уробилиногена (мезобилиноген) всасывается в кишечнике и по системе воротной вены вновь попадает в печень, где в норме происходит практически полное его разрушение (см. рис. 1). Другая часть уробилиногена (стеркобилиноген) всасывается в кровь в геморроидальных венах, попадая в общий кровоток и выделяясь почками с мочой в незначительных количествах в виде уробилина, который часто не выявляется клиническими лабораторными методами. Наконец, третья часть уробилиногена превращается в стеркобилин и выделяется с калом, обусловливая его характерную темно-коричневую окраску.



**Методы определения билирубина и его метаболитов**

**Определение билирубина в сыворотке крови**

В клинической практике используются различные методы определения билирубина и его фракций в сыворотке крови.

Наиболее распространенным из них является биохимический **метод Ендрассика-Грофа**. Он основан на взаимодействии билирубина с диазотированной сульфаниловой кислотой с образованием азопигментов. При этом связанный билирубин (билирубин-глюкуронид) дает быструю («прямую») реакцию с диазореактивом, тогда как реакция свободного (не связанного с глюкуронидом) билирубина протекает значтельно медленнее. Для ее ускорения применяют различные вещества–акселераторы, например кофеин (метод Ендрассика-Клеггорна-Грофа), которые освобождают билирубин из белковых комплексов («непрямая» реакция). В результате взаимодействия с диазотированной сульфаниловой кислотой билирубин образует окрашенные соединения. Измерения проводят на фотометре.

ХОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В 3 пробирки (2 опытные пробы и холостая) вводят реактивы, как указано в таблице. **Диазореакция**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Ингридиенты** | **Опытная проба мл** | | **Холостая проба мл** |
| **Общий билирубин** | **Связанный билирубин** |
| Сыворотка | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Кофеиновый реактив | 1,75 | - | 1,75 |
| Раствор хлорида натрия | - | 1,75 | 0,25 |
| Диазосмесь | 0,25 | 0,25 | - |

Для определения связанного билирубина измерение проводят спустя 5—10 мин после добавления диазосмеси, так как при длительном стоянии в реакцию вступает несвязанный билирубин. Для определения общего билирубина пробу для развития окраски оставляют стоять 20 мин, после чего измеряют на фотометре. При дальнейшем стоянии окраска не изменяется. Измерение проводят при длине волны 500—560 нм (зеленый светофильтр) в кювете с толщиной слоя в 0,5 см против воды. Из показателей, полученных при измерении общего и связанного билирубина, вычитают показатель холостой пробы. **Расчет производят по калибровочному графику.** Находят содержание общего и связанного билирубина.Метод Ендрассика, Клеггорна и Грофа прост, удобен в практике, не связан с применением дефицитных реактивов и является наиболее приемлемым для практических лабораторий.Определение рекомендуется приводить сразу же после забора проб, чтобы избежать окисления билирубина на свету. Гемолиз сыворотки снижает количество билирубина пропорционально присутствию гемоглобина. Следовательно, сыворотка крови не должна быть гемолизирована.

**Ряд веществ** — гидрокортизон, андрогены, эритромицин, глюкокортикоиды, фенобарбитал, аскорбиновая кислота — вызывают интерференцию.

Постоение калибровочного графика при методе ендрассика.

**Способ I** — Шелонга-Вендес использованием стабилизирующего свойства белка сыворотки крови. **Основной раствор билирубина:** в колбе вместимостью 50 мл растворяют 40 мг билирубина в 30—35 мл 0,1 моль/л раствора карбоната натрия Na2CO3. Хорошо взбалтывают, не допуская образования пузырьков. Доводят до 50 мл 0,1 моль/л раствором Nа2СО3 и несколько раз перемешивают. Раствор стоек только в течение 10 мин от начала приготовления. В дальнейшем происходит окисление билирубина. **Рабочий раствор билирубина:** к 13,9 мл свежей негемолизированной сыворотки здорового человека добавляют 2 мл свежеприготовленного основного раствора билирубина и 0,1 мл 4 моль/л раствора уксусной кислоты. Хорошо перемешивают. При этом выделяются пузырьки углекислого газа. Рабочий раствор стоек в течение нескольких дней. Этот раствор содержит точно на 100 мг/л, или 171 мкмоль/л, билирубина больше, чем сыворотка, взятая для приготовления раствора. Чтобы исключить при расчетах количество билирубина, содержащегося в этой сыворотке, при измерении на фотометре из величин экстинкции калибровочных проб вычитают величины экстинкции соответствующих разведений компенсационной жидкости. Для приготовления компенсационной жидкости смешивают 13,9 мл той же сыворотки, которая использовалась для приготовления калибровочного раствора билирубина, 2 мл 0,1 моль/л раствора карбоната натрия и 0,1 мл 4 моль/л раствора уксусной кислоты. Для построения калибровочного графика готовят ряд разведений с различным содержанием билирубина. К полученным разведениям прибавляют по 1,75 мл кофеинового реактива и по 0,25 мл диазосмеси. При появлении помутнения можно добавить по 3 капли 30%-ного раствора едкого натра. Измерение проводят при тех же условиях, что и в опытных пробах, через 20 мин. Из компенсационной жидкости готовят разведения, аналогичные калибровочным (как указано ниже), и далее обрабатывают их так же, как калибровочные пробы.

**Таблица. Определение связанного билирубина**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№ пробирки** | **Рабочий раствор билирубина мл** | **Изотонический раствор NaCl, мл** | **Количество билирубина в пробе** | | **Концентрация билирубина в сыворотке крови, мкмоль/л** |
| **мг** | **мкмоль** |
| 1 | 0,05 | 0,45 | 0,005 | 0,00855 | 17,1 |
| 2 | 0,1 | 0,4 | 0,01 | 0,0171 | 34,2 |
| 3 | 0,15 | 0,35 | 0,015 | 0,02565 | 51,3 |
| 4 | 0,2 | 0,3 | 0,02 | 0,0342 | 68,4 |
| 5 | 0,25 | 0,25 | 0,025 | 0,04275 | 85,5 |

* Способ второй – выстраивать калибровочный график по готовому набору реактивов.(Например, набор Билирубин –эталон фирмы Лахема, включающий в себя билирубин лиофилизированный (точная концентрация билирубина приведена на этикетке флакона); и альбумин лиофилизированный.)

**Определение билирубина в сыворотке крови прямым фотометрическим методом**

Определение общего билирубина прямым фотометрическим методом чрезвычайно просто, удобно, не требует венепункции (исследуется капиллярная кровь), может повторяться неоднократно в течение суток. Недостатком метода является невозможность определить фракции билирубина, меньшая точность при выраженном гемолизе.

Несмотря на то, что при этом определяется только общий билирубин, этот подход представляет значительный интерес в неонатологии, так как у новорожденных детей преобладает одна производная билирубина, практически равная концентрации общего билирубина. Билирубин представляет собой пигмент с ярко выраженной желтой окраской. Его спектральная кривая поглощения имеет максимум на длине волны 460 нм (синяя область спектра). Измеряя поглощение на этой длине волны можно было бы определить концентрацию общего билирубина в крови. Однако ряд факторов усложняют такое измерение. Билирубин является сильным поглотителем и поэтому оптимальная для построения фотометра плотность 0,3-0,5 Б оптической плотности достигается в кювете с длиной оптического пути примерно 250 микрометров (0,25 мм).

Изготовить такую кювету непросто. Кроме того, фотометрирование непосредственно крови усложняется присутствием форменных элементов крови, рассеянием света на них, а также интерференцией билирубина с гемоглобином, который частично поглощает свет в синей области спектра. Поэтому для фотометрирования необходимо, во-первых, получить образцы плазмы крови, а, во-вторых, нужно исключить влияние гемоглобина, присутствующего в небольшом количестве в плазме. Плазму для фотометрирования получают на лабораторных центрифугах в гепаринизированных гематокритных капиллярах.

Фотометрирование можно проводить на спектрофотометрах на двух длинах волн 460 и 550 нм, на которых гемоглобин имеет одинаковые коэффициенты поглощения, а билирубин имеет максимум поглощения на длине волны 460 нм и не поглощает на длине волны 550 нм. Именно это позволяет исключить влияние гемоглобина при измерении концентрации билирубина.Однако спектрофотометры общего назначения мало пригодны для таких рутинных измерений, так как необходимо иметь специальные кюветы с малой оптической длиной. Примером такого специалиированного фтометра может служить фотометр Билимет К-анализатор билирубина фотометрический неонатальный (тип средства измерения АБФ-04).

Определение концентрации общего билирубина анализатором БИЛИМЕТ К производится методом прямого фотометрирования плазмы крови в тонком стеклянном капилляре. Для разделения крови в капилляре на фракции используется устройство для получения плазмы крови УППК-01-НПП ТМ или подходящая гематокритная центрифуга. Оптическая плотность исследуемого образца вычисляется как логарифм отношения световых потоков на двух длинах волн. Двухволновая методика измерения выбрана для уменьшения погрешностей измерения и устранения влияния присутствия в капилляре остаточной лизированой крови, которая даёт окраску раствора в красной части спектра.

Перед определением билирубина на анализаторе Билимет К необходимо наполнить капилляр кровью (чаще всего из пятки новорожденного) и получить на центрифуге плазму дисплее. Фотометрирование пробы длится доли секунды. После фотометрирования каретка автоматически выдвигается из прибора. Результат измерения фиксируется либо вручную, либо распечатывается печатающим устройством УП-02.



**Транскутанная билирубинометрия как метод диагостики гипербилирубинемии новорожденных**

Практика неинвазивной оценки билирубина не является в принципе новой. Опытный врач по пожелтению кожного покрова может оценить наличие и степень гипербилирубинемии. Однако такая оценка весьма субъективна: кроме личного опыта на восприятие цвета кожи ребенка оказывают влияние тип освещения и наличие оттенков кожи, вызванных различными клиническими факторами, что обусловливает необходимость лабораторного тестирования.

Значительный прогресс в области анализагипербилирубинемии новорожденных был достигнут с появлением в 1980 г. транскутанного билирубинометра фирмы «Минолта» (Япония) [6]. Десятилетний опыт применения прибора фирмы' «Минолта» в ряде стран показал, что врач, пользующийся прибором, обладает, несомненно, эффективным средством диагностики.

Положительный опыт медицинского применения транскутанного билирубинометра фирмы «Минолта» обусловил разработку и серийное производство отечественного аналога - фотометрического анализатора гипербилирубинемии «Билитест» (типа АГФ-02). Прибор «Билитест» прошел в установленном порядке все необходимые испытания и рекомендован к промышленному выпуску решением комиссии Минздрава СССР от 25 июня 1991 г.

Транскутанная билирубинометрия основывается на явлении обратной диффузии билирубина из крови в окружающую ткань (дерма). Увеличение концентрации билирубина в крови приводит к увеличению концентрации билирубина в дерме, и наоборот, уменьшение концентрации билирубина в крови (например, при переливании крови) приводит к обратному движению билирубина из дермы в кровь до тех пор, пока между этими двумя системами не наступит равновесие.

Поскольку билирубин обладает ярко выраженной желтой окраской, цвет кожи меняется в зависимости от содержания билирубина в дерме. Желтая окраска билирубина связана с наличием в нем полосы поглощения света в синей области спектра с максимумом на длине волны 460 нм.

Как известно, существует логарифмическая зависимость между концентрацией поглощающего вещества и интенсивностью прошедшего через него света. Прибор «Билитест» по своему принципу является фотометром отраженного света и измеряет логарифм отношения интенсивностей отраженного света на двух длинах волн. Прибор снабжен миниатюрной лампой-вспышкой и двумя фотоприемниками с узкополосными светофильтрами, позволяющими выделять из всего отраженного потока света излучение на длинах волн 460 и 550 нм. Выбор второй длины волны в желто - зеленом диапазоне обусловлен отсутствием в нем поглощения света билирубином и одновременно наличием примерно такого же, как на длине волны 460 нм, поглощения в гемоглобине крови. Это позволяет практически полностью исключить влияние капиллярных подкожных сосудов на результаты измерений.

Важной особенностью прибора является то, что он регистрирует свет, отраженный только из глубины тканей, и не допускает попадания на фотоприемники света, отраженного от поверхности кожи, за счет плотного прилегания к ней подвижной световодной головки. Тем самым значительно ослабляется мешающее влияние пигментации кожи.

По существу прибор «Билитест» определяет концентрацию билирубина в дерме путем прямого фотометрирования. Поскольку стандарты концентрации билирубина в дерме отсутствуют (и вряд ли могут быть созданы), прибор отградуирован в условных единицах, которые названы в соответствии с международной практикой «транскутанным билирубиновым индексом» (ТБИ). Клиническая значимость ТБИ определяется его хорошей корреляцией с концентрацией билирубина в крови новорожденных.

Прибор откалиброван таким образом, чтобы при измерении в области лба новорожденного концентрация общего билирубина в сыворотке (плазме) крови (в микромолях на 1 л) примерно соответствовала показателю ТБИ, умноженному на 10. Эта калибровка прибора «Билитест» устанавливалась для новорожденных без ярко выраженной пигментации кожи (белая раса). В других случаях соответствие между ТБИ и концентрацией билирубина в крови должно определяться пользователями прибора самостоятельно путем сравнения показаний с данными лабораторных исследований.

**Особенности транскутанной билирубинометрии**

Метод транскутанной билирубинометрии является скрининговым и служит для выделения группы риска по развитию тяжеленной гипербилирубинемии. Использование устройства "Билитест-М" дозволяет ограничить круг новорожденных, у каких требуется взятие крови для исследования на билирубин. Прибор "Билитест-М" дает возможность детализированного наблюдения за динамикой желтухи новорожденных и эффективностью проведения терапии.

**Контроль.** Для проверки правильности показаний устройства в комплекте поставки имеются особые светофильтры (контрольные меры). Никакие другие средства не требуются для контроля работоспособности устройства.

**Технические характеристики:**

|  |  |
| --- | --- |
| диапазон измерений | 0-40 ед. ТБИ (0-400 мкмоль/л) |
| коэффициент корреляции с сывороточным билирубином | не менее 0,9 |
| число разрядов на цифровом табло | 2 |
| погрешность измерения, ед. ТБИ | ± 2 |
| размеры, мм | 171х70х37 |
| вес, кг | 0,3 |
| источник питания | 3 элемента типа ААА |
| число измерений без замены питания | не менее 100 000 |

**Определение билирубина в моче**

Различные качественные методы обнаружения билирубина в моче основаны на превращении этого вещества под действием окислителей в биливердин, имеющий зеленую окраску, или билирубинпурины (красное окрашивание).

**Проба Розина.** В пробирку с 4–5 мл мочи осторожно по стенкам наливают 1% спиртовой раствор йода. При наличии в моче билирубина на границе мочи и раствора йода образуется зеленое кольцо.

В качестве окислителей используют также растворы трихлоруксусной кислоты (проба Фуше), диазотированную сульфаниловую кислоту (проба Готфрида) и другие окислители.

У здорового человека с мочой выделяются минимальные количества связанного (прямого) билирубина, которые не определяются описанными качественными реакциями.

**Метод «сухой химии» с помощью диагностических полосок**

Диагностические полоски на билирубин наиболее разумно использовать в следующих случаях:

1. Как часть общего анализа мочи;

2. Раннее выявление обтурационной желтухи;

3. Для дифференциальной диагностики желтух;

4. Для контроля при лечении обтурационного и вирусного гепатита;

5. При обследовании рабочих, контактирующих с гепатотоксическими препаратами;

6. В качестве скрининг-теста у пациентов, принимающих потенциально гепатотоксические препараты.

**Принцип теста**

Реакционная зона содержит р-нитрофенилдиазониевый-р-толуолсульфонат, натриевый бикарбонат и сульфосалициловую кислоту. Тест на билирубин в моче является одним из самых специфичных и чувствительных. При контакте с конъюгированным билирубином через 30 секунд появляется сиреневато-бежевая (сиреневато-розовая) окраска, интенсивность которой зависит от количества определяемого билирубина.

**Специфичность и чувствительность**

Тест является специфичным для конъюгированного билирубина. Сиреневато-бежевая (сиреневато-розовая ) окраска реакционной зоны тест-полоски появляется уже при концентрации билирубина 2,5 - 3 мг/л или 4-5 мкмоль/л (Плива-Лахема [Иктофан и др], Биосенсор АН [Урибилир, Уриполиан-2 и др.]). У некоторых производителей (YD-Диагностика, FDI и др.) чувствительность зоны составляет 8-9 мкмоль/л.

**Влияние посторонних факторов**

Аскорбиновая кислота в очень высоких концентрациях (примерно 500 мг/л) вызывает слабое розовое окрашивание, которое можно принять за положительный тест. В присутствии уробилиногена в концентрации свыше 60 мг/л, т.е. 102 ммоль/л цвет реагирующей на билирубин реактивной зоны принимает слабо-оранжевый оттенок. В этом случае рекомендуется считывать тест не раньше, чем через 2 минуты после смачивания реакионной зоны.

**Оценка теста**

Положительным результат теста считается в том случае, если меняется цвет реакционной зоны. В присутствии связанного билирубина исходный светло-кремовый цвет переходит в сиреневато-бежевый (сиреневато-желтый в зависимости от производителя). Интенсивность появляющейся окраски сравнивается с цветной шкалой на упаковке. Если цвет попадает между цветами соседних этикеток, то результат должен оцениваться следующим образом.

Пример цветовых шкал различных фирм-производителей:

отрицательный положительный



0,0 9,0 17,0 50,0 мкмоль/л

neg + ++ +++

отрицательный положительный



0,0 9,0 17,0 50,0 мкмоль/л

neg + ++ +++

Список авторитетных производителей и наименование их продукции:

Bayer (Мультистикс), Roche (Комбур-Тест), Биосенсор АН (Урибилир, Уриполиан-2), Macromed (Макромед), DFI (Сайбоу), Плива-Лахема (Иктофан, Пентафан), YD Diagnostic (Урискан), Biosite (), IND Diagnostic (IND), Macherey-Nagel (Меди-Тест), Dirui (Уристик).



**Определение уробилина в моче**

Определение уробилина в моче также основано на образовании окрашенных в розовый или красный цвет соединений при взаимодействии уробилина с HCl, сульфатом меди или реактивом Эрлиха (парадиметиламинобензолальдегидом).

**Проба Нейбауэра.** К 3–4 мл свежевыпущенной мочи добавляют 3–4 капли реактива Эрлиха (парадиметилбензолальдегида). Окрашивание мочи в красный цвет свидетельствует о диагностически значимом повышении концентрации уробилина в моче.

У здорового человека с мочой выделяются следы уробилина (не более 5–6 мг в сутки), которые не выявляются обычными качественными реакциями.

**Определение стеркобилина и билирубина в кале**

В норме у взрослого человека с калом выделяется за сутки около 300–500 мг стеркобилина, придающего испражнениям характерную коричневую окраску. (Стеркобилин является конечным продуктом восстановления билирубина, выделяющегося в кишечник из общего желчного протока. Эта реакция протекает под действием нормальной микробной флоры кишечника. Характерно, что у новорожденных и детей грудного возраста с калом выделяется неизмененный билирубин, в связи с чем испражнения имеют характерный зеленоватый цвет).

**Качественное определение** стеркобилина в кале основано на реакции этого вещества с двуххлористой ртутью (сулемой), в результате которой образуется соединение, имеющее розовое окрашивание. Для этого комочек кала растирают в фарфоровой ступке с 3–4 мл раствора сулемы, закрывают крышкой и оставляют на сутки в вытяжном шкафу. При наличии стеркобилина эмульсия приобретает розовое или красноватое окрашивание. Если в кале присутствует неизмененный билирубин, реакция с сулемой дает зеленоватое окрашивание.

**Количественное определение** стеркобилина в кале основано на цветной реакции с парадиметиламинобензальдегидом с образованием комплекса, окрашенного в красный цвет. Интенсивность окраски, пропорциональная содержанию в кале стеркобилина, определяют спектрофотометрически. В настоящее время метод редко используется в клинической практике.

Печеночный клиренс билирубина

К важным диагностическим клиренс-тестам в гепатологии относятся бромсульфофталеиновая и вофавердиновая пробы, проба с бенгальским розовым (син. бромсульфофталеиновая проба) — метод исследования функции печени, заключающийся в колориметрическом определении продолжительности задержки в крови бромсульфофталеина после его внутривенного введения. .С их помощью оценивают поглотительную и выделительную функции печени, их динамику в ходе лечения больных вирусным гепатитом и хроническими заболеваниями печени. Используя высокую гепатотропность бенгальского розового, по скорости его поглощения из крови судят о состоянии полигональных клеток печени, а с помощью препарата, меченного радиоактивным йодом, вычисляют также степень поглощения препарата, показатели его элиминации, время экскреции, что позволяет выявить нарушения желчевыведения, судить об обтурационном или преимущественно паренхиматозном генезе желтухи.

**Клинико-диагностическое значение исследований. Интерпретация результатов**

Оценка нарушений пигментного обмена нередко имеет решающее значение в дифференциальной диагностике желтух (паренхиматозной, механической и гемолитической).

В основном нарушение пигментного обмена проявляется ГИПЕРбилирубинемией. Гипобилирубинемия обычно диагностической ценности не имеет либо появляется при раковой кахексии, туберкулезе, алиметарном истощении, хронической почечной и печеночной недостаточности.

Основным клиническим признаком гипрбилирубинемии является желтуха (иктеричность) – желтая пигментация кожи или оболочек глаз, обусловленная повышением содержания билирубина в крови.

Желтуха обнаруживается при уровне билирубина выше 34,2 мкмоль / л. Однако точный уровень билирубина в крови, при котором можно выявить желтуху, варьирует.

Желтуха чаще всего диагностируется при потемнении мочи или желтом окрашивании кожи или внешних оболочек глаз. Часто именно по иктеричности оболочек глаз часто определяют желтуху. Желтая окраска оболочек глаз объясняется большим количеством эластина в них, обладающего особым сродством к билирубину.

При выраженной желтухе кожа может приобрести зеленоватый оттенок. Это происходит из-за превращения билирубина в биливердин, продукт окисления билирубина. Зеленоватая окраска кожи чаще бывает при желтухе, обусловленной увеличением в крови концентрации прямого билирубина, т. к. прямой билирубин окисляется быстрее.

При воздействии на билирубин синим светом (430–470 нм) образуются полярные метастабильные фотоизомеры билирубина, которые могут выделяться в желчь, не будучи связанными. Это используется для лечения гипербилирубинемии в педиатрии.

Следует помнить, что клинические проявления желтухи могут и не сопровождаться гипербилирубинемией по результатам лаборторных анализов. В таком случае причиной желтухи является:

1) каротинемия, т. е. наличие каротиноидных пигментов в крови: наблюдается при избыточном употреблении пищи, содержащей каротин (тыква, морковь, красный перец), в особенности при повреждении печени, когда каротин не может быть переработан в витамин А. Сопровождается желтоватым окрашиванием кожи, но не оболочек глаз и слизистых оболочек;

1. прием акрихина;
2. отравление пикриновой кислотой.

**Причины возникновения гипербилирубинемии**:

* повышение продукции пигмента;
* снижение поглощения билирубина печенью;
* нарушение конъюгации (соединения, связывания) билирубина;
* снижение экскреции конъюгированного пигмента из печени в желчь.

Первые три вида нарушений связаны в основном с не конъюгированной (повышение свободного билирубина) гипербилирубинемией.

Четвертая группа нарушений ассоциируется прежде всего с конъюгированной (повышение связанного билирубина) гипербилирубинемией и билирубинурией.

**Неконъюгированные гипербилирубинемии**

**Надпеченочная или гемолитическая желтуха**: возникает в результате усиленного разрушения эритроцитов.

При таком виде желтухи кожа обычно лимонно-желтого оттенка: больные скорее бледны, чем желтушны. В большей мере окрашиваются кал и моча.

Проявления гемолитической желтухи:

* гемолитические анемии: врожденный сфероцитоз, наследственный эллиптоцитоз;
* дефекты эритроцитарных ферментов (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, пируваткиназа), неэффективный эритропоэз (мегало- и сидеробластные анемии, большая р-талассемия и др.);
* гемолитическая болезнь: иммунный гемолиз (Rh-несовместимость, АВО-несовместимость, др.)

Одновременно с усилением разрушения эритроцитов отмечается повышение в крови непрямого билирубина. Это связано с неспособностью печеночной клетки захватывать и трансформировать избыток непрямого билирубина, содержащегося в протекающей крови.

При разрушении эритроцитов в крови и моче обнаруживается высокий уровень уробилиногена. В общий кровоток уробилиноген попадает, проскакивая печеночный барьер, что обусловлено избытком прямого билирубина в печени и уробилиногена в тонкой кишке.

Наиболее яркая клиническая картина может наблюдаться при наличии несовместимости групп крови или резус-фактора матери и ребенка.

Неконъюгированный билирубин в крови может достигать 340 мкмоль / л с угрозой развития ядерной желтухи.

**Гипербилирубинемия, обусловленная непрямым билирубином**, наблюдается также при нарушении транспорта билирубина, и без усиленного гемолиза.

К такому виду **неконъюгированной гипербилирубинемии** приводят:

1. недостаточный захват билирубина мембраной гепатоцита: интермиттирующая юношеская желтуха Мейленграхта или синдром Жильбера-Лербулле;
2. конкурентное ингибирование:
   * желтуха, обусловленная грудным молоком, или синдром Ариаса;
   * семейная желтуха новорожденных или синдром Люцея - Дрисколла;
   * подавление живых организмов лекарственными средствами: эстрогенами, прегнандиолом, сульфаниламидами, новобиоцином, рифампицином, флаваспидовой кислотой, некоторыми красителями, используемыми при холецистографии, и др.

У некоторых новорожденных, вскармливаемых грудью, развивается **выраженная желтуха или синдром Ариаса**. Она возникает за счет накопления в крови непрямого билирубина, уровень которого прогрессивно повышается до 4-го дня жизни, достигает максимума к 10-15-му дню (до 250—300 мкмоль/л), а затем медленно снижается до нормы к 3-12-й неделе жизни.

Причиной ее возникновения может быть повышенная активность р-глюкуронидазы грудного молока, вызывающая повышение содержания неконъюгированного билирубина в кишечнике с его последующим всасыванием.

Высокая концентрация свободных жирных кислот в грудном молоке способна угнетать конъюгацию билирубина.

Желтуха также может быть обусловлена тем, что у некоторых женщин в молоке содержатся производные прегнандиола, которые нарушают захват билирубина клетками печени и связывание с глюкуроновой кислотой.

Если вскармливание грудью на какой-то период прекратить, то уровень билирубина снижается до нормы в ближайшие 4-8 дней.

**Желтухи у детей**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Вид желтухи** | **Непрямой билирубин** | **Прямой билирубин** | **Активность аминотрансфераз** | **Активность щелочной фосфатазы** | **Уробилиноген в моче** | **Билирубин в моче** | **Окраска стула желчными пигментами** |
| Гемолитическая | Резко повышен | Нормальный или слегка повышен | Нормальная | Нормальная | Повышен | Отсутствует | Нормальный |
| Острая гепатоцеллюлярная (печеночная) | Слегка повышен | Резко повышен | Резко повышена | Нормальная или слегка повышена | Имеется | Имеется | Нормальный или слегка обесцвеченный |
| Хроническая гепатоцеллюлярная (печеночная) | Слегка повышен | Умеренно повышен | Нормальная или слегка повышена | Нормальная | Имеется | Имеется | Нормальный |
| Механическая | Слегка повышен | Резко повышен | Нормальная или слегка повышена | Резко повышена | Отсутствует | Имеется | Ахоличный или слегка окрашенный |
| Конъюгационная | Резко повышен | Отсутствует или нормальный | Нормальная | Нормальная | Имеется или отсутствует | Отсутствует | Окрашен. Ахоличный при синдроме Криглера – Найяра |

**Транзиторная семейная гипербилирубинемия новорожденных** (синдром Люцея – Дрисколла) отмечается в некоторых семьях, наследуется аутосомно-рецессивно. Проявляется массивной гипербилирубинемией, развивающейся у всех детей, рожденных от одной матери, страдающей этим заболеванием, в первые 4 года их жизни.

Желтуха при этом более интенсивная и сохраняется дольше, чем физиологическая. Она связана с наличием подавляющих субстанций стероидной природы в плазме и моче матери и новорожденного.

Дифференцируют синдром Люцея–Дрисколла с синдромами Криглера–Найяра типов I и II, новобиоциновой желтухой, эстрогеновой (транзиторная желтуха детей, вскармливаемых грудным молоком) и окситоциновой желтухой.

**Интермиттирующая юношеская желтуха Мейленграхта** **или синдром Жильбера – Лербулле** - это хроническая семейная неконъюгированная гипербилирубинемия, чаще возникающая в пубертатном периоде и имеющая доброкачественное течение. Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу, в основе лежит генетический дефект. Частота встречаемости этого заболевания составляет 2–5 %.

Билирубинемия выражена в умеренной степени, т. е. уровень билирубина в пределах 17-85 мкмоль / л.

Билирубинемия не сопровождается нарушением биохимических показателей функции печени и ее гистологической картины. При синдроме снижается связывание билирубина с глюкуроновой кислотой в печени до 30 % от нормального. В желчи увеличивается содержание преимущественно моноглюкуронида билирубина и в меньшей степени диглюкуронида.

Для развития этого заболевания также важно наличие других факторов: скрытого гемолиза и нарушения транспорта билирубина в печени. Это может быть обусловлено дефектом связывания билирубина печенью: дефектами лигандинов, нарушением потребления билирубина печенью и в некоторой степени уменьшением глюкоронил-связывающего пространства вследствие генетического дефекта. При этом вторично не происходит конъюгации билирубина, и возникает непрямая гипербилирубинемия. Поэтому при заболевании отмечается также небольшое нарушение выделения бромсульфалеина и толбутамида.

Заболевание может сочетаться с семейным повышением активности щелочной фосфатазы кишечного происхождения.

При заболевании наследственные нарушения предрасполагают к проявлению токсического действия парацетамола, особенно при приеме его в больших дозах.

В клетках периферической крови выявляются нарушения, напоминающие смешанную порфирию, вероятно вследствие увеличения концентрации билирубина в клетках печени.

В моче и кале снижается содержание стеркобилина из-за нарушения образования конъюгированного билирубина в гепатоцитах и, следовательно, их производных в желчных канальцах и кишечнике.

Заболевание сопровождается вегетативной лабильностью, нарушением пищеварения, снижением трудоспособности.

Прогноз заболевания благоприятный. Эпизоды желтухи при нем возникают в течение всей жизни, она может усиливаться после интеркуррентных инфекций или после голодания, иногда сопровождается слабостью, тошнотой и часто неприятными ощущениями в области печени.

Специальные диагностические пробы при подозрении на данное заболевание включают:

* пробу с голоданием: повышение уровня билирубина в сыворотке на фоне голодания;
* пробу с фенобарбиталом: прием фенобарбитала, индуцирующего коньюгирующие ферменты печени, вызывает снижение уровня билирубина;
* пробу с никотиновой кислотой: внутривенное введение никотиновой кислоты, которая уменьшает осмотическую резистентность эритроцитов, вызывает повышение уровня билирубина;
* биопсию печени: выявляется снижение содержания конъюгирующих ферментов.

В отдельных случаях в период новорожденности создаются условия для временного подавления глюкуронизации медикаментами, что приводит к появлению желтухи или ее усилению. При подозрении на такие случаи необходимо тщательно расспросить родственников.

**Гипербилирубинемия, связанная с нарушением конъюгации билирубина**

При снижении активности билирубинглюкоронилтрансферазы. Почти у каждого новорожденного на 2–5-й день жизни определяется незначительная преходящая неконъюгированная билирубинемия, не выше 150 мг / л – «физиологическая» желтуха. Такая желтуха обусловлена возрастной незрелостью глюкоронилтрансферазной системы и исчезает обычно к 7–10-му дню.

Степень желтушности у недоношенных детей обычно более значительна, держится дольше, до 4 недель. Повышение концентрации билирубина может достигать более 200 мкмоль / л, что создает опасность поражения мозга – билирубиновую энцефалопатию.

Длительная и значительно выраженная желтуха, до 2–4 месяцев наблюдается при **врожденном гипотиреозе**. У девочек гипотиреоз встречается в 3 раза чаще, чем у мальчиков.

Гипотиреоз препятствует нормальному созреванию глюкоронилтрансферазы. Уровень билирубина повышается до 220–340 мкмоль / л, желчные пигменты в моче не определяются, стул всегда окрашен. Подтверждением диагноза служит снижение уровня тироксина и трийодтиронина в сыворотке крови при высоком уровне тиреотропного гормона и эффективности соответствующего лечения.

Могут встречаться также врожденные и приобретенные **нарушения связывания билирубина**, обусловленные нарушением активности глюкоронилтрансферазы: синдром Криглера–Найяра, ингибирование глюкуронизации лекарственными средствами.

При **синдроме Криглера–Наияра** известны две формы заболевания:

* I типа: клинически тяжелая, обусловленная отсутствием глюкоронилтрансферазы;
* II типа: связанная с частичным дефицитом глюкоронилтрансферазы.

Наследуется по аутосомно-рецессивному типу.

При I типе уровень неконъюгированного билирубина достигает высоких цифр, более 250-340 мкмоль / л. Это нередко вызывает ядерную желтуху и дети часто погибают в течение первого года жизни.

При фототерапии при I типе уровень билирубина в сыворотке крови удается снизить почти на 50 %. Однако в течение первого и второго десятилетия жизни в любой момент может развиться ядерная желтуха.

При II типе синдрома Криглера – Найяра билирубинемия менее высокая, чем при I типе (между 80–200 мкмоль / л). Также наблюдается наличие глюкуронидов в моче и эффективность лечения фенобарбиталом.

Назначение фенобарбитала в дозе 5 мг / кг в сутки при IIтипе вызывает существенное уменьшение билирубинемии (до 50 мкмоль / л в течение 2-х недель), при I типе билирубин под влиянием фенобарбитала не снижается.

Отличить I и II типы можно, оценив эффективность лечения фенобарбиталом. При II типе уровень билирубина в крови и доля неконъюгированного билирубина снижаются, а содержание моно- и диконъюгатов в желчи увеличивается. При I типе уровень билирубина в сыворотке крови не снижается, а в желчи выявляется преимущественно неконъюгированный билирубин.

**Приобретенные нарушения активности глюкоронилтрансферазы** могут быть вызваны действием лекарственных средств или заболеванием печени.

**Гипребилирубинемия на фроне преобладания в крови прямого билирубина**

При поражении гепатоцеллюлярном поражении (**паренхиматозной, или печеночной желтухе**) у больных с гепатитами, циррозом, раком и другими заболеваниями печени происходит повреждение ранее описанных четырех процессов, протекающих в гепатоците .

Нарушение захвата свободного билирубина печеночной клеткой ( и связывания его с глюкуроновой кислотой )ведет к увеличению в крови свободного (непрямого) билирубина . Нарушение выделения билирубин-глюкуронида (прямого билирубина) из печеночной клетки в желчные капилляры, обусловленное воспалением, деструкцией, некрозами и снижением проницаемости мембран гепатоцитов, приводит к регургитации желчи обратно в синусоиды и в общий кровоток и, соответственно, к увеличению содержания в крови связанного (прямого) билирубина (.

Наконец, нарушение функции гепатоцитов сопровождается также утратой способности печеночной клетки захватывать и метаболизировать всосавшийся в кишечнике уробилиноген (мезобилиноген), который в больших количествах попадает в общий кровоток и выделяется с мочой в виде уробилина.

Таким образом, припаренхиматозной желтухев крови увеличено содержание как свободного (непрямого), так и связанного (прямого) билирубина. Последний, являясь хорошо растворимым в воде соединением, легко проходит почечный барьер и появляется в моче, обуславливая ее темную окраску («цвет пива»). В моче также в больших количествах присутствует уробилин (мезобилиноген). В кале содержание стеркобилина может быть несколько уменьшено в связи с нарушением выделения гепатоцитами желчи.

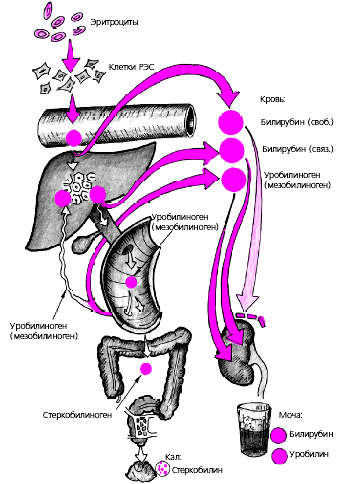
**Такие показатели могут наблюдаться при:**

* остром вирусном и токсическом гепатитах;
* хроническом гепатите;
* циррозе печени: билиарный цирроз при холестазе, стенозе желчных путей, при недостатке альфа-1-антитрипсина, муковисцидозе, болезни Вильсона - Коновалова, галактоземии, непереносимости фруктозы;
* редко при вторичных гепатитах, развивающихся при различных инфекционных заболеваниях: инфекционном мононуклеозе, инфекции Коксаки, лептоспирозе;
* также редко при бактериальных заболеваниях: сепсисе, тифе, бруцеллезе и др.

При повреждении печеночных клеток возникает сообщение между желчными путями, кровеносными и лимфатическими сосудами, через которое желчь поступает в кровь и частично в желчевыводящие пути.

Отек перипортального пространства также может способствовать обратному всасыванию желчи из желчных ходов в кровь. Набухшие печеночные клетки сдавливают желчные протоки, создавая механическое затруднение оттоку желчи.

Нарушаются метаболизм и функции печеночных клеток. Билирубинемия обусловлена преимущественно конъюгированным билирубином.



Любое нарушение экскреции билирубина в желчные протоки приводит к преимущественному развитию гипербилирубинемии и билирубинурии, связанной с повышением уровня прямого билирубина.

Билирубин в моче является важнейшим признаком гипербилирубинемии, связанной с прямым билирубином.

**Механическая (обтурационная) желтуха** развивается при обтурации внепеченочных желчевыводящих путей камнем или сдавлении общего желчного протока опухолью (рак головки поджелудочной железы, метастазы рака в лимфатические узлы ворот печени). В результате этого блокируется выделение желчи в кишечник и, соответственно, не образуется уробилиноген (мезобилиноген и стеркобилиноген). В связи с этим уробилин в моче и стеркобилин в кале полностью отсутствуют (ахоличный кал). В крови значительно нарастает уровень связанного (прямого) билирубина, поскольку его образование печеночной клеткой длительное время не нарушено. Соответственно, в моче появляется большое количество связанного билирубина и моча приобретает темный цвет («цвет пива»).

Более редикими вариантами гипербилирубин урии с преобладанием прямого билирубина являются

**Наследственная конъюгированная гипербилирубинемия,** например, синдромы Дубина – Джонсона, Ротора, проявляется умеренно выраженной желтухой, наследуемой по аутосомно-рецессивному типу. При ней нарушается транспорт билирубина и других органических анионов из печени в желчь. Обычные функциональные пробы не отличаются от нормы. Заболевание проявляется с 2-х летнего возраста.

**Синдром Дубина – Джонсона** – семейная хроническая доброкачественная желтуха, наследуемая по аутосомно-рецессивному типу, характеризующаяся появлением темного пигмента в центрилобулярной области гепатоцитов («шоколадная печень»). Функционально при этом отмечается дефект билиарной экскреции билирубина, темного пигмента и порфиринов. Синдром развивается из-за ухудшения транспорта в желчь многих органических анионов, не относящихся к желчным кислотам, которое обусловлено дефектом транспортной системы канальцев.

В крови больных содержится 30–150 мг / л в основном конъюгированного билирубина, причем больше диконъюгированного, чем моноконъюгированного. У больных нарушена экскреция копропорфирина. Нарушается экскреция многих метаболитов, в т. ч. конъюгированного билирубина, его свободной фракции и йодированных красителей. Экскреция желчных кислот остается в норме.

Классическим признаком этого синдрома является неудача холецистографии (метод исследования желчного пузыря).

При лапароскопии определяется необычный насыщенный черный цвет печени с участками, окрашенными в синий и аспидный цвет.

В биоптате в печеночных клетках выявляется накопление коричнево-черного пигмента в виде больших аморфных гранул, связанных с лизосомами. Пигмент образуется в результате нарушения секреции анионных метаболитов тирозина, фенилаланина и триптофана. У больных с этим синдромом при дополнительном заболевании вирусным гепатитом происходит временная мобилизация указанного пигмента.

Синдром Дубина – Джонсона не сопровождается зудом. Активность щелочной фосфатазы и уровень желчных кислот в сыворотке крови сохраняются в пределах нормы. Экскреция органических анионов в желчь нарушается, их поглощение печенью не страдает. Содержание копропорфиринов в моче нормальное, но доля изомера типа I увеличивается.

Для диагностики имеет значение задержка бром-сульфалеина. При этом после начального снижения концентрации красителя в крови происходит повторное ее повышение, так что через 120 минут она превышает концентрацию на 45-й минуте. В основном прогноз при этом заболевании благоприятный. Контрастное вещество, введенное при внутривенной холангиографии, не концентрируется, но при сцинтиграфии экскреция лидофенина свидетельствует об отсутствии изменений печени, желчных протоков и желчного пузыря.

**Синдром Ротора** – это идиопатическая семейная доброкачественная гипербилирубинемия с одинаковым повышением конъюгированного и неконъюгированного билирубина.

Синдром Ротора сходен с синдромом Дубина-Джонсона, однако коричневый пигмент в гепатоцитах отсутствует, и конъюгированный билирубин крови состоит в большей степени из моноконъюгатов, чем диглюкуроновых конъюгатов.

При заболевании нарушается захват неконъюгированного билирубина гепатоцитами, изменении его глюкоронирования и выведении с последующим рефлюксом билирубина в кровь.

Синдром проявляется хронической желтухой или субиктеричностью кожи и слизистых оболочек. Увеличения печени и селезенки не наблюдается.

При электронной микроскопии могут выявляться патологические изменения митохондрий и пероксисом. В моче повышен общий уровень копропорфиринов, но не увеличена доля копропорфирина I.

Желчный пузырь при холецистографии визуализируется, а при бромсульфалеиновой пробе вторичного повышения концентрации красителя не происходит. Причиной задержки бромсульфалеина при этом оказывается, скорее, не нарушение экскреции, свойственное синдрому Дубина – Джонсона, а нарушение поглощения препарата печенью. При исследовании лидофенином печень, желчный пузырь, желчные протоки не визуализируются.

Прогноз благоприятный. пигментный обмен билирубин мезобилиноген

**Приобретенные нарушения активности глюкоронилтрансферазы билирубина** могут быть вызваны действием лекарственных средств, например, левомицетина, прегнандиола, или заболеванием печени (гепатит, цирроз и др.).

Следовательно, клинико-диагностическое значение определения билирубина и его фракций дрезвычайно важно для диагностики и дифференциальной диагнстики целого ряда заболеваний, а в некоторых случаях диагноз может быть поставлен искючительно «лабораторным» путем.

Список использованной литературы

1. «Фотометрия в лабораторной практике» В.В. Долгов, Е.Н. Ованесов, К.А. Щетникович. Российская медицинская академия последипломного образования, Москва 2004 г

2. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: Камышников В.С. – Мн.: Беларусь, 2004.

3.Лабораторная и инструментальная диагностика заболеваний внутренних органов. Г.Е. **Ройберг**, А.В. **Струтынский**. М: «Бином».- 2008 г.

4. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. – М.: Медицина, 2000.

5. Клиническая биохимия. Учебное пособие для студентов медицинских вузов / А.Я. Цыганенко, В.И. Жуков, В.В. Мясоедов, И.В. Завгородний. – Москва: Триада-Х, 2006.

6) Желтухи новорожденных детей. Метод. рекомендации.Таболин В.А. М 2005

7. Синдром Криглера-Найяра//Российский вестник перинатологии и педиатрии. Дегтярев Д.Н., Иванова А.В., Сигова Ю. А. 1998.

8. Биохимические исследования в клинике. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В. М.: АПП «Джангар», 2001.

9.Проект протокола диагностики и лечения гипербилирубинемии у новорожденных детей. академик РАМН, д.м.н. Н.Н. Володин (руководитель группы), проф., д.м.н. А.Г. Антонов, проф., д.м.н. Е.Н. Байбарина, проф. д.м.н. Д.Н. Дегтярев, к.м.н. А.В. Дегтярева, О.В. Паршикова 2010 г

10. Наборы реагентов для определения билирубина в сыворотке крови "Билирубин-Ново" и "Билирубин-КО-Ново" Л.М, Прасолова, с.н.с., В.И, Пупкова, к.х.н., зав. лабораторией ЗАО «Вектор –Бест». "Новости "Вектор-Бест" N 2(20). Июнь 2010

11. "Медицинские лабораторные анализы", В.М. Лифшиц, В.И. Сидельникова Справочник. М., "Триада-Х", 2005 г.

12. "Клинические лабораторные тесты от А до Я и их диагностические профили". Камышников В.С - Москва. "МЕДпресс-информ", 2007.

13. Интерпретация данных лабораторных и инструментальных исследований при вирусных гепатитах. О.А. Голубовская, Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца МЗ Украины. Киев 2010 г.

14. Дементьева И.И. Лабоpатоpия экспpесс-диагностики (обоснование, цели, пpоцесс анализа) журнал «Клиническая лабораторная диагностика» стр.25, №10, 2008 г.

#### 15. Использование метода транскутанной билирубинометрии при гипербилирубинемии у новорожденных **Е.С. Кешищян, Е.Н. Ованесов, М.И. Прищепа**.**** МНИИ педиатрии и детской хирургии, НПП «Техномедика», Москва

16. Наследственная патология человека. Вельтищев Ю.Е., Бочков И.Г. ред. –Т.1-2. М., 1992.- 120 с.

17. Клиническая копрология. Лабораторная диагностика патологии пигментного обмена. Герман И. Мед. изд-во. Бухарест, 1997

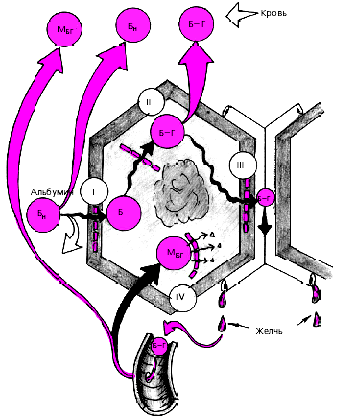


рис 3

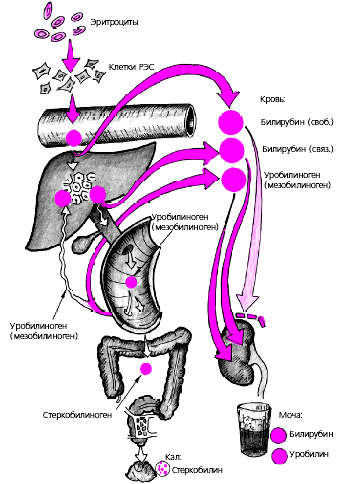


рис 4

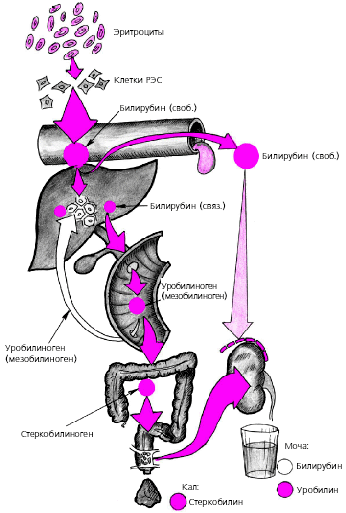
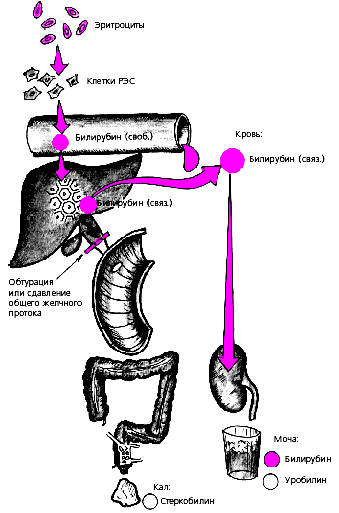


рис 5 Рис. 6