

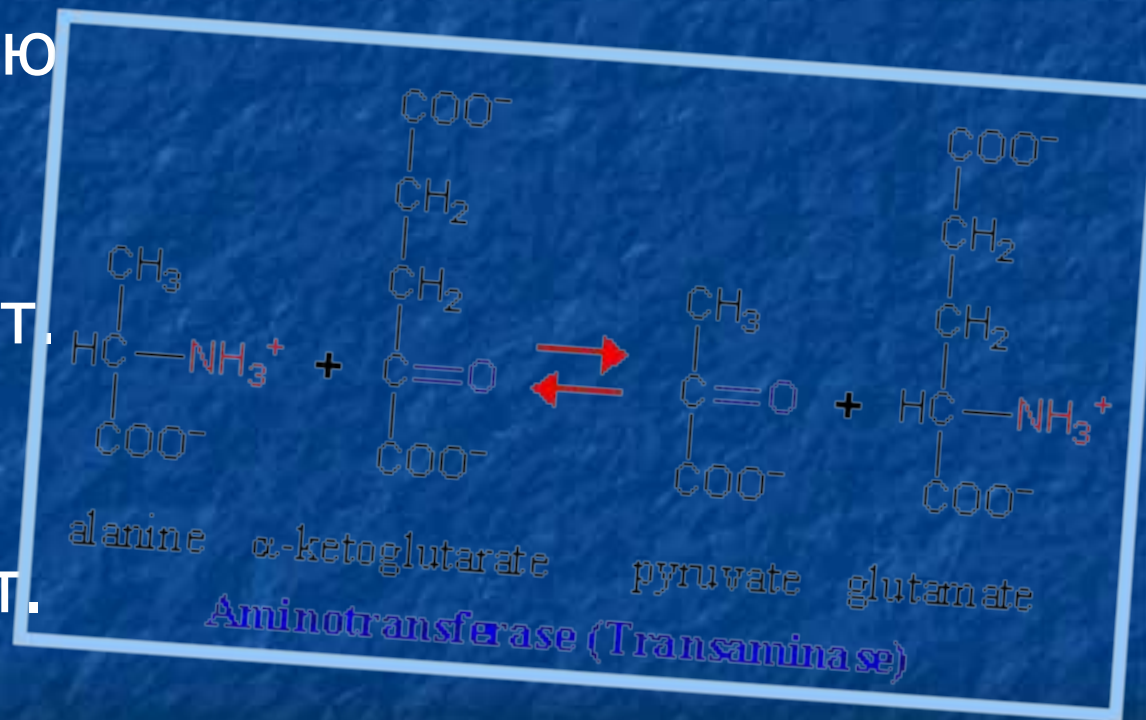
Аминотрансферазы.

АЛ и АСТ.

- **Трансферазы**- ферменты, катализирующие перенос различных групп атомов от одной молекулы к другой.
- АМИНОТРАСФЕРАЗЫ- катализируют перенос аминогруппы от аминокислоты на кетокислоту.
- АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗА- катализирует перенос аминогруппы от Аланина к α –кетоглутаровой кислоте.
- АСПАРТАТАМИНОТРАСФЕРАЗА- катализирует перенос аминогруппы от аспарагиновой кислоты к α –кетоглутаровой кислоте



- Аминотрансферазы:
аланинаминотранс
фераза (АЛТ),
аспартатаминотранс
фераза (АСТ)-
близкие по действию
ферменты,
участвующие в
обмене аминокислот.
Коферментом
является
пиридоксальфосфат.
Реакция обратима.

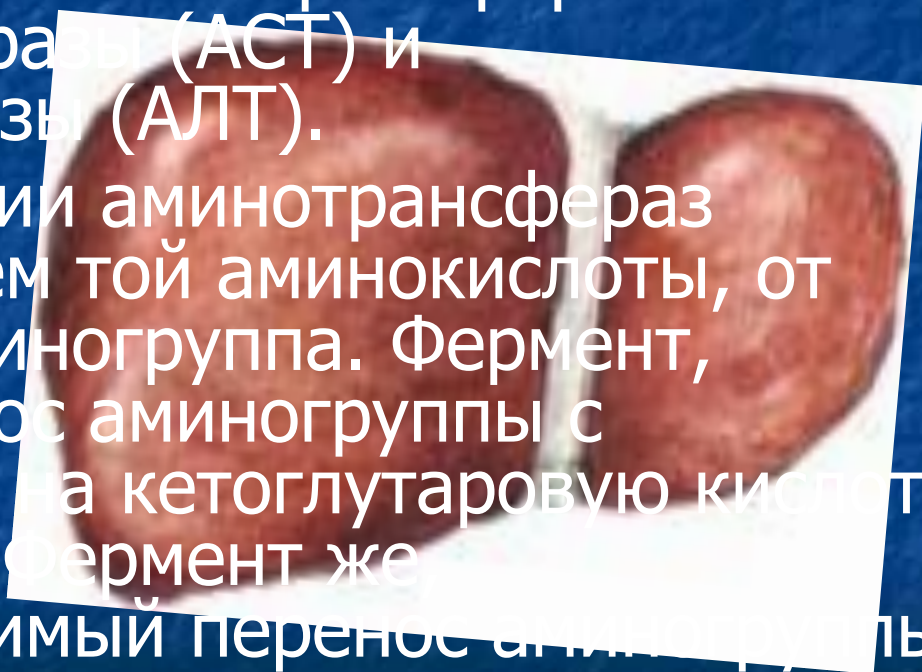


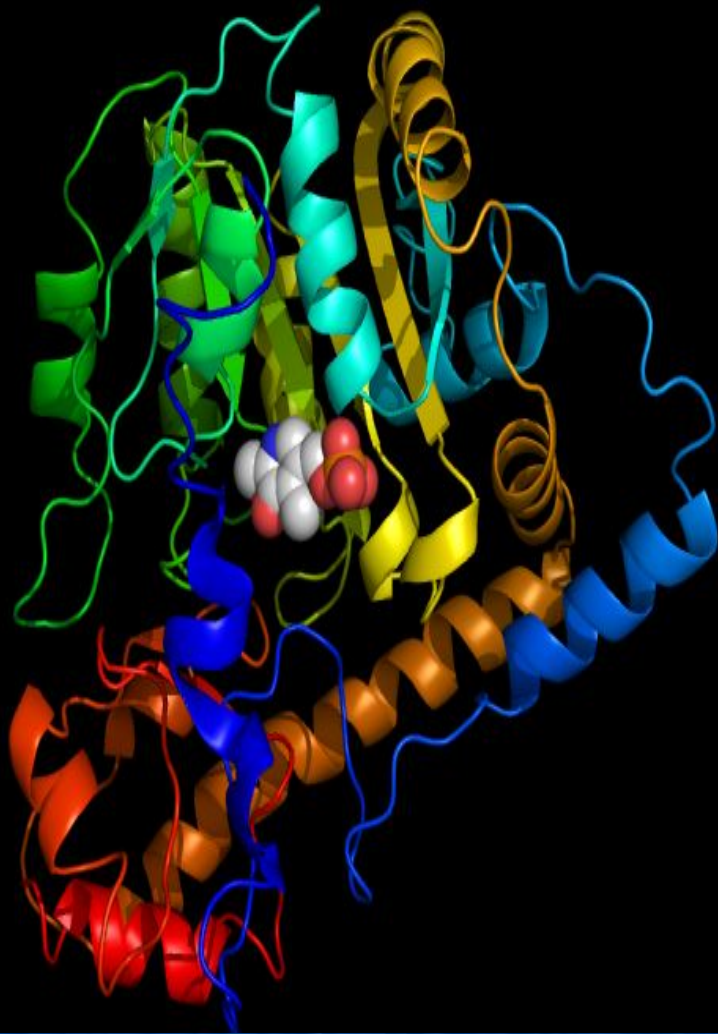
■ Клиническое значение аминотрансфераз

■ Аминотрансферазы - ферменты, катализирующие межмолекулярный перенос аминогруппы между аминокислотами и кетокислотами.

■ Наибольшее клинико-диагностическое значение имеет определение двух аминотрансфераз: аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ).

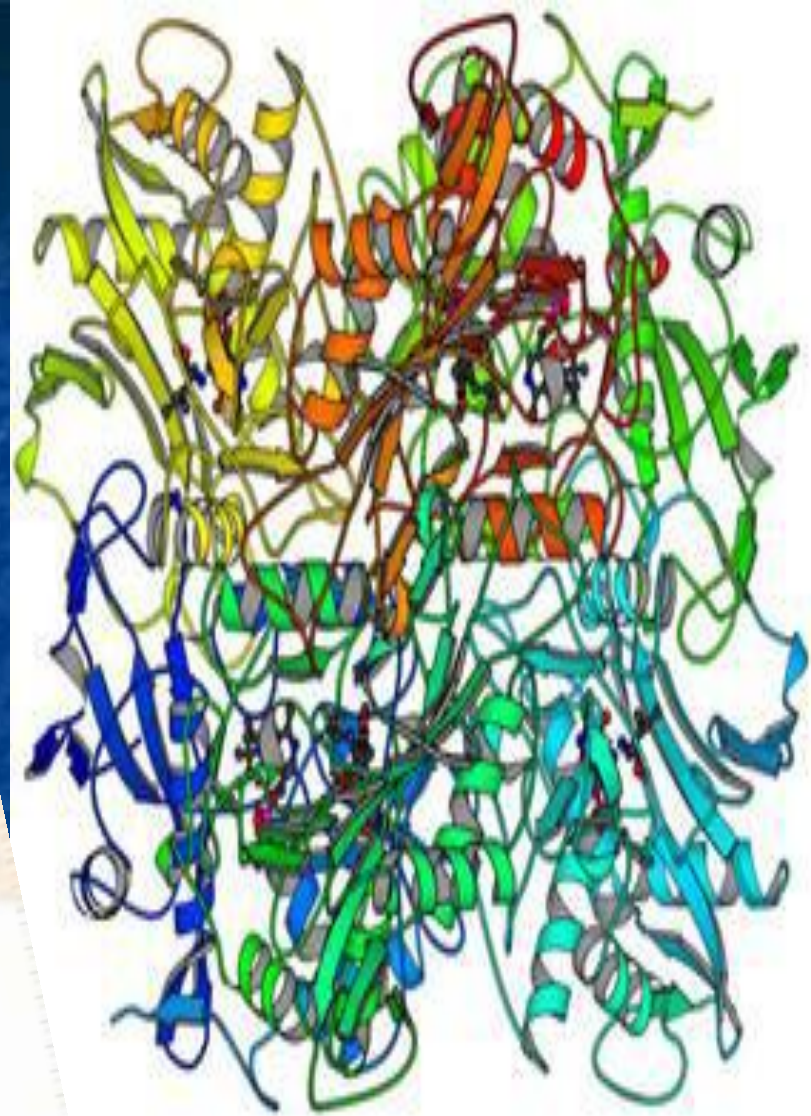
■ Различия в наименовании аминотрансфераз определяются названием той аминокислоты, от которой отделяются аминогруппа. Фермент, катализирующий перенос аминогруппы с аспарагиновой кислоты на кетоглутаровую кислоту, получил название АСТ. Фермент же, катализирующий обратимый перенос аминогруппы с аланина на кетоглутаровую кислоту называется АЛТ.





Фермент АСТ имеется во всех тканях тела, но наибольшая активность его наблюдается в печени, сердце, скелетных мышцах и эритроцитах. Наименьшая активность АСТ отмечена в коже, почках, поджелудочной железе.

- Самое большое количество АЛТ находится в печени, что определяет важное диагностическое значение активности фермента при заболеваниях этого органа



Содержание АСТ и АЛТ в различных клетках в порядке уменьшения их концентрации.

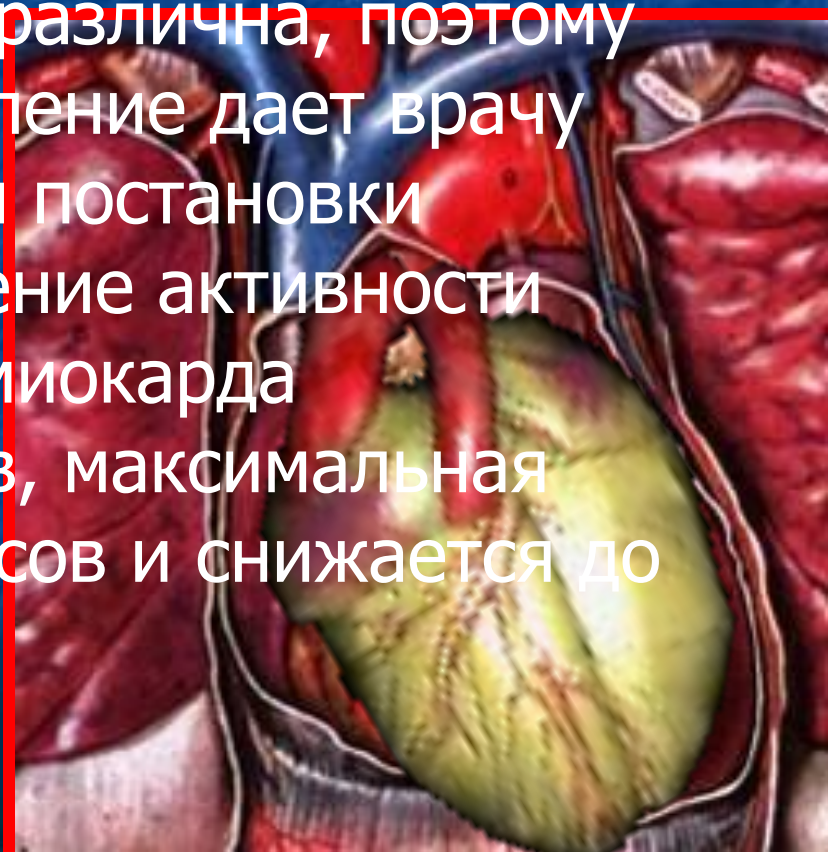
АЛТ	АСТ
Печень	Печень
Поджелудочная железа	Сердце
Сердце	Скелетная мускулатура
Скелетная мускулатура	Почки
	Мозг
	Поджелудочная железа
	Легкие
	Лейкоциты
	Эритроциты

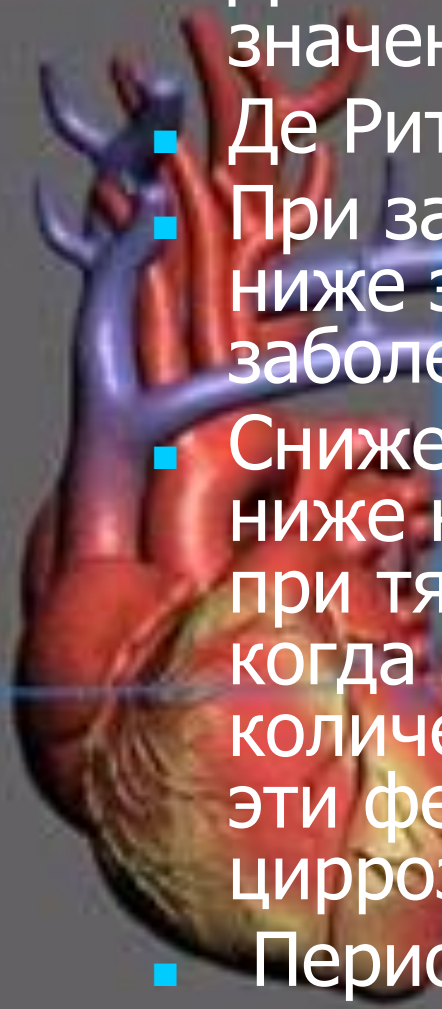
- Нормальная активность АСТ в сыворотке крови— 10-20 МЕ/л или до 40 ед.
- Нормальная активность АЛТ в сыворотке крови — 7-40 МЕ/л или до 40 ед.



- При поражении клеток печени вирусами, различными химическими веществами, в том числе алкоголем и лекарствами (гепатиты), а также при нарушении оттока желчи из-за сдавления желчного протока или его закупорки камнями, активность АЛТ в крови существенно увеличивается пропорционально тяжести заболевания, и в острых случаях может в 5-10 раз превышать норму. Повышение активности фермента происходит значительно раньше, чем другие очевидные признаки заболевания (желтуха, болевые ощущения и др.).
- Определение активности АЛТ обязательно для всех доноров крови для исключения хронических заболеваний печени.

- АСТ в большом количестве находится в сердце и печени, что используется для диагностики заболеваний этих органов.
- Повышение активности фермента происходит при тех же заболеваниях печени, что и АЛТ, но пропорция между увеличением АСТ и АЛТ при разных заболеваниях различна, поэтому их одновременное определение дает врачу хорошую информацию для постановки точного диагноза. Увеличение активности фермента при инфаркте миокарда происходит через 6-8 часов, максимальная активность через 24-36 часов и снижается до нормы через 5-6 дней.

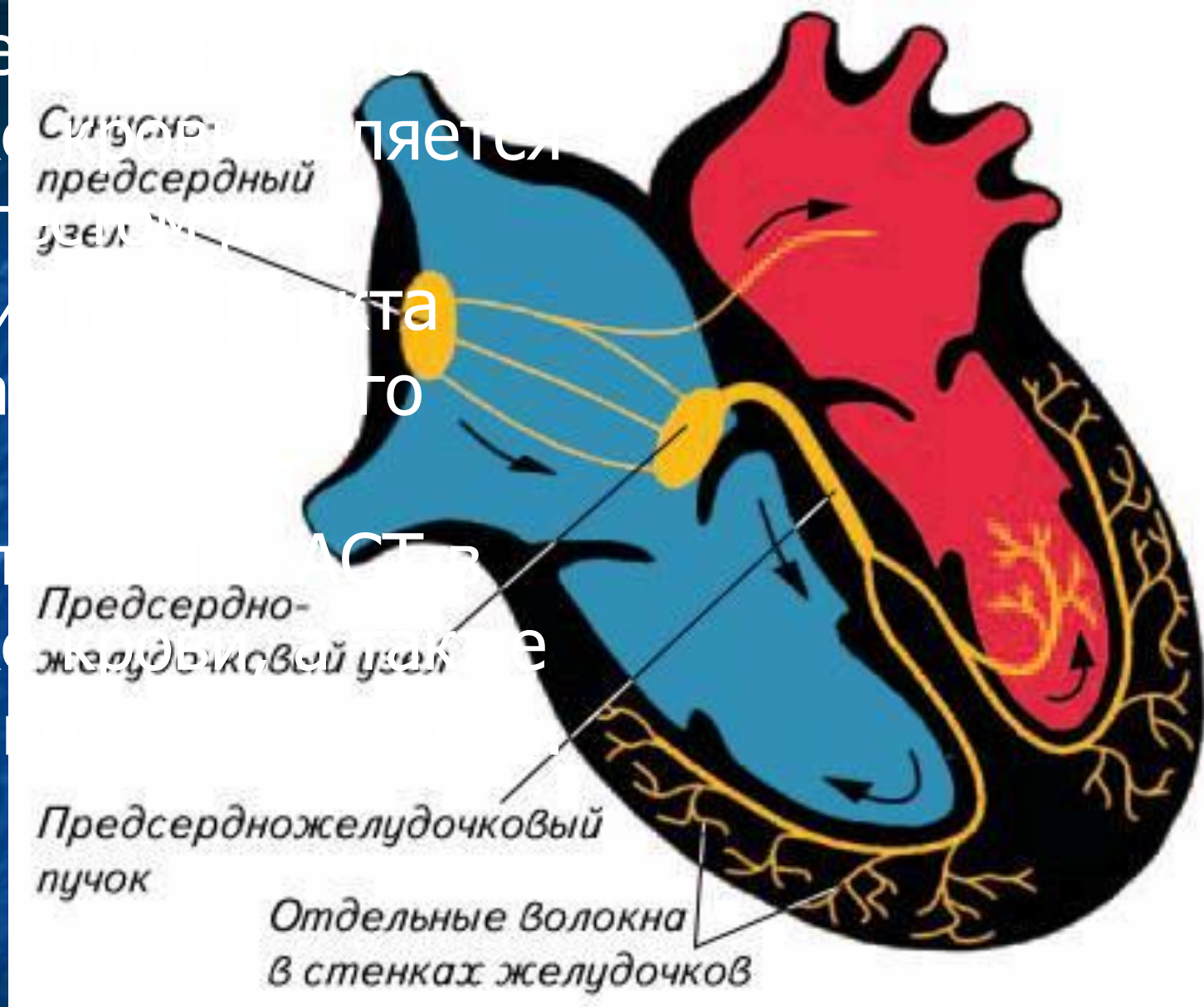


- 
- Для постановки диагноза важно значение коэффициента
 - Де Ритиса $(\text{АСТ}/\text{АЛТ})=1,33$.
 - При заболевании печени величина ниже этого значения, при заболеваниях сердца – выше.
 - Снижение активности АСТ и АЛТ ниже нормы встречается только при тяжелых поражениях печени, когда значительно уменьшается количество клеток, синтезирующих эти ферменты (обширный некроз, цирроз).
 - Период полувыведения АСТ составляет 17 часов, АЛТ-47 часов.
 - АЛТ локализуется преимущественно в цитоплазме гепатоцитов. АСТ в цитоплазме и митохондриях клетки.

- АСТ и АЛТ обладают различной активностью в различных органах и тканях. Наибольшая активность АСТ наблюдается в сердечной мышце, а АЛТ в ткани печени. В сыворотке активность аминотрансфераз низка и заметно повышается при нарушении целостности мембран клеток печени или сердечной мышцы.



- Определе
сыворотки
важным т
диагности
миокарда
гепатита.
активност
сыворотки
В тканях



- **СХЕМА ПРИНЦИПА МЕТОДА:**

- **АЛТ**

- А-аланин + α -кетоглутаровая кислота $\rightarrow$ ПВК + 2,4ДНФГ $\rightarrow$ гидразон ПВК + NaOH $\rightarrow$ коричневое окрашивание.

- **АСТ**

- Аспарагиновая аминокислота + α -кетоглутаровая кислота $\rightarrow$ ПВК + 2,4ДНФГ $\rightarrow$ гидразон ПВК + NaOH $\rightarrow$ коричневое окрашивание
- АЛТ и АСТ – ферменты ; аланин, аспарагиновая кислота, кетоглутаровая кислота-субстрат ; 2,4ДНФГ-ингибитор ; гидразон ПВК -продукт реакции.
- При определении активности АСТ и АЛТ пользуются тем, что образующийся продукт реакции пировиноградная кислота (ПВК) при добавлении 2,4 динитрофенилгидрозина (2,4ДНФГ) образует окрашенный гидразон ПВК в щелочной среде. Интенсивность окраски прямо пропорционально количеству образовавшейся ПВК, а значит и активности фермента.

Ход анализа	Субстрат <u>p-p</u>	0,9% <u>p-p</u> <u>NaCl</u>	T 37°	S	2,4 ДН ФГ	22°	0,4 <u>NaO</u> <u>H</u>	22°	ФЭК	расчет	норма
о	0,25	---	3'	0,05	0,25	20'	2,5	10'	$\Lambda=540\text{nm}$	По калибровочной кривой	АСТ 0,1-0,47мкмоль/ л <u>пвк</u> за 1 час инкубации при 37°
к	0,25	0,05	3'	---	0,25	20'	2,5	10'	K=10мм Против контроля		АЛТ 0,1-0,68мкмоль/ л <u>пвк</u> за 1 час при 37°

- 1этап-подготовительный
- 2этап-ферментативная реакция
- 3этап-остановка ферментативной реакции
- 4этап-обнаружение продукта реакции
- 5этап-измерение оптической плотности раствора
- 6этап-расчет по калибровочной кривой
- 7этап-интерпретация результатов

Приготовление 0,4 н NaOH.

Содержимое флакона NaOH (4,0моль/л)
развести в 10 раз.

- Вопросы
- Ситуационные задачи
- Тесты



■ ВОПРОСЫ.

- 1.К какому классу ферментов относятся аминотрансферазы.
- 2.Какую реакцию катализируют АСТ и АЛТ.
- 3.Какую роль выполняют в организме человека аминотрансферазы.
- 4.Какие патологические состояния можно диагностировать при повышении активности АЛТ, АСТ.
- 5.Составте схему анализа.
- 6.Какую роль при проведении анализа выполняют физ р-р; 2,4ДНФГ; 0,4 н NaOH.
- 7.Перечислите этапы анализа, их суть.
- 8.Укажите нормальные показатели активности АЛТ и АСТ.
- 9.Укажите название метода определения активности аминотрасфераз.
- 10.В чем состоит принцип метода.
- 11.Как определить активность фермента.
- 12.Как построить калибровочную кривую.
- 13.КДЗ исследований.



■ **ЗАДАЧИ.**

- 1. При проведении анализа активность АЛТ и АСТ увеличилась более чем 10 раз. Какое патологическое состояние можно предположить.
- 2. При проведении анализа активность АСТ увеличилась более чем 5 раз, а активность АЛТ изменилась незначительно. Какое патологическое состояние можно предположить.
- 3. При определении коэффициента Де Ритиса, значение больше, чем 1,33. Что это означает.
- 4. При определении коэффициента Де Ритиса, значение меньше, чем 1,33. Что это означает.
- 5. Больной обратился в ЛПУ с жалобами на сильные боли в области сердца с иррадиацией в левую лопатку, руку, шею. Какой анализ необходимо провести.
- 6. Больной обратился в ЛПУ с жалобами на общую слабость, недомогание, похудание, потерю аппетита, тошнота, боль в правом подреберье. Какой анализ необходимо провести.
- 7. При проведении анализа кровь больного попала на халат. Ваши действия.
- 8. При проведении анализа кровь больного попала на стол. Ваши действия.



- К какому классу ферментов относятся АЛТ и АСТ?
- Изомеразы
- Трансферазы
- Гидролазы
- Лиазы
- Концентрация какого вещества изменяется в процессе исследования активности АСТ и АЛТ?
- Фермента
- Продукта реакции
- Субстрата реакции
- Ингибитора реакции
- Какова роль 2,4 – ДНФГ при определении активности аминотрансфераз?
- Это цветной реактив
- Активатор реакции
- Ингибитор фермента
- Субстрат
- Какой фермент катализирует следующие превращения - &-аланин + &- кетоглутаровая кислота->ПВК?
- ЛДГ
- &-амилаза
- АЛТ
- АСТ
- Какие из перечисленных ферментов относятся к классу гидролаз?
- ЛДГ
- АЛТ
- &-амилаза
- АСТ
- Какая активность АСТ соответствует норме?
- 0,01 мкмоль/л час/ПВК
- 0,19 мкмоль/л час/ПВК
- 0,92 мкмоль/л час/ПВК
- 1,2 мкмоль/л час/ПВК
- Наибольшая активность АЛТ обнаруживается в клетках?
- Печени
- Миокарда
- Скелетных мышц
- Поджелудочной железы
- Какая активность АЛТ соответствует норме?
- 0,06 мкмоль/л ПВК
- 0,18 мкмоль/л ПВК
- 1,86 мкмоль/л ПВК
- 0,86 мкмоль/л ПВК
- Какое заболевание можно предположить, если активность АСТ в сыворотке крови больного составляет 1,0 мкмоль/л, а активность АЛТ – 5,6 мкмоль/л?
- ОИМ
- Стенокардия
- Инфекционный гепатит
- Цирроз печени
- О каком заболевании свидетельствует активность АСТ – 2,4 мкмоль/л час ПВК и активность АЛТ – 0,9 мкмоль/л час ПВК?
- Стенокардия
- ОИМ
- Болезнь Боткина
- Механическая желтуха

