

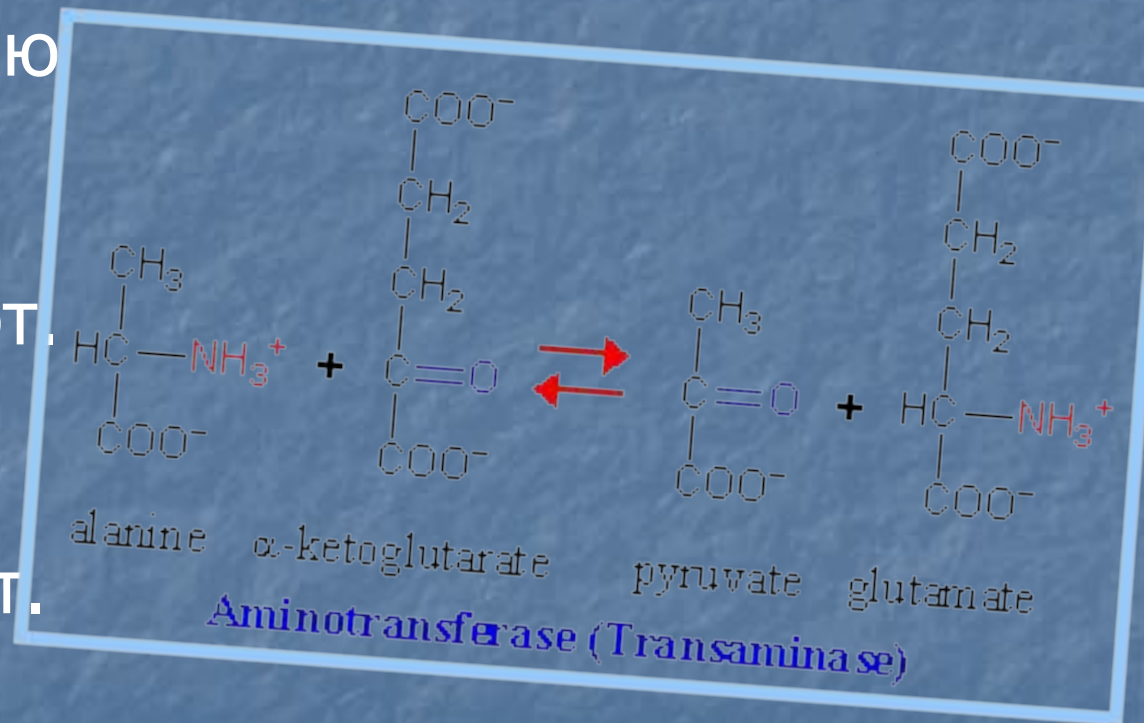
Аминотрансферазы.

АЛТ 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 ислоте.
- АСПАРТАТАМИНОТРАСФЕРАЗА- катализирует перенос аминогруппы от аспарагиновой кислоты к α -кетоглутаровой ислоте



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

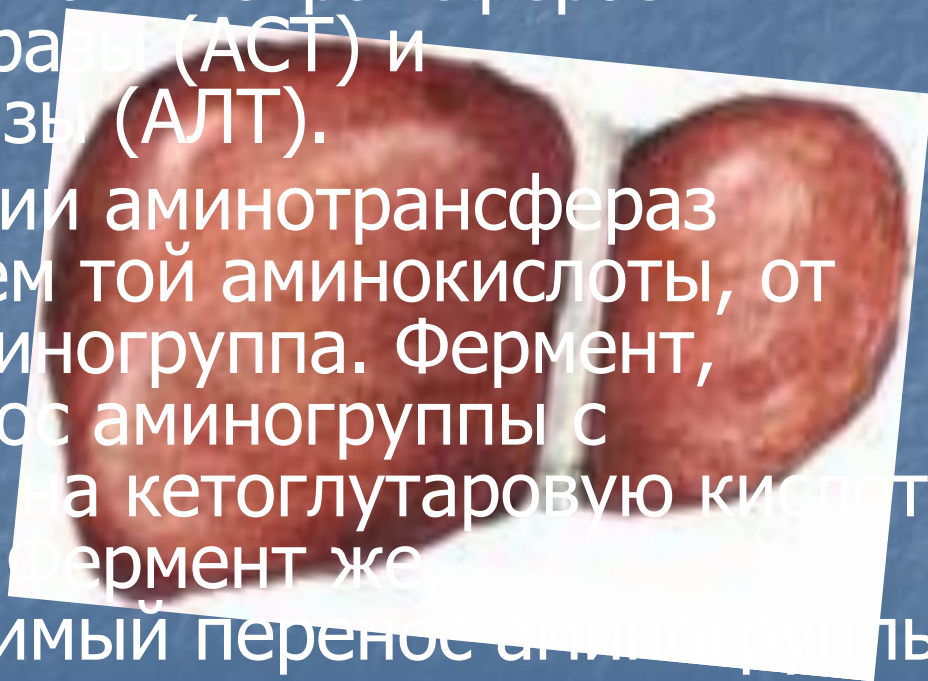


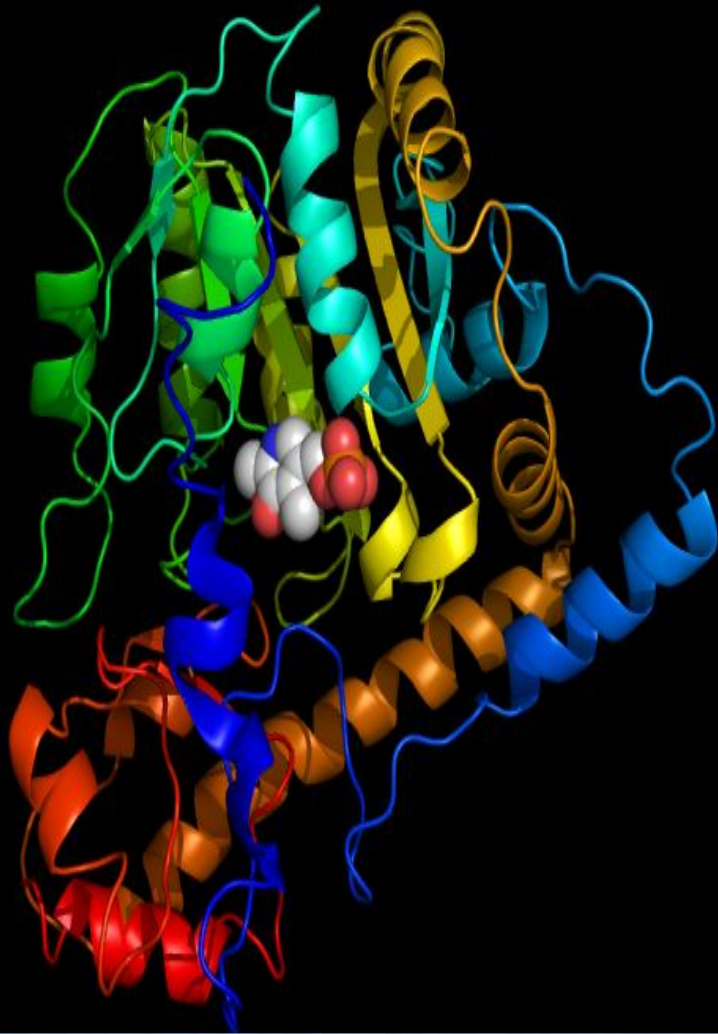
■ Клиническое значение aminotransferаз

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

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

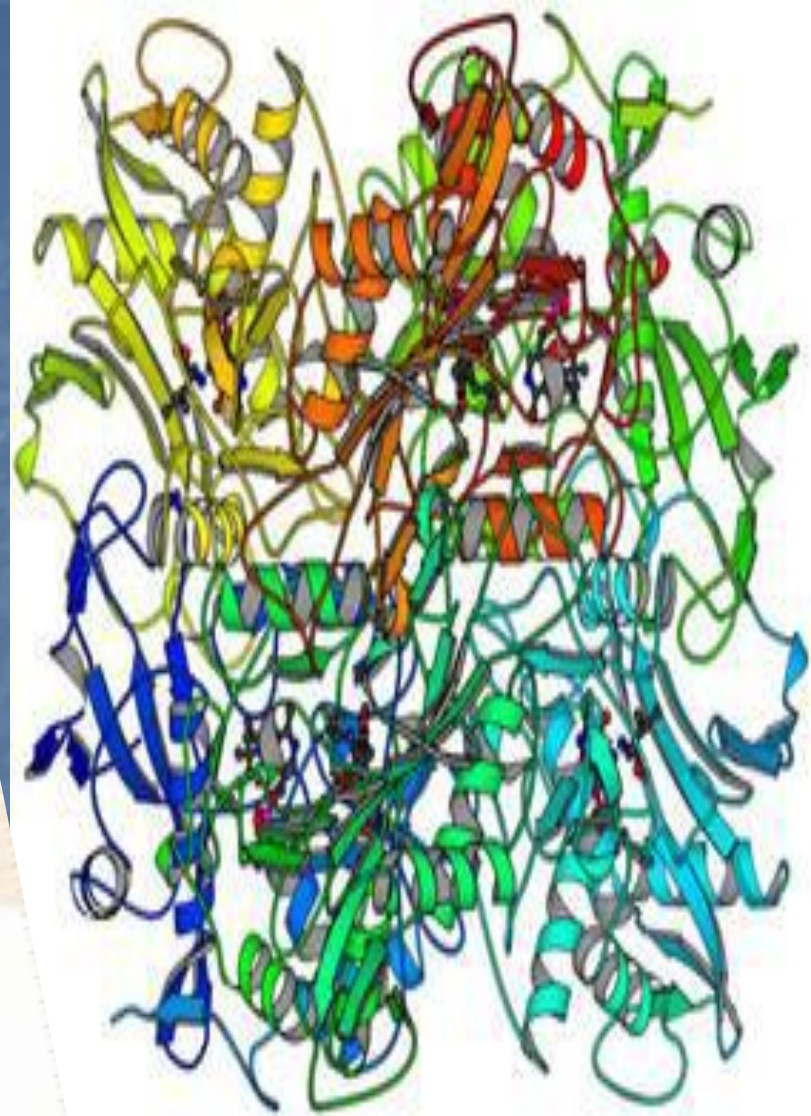
■ Различия в наименовании aminotransфераз определяются названием той аминокислоты, от которой отделяются аминогруппа. Фермент, катализирующий перенос аминогруппы с аспарагиновой кислоты на кетоглутаровую кислоту, получил название АСТ. Фермент же, катализирующий обратимый перенос аминогруппы с аланина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

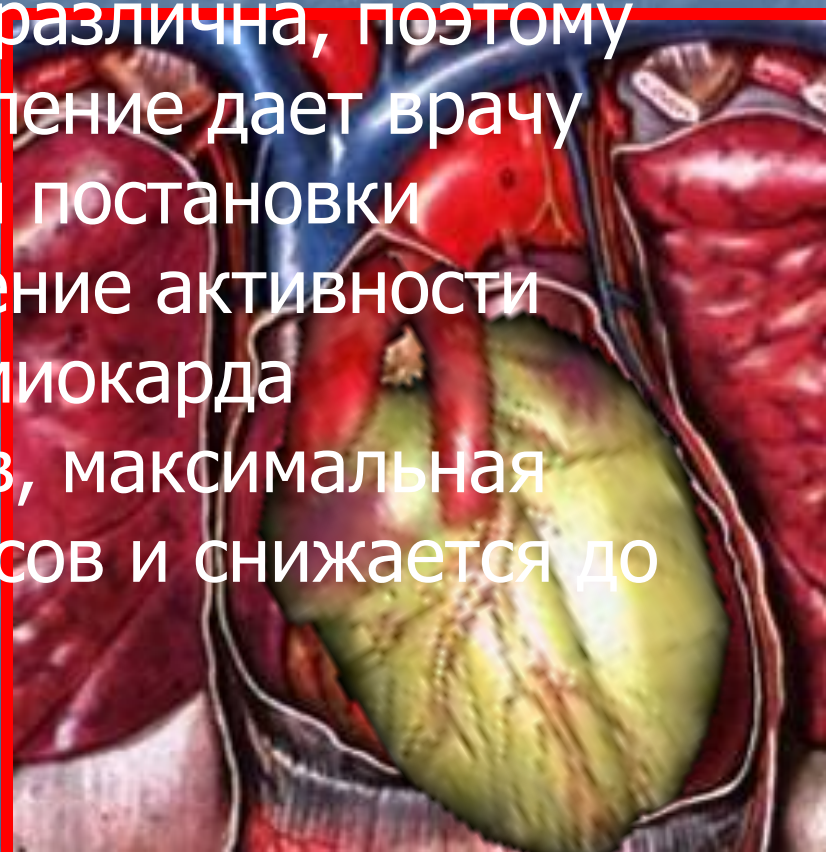
АЛТ	АСТ
	Печень
	Сердце
Печень	Скелетная мускулатура
Поджелудочная железа	Почки
Сердце	Мозг
Скелетная мускулатура	Поджелудочная железа
	Легкие
	Лейкоциты
	Эритроциты

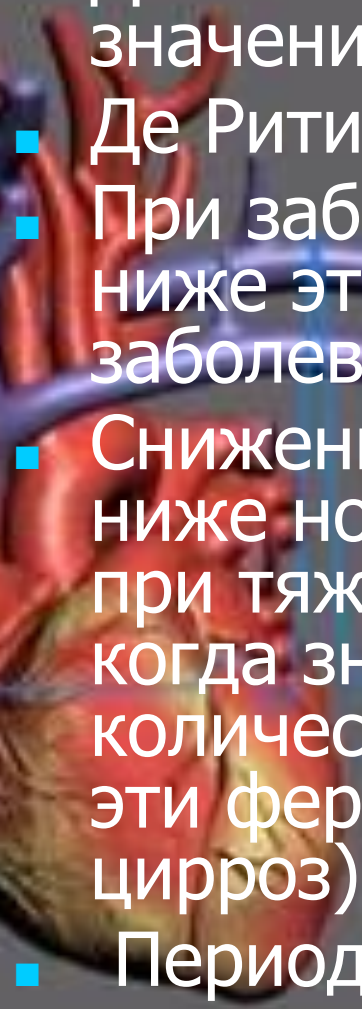
- Нормальная активность АСТ в сыворотке крови— 10-20 МЕ/л или до 40 ед.
- Нормальная активность АЛТ в сыворотке крови — 7-40 МЕ/л или до 40 ед.



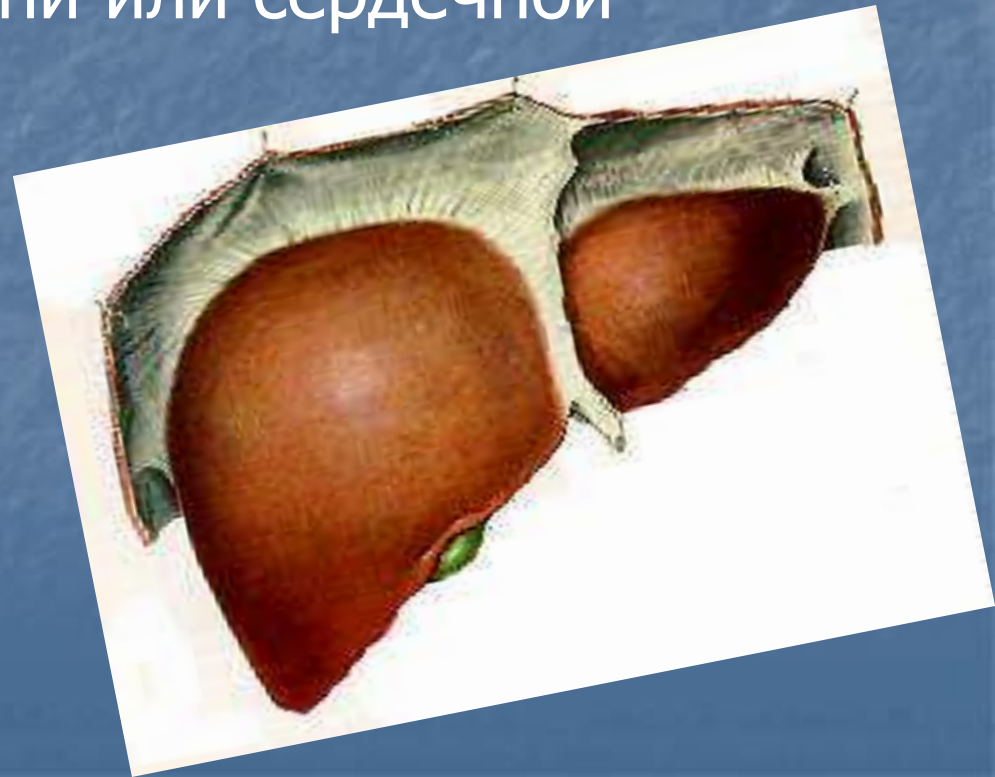
- При поражении клеток печени вирусами, различными химическими веществами, в том числе алкоголем и лекарствами (гепатиты), а также при нарушении оттока желчи из-за сдавления желчного протока или его закупорки камнями, активность АЛТ в крови существенно увеличивается пропорционально тяжести заболевания, 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.

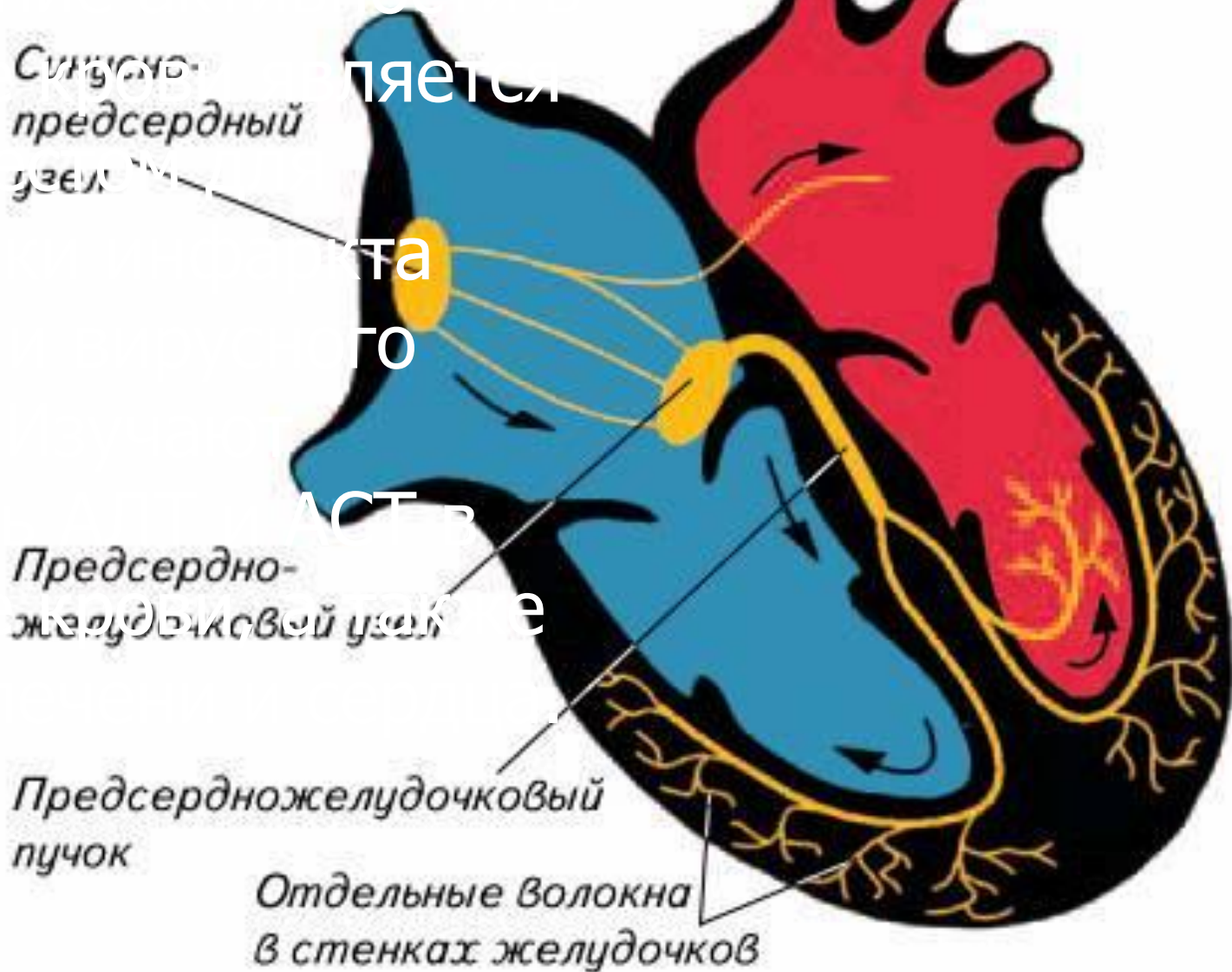


- 
- Для постановки диагноза важно значение коэффициента Де Ритиса (АСТ/АЛТ)=1,33.
 - При заболевании печени величина ниже этого значения, при заболеваниях сердца – выше.
 - Снижение активности АСТ и АЛТ ниже нормы встречается только при тяжелых поражениях печени, когда значительно уменьшается количество 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.



- Определены в сыворотке крови следующие важные показатели для диагностики миокарда гепатита. Активность в сыворотке крови 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 р-р	0,9% р-р NaCL	T 37°	S	2,4 ДН ФГ	22°	0,4 NaOH	22°	ФЭК	расчет	норма
о	0,25	---	3'	0,05	0,25	20'	2,5	10'	$\Lambda=540\text{нм}$	По калибровочной кривой	АСТ 0,1-0,47 мкмоль/л пвк за 1 час инкубации при 37°
к	0,25	0,05	3'	---	0,25	20'	2,5	10'	K=10мм Против контроля		АЛТ 0,1-0,68 мкмоль/л пвк 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 - α-аланин + α- кетоглутаровая кислота → ПВК?

■ ЛДГ

■ α-амилаза

■ АЛТ

■ АСТ

■ Какие из перечисленных ферментов относятся к классу гидролаз?

■ ЛДГ

■ АЛТ

■ α-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

