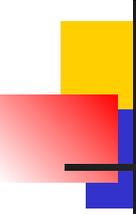




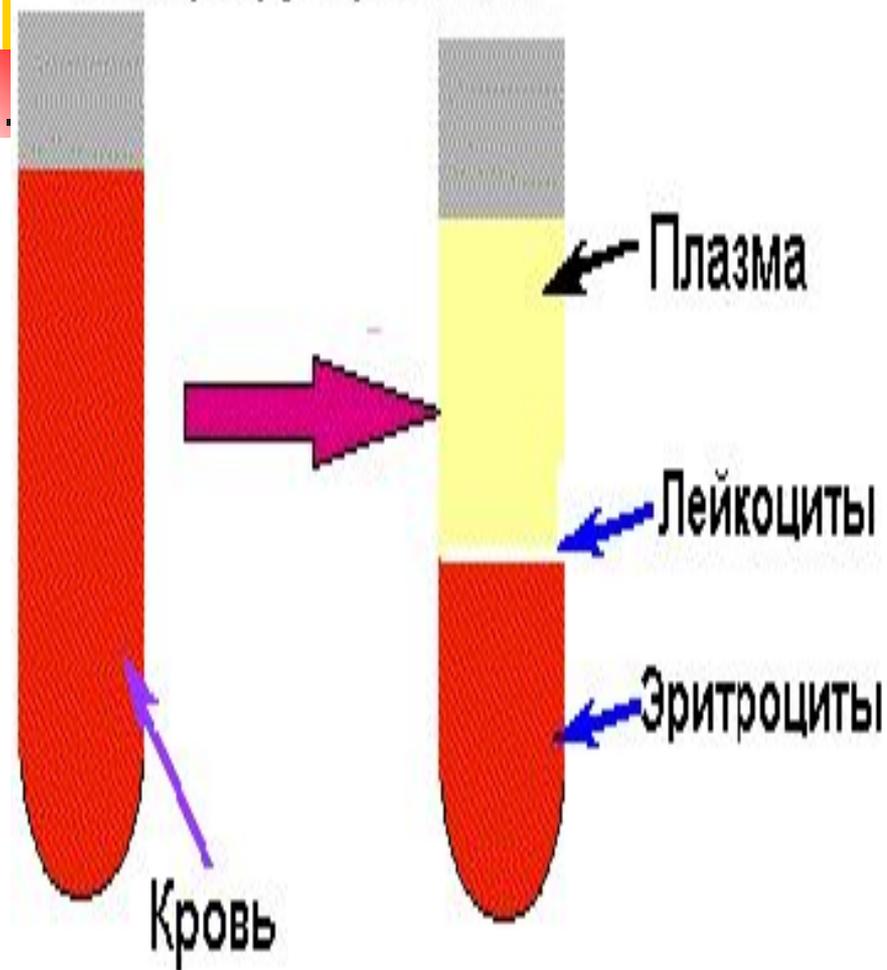
Биохимия крови - 1

д.м.н., проф. Грицук А. И.



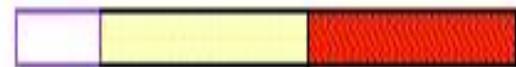
Внутренняя среда организма формируется совокупностью биологических жидкостей (кровь, лимфа, тканевая жидкость), омывающих клетки и структуры тканей. Эти жидкости функционально тесно взаимосвязаны, они постоянно обмениваются между собой клетками и молекулами.

центрифугирование

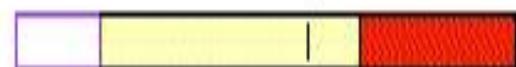


У мужчин 40-50 %

У женщин 36-45 %



Анемия



Полицитемия

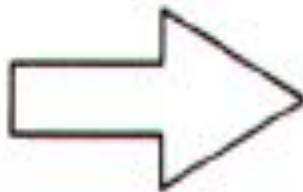


$$\text{Гематокрит} = \frac{\text{Объем клеток крови}}{\text{Общий объем}} \times 100$$

Химический состав плазмы



содержит



Плазма
(46–63%)

Вода 92%

Белки 7%

др вещества 1%

**Форменные
элементы**
(37–54%)



Основные функции крови

Дыхательная - транспорт O_2 от легких к тканям и CO_2 наоборот

- **Выделительная** - транспорт конечных метаболитов к органам выделения (почкам, легким, коже, потовым железам, ЖКТ) для удаления.
- **Защитная** (иммунитет, гемостаз и др.)
- **Транспортная**
 1. **Трофическая** - транспорт пищевых субстратов и метаболитов, обеспечивающих основные жизненные потребности клетки
 2. **Регуляторная** (КОС, водно-электролитный баланс, t° , метаболизма – транспорт БАВ и др.).
 3. **Интегративная (креативная)**

Химический состав крови

Большую часть этих функций выполняют компоненты плазмы крови.

■ Плазма крови состоит на **90-93%** из воды и **10-7%** сухого остатка – белки, углеводы, липиды,, органич. метаболиты и электролиты

- Сухой остаток на **6,6-8,5%** состоит из белков плазмы крови и **1,5-3,5%** - органических метаболитов (углеводы, липиды, азотосодержащие продукты) и электролитов (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , HCO_3^- и др.).
- Водный и электролитный состав плазмы очень похож на состав др. внеклеточных биологических жидкостей.
- Лабораторный мониторинг уровней Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , HCO_3^- и pH крови важны для оценки состояния метаболизма.

Характеристика белков плазмы крови

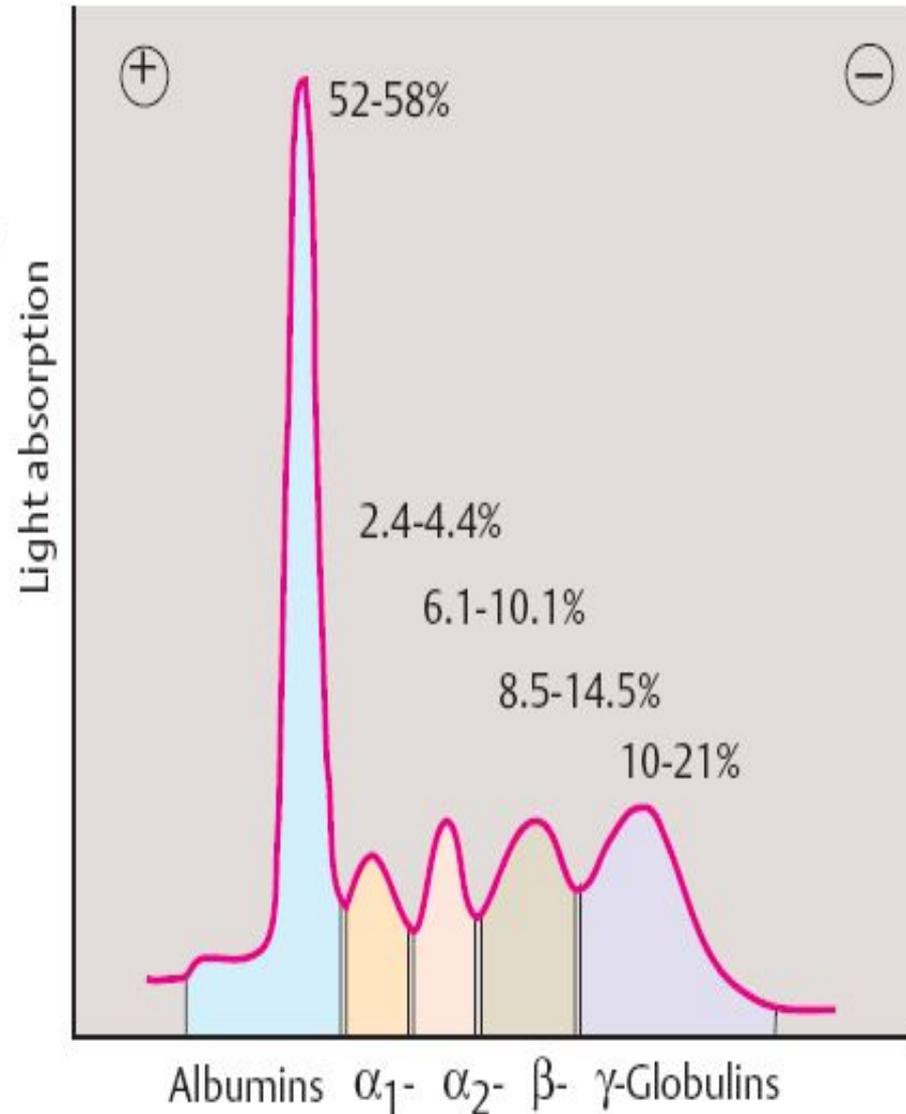
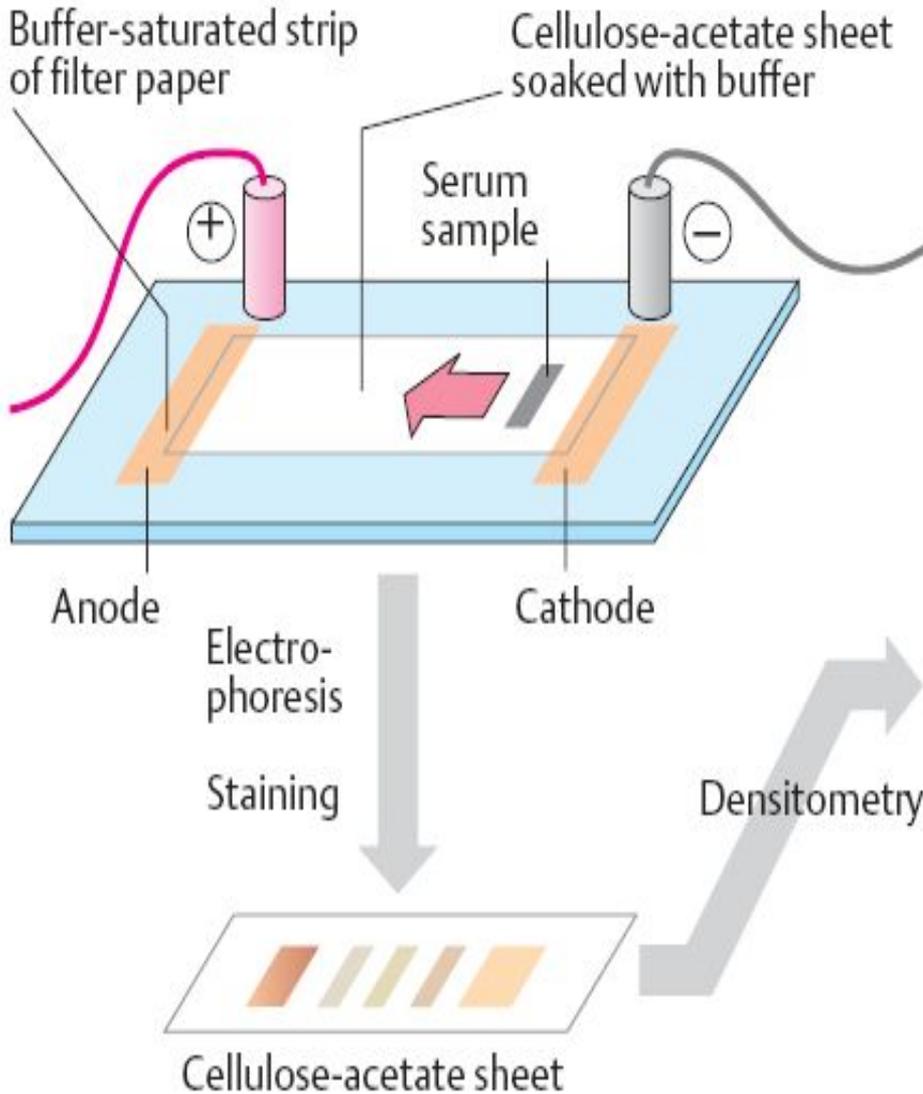
1. содержатся в плазме крови
2. синтезируются в печени или РЭС (реже в спец. тканях)
3. проявляют основную функцию в пределах сосудистой системы
4. секретируются в кровь, а не попадают в результате повреждения тканей
5. находятся в плазме в концентрации большей, чем в других биологических жидкостях
6. проявляют генетический полиморфизм, имеют варианты формы, не связанные с тканевым происхождением
7. не являются продуктами катаболизма в плазме, но могут быть продуктами ограниченного протеолиза
8. имеют большее время биологического полураспада в плазме, чем время транспорта по крови.

Состав белков плазмы крови

- В плазме обнаружено более **100** разных белков соответствующих этим критериям, содержание которых колеблется в широких пределах
- Изучение их функций, содержания, состава при патологии — одна из важных задач клинической биохимии.
- Уровень **~10** белков составляющих **90 %**, и называемых **главными** достигает высоких значений (альбумин — **40 г/л**).
- Остальные **10 % минорные**, следовые белки. приходится свыше 100 различных белков, содержание которых может быть в пределах **50 – 200 мкг/л**.

Электрофорез белков плазмы

B. Electrophoresis



Белковые фракции

A. Plasma proteins

Group	Protein	M _r in kDa	Function
Albumins:	Transthyretin Albumin: 45 g · l ⁻¹	50-66 67	Transport of thyroxin and triiodothyronin Maintenance of osmotic pressure; transport of fatty acids, bilirubin, bile acids, steroid hormones, pharmaceuticals and inorganic ions.
α ₁ -Globulins:	Antitrypsin Antichymotrypsin Lipoprotein (HDL) Prothrombin Transcortin Acid glycoprotein Thyroxin-binding globulin	51 58-68 200-400 72 51 44 54	Inhibition of trypsin and other proteases Inhibition of chymotrypsin Transport of lipids Coagulation factor II, thrombin precursor (3.4.21.5) Transport of cortisol, corticosterone and progesterone Transport of progesterone Transport of iodothyronins
α ₂ -Globulins:	Ceruloplasmin Antithrombin III Haptoglobin Cholinesterase (3.1.1.8) Plasminogen Macroglobulin Retinol-binding protein Vitamin D-binding protein	135 58 100 ca. 350 90 725 21 52	Transport of copper ions Inhibition of blood clotting Binding of hemoglobin Cleavage of choline esters Precursor of plasmin (3.4.21.7), breakdown of blood clots Binding of proteases, transport of zinc ions Transport of vitamin A Transport of calciols
β-Globulins:	Lipoprotein (LDL) Transferrin Fibrinogen Sex hormone-binding globulin Transcobalamin C-reactive protein	2.000-4.500 80 340 65 38 110	Transport of lipids Transport of iron ions Coagulation factor I Transport of testosterone and estradiol Transport of vitamin B ₁₂ Complement activation
γ-Globulins:	IgG IgA IgM IgD IgE	150 162 900 172 196	Late antibodies Mucosa-protecting antibodies Early antibodies B-lymphocyte receptors Reagins

Относительные размеры и приблизительная молекулярная масса белков крови (kDa)

Альбу
мин
69

β 1-
глобули
н
90

ЛПВП
200



Hb 64,5

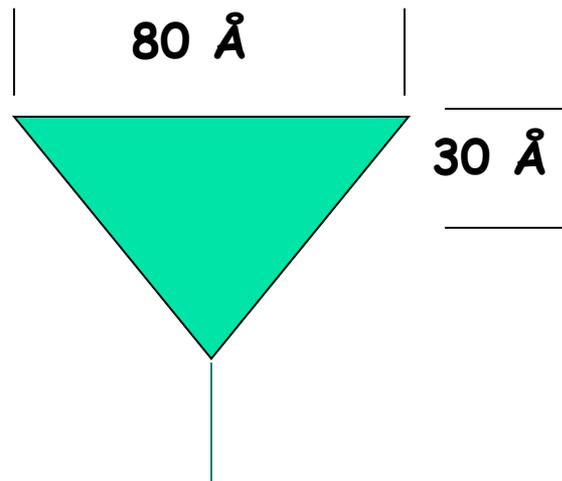
γ -глобулин
156

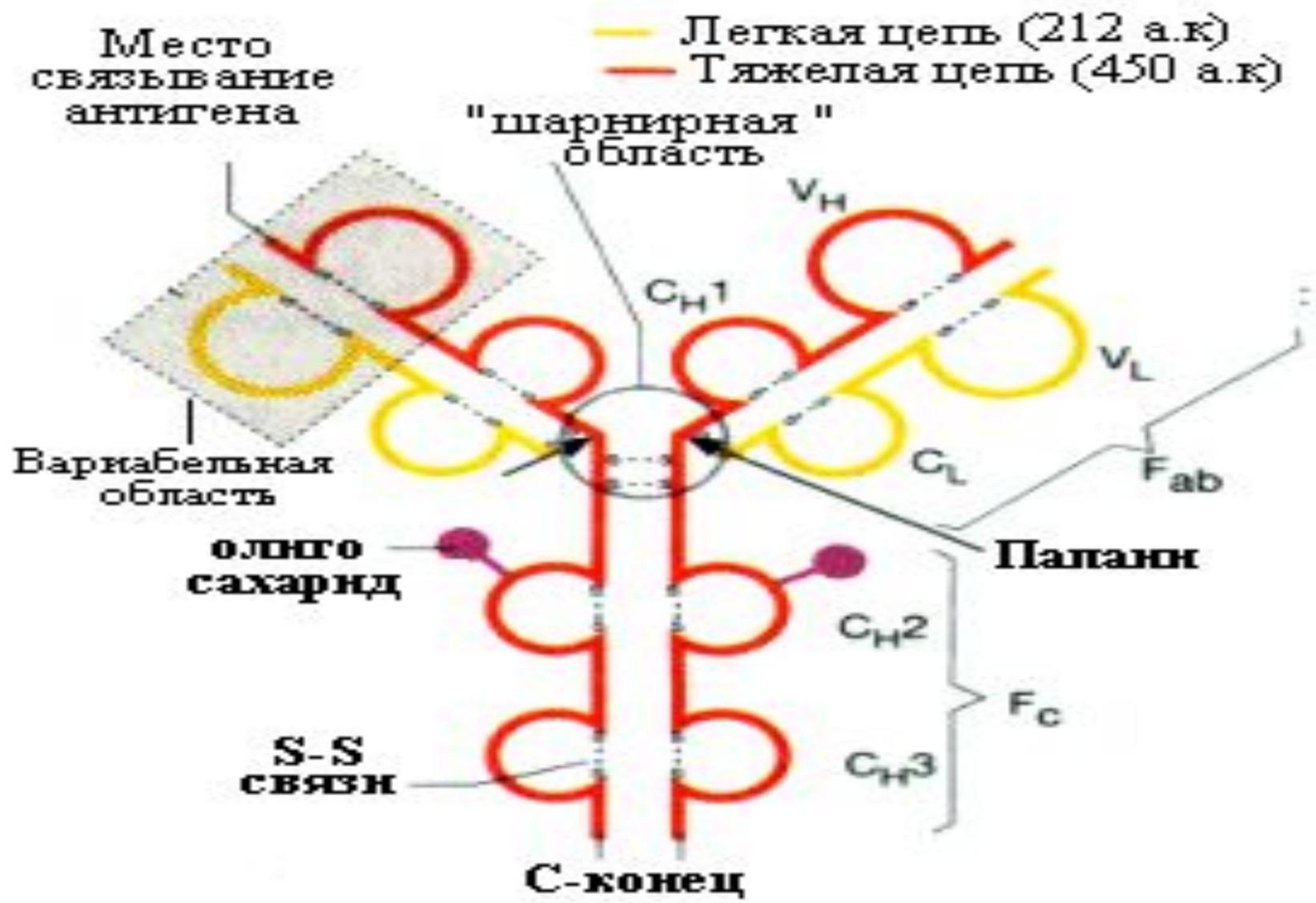
ЛПНП
1,300

Фибриноген 340

Альбумин

- Мм 69 kDa
- Единственная цепь из 580 АК, первичная структура известна
- Форма сердца
- 50% α цепь [*He & Carter, Nature, 358 209 (1992)*]
- Модель:

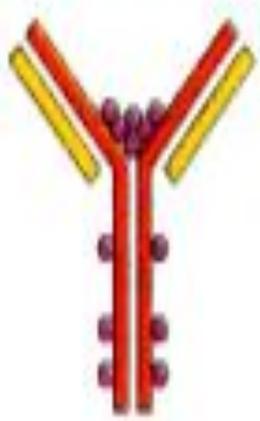




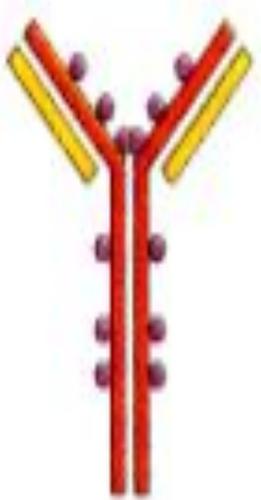
IgA
360-720 kDa



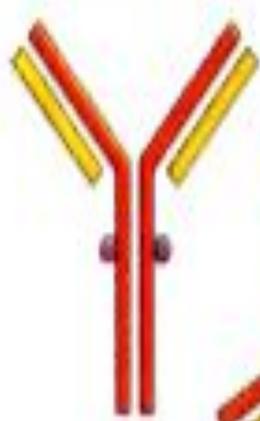
IgD
172 kDa



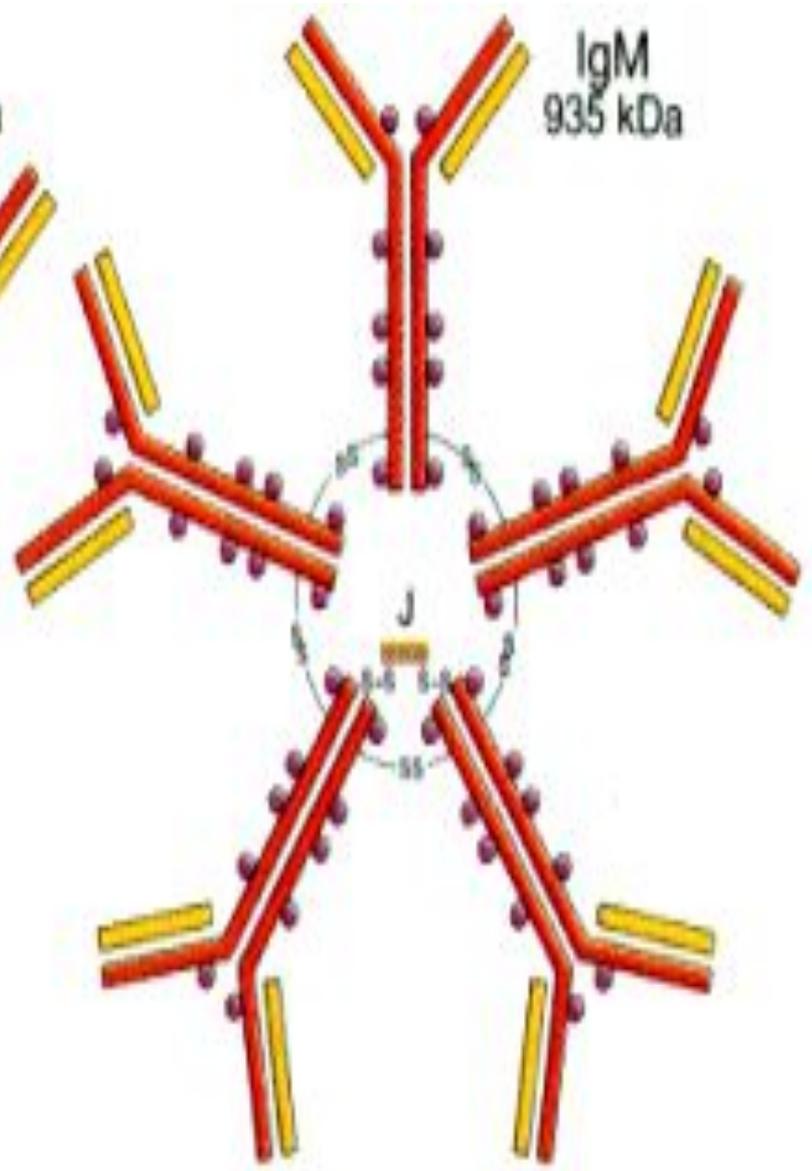
IgE
196 kDa



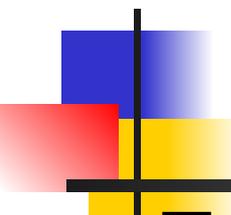
IgG
150 kDa



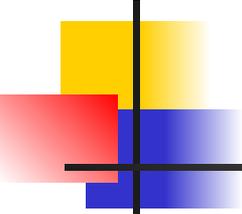
IgM
935 kDa



Функциональная классификация белков плазмы

- 
1. Транспортная *а. специф. Б. неспециф*
 2. Резервная ~ **50%** альбумина
 3. Регуляторная *колл-осм давление (1гр альбумина связывает 17 мл воды)*
 4. Защитная *а. гемостаз б. Ig, лизоцим и др, в. связывание и транс токсинов*

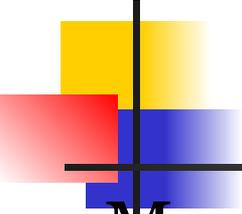
Остаточный азот



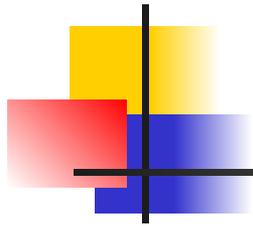
Все азотсодержащие вещества плазмы образуют общий пул азота, состоящий из:

- *Азота белкового* – осаждаемого кислотами
- *Азота небелкового (остаточного) (ОА)*, представленного конечными продуктами обмена *АК, ФЛ, АО, Амины* и др. азотсодержащих в-в, которые остаются после осаждения белков

Состав ОА

- 
-
- Мочевина - 50% (главный компонент)
 - АК - 25% (~ 10% ГЛУ и ГЛН)
 - Ураты - 8%
 - Креатинин - 2.5%
 - NH_3 и индикан - 0.5%
 - билирубин, нуклеотиды, биогенные амины, метаболиты АК, АО, холин, олигопептиды и др

Ds значение ОА

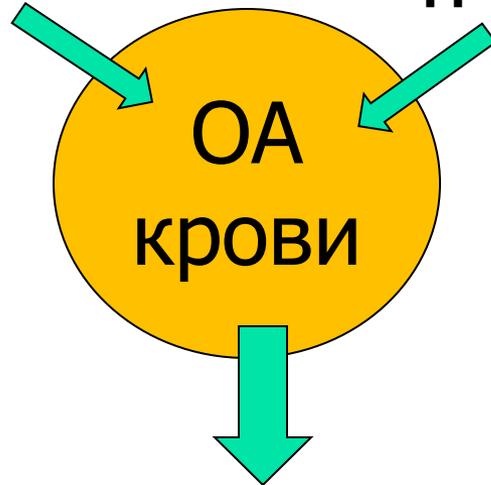


Уровень ОА зависит от:

- **Интенсивности катаболизма**
 - Травмы (ожоги, краш-синдром)
 - Распад тканей (*tbc, c-r, etc*)
 - Гнойно-воспалит процессы
 - О радиационные травмы и др.
- **Питания**
 - Кол-во белка, НК и др.
- **Экскреторной функции почек**
 - ОПН, ХПН, др поражения почек
 - Нарушение кровообращения почек

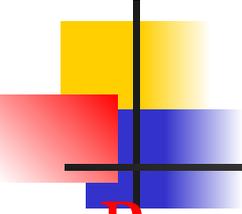
Обмен в-в

Диета



Экскреция с мочой

Азотемия - повышение уровня ОА в крови

- 
- **Ретенционная** – задержка компонентов ОА в организме из-за нарушения экскреторной функции почек
 - **Почечная** азот мочевины составляет **90%** ОА крови (**норма 50%**) (ОПН, ХПН – отравления, травмы, гломерулонефриты, пиелонефриты и др поражения почек)
 - **Внепочечная** азотемия возникает при снижении почечного кровотока из-за недостаточности кровообращения, снижения АД (шок, коллапс, большая кровопотеря)
 - **Продукционная** – увеличение продукции ОА за счет катаболизма
 - **Комбинированная**

Общие понятия КОС

КОС – система гомеостаза pH внутри- и внеклеточной среды организма.

Единицы измерения : **pH = -lg [H⁺]**,

сдвиг pH:

на **1ед** соответствует **10 кратному** изменению [H⁺]

на **2ед** соответствует **100 кратному** изменению [H⁺]

• pH внутри клеток **pH_i ~ 6.9 – 7.0**

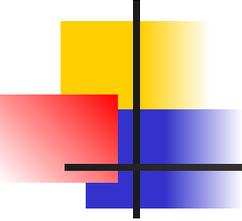
• pH вне клеток **pH_o = 7.40 ± 0.04** [H⁺] ~ **40 ± 0.5 нМ/л**

• **Кислоты** – доноры **H⁺**

• **Основания** – акцепторы **H⁺**

• **Щелочи** - доноры **ОН⁻**

• **Буфер** система состоит из слабой кислоты и ее соли, образованной сильным основанием, стабилизирует pH,



NB!

- С одной стороны :
стабильный рН
необходимое
условие
нормального
метаболизма
- С другой : рН
производное
метаболизма

pH – производное метаболизма

1. За сутки организм *hs* образует **50-100 мМ** $[H^+]$ на 15-20л ВКЖ.

- Весь метаболизм представлен гл. обр. обменом кислот (ГБФ, ЖК, АК и др.):

- Распад 100г Б дает **~ 30 мМ H_2SO_4** и **100 мМ $H_2PO_4^-$**
поэтому белковая пища «кислая»
- Распад 100 г Л дает **~ 17 мМ $H_2PO_4^-$** (ФЛ)
- постоянно образуется **ПВК, лактат, ацетат** и др.
- накопление оснований идет значительно меньше: **OH^- , NH_3 , основных АК, креатинина** и др, которые вместе с буферами стабилизируют pH

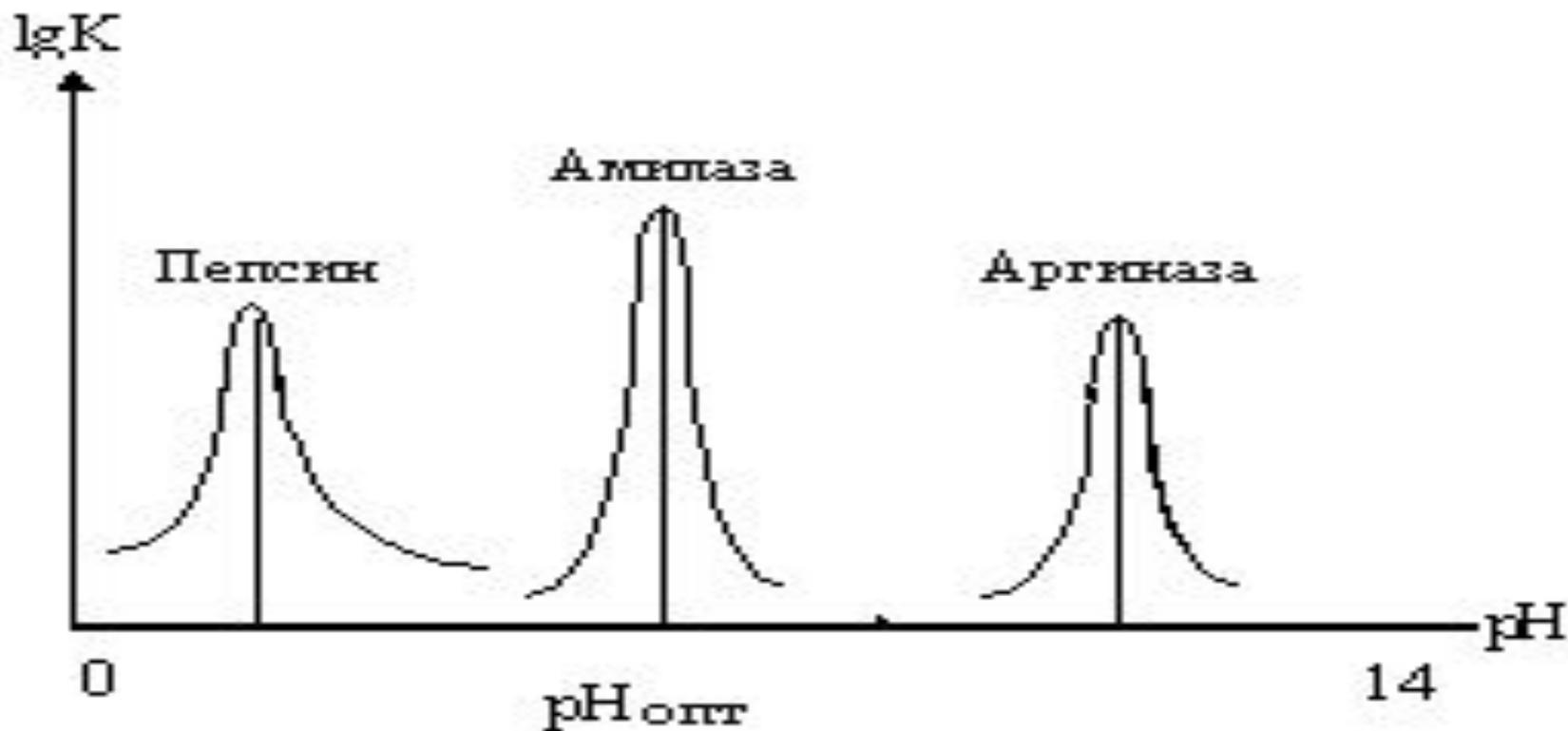


Стабильный pH - необходимое условие метаболизма

Изменение pH приводит к изменению: заряда и функции белков (*ферментов, каналов, рецепторов и др.*), что обуславливает:

- pH зависимость всех б/х реакций и многих физиологических процессов в организме
- Наличие мощной гомеостатической системы стабилизации pH

Оптимум pH разных ферментов



Принципы организации КОС

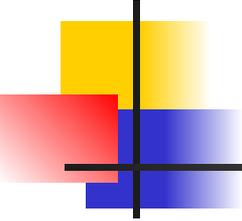
- 
-
- **Изоосмолярность** — осм. давление = **310 осМ/л** - *const*
любые изменения должны поддерживать эту константу
 - **Электронейтральность** — (по **155 мМ-** катионов и анионов)
 - **Постоянство рН**

Диаграмма Гэмбла



Состав плазмы крови

Метаболит	Концентрация, мМ
Глюкоза	3,6 - 6,1
Лактат	0,4 - 1,8
Пируват	0,07 - 0,11
Мочевина	3,5 - 9,0
Мочевая кислота	0,18 - 0,54
Креатинин	0,06 - 0,13
Аминокислоты	2,3 - 4,0
Аммиак	0,02 - 0,06
Липиды (суммарные)	5,5 - 6,0 г/л
Триацилглицерин	1,0 - 1,3 г/л
Холестерин	1,7 - 2,1 г/л

Механизмы регуляции КОС

1. Физико-хим – действует в автоматическом режиме и представлен:
 - разбавлением т.е. выходом H^+ или др. иона из одного компартмента в др. (*из клетки в МКЖ или наоборот*)
 - активность буферных систем (см типы, мех-мы действия БС)
2. Физиологические – функция экскреторных органов (выделение или задержка H^+ или др. иона) – легкие, почки, ЖКТ и др.

Классификация нарушений КОС

- $pH_o = 7.40 \pm 0.04$

$pH = 7.35$ и ниже – *ацидоз*

$pH = 7.45$ и выше – *алкалоз*

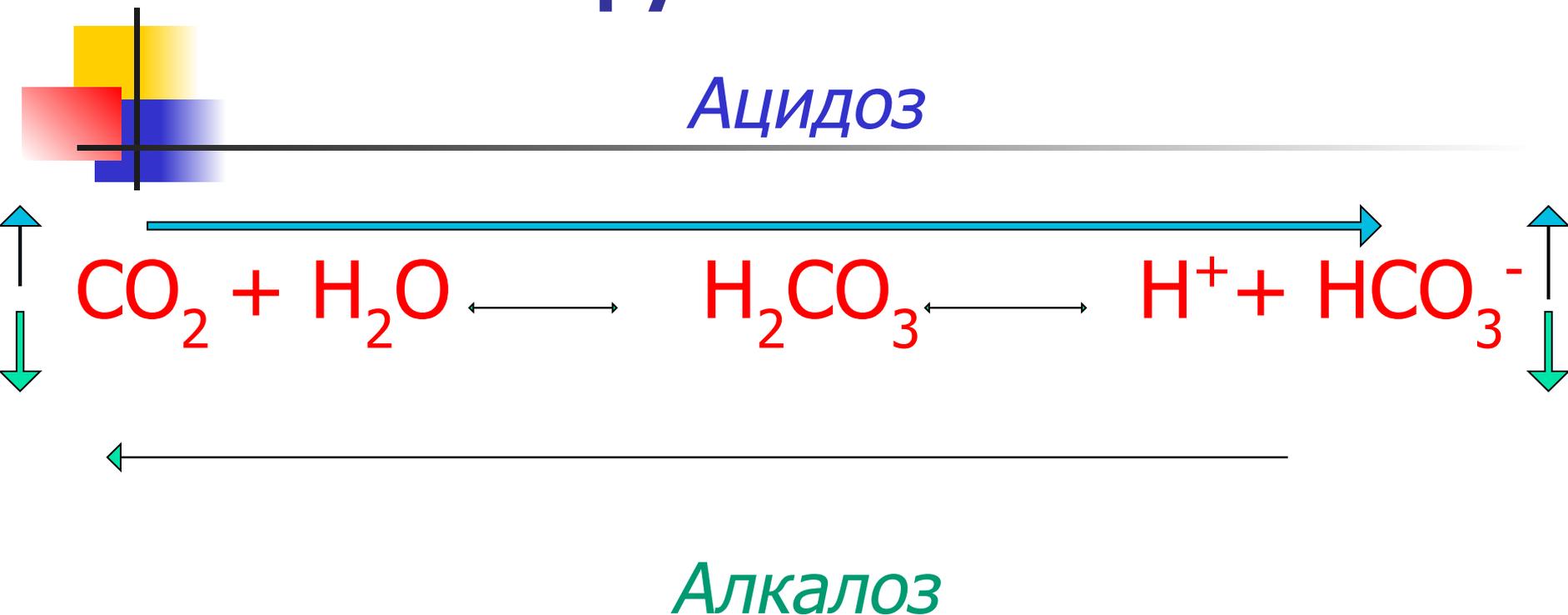
По этиологии:

1. Респираторный (дыхательный, газовый)
2. Метаболический
3. Выделительный
4. Смешанный

По степени компенсации:

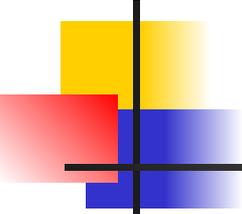
1. Компенсированный
2. Декомпенсированный (выраженное истощение буферных систем и сдвиг значений pH)

Механизм развития респираторных нарушений КОС



Причины: изменение частоты дыхания (гипо- или гипервентиляция)

Межорганное взаимодействие в регуляции рН



Если этих респираторных механизмов недостаточно, то активируются др. экскреторные системы.

- В печени снижение рН ингибирует биосинтез мочевины.



- В почках – ацидо- и аммиогенез – подкисление мочи и одновременно «подщелачивание» крови (за счет поступления HCO_3^- в плазму). Детоксикация NH_3 происходит путем аммиогенеза

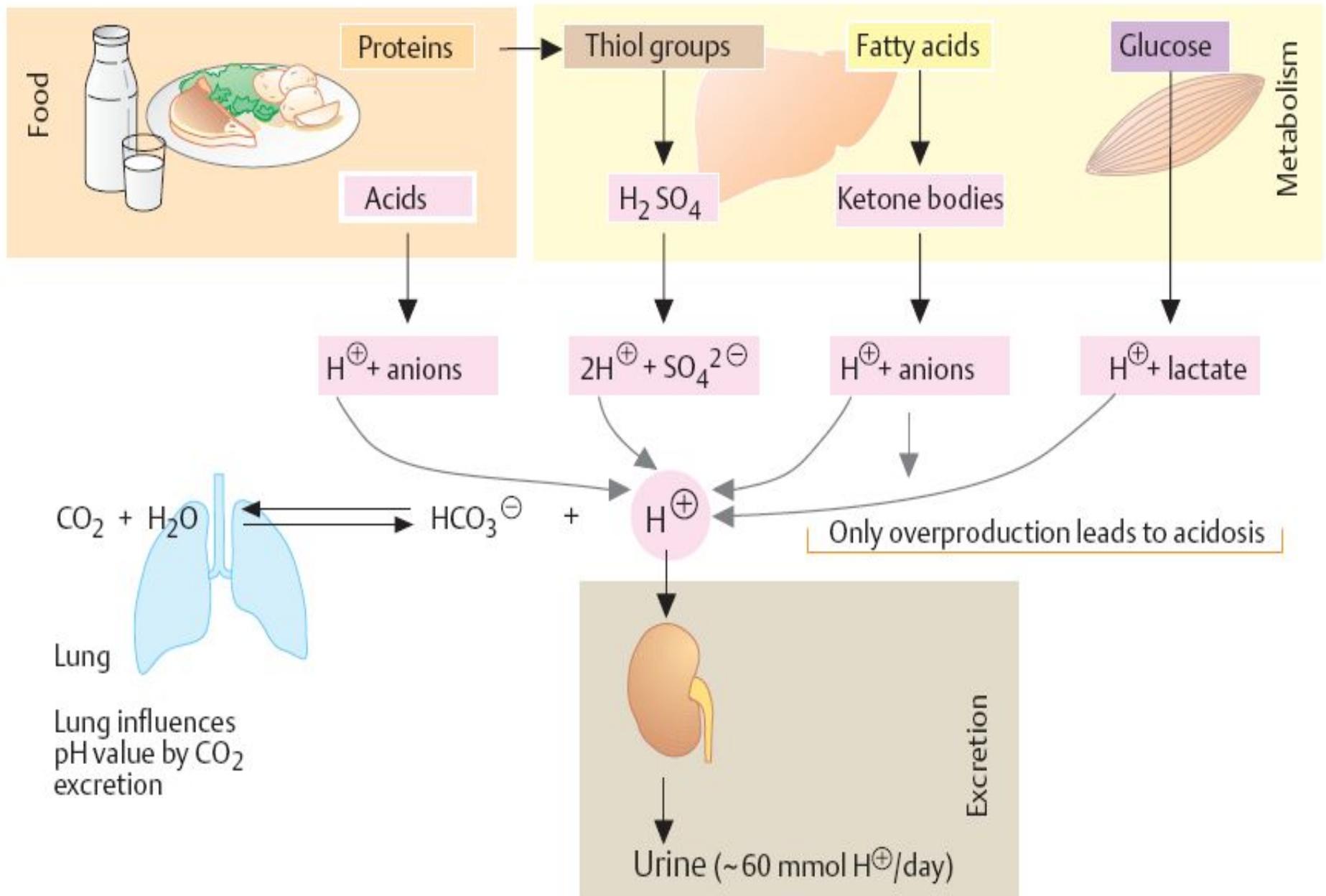


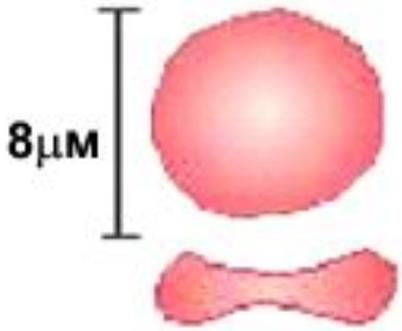
Межорганное взаимодействие в регуляции рН (*прод.*)

**Активация ГНГ (органические *к-ты*
*превращаются в нейтральную глюкозу)***

- Цикл Кори (*глюкозо-лактатный*)
- Цикл Фелига (*глюкозо-аланиновый*)

B. Acid-base balance

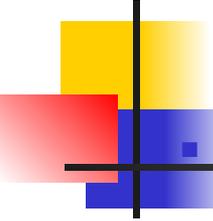




Эритропоэтин (Эпо)

- **Эпо** – цитокин, специфический регулятор эритропоэза в костном мозге
- **Эпо** человека – гликопротеид, состоит из 193 АК (ММ -21,28 kDa), синтезируется почками и печенью, скорость его секреции в кровоток возрастает при гипоксии.
- **Эпо** взаимодействует в костном мозге с клетками-мишенями при участии рецептора со свойствами тирозинкиназы способствуя их пролиферации и дифференцировке Вторичный посредник и специфические гены к настоящему времени не установлены.
- Действие **Эпо** усиливается другими факторами (ИЛ-3 и ИПФР).
- Рекомбинантный **Эпо** используется в лечении анемий.

Э общий обзор



■ Кол-во Э у мужчин - 4.6-6.2 млн/мкл крови, а у женщин - 4.2-5.4 млн/мкл. Общее количество Э в кровотоке $\sim 2.5 \times 10^{13}$.

■ Продолжительность жизни Э - 120 суток.

■ Ежедневно обновляется $\sim 1\%$ популяции Э кровеносного русла (200 млрд клеток или 2 млн/сек).

■ «Старые» Э разрушаются клетками РЭС (селезенка, костный мозг и печень). Образующиеся при распаде гема желчные пигменты выделяются, а Fe и АК глобина используются повторно.

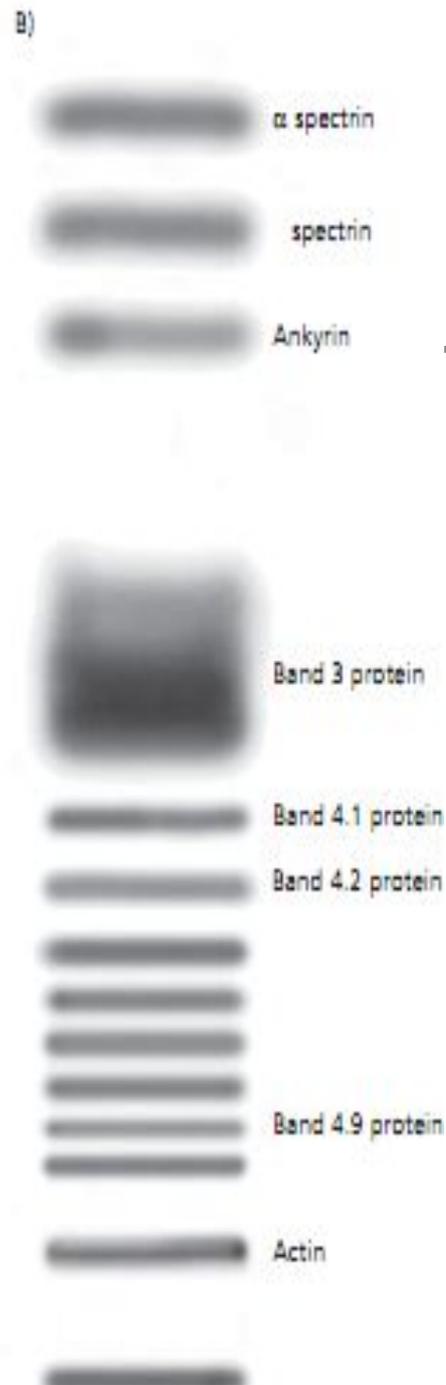
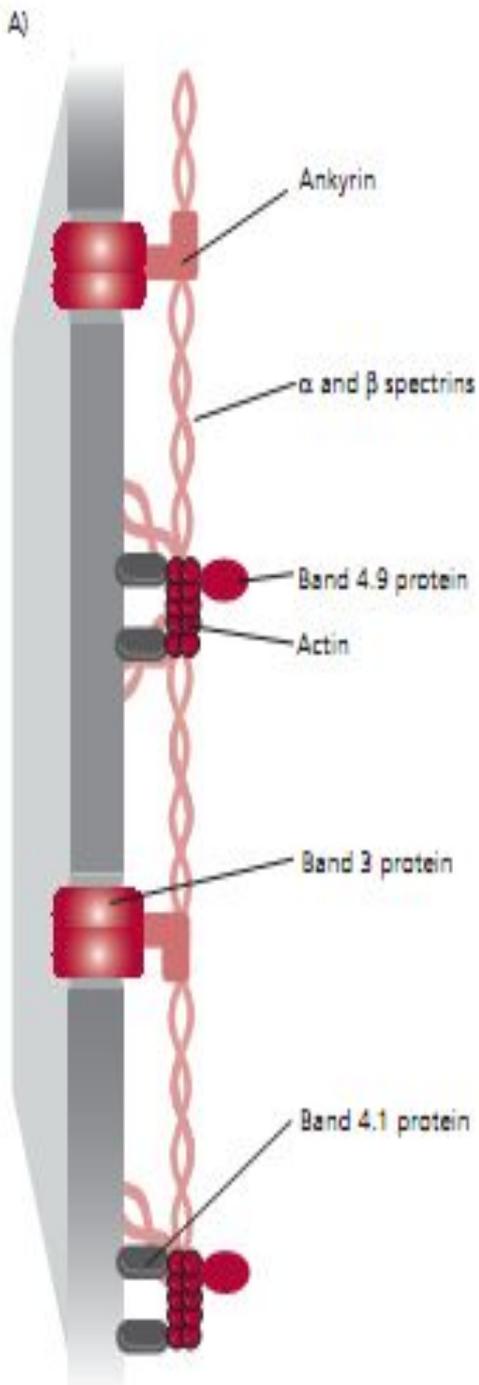
■ Увеличение кол-ва Э в крови называют полицетемией, снижение – анемией.

Цитоскелет Э



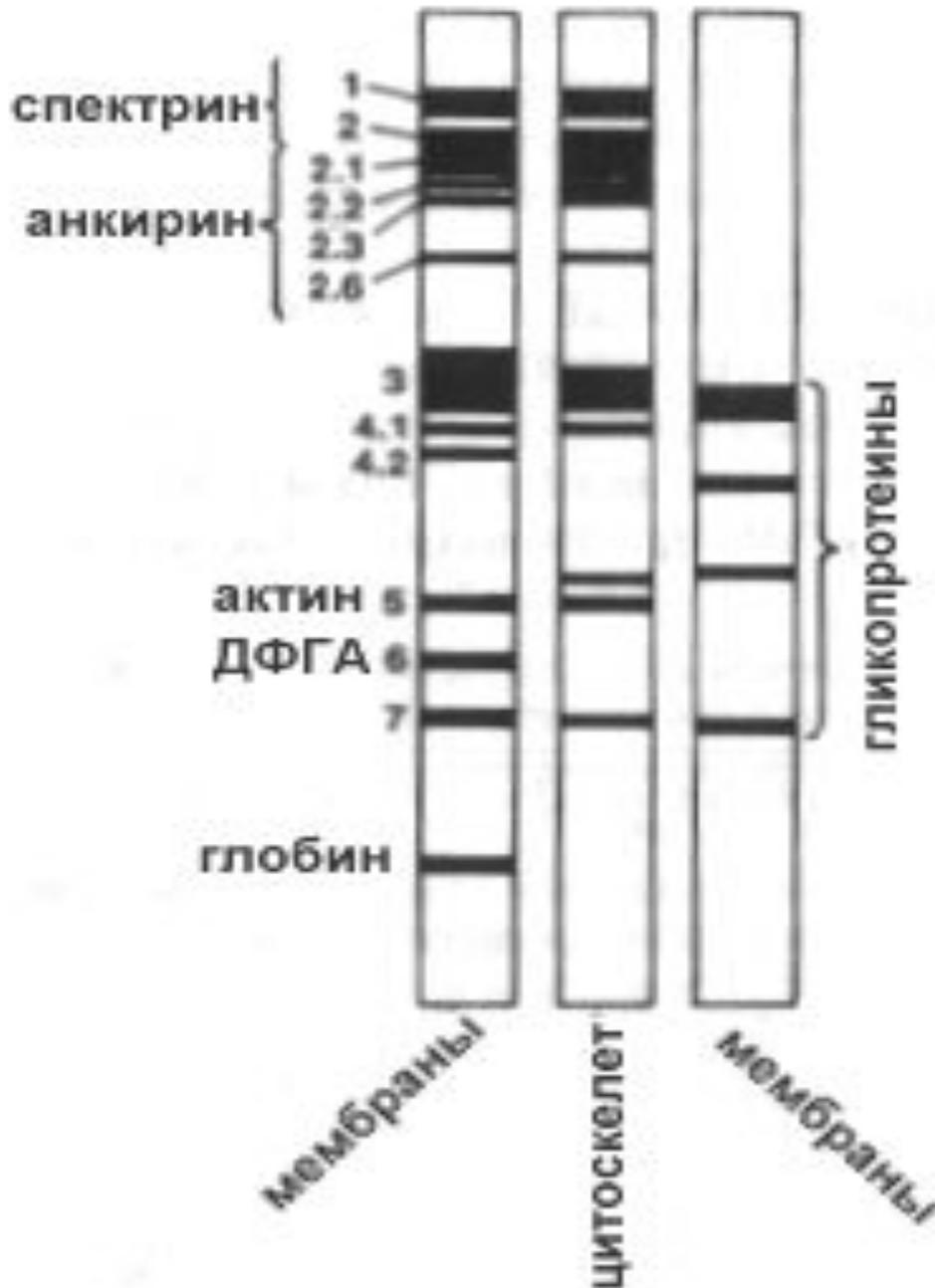
Белки

цитоскелета Э



- α -спектрин
- Спектрин
- Анкирин
- Полоса 3
- Полоса 4.1
- Полоса 4.2
- Полоса 4.9
- АКТИН

Белки Э



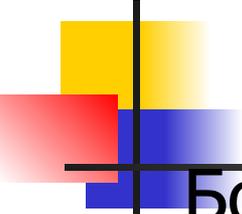
1. Часть белков Э явл общими для мембран и цитоскелета:

- Спектрин
- Анкирин
- Актин
- Фракция 4.1 и 7

2. ДФГА – 3ФГА ДГ- мембранный белок

3. Поверхностные белки в основном гликопротеиды

Структура цитоскелета Э



Большинство мембран Э - интегральные Б, гликопротеиды.

- Б без углеводной части находятся на внутренней поверхности мембраны:

1. Ферменты - ЗФГА ДГ,

2. структурные белки (спектрин или актин) и Нв.

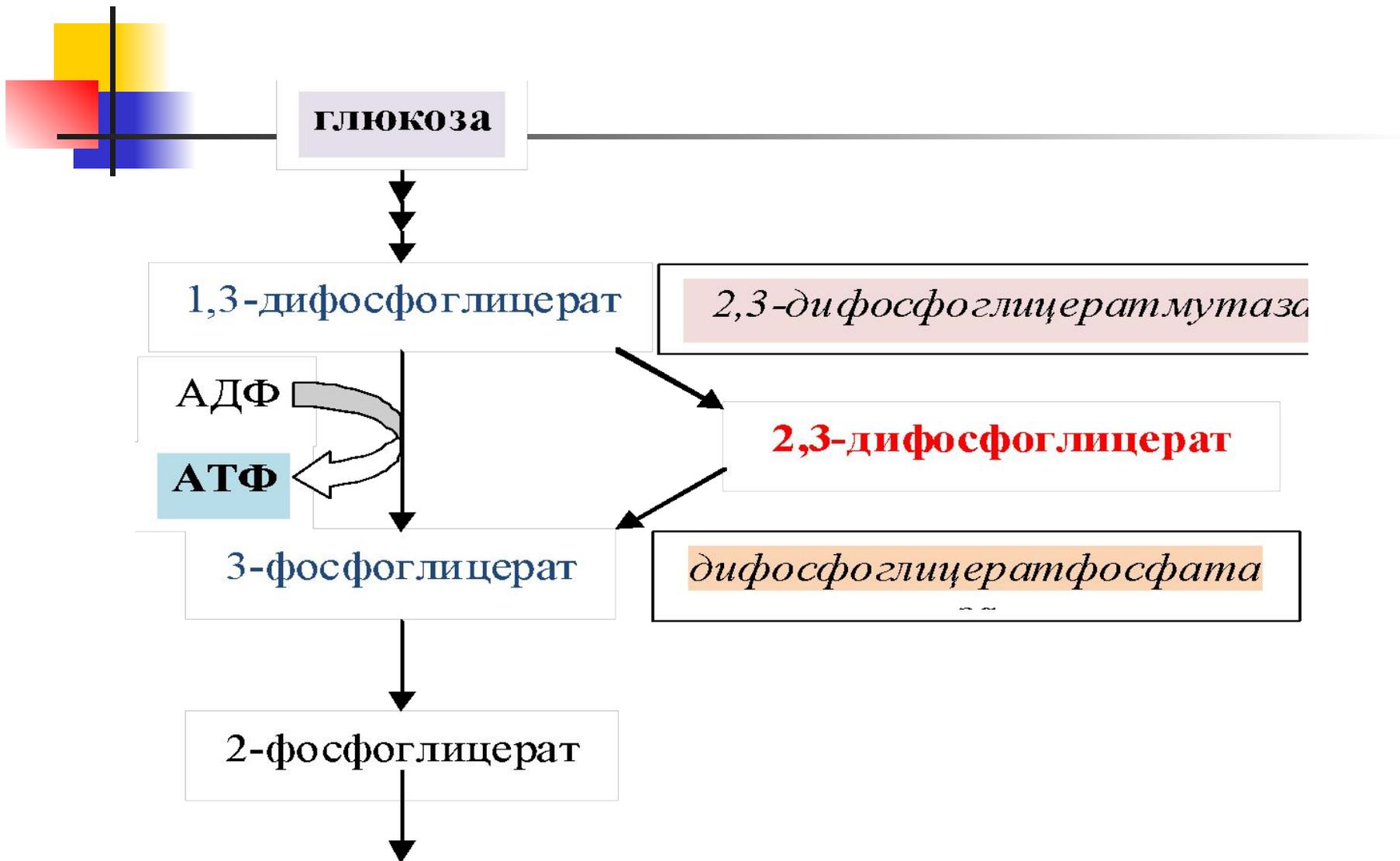
3. анкирин 3 обеспечивает, связь спектрина с цитозольном концом белка полосы 3 с бислоем ФЛ

- актиновые филаменты взаимодействуют с несколькими молекулами спектрина, формируя единую молекулярную сеть в мембране эритроцита.

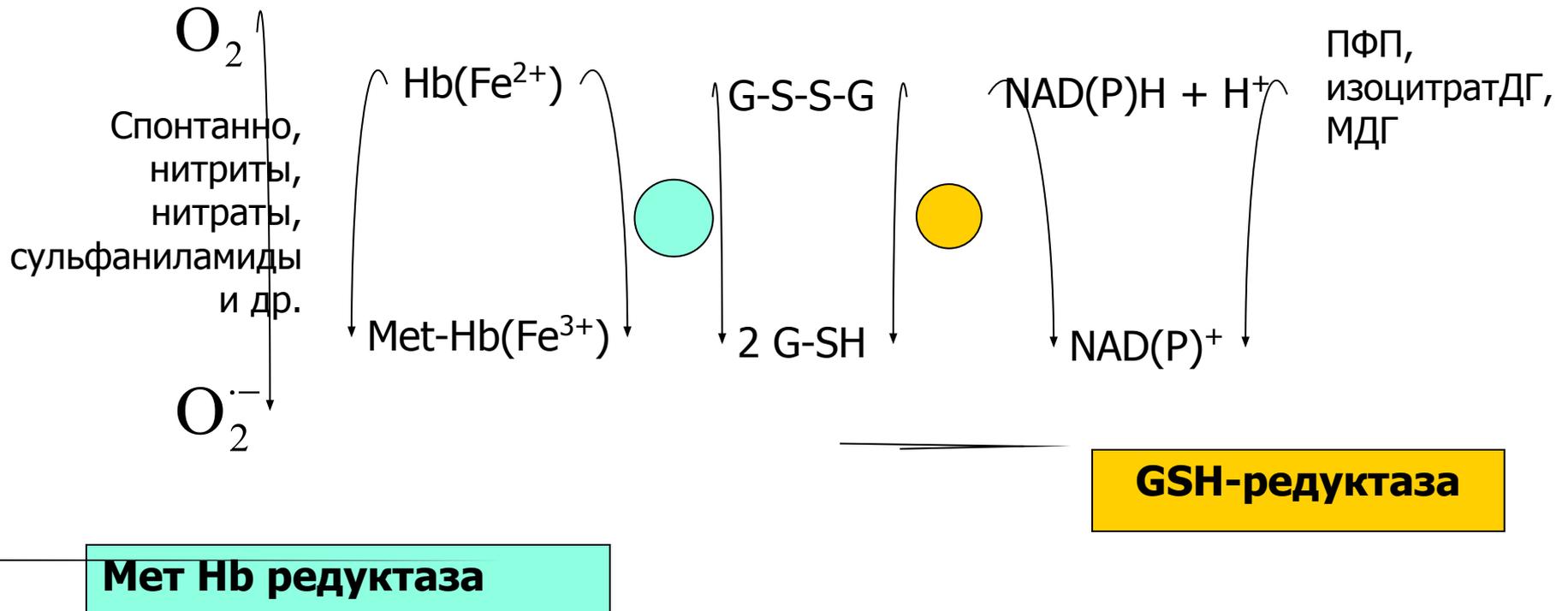
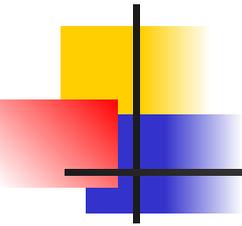
Метаболизм глюкозы в Э

- Абсолютно глюкозозависимые клетки
- Инсулиннезависимый транспорт глюкозы
- **Гликолиз** (90-95%) – образование АТФ
- **ПФП** (10-5%) - образование *NADPH* (АОЗ)
- *Особенностью* обмена в Э является боковой путь, ответвляющийся на уровне 1.3-ди ФГК (*шунт Раппопорта*).

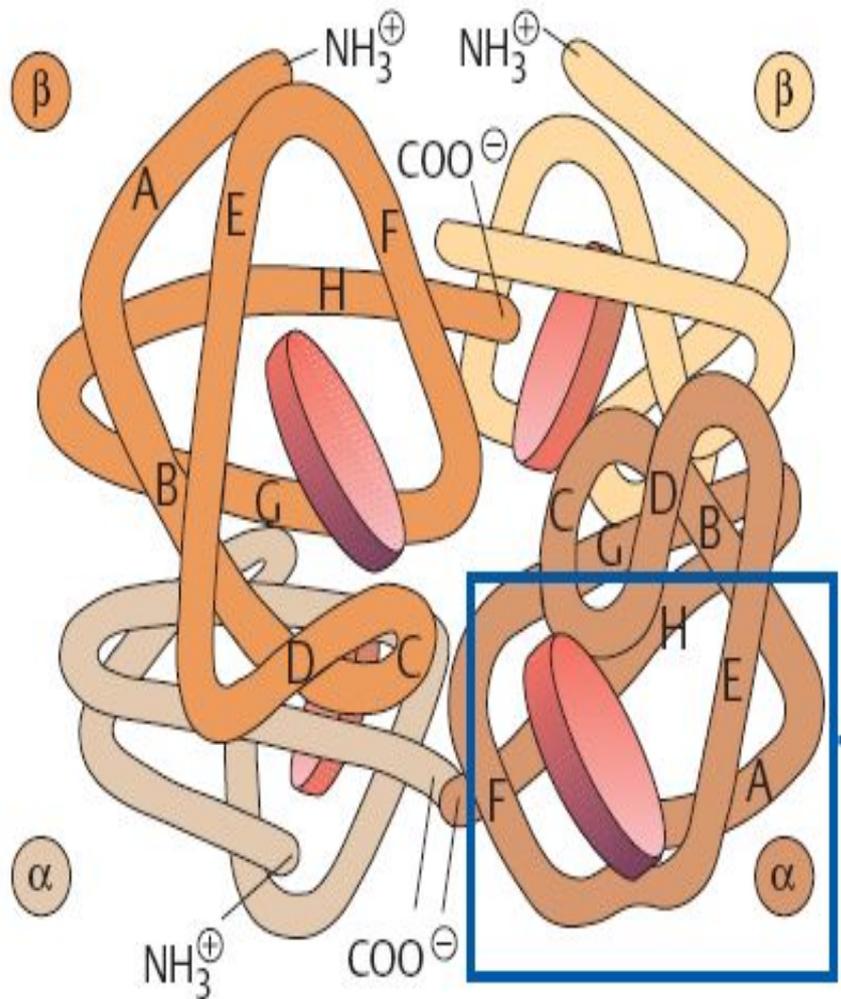
Особенности метаболизма Э (шунт Раппопорта)



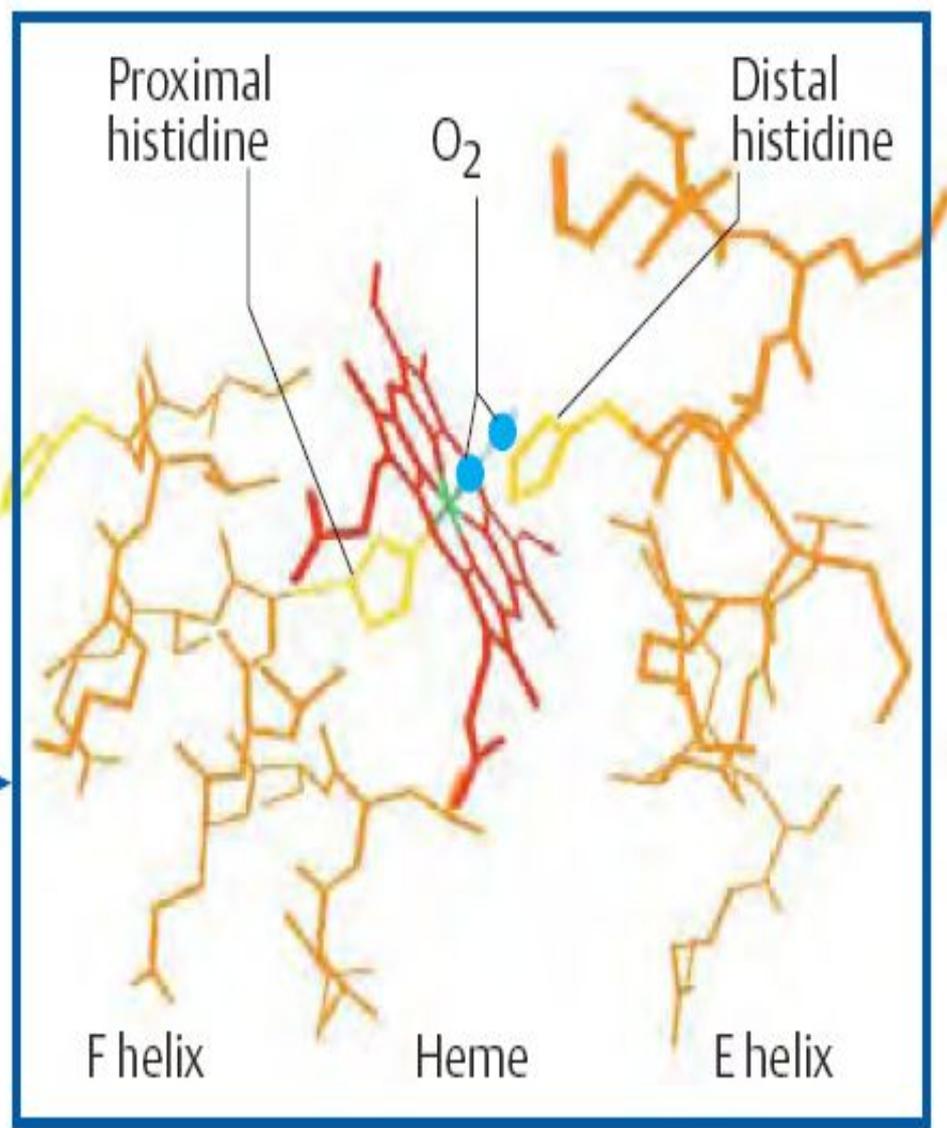
Мет Hb редуктазная система Э



A. Hemoglobin: structure



Hemoglobin A ($\alpha_2\beta_2$) M: 65 kDa



Синтез порфобилиногена и гема

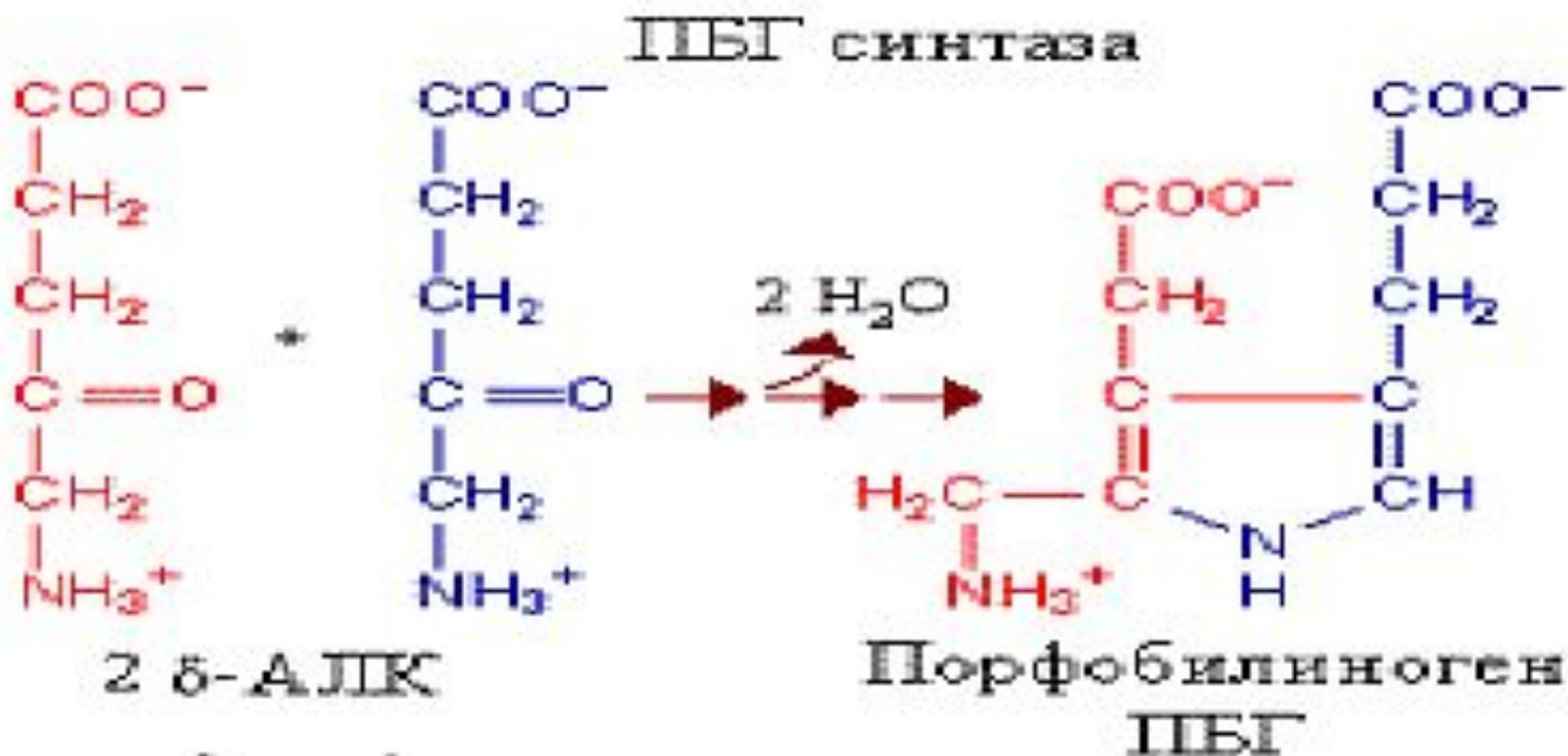
- Первая реакция б/с гема происходит в Мх и происходит путем конденсации **гли и сукцинил-КоА** при участии пиридоксаль-фосфат содержащего фермента – синтазы ***d-аминолевулиновой кислоты (дАЛК)***.

Эта реакция регуляторная и скорость-лимитирующая в б/с гема

- Из Мх ***дАЛК*** транспортируется в цитозол, где ***дАЛК дегидратаза (синтаза порфобилиногена)*** димеризует 2 молекулы ***дАЛК*** с образованием пиррольного кольца порфобилиногена

Б/с гема (порфобилиноген)

в цитоплазме

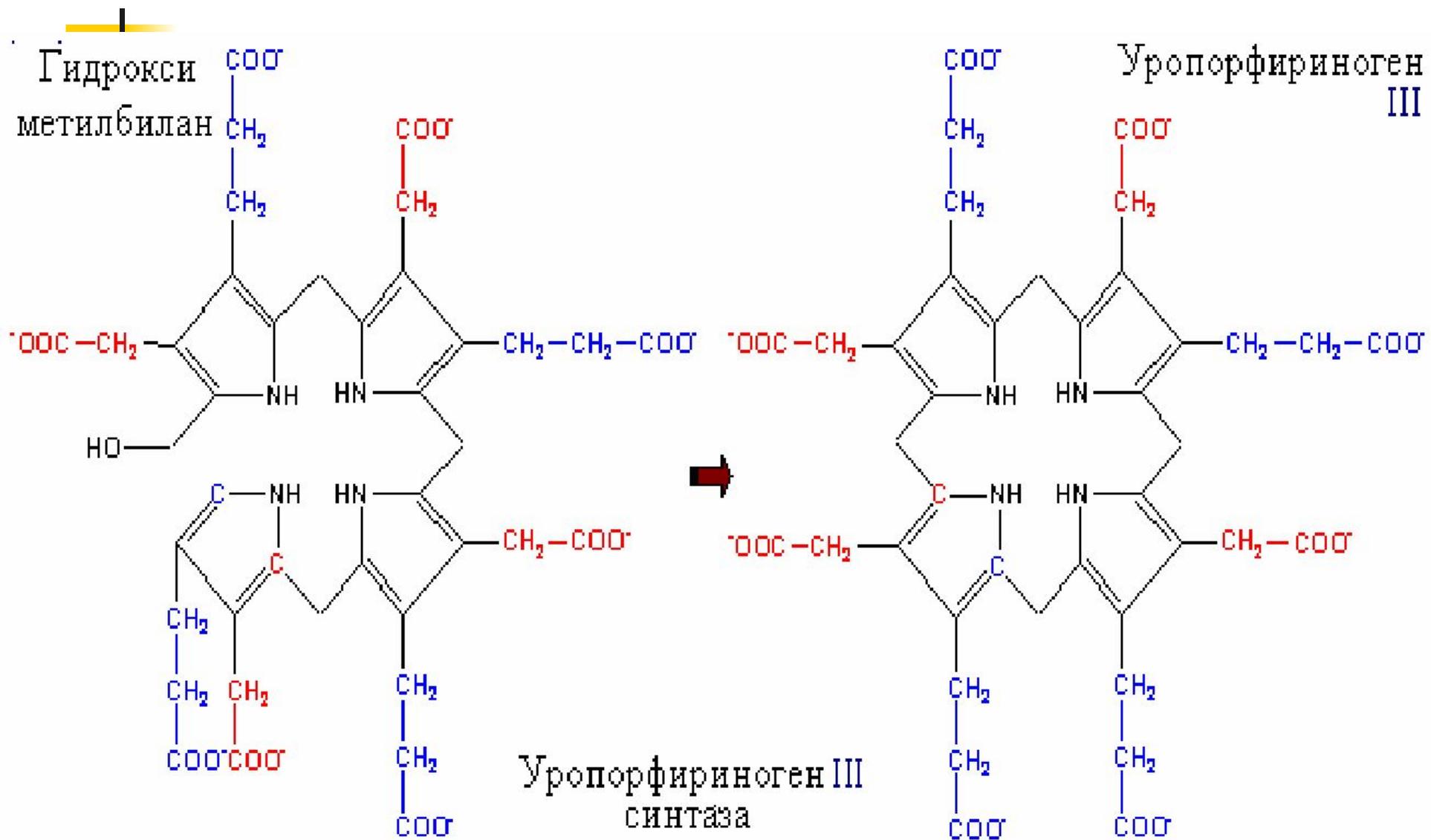


Синтез гема (прод)

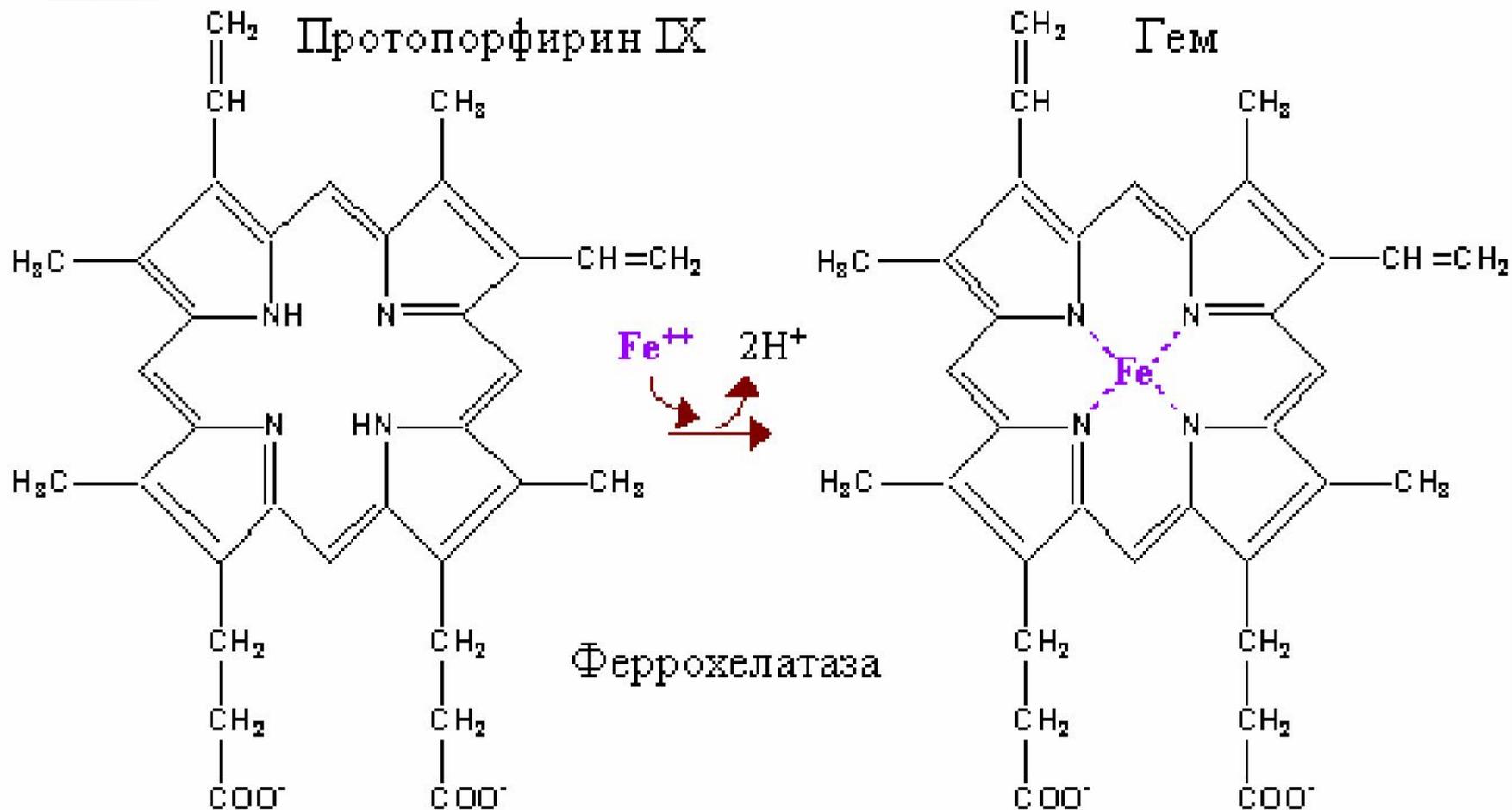
- Затем конденсация (голова-хвост) **4-х** молекул порфобилиногена с образованием линейного тетрапиррола – **оксиметилбилана**
(фермент **порфобилиноген деаминаза** (**уропорфирин I синтаза**))

- **Оксиметилбилан**  **Уропорфириноген III** и далее **Гем** 
(фермент **уропорфириноген синтаза**)

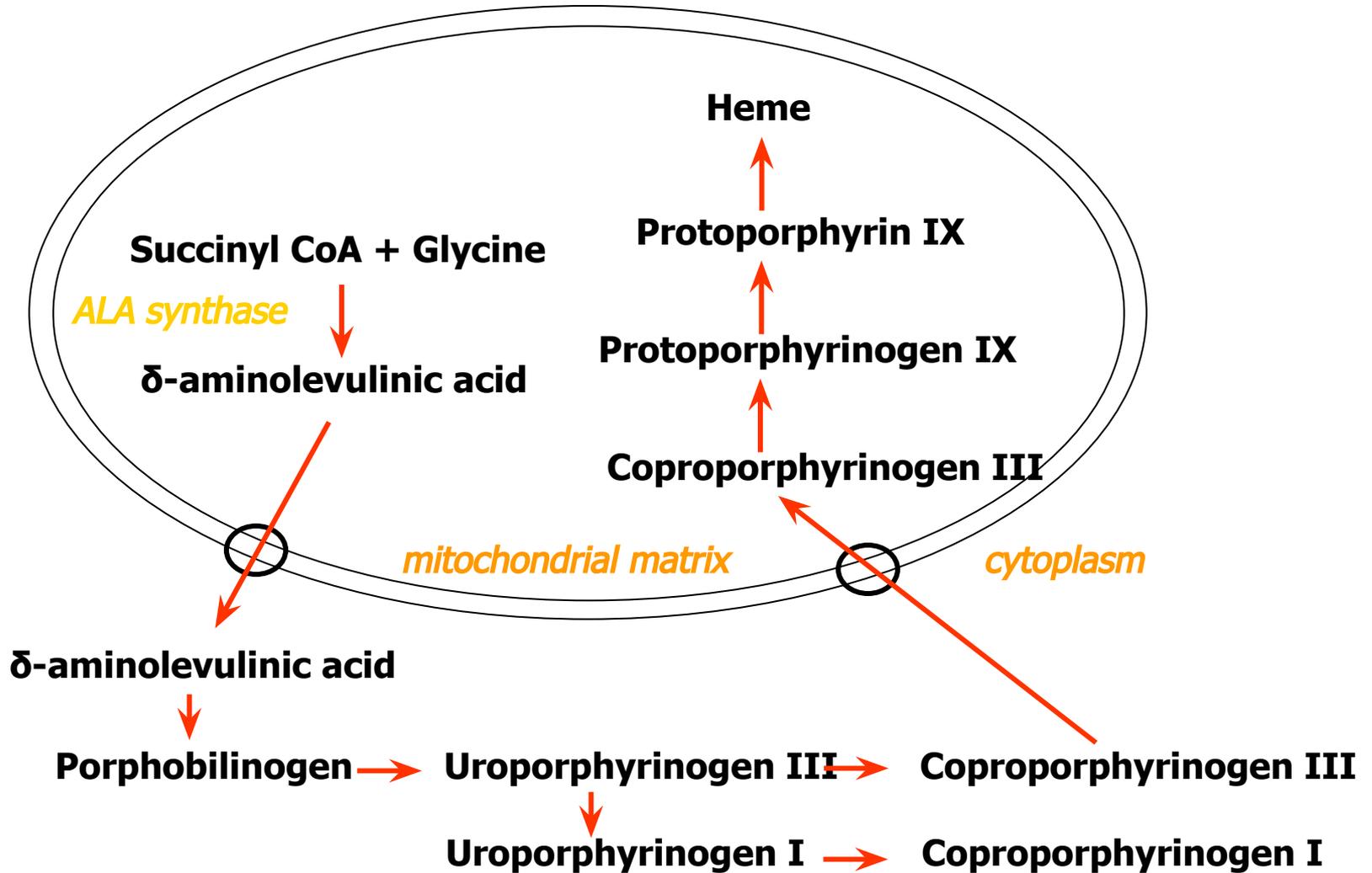
Б/с гема



Б/с гема (прод)

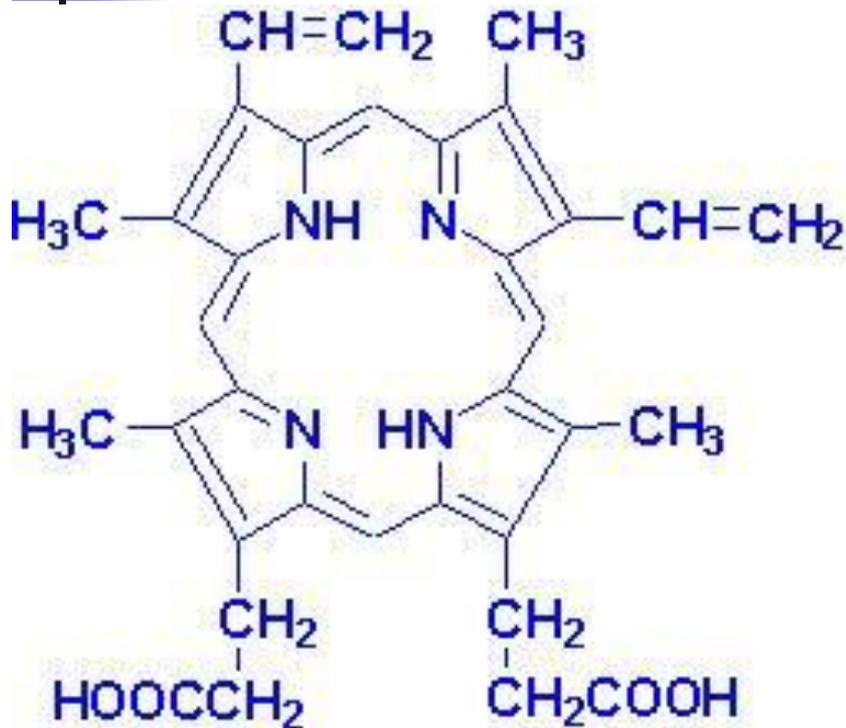


Overview of Heme Synthesis



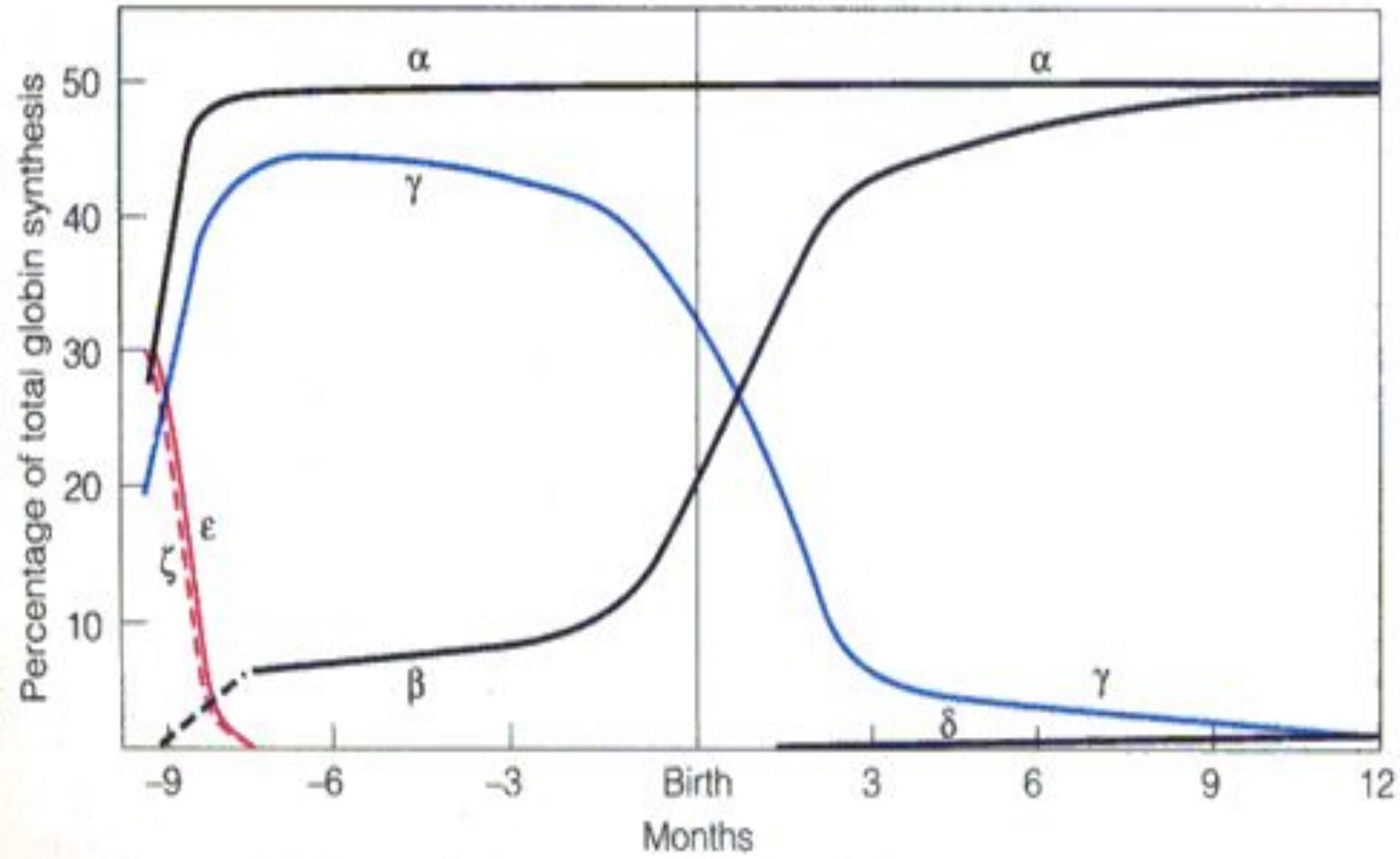
Heme synthesis occurs in all cells due to the requirement for heme as a prosthetic group on enzymes and electron transport chain. By weight, the major locations of heme synthesis are the liver and the erythroid progenitor cells of the bone marrow.

Протопорфирин и Pb



- SH-содержащие ферменты - *Феррохелатаза, синтаза дАЛК и дАЛК дегидратаза* высокочувствительны к действию тяжелых металлов
- Характерный признак для интоксикации Pb - возрастание в крови содержания дАЛК

Экспрессии субъединиц глобина



Кривая диссоциации HbO_2

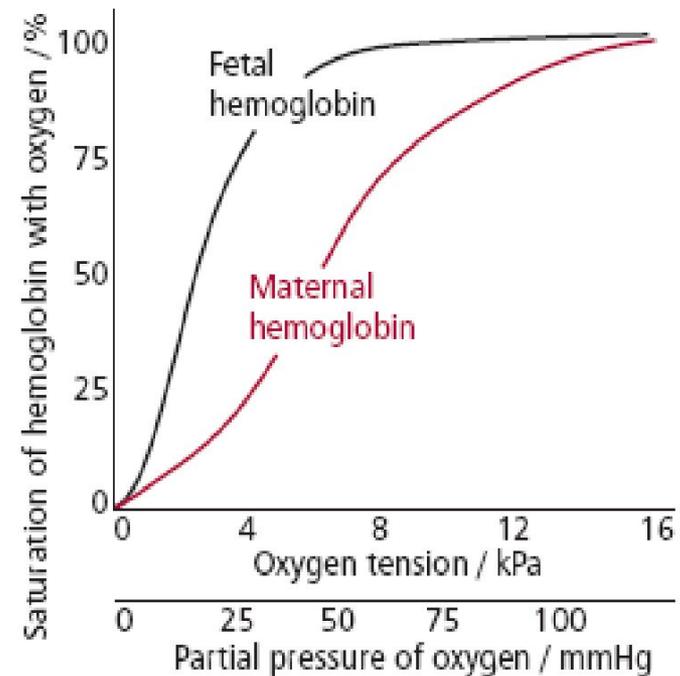
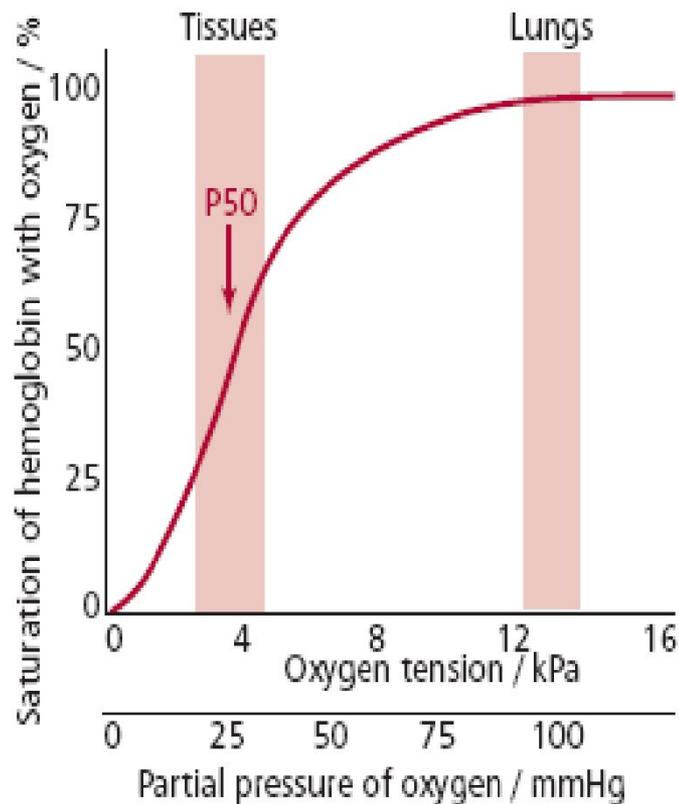
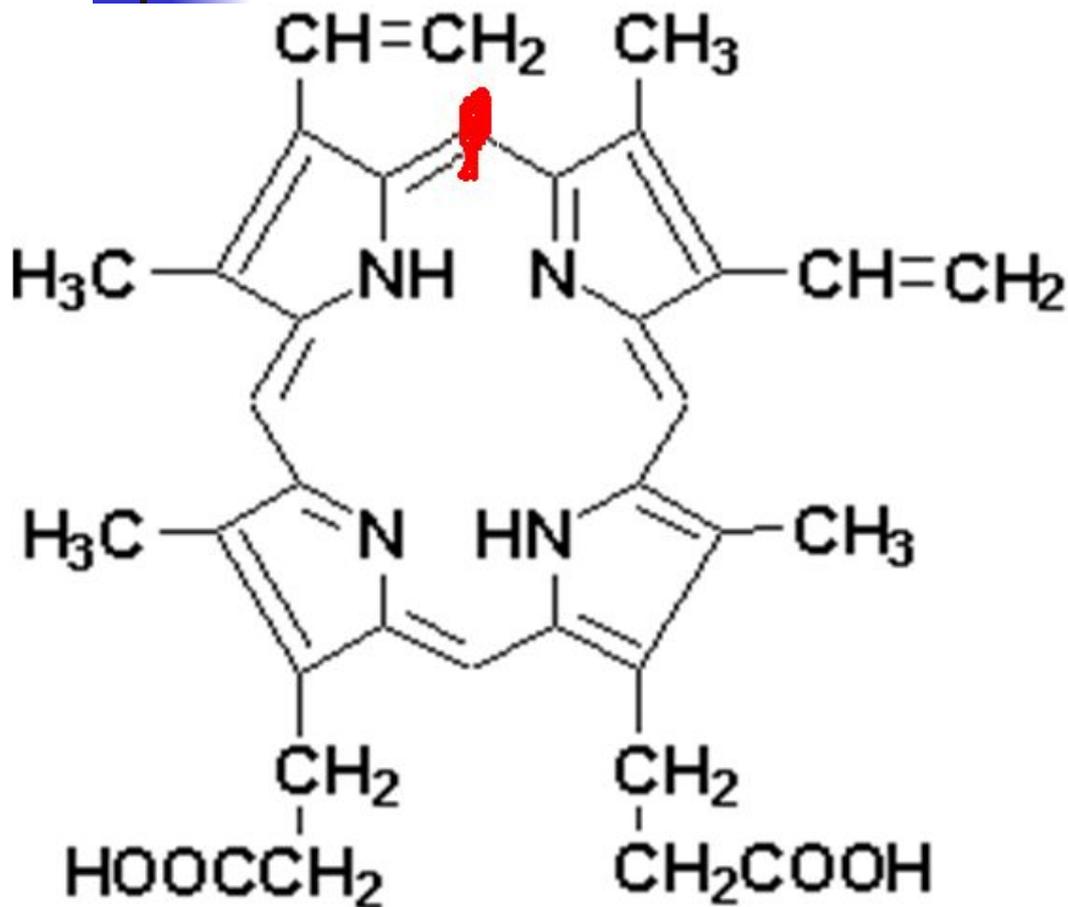


Figure 13.8 Graph showing that fetal hemoglobin has a higher affinity for oxygen than adult, maternal hemoglobin. This allows the fetus to obtain oxygen from the maternal blood.

Распад гема

- Ежедневный оборот **Hb** ~6 г/день.
- Сроки жизни **Э** ~120 дней определяет система **АОЗ**, при снижении ее активности возрастает конц. **MetHb** активирующего в **Э** *пероксидный стресс и гемолиз*
- **Гем** старых **Э**, цитохромов и др. гем-содержащих ферментов освобождаются в РЭС.
 - **Глобин** деградирует и АК реутилизируются
 - **Fe³⁺** реутилизируется

Распад гема

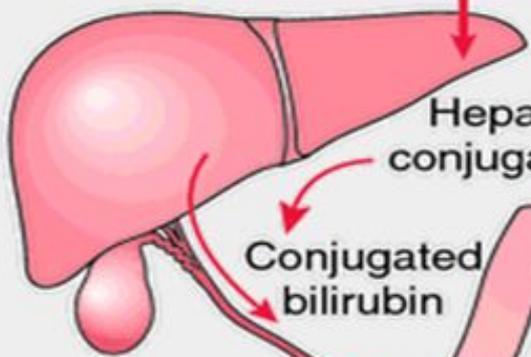


- Гем окисляется в ЭПС *гем оксигеназой* с разрывом цикла и образованием линейного тетрапиррола – *биливердина*, выделения **Fe³⁺** и **CO**.
- **CO** выделяется легкими и его количество отражает активность *гем оксигеназы* I.



Билирубин

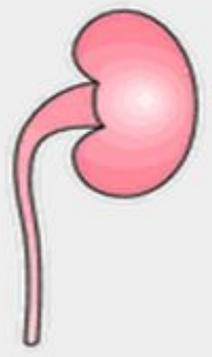
Билирубин-альбумин
(неконъюгированный)



Hepatic conjugation

Conjugated bilirubin

циркулирующий билирубин-глюкуронид



Бактериальная деконъюгация

Распад гема

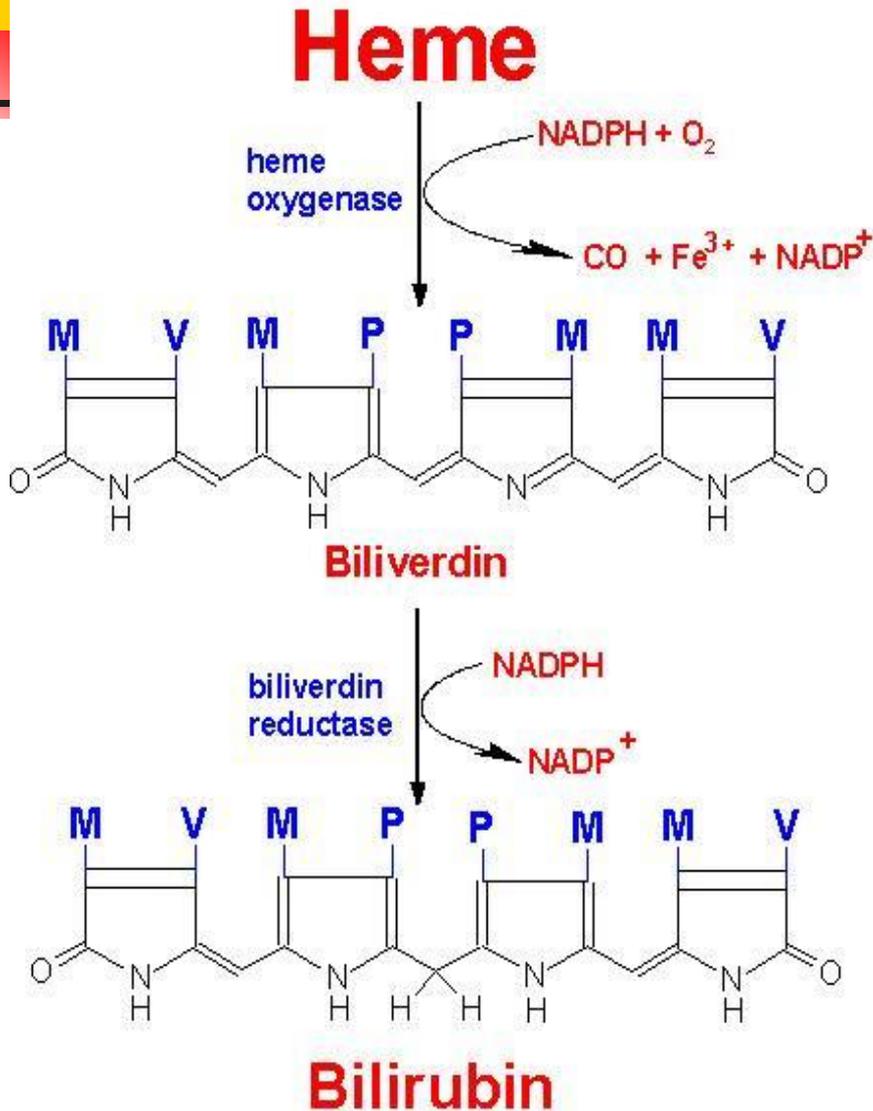
Источники гема:

- **Hb** эритроцитов
- Гем-протеиды (миоглобин, каталаза, цитохромы ДЦ и др)
- Гем-протеиды пищи

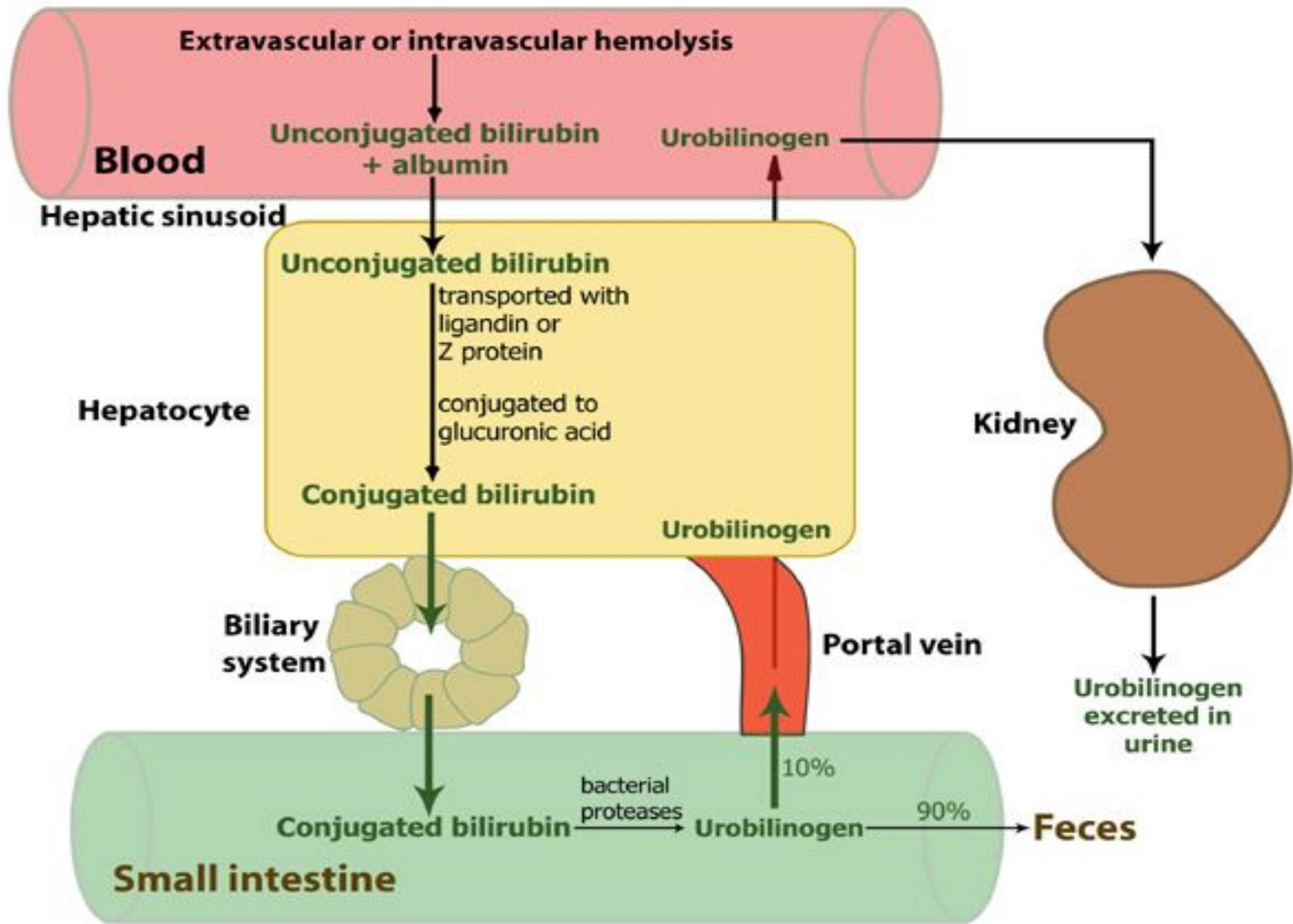
Образование билирубина

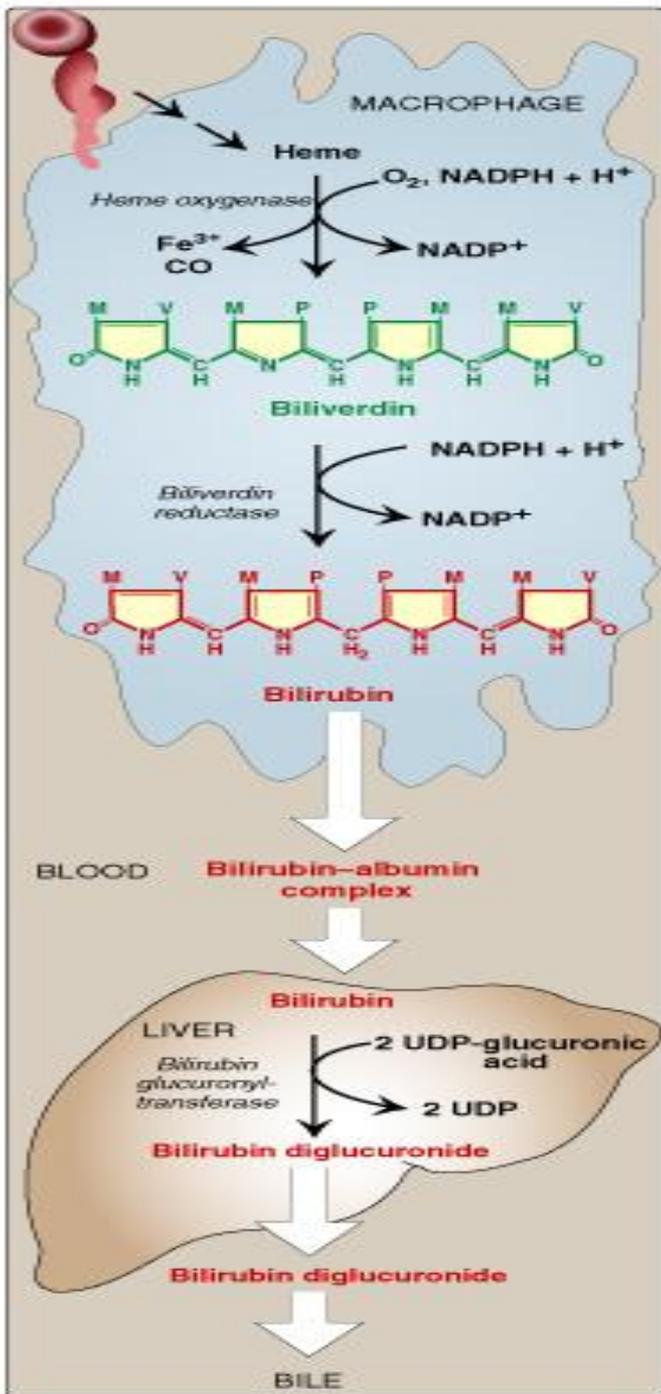
- Следующий этап CH_2 мост (между кольцами III и IV) **биливердина** восстанавливается **биливердин редуктазой** до **билирубина**, с соответствующим изменением цвета
 - Деградация гема отражается при прогрессирующем «цветении» гематом-синяков **темно-синий** → **красно-желтый** → **желтый**.
 - **Билирубин** гидрофобен поэтому транспортируется в виде комплекса с альбумином в печень, где подвергается дальнейшей деградации путем конъюгации с глюкуронидами.

Деградация гема



- **M= Метил,**
P= Пропионил
V= Винил





Most heme from RBCs (85%) - rest from turnover of cytochromes, p450s, immature erythrocytes.

RBCs last 120 days, degraded by reticuloendothelial system (RES) [liver and spleen].

Microsomal heme oxygenase hydroxylates methenyl bridge carbon and oxidizes Fe^{2+} to Fe^{3+} . Second reaction open ring and release methenyl carbon as CO .

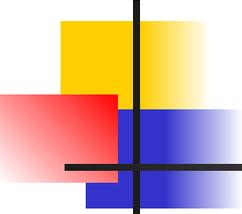
The resulting biliverdin is poorly soluble due to ring stacking and aggregation.

Serum albumin carries bilirubin in circulation, ligandin in hepatocytes.

Клинические аспекты метаболизма гема

- представлены в виде:
 - Дефектов ферментов и нарушения б/с гема – **порфирий**, которые сопровождаются увеличением содержания в крови и моче интермедиатов б/с гема .
 - Врожденные и приобретенные нарушения метаболизма и экскреции билирубина – гипербилирубинемии (желтухи).

Желтухи

- 
- Гипербилирубинемия проявляется в виде желтух – желтой пигментации кожи и слизистых.
 - В норме в кишечнике билирубин при участии бактерий превращается в **уробилиноген** (**мезобилиноген**), который выделяется с фекалиями.
 - Билирубин и продукты его катаболизма называются желчными пигментами.

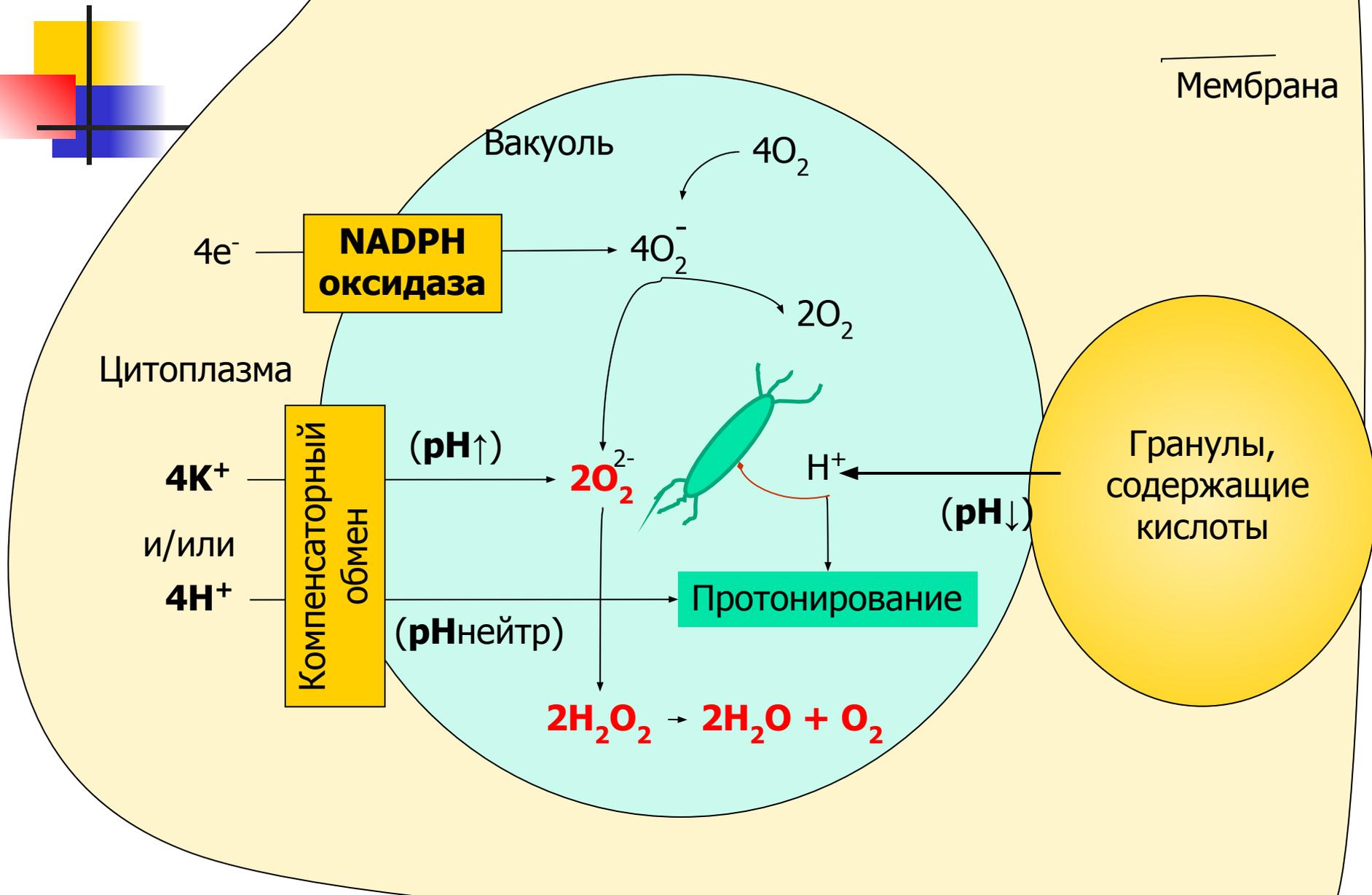
Нейтрофилы (гранулоциты) – полиморфноядерные лейкоциты:

- обладают выраженной способностью к фагоцитозу,
- Хорошо развитый, подвижный цитоскелет,
- Активное Мх и Мс - окисление
- Систему продукции NADPH (*пФП и др.*)
- Систему генерации АФК
- Богаты гранулами (*определяющие название*), в состав которых входят гидролазы - протеазы: *эластаза, коллагеназа или катепсин G* и гликозидазы: *лизоцим (мураминидаза)*, лизирующие бактерии

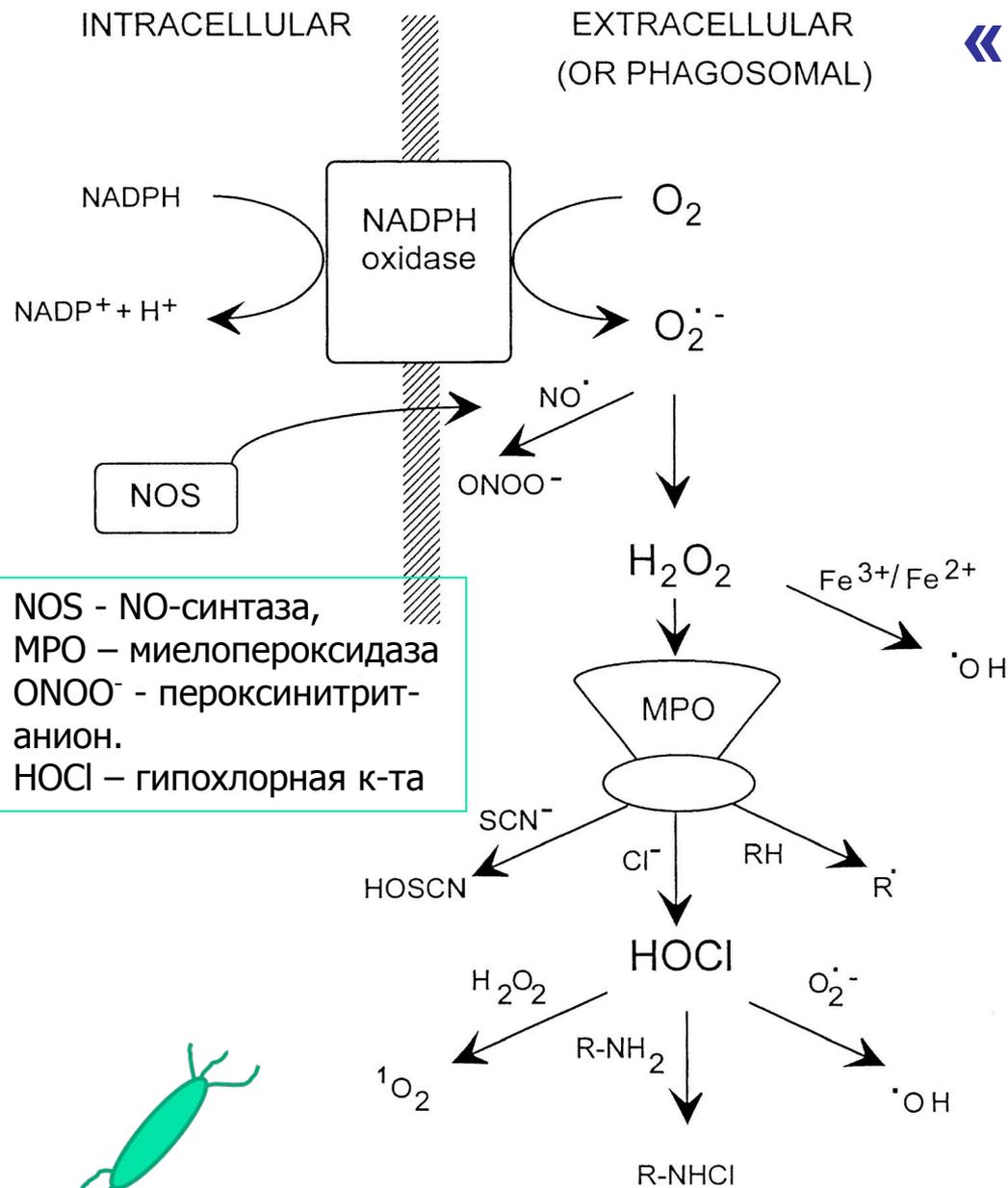
Фагоцит

Плазмалемма

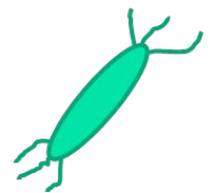
Мембрана



«Кислородный взрыв» и генерация АФК

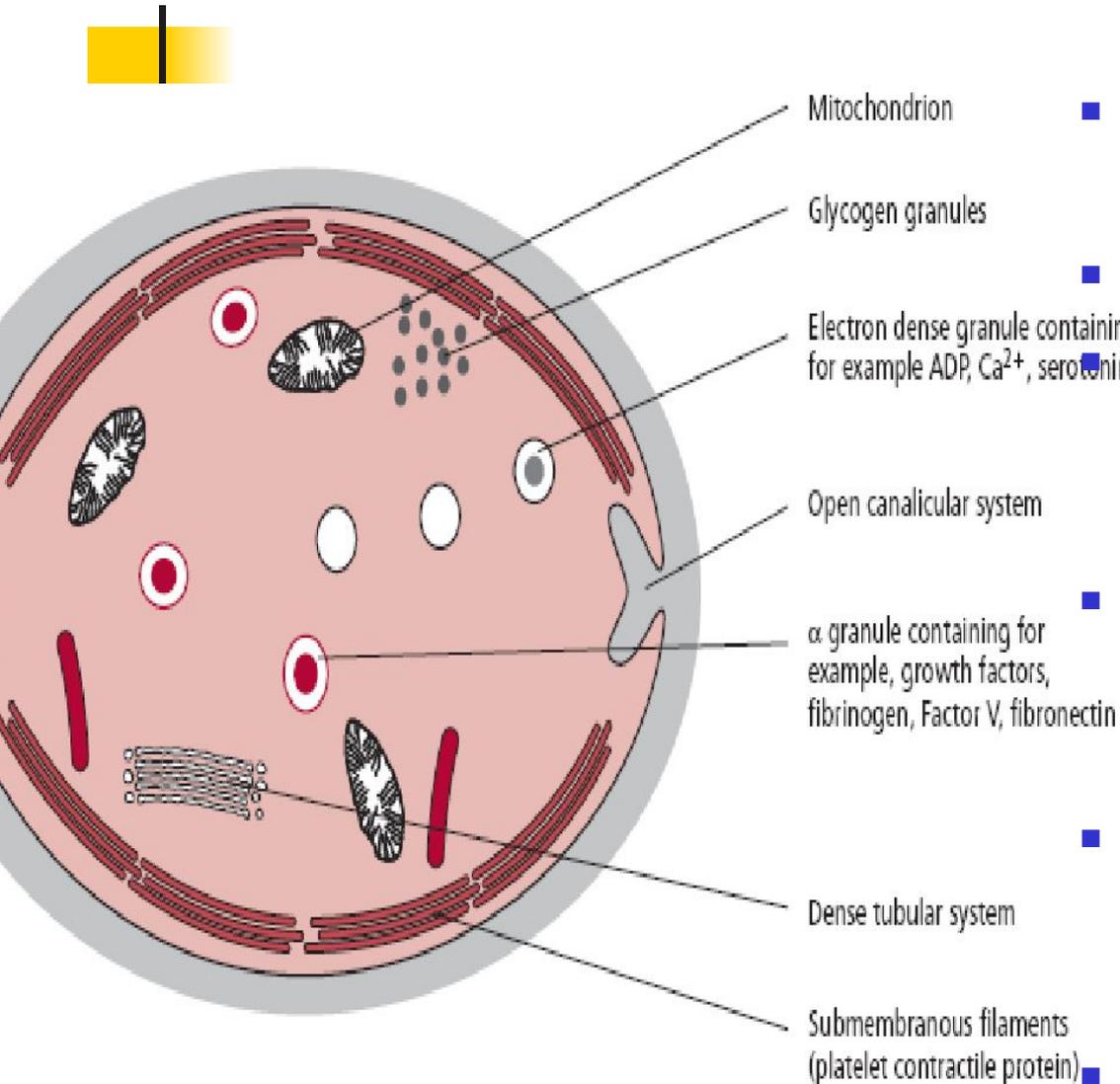


NOS - NO-синтаза,
MPO – миелопероксидаза
ONOO⁻ - пероксинитрит-анион.
HOCl – гипохлорная к-та



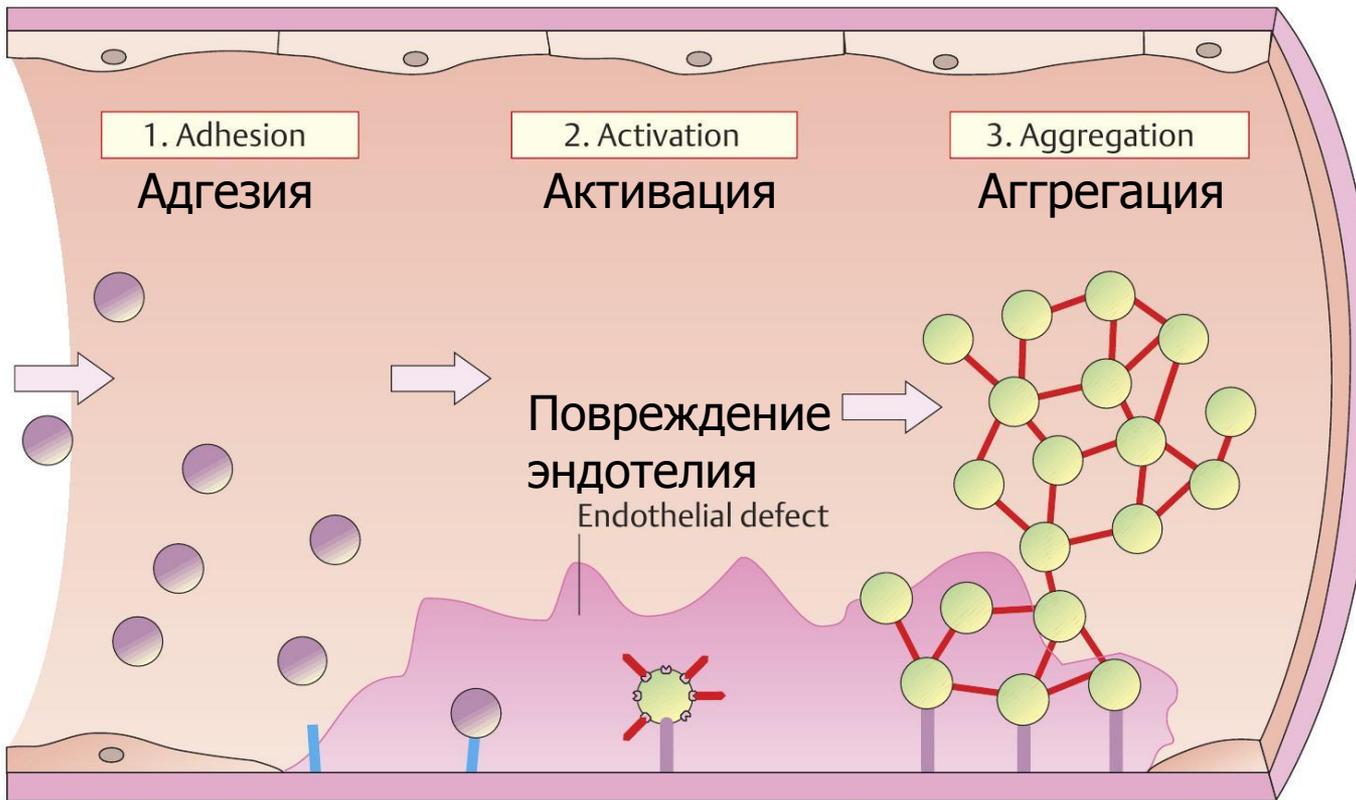
- В течение минуты после фагоцитоза резко возрастает потребление O₂ нейтрофилом
«*кислородный взрыв*»
- Образующиеся при этом **АФК** обладают выраженным бактерицидным действием.

Структура тромбоцита



- Тромбоцит имеет Мх (ЦТК, β -окисление ЖК, ДЦ).
- Депо гликогена.
- Субмембранные сократительные филаменты.
- Электроноплотные гранулы содержащие АДФ, Ca^{2+} , серотонин.
- Гранулы содержащие ФР, фибриноген, фибронектин, фактор V
- Ионные каналы.

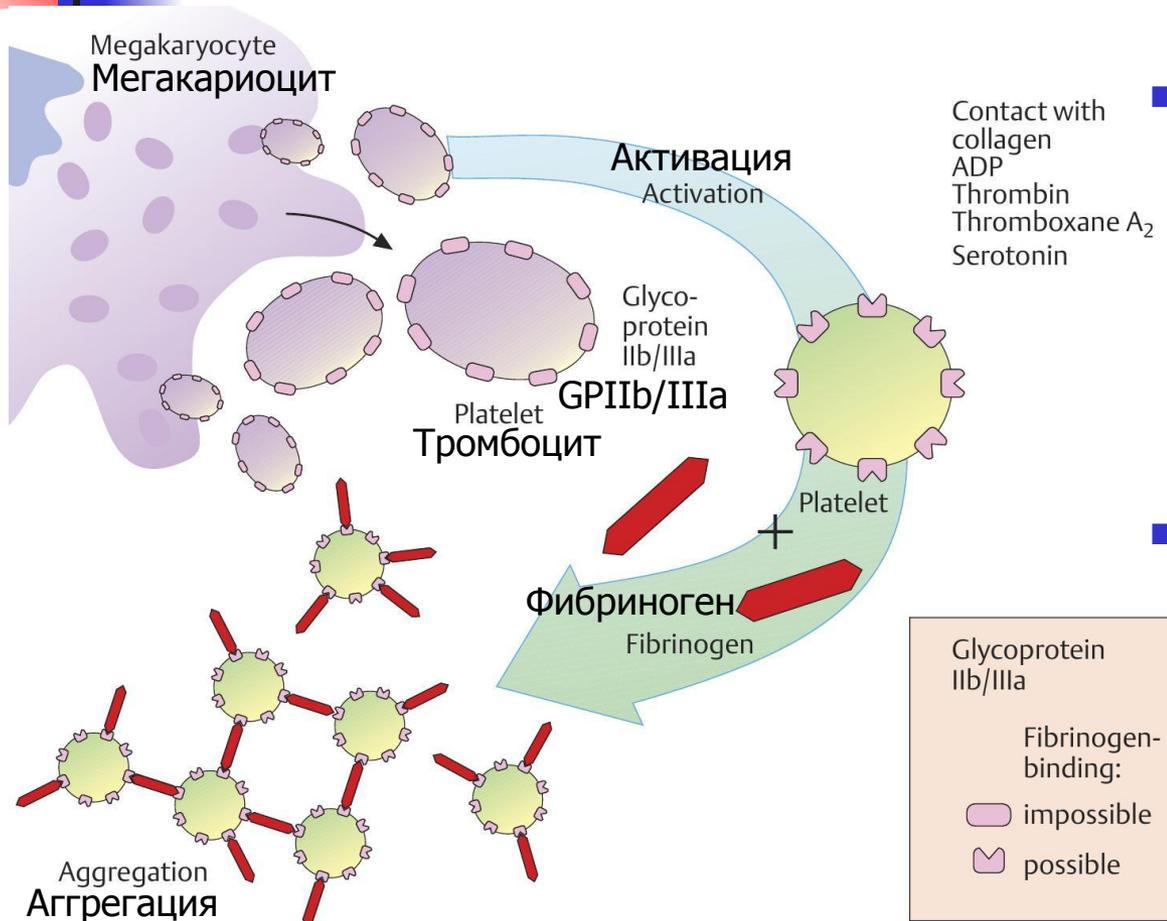
Тромбогенез



- Под слоем эндотелия находится коллаген с факторами фон Виллебранда. Связывание с ними вызывает активацию тромбоцитов.



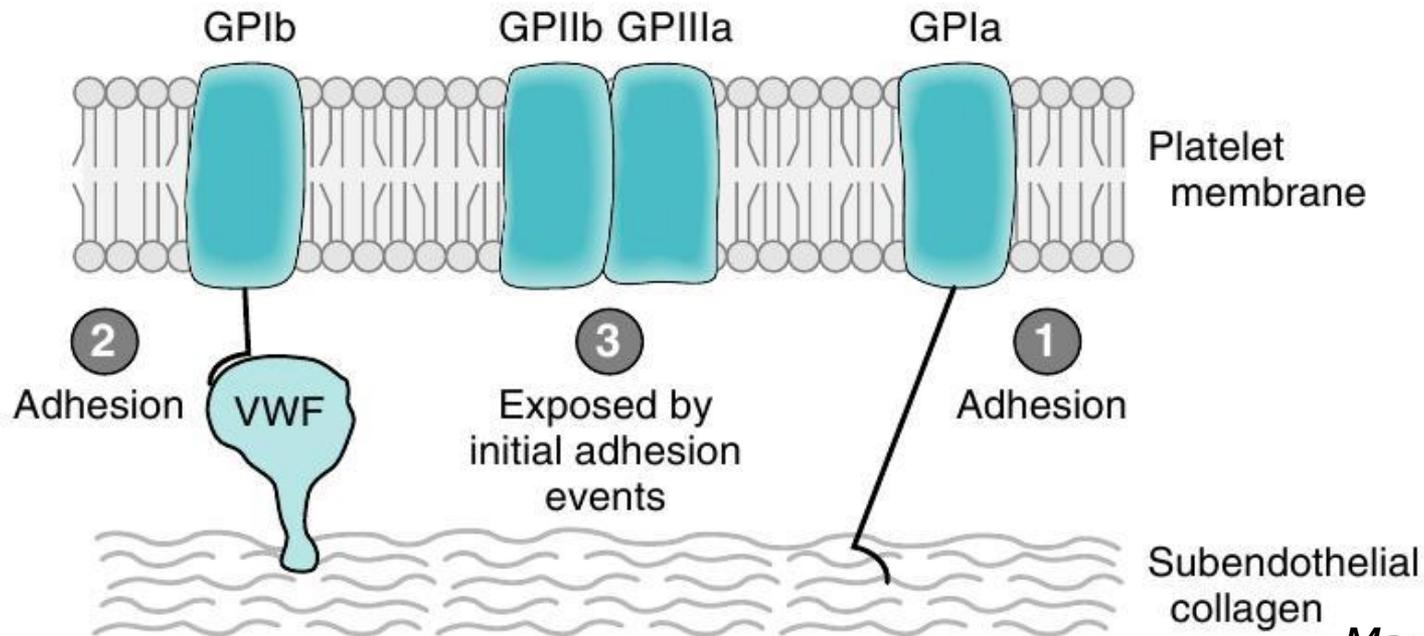
Агрегация тромбоцитов с помощью интегринов GPIIb/IIIa



- Активация тромбоцитов – способность связываться с фибриногеном.
- Активаторы – коллаген, АДФ, тромбин, тромбоксан А₂, серотонин.

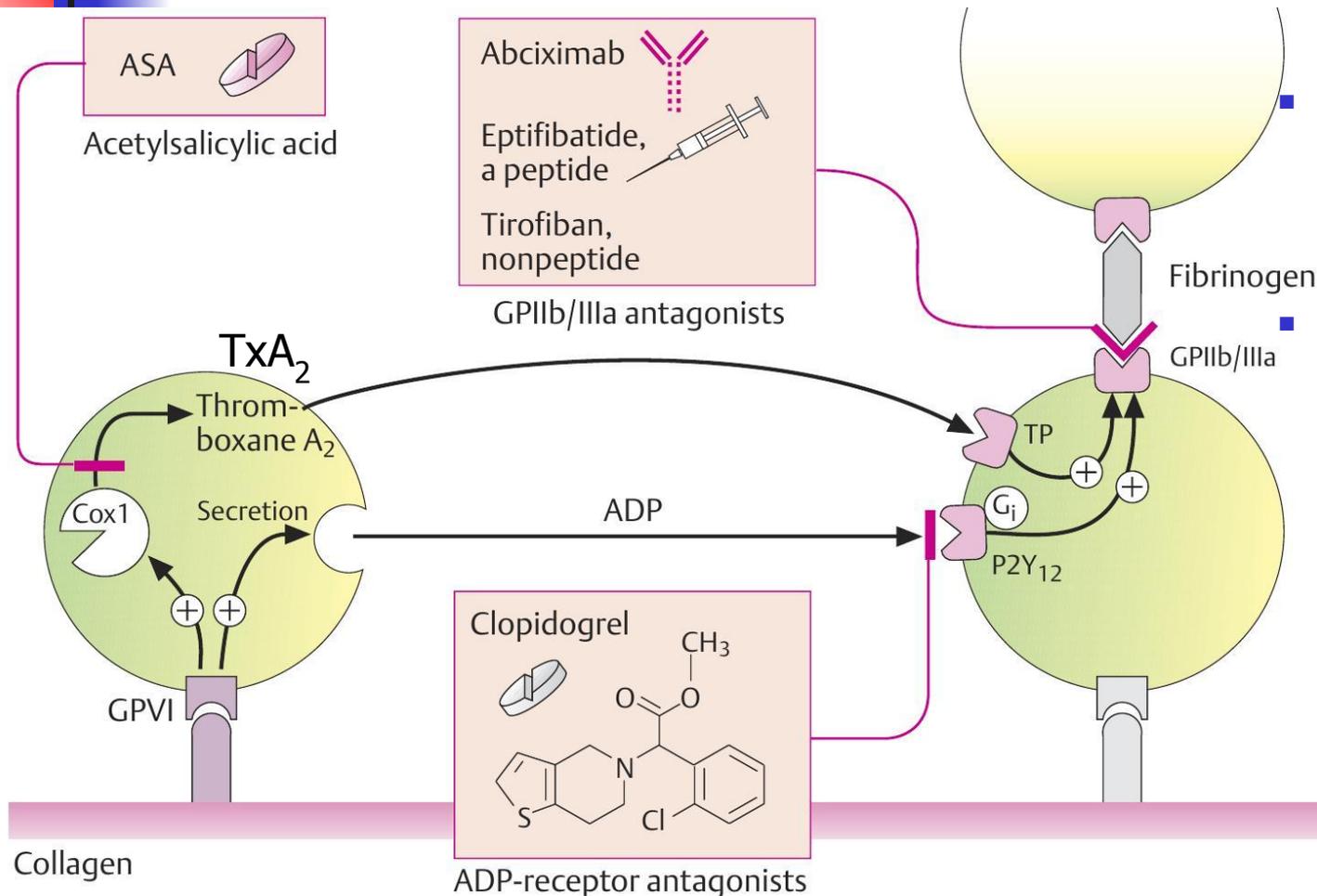
Адгезия тромбоцитов. Механизм активации

GP – гликопротеин

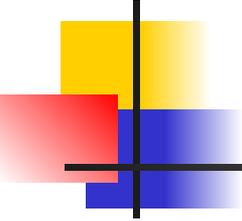


1. Связывание GPIa с коллагеном субэндотелиального слоя.
2. Связывание GPIb с ф. фон Виллебранда (vWF).
3. Экспонированный комплекс GPIIb/GPIIIa затем связывается с vWF и **фибриногеном**.

Регуляция агрегации тромбоцитов. Ингибиторы



Активация тромбоцитов и секреция TxA₂ и АДФ. Ингибируют агрегацию ацетилсалициловая кислота и ряд др. в-в.

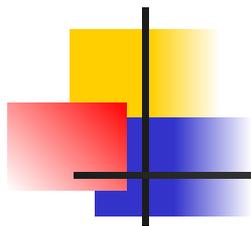


Патология

- Синдром Бернара-Сулье (GP1b)
Болезнь Виллебранда (vWF)

Заключение

- Защитные функции крови обеспечиваются лейкоцитами (нейтрофилами) и тромбоцитами.
- Ферментативные процессы лежат в основе всех процессов.



Спасибо за внимание!