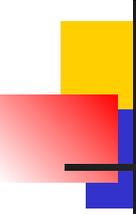




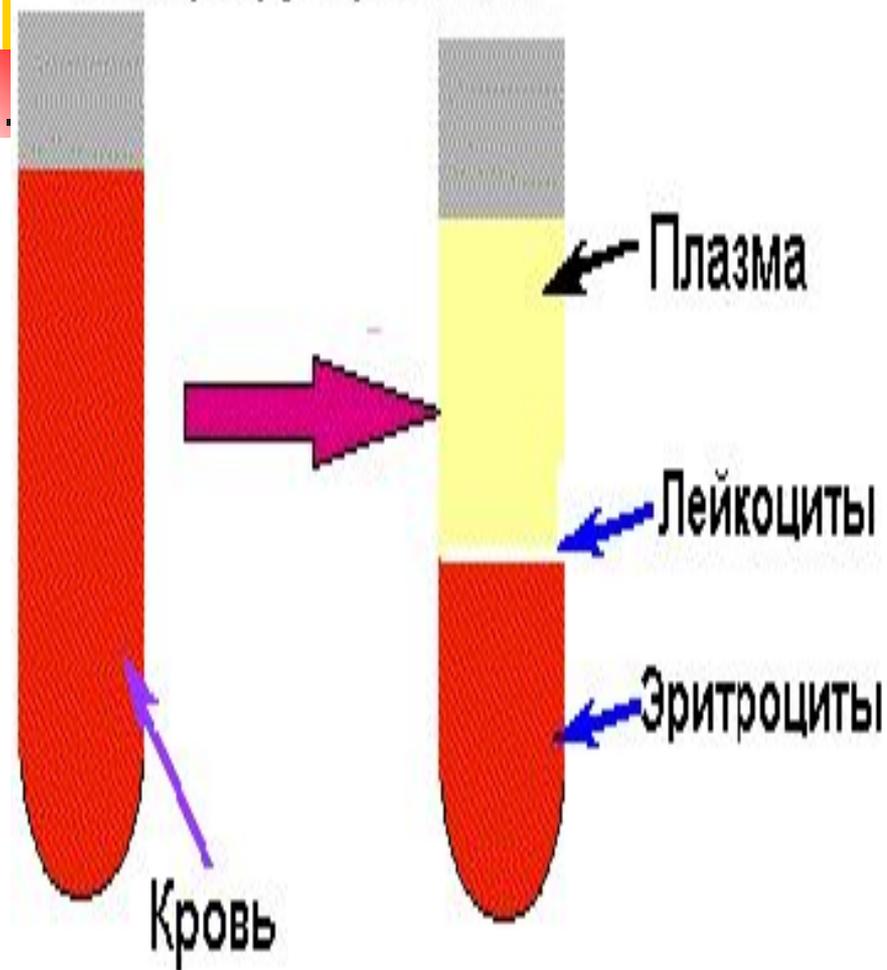
Биохимия крови - 1

д.м.н., проф. Грицук А. И.



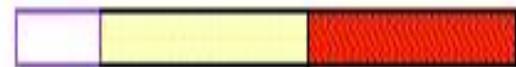
Внутренняя среда организма формируется совокупностью биологических жидкостей (кровь, лимфа, тканевая жидкость), омывающих клетки и структуры тканей. Эти жидкости функционально тесно взаимосвязаны, они постоянно обмениваются между собой клетками и молекулами.

центрифугирование

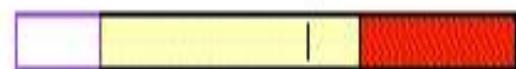


У мужчин 40-50 %

У женщин 36-45 %



Анемия



Полицитемия

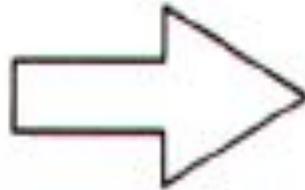


$$\text{Гематокрит} = \frac{\text{Объем клеток крови}}{\text{Общий объем}} \times 100$$

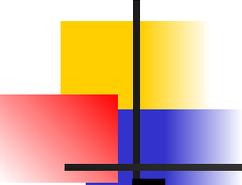
Химический состав плазмы



содержит



Функции крови

- 
- **Дыхательная** - транспорт кислорода от легких к тканям и CO_2 от тканей к легким
 - **Выделительная** - транспорт конечных продуктов метаболизма к органам выделения (почкам, легким, коже, потовым железам, кишечнику) для удаления.
 - **Защитная** (иммунитет, гемостаз и др.)
 - **Транспортная**
 1. **Трофическая** - транспорт субстратов (поступающих с пищей и метаболитов), обеспечивающих основные жизненные потребности клетки
 2. **Регуляторная** (КОС, водно-электролитный баланс, t° , метаболизма – транспорт БАВ и др.).

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

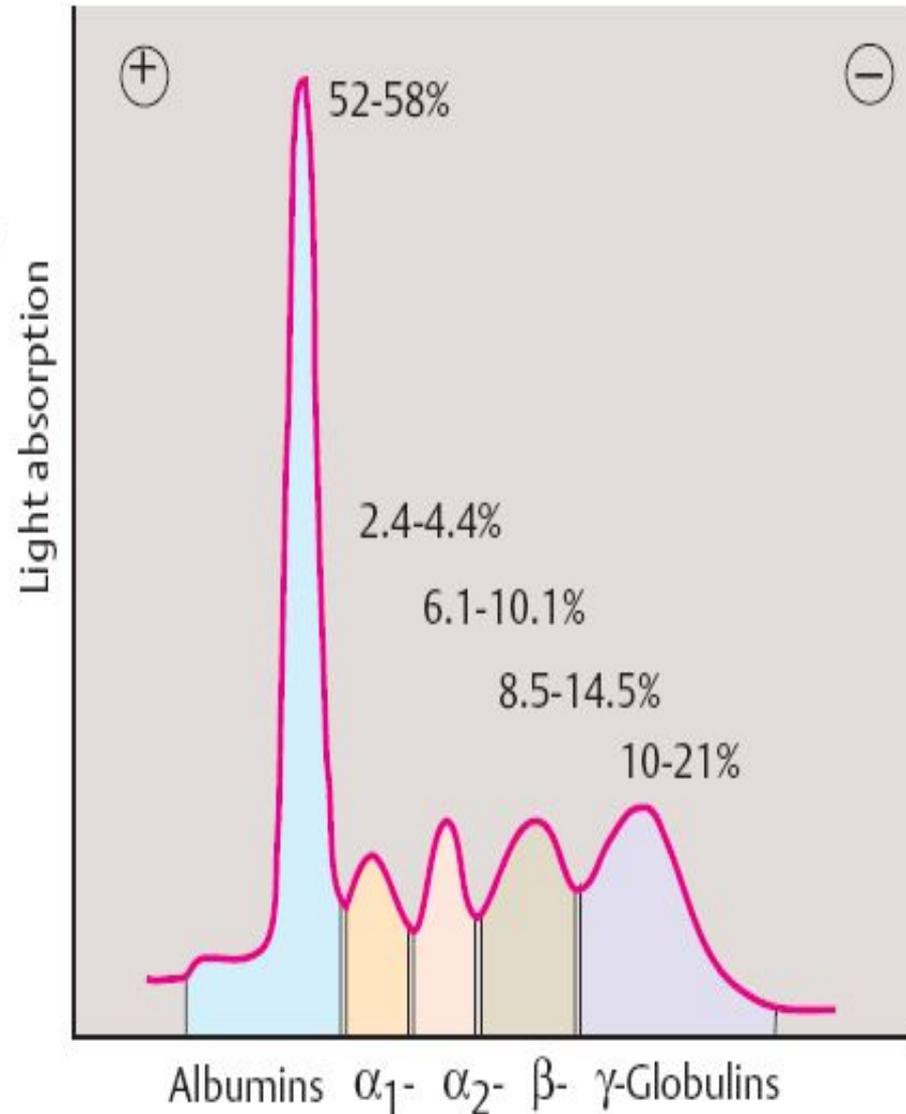
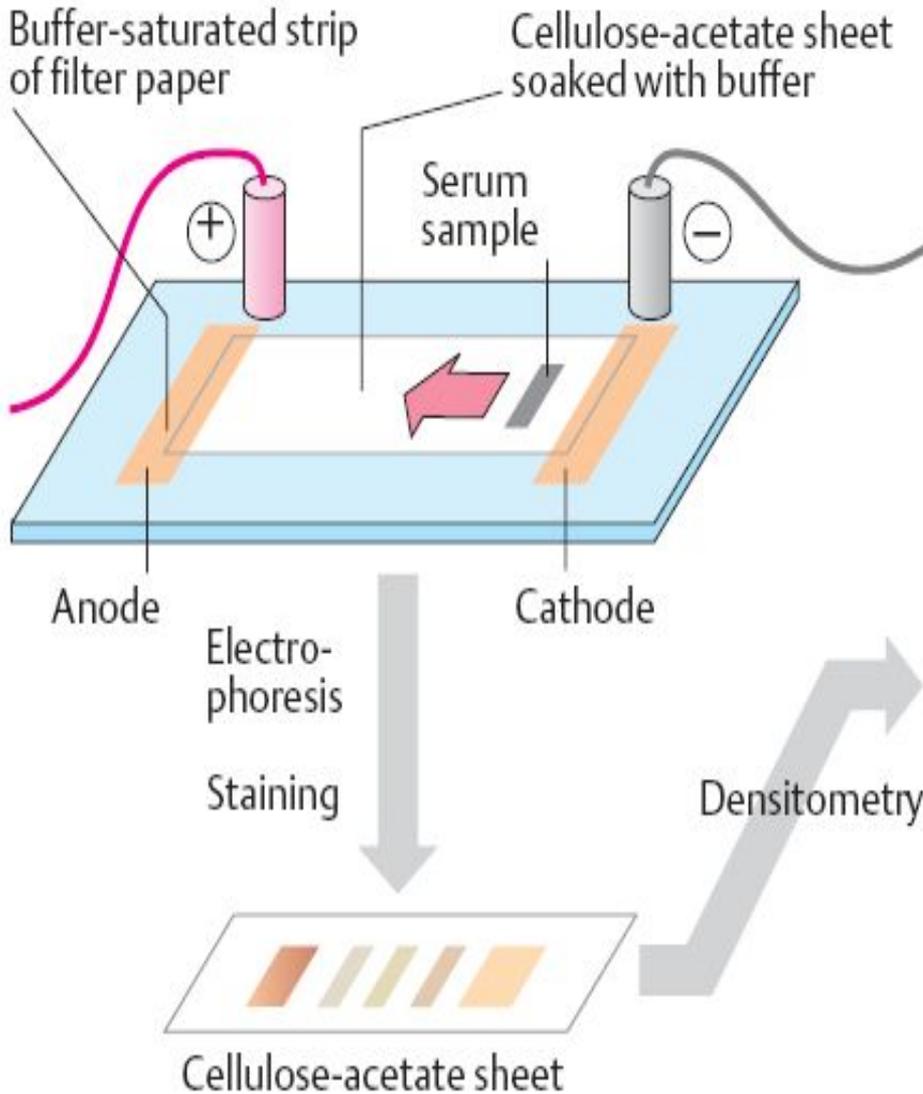
1. содержатся в плазме крови
2. синтезируются в печени или РЭС (реже в специализированных тканях)
3. проявляют основную функцию в пределах сосудистой системы
4. секретируются в кровь, а не попадают в результате повреждения тканей
5. находятся в плазме в концентрации большей, чем в других биологических 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. Это

Электрофорез белков плазмы

B. Electrophoresis

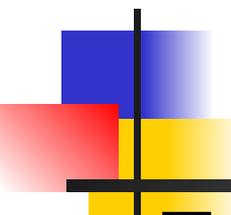


Белковые фракции

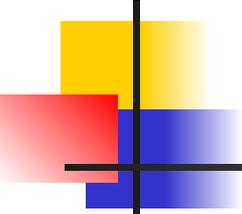
A. Plasma proteins

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

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*

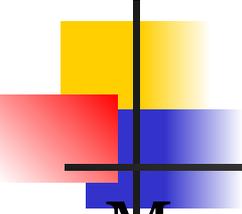
Остаточный азот



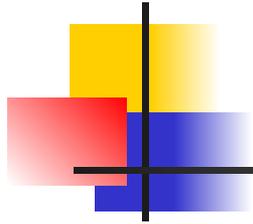
Все азотсодержащие вещества плазмы образуют общий пул азота, состоящий из:

- *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

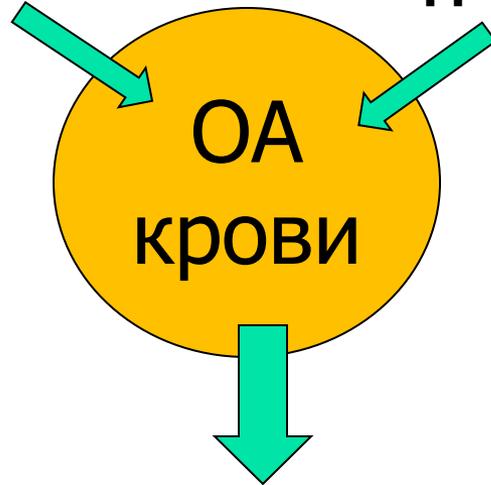


Уровень ОА зависит от:

- **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

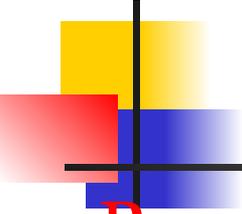
Обмен в-в

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 : $\text{pH} = -\lg [\text{H}^+]$,

сдвиг pH:

на **1ед** соответствует **10 кратному** изменению $[\text{H}^+]$

на **2ед** соответствует **100 кратному** изменению $[\text{H}^+]$

• pH внутри клеток $\text{pH}_i \sim 6.9 - 7.0$

• pH вне клеток $\text{pH}_o = 7.40 \pm 0.04$ $[\text{H}^+] \sim \underline{40 \pm 0.5 \text{ нМ/л}}$

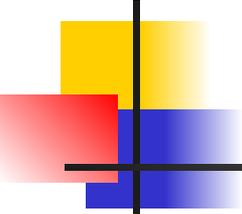
• **Кислоты** – доноры H^+

• **Основания** – акцепторы H^+

• **Щелочи** - доноры OH^-

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

pH – производное метаболизма

- 
1. За сутки организм *hs* образует **50-100 мМ** [H⁺] на 15-20л ВКЖ.
 2. Весь метаболизм представлен преимущественно обменом кислот (Г6Ф, ЖК, АК и др.):
 - Распад 100г Б дает ~ **30 мМ H₂SO₄** и **100 мМ H₂PO₄⁻**
 - Распад 100 г Л дает ~ **17 мМ H₂PO₄⁻**
 - постоянно образуется **ПВК, лактат, ацетат** и др.
 - накопление оснований идет значительно меньше: **ОН⁻, NH₃, основных АК, креатинина** и др, которые вместе с буферами стабилизируют pH

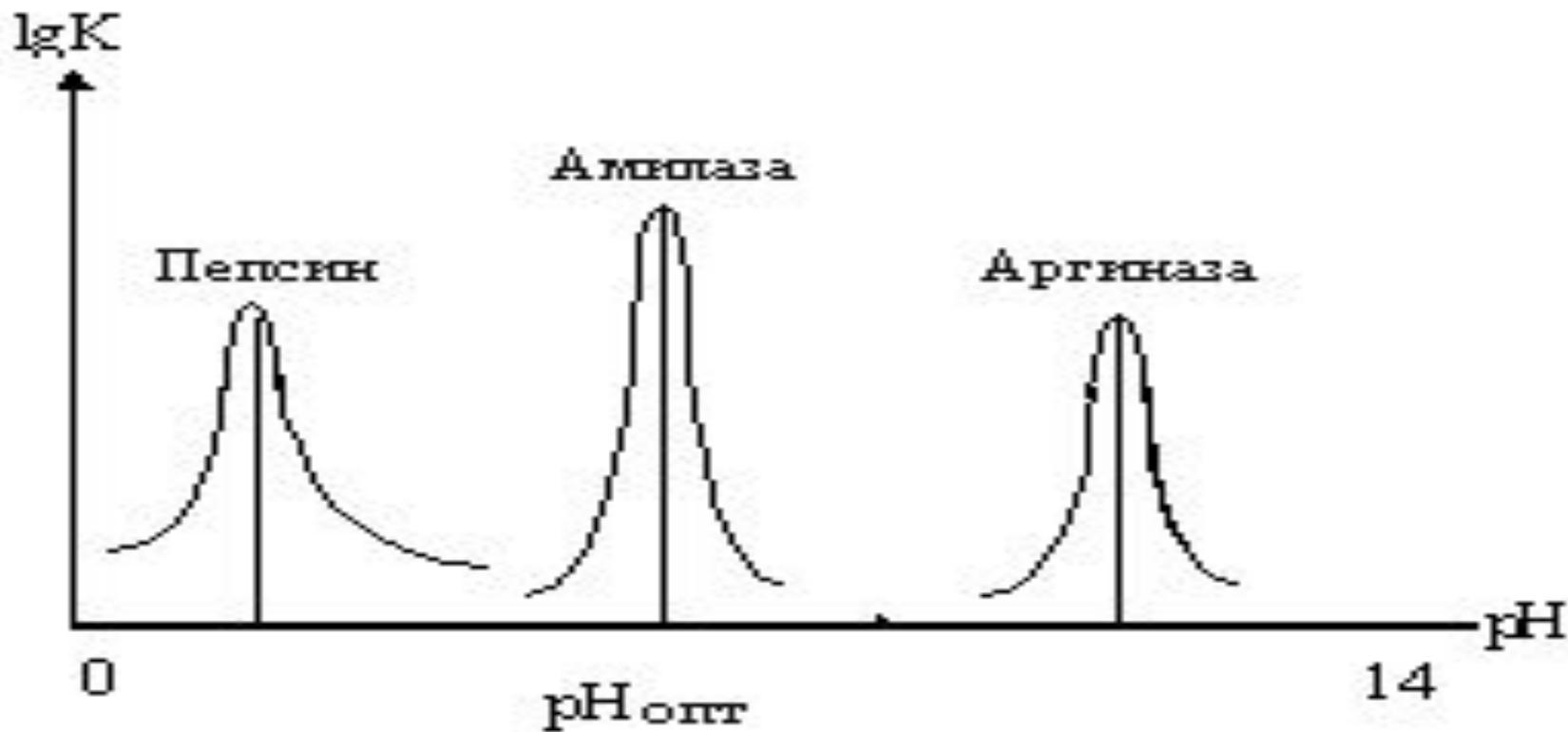


Стабильный pH - необходимое условие метаболизма

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

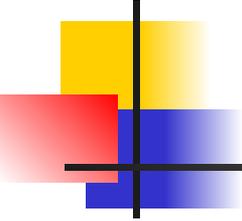
- 
-
- **Изоосмолярность** — осм. давление = **310 осМ/л** - *const*
любые изменения должны поддерживать эту константу
 - **Электронейтральность** — *(по 155 мМ-катионов и анионов)*
 - **Постоянство pH**

Диаграмма Гэмбла



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

Состав плазмы крови

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*

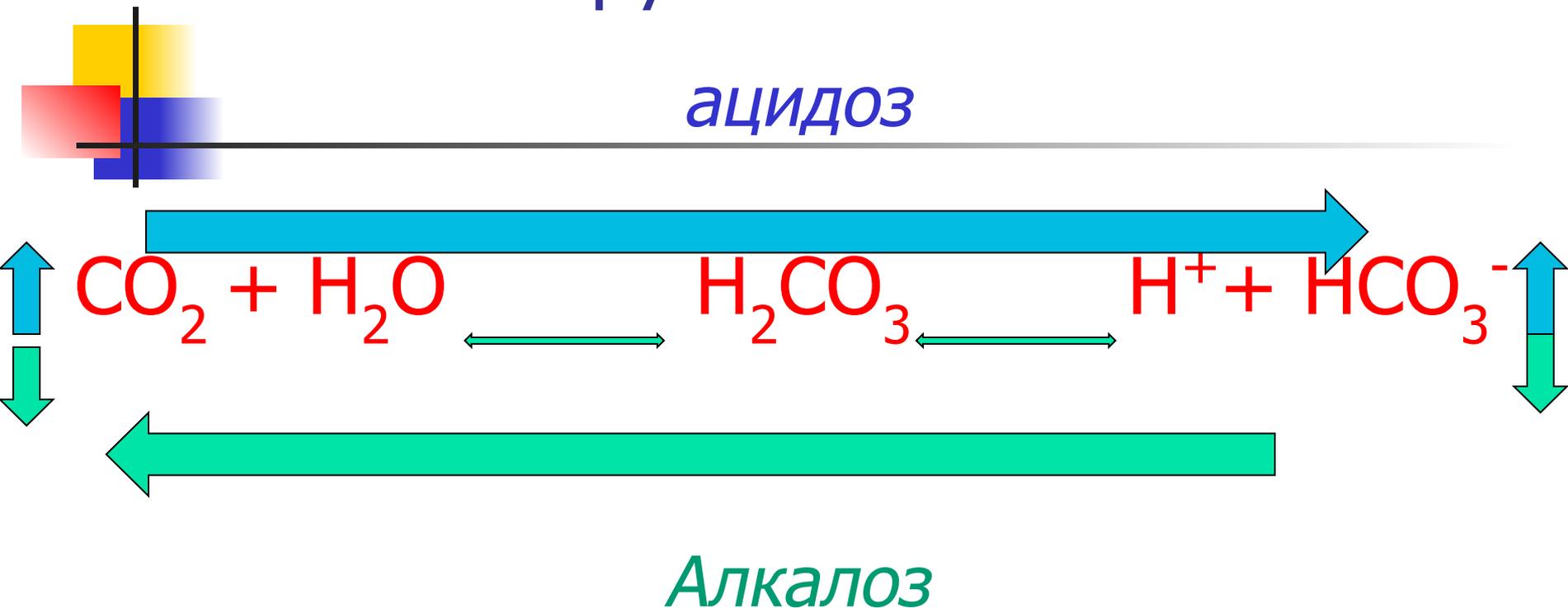
По этиологии:

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

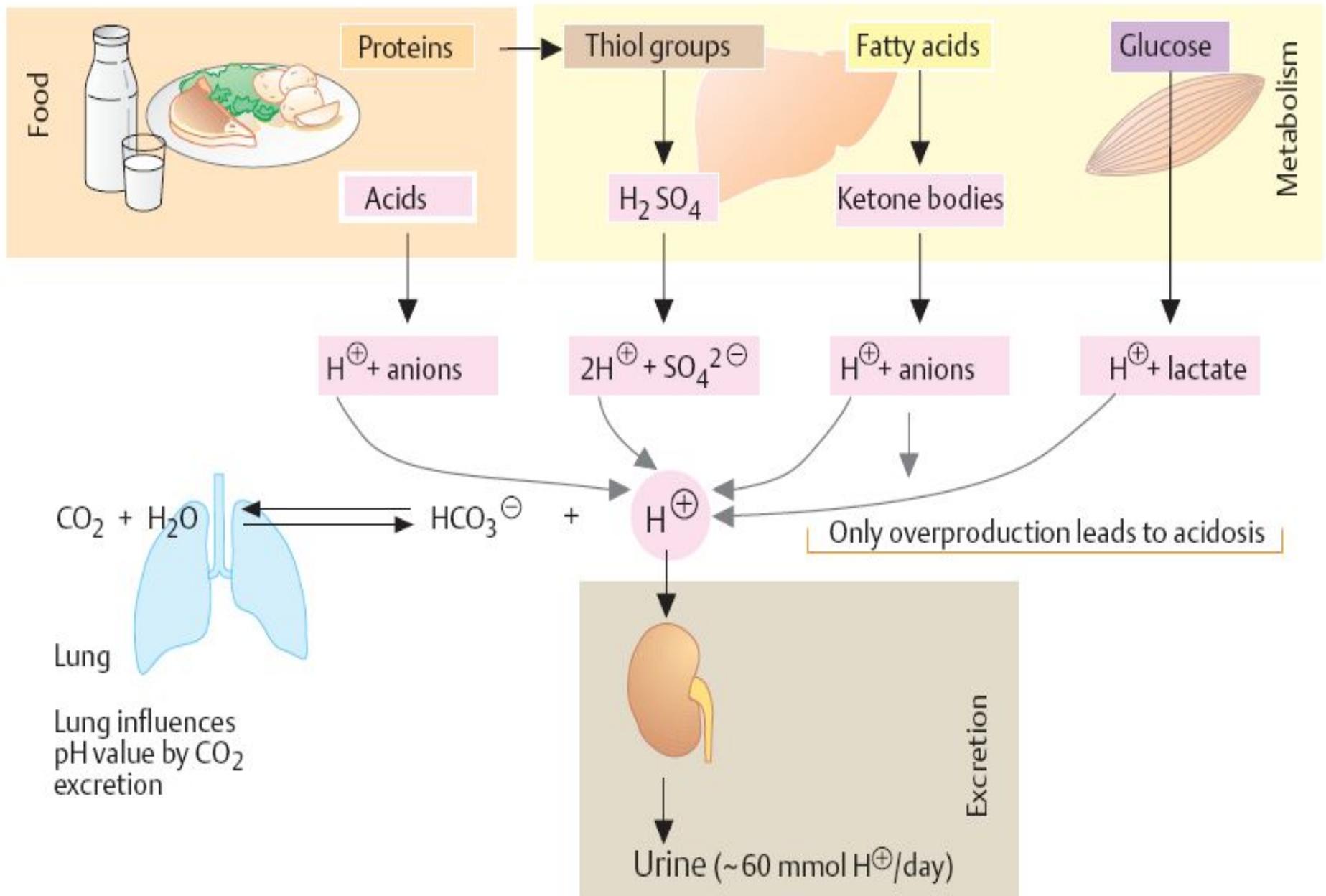
Если этих респираторных механизмов недостаточно, то активируются др. экскреторные системы.

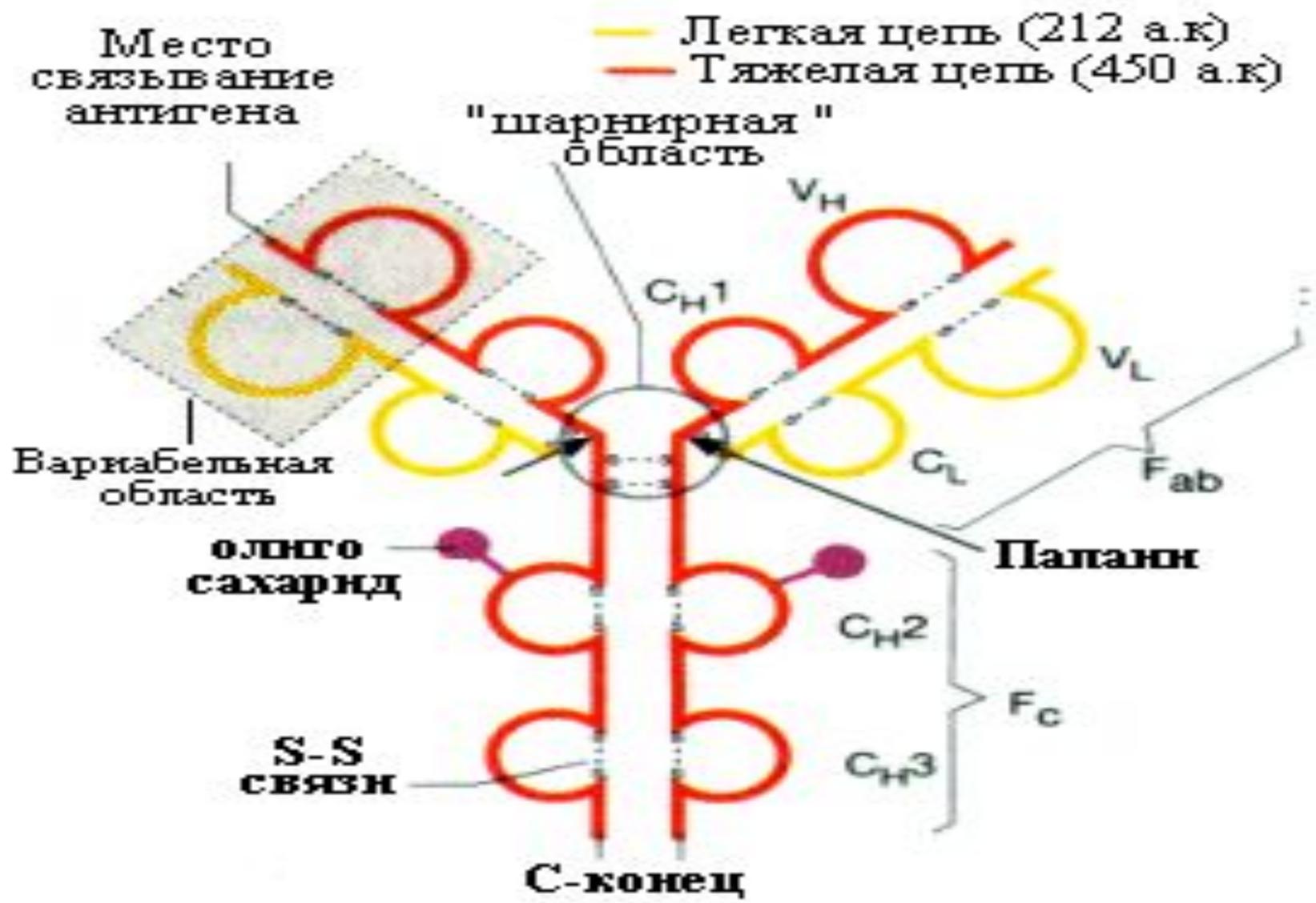
- В печени снижение рН ингибирует биосинтез мочевины.



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

B. Acid-base balance





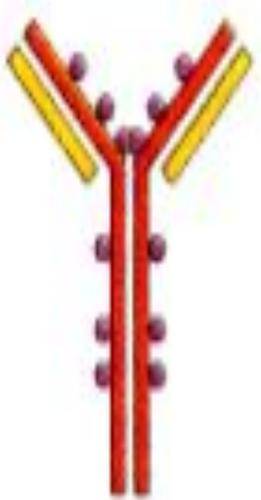
IgA
360-720 kDa



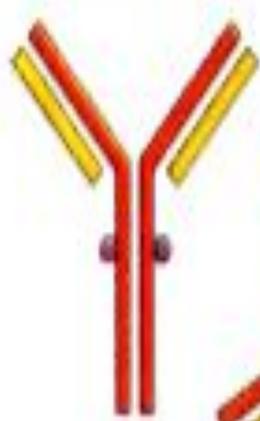
IgD
172 kDa



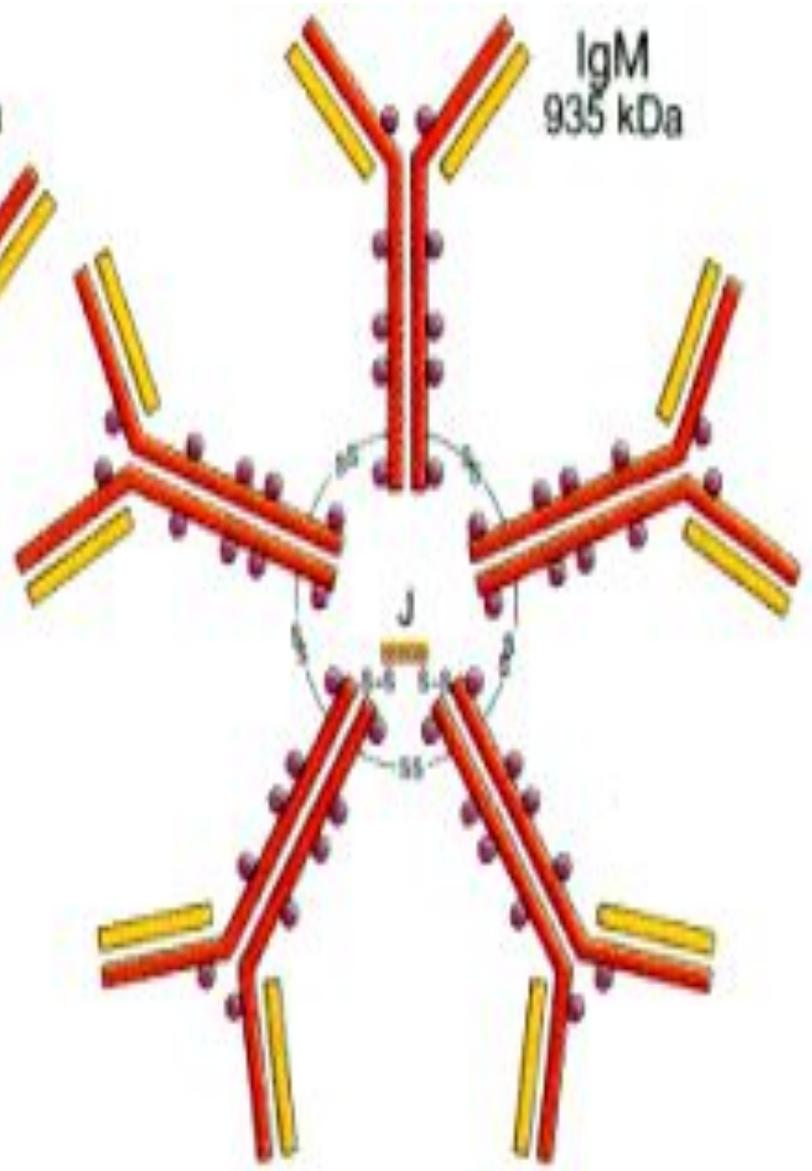
IgE
196 kDa

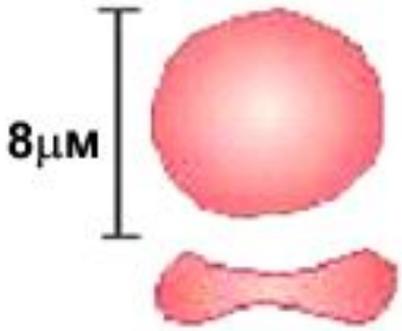


IgG
150 kDa



IgM
935 kDa

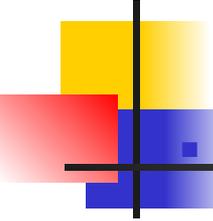




Эритропоэтин (Эпо)

- **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. Тип вторичного посредника и специфичные гены к настоящему времени точно 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.

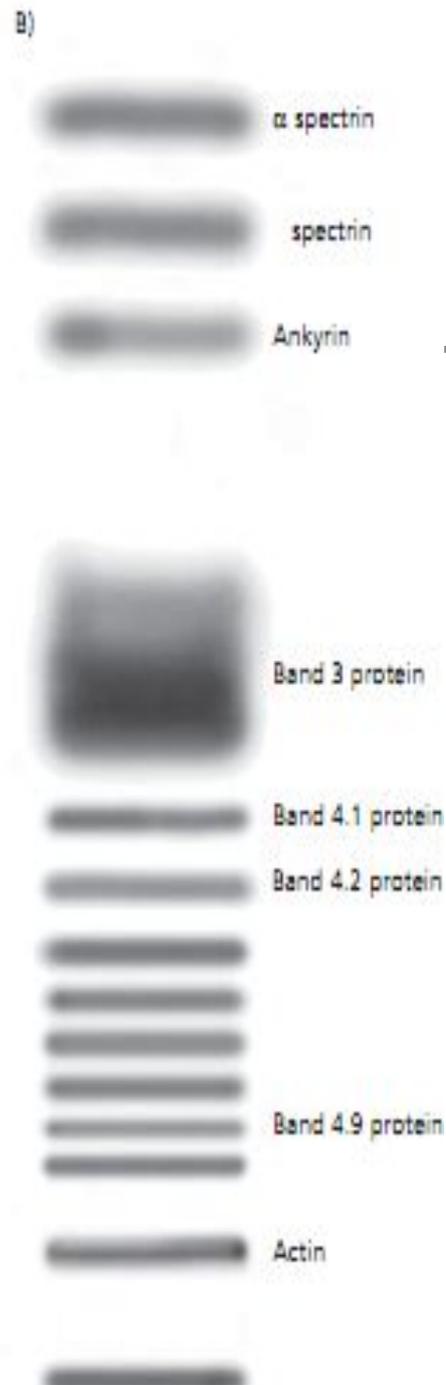
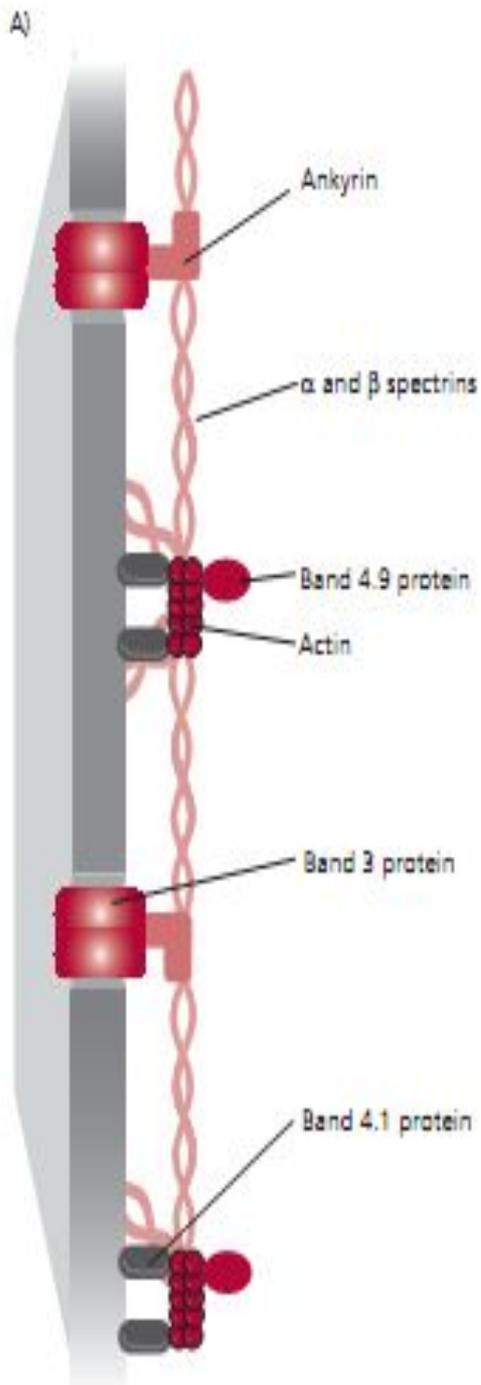
- Увеличение кол-ва Э в крови называют полицетемией, снижение – анемией.

Цитоскелет Э



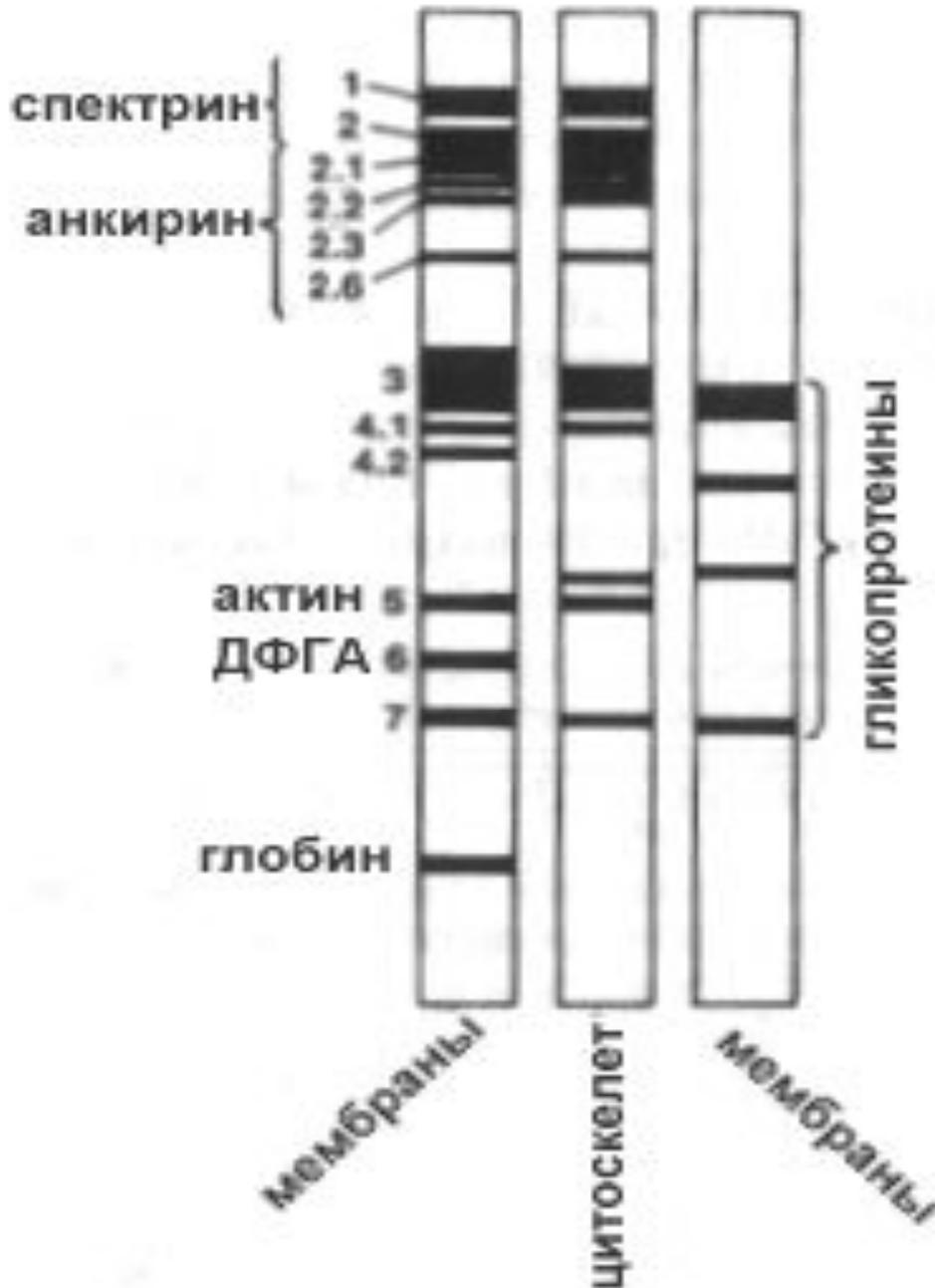
Белки

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.

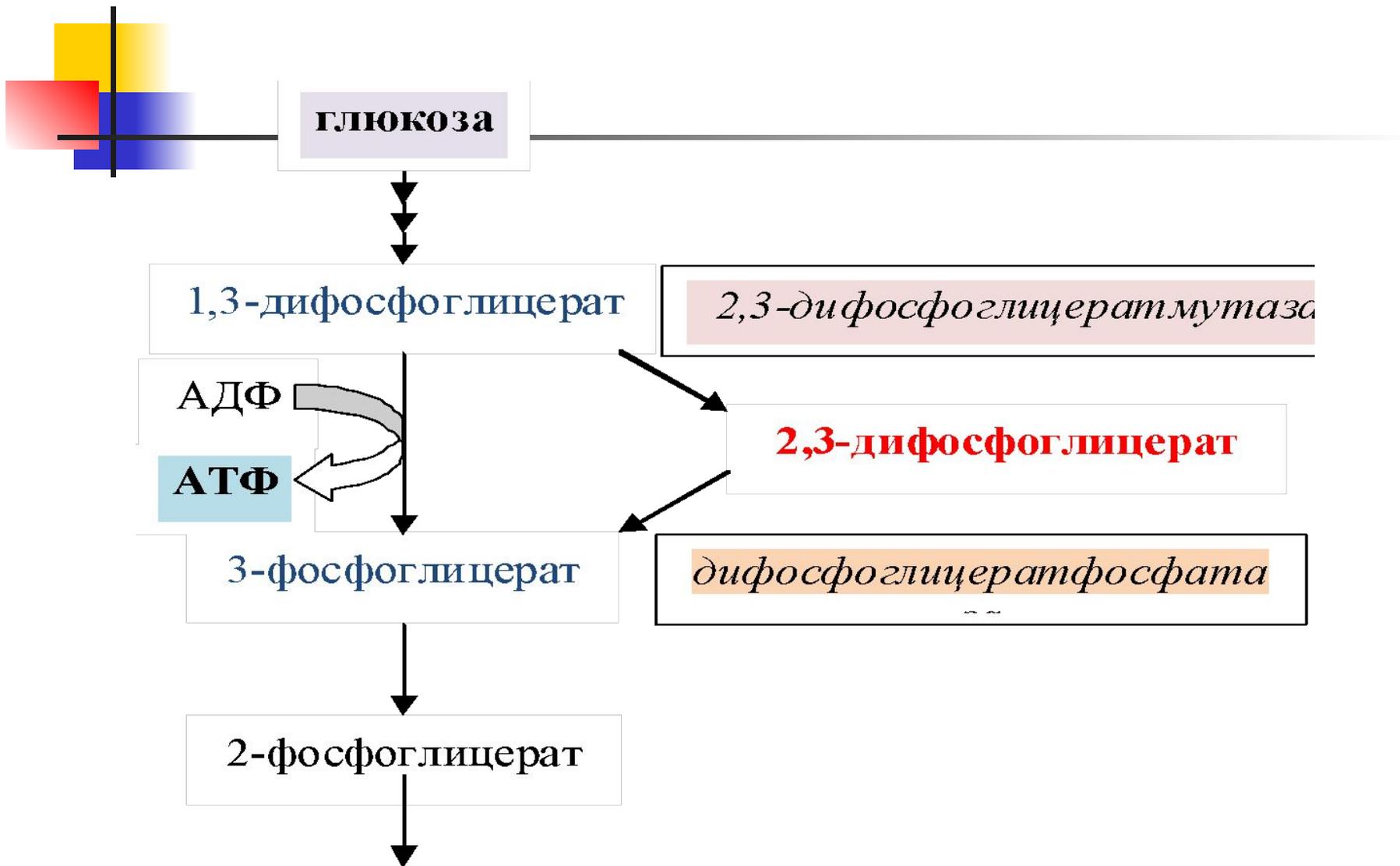
3. анкирин 3 обеспечивает, связь спектрина с цитозольным концом белка полосы 3 с бислоем ФЛ

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

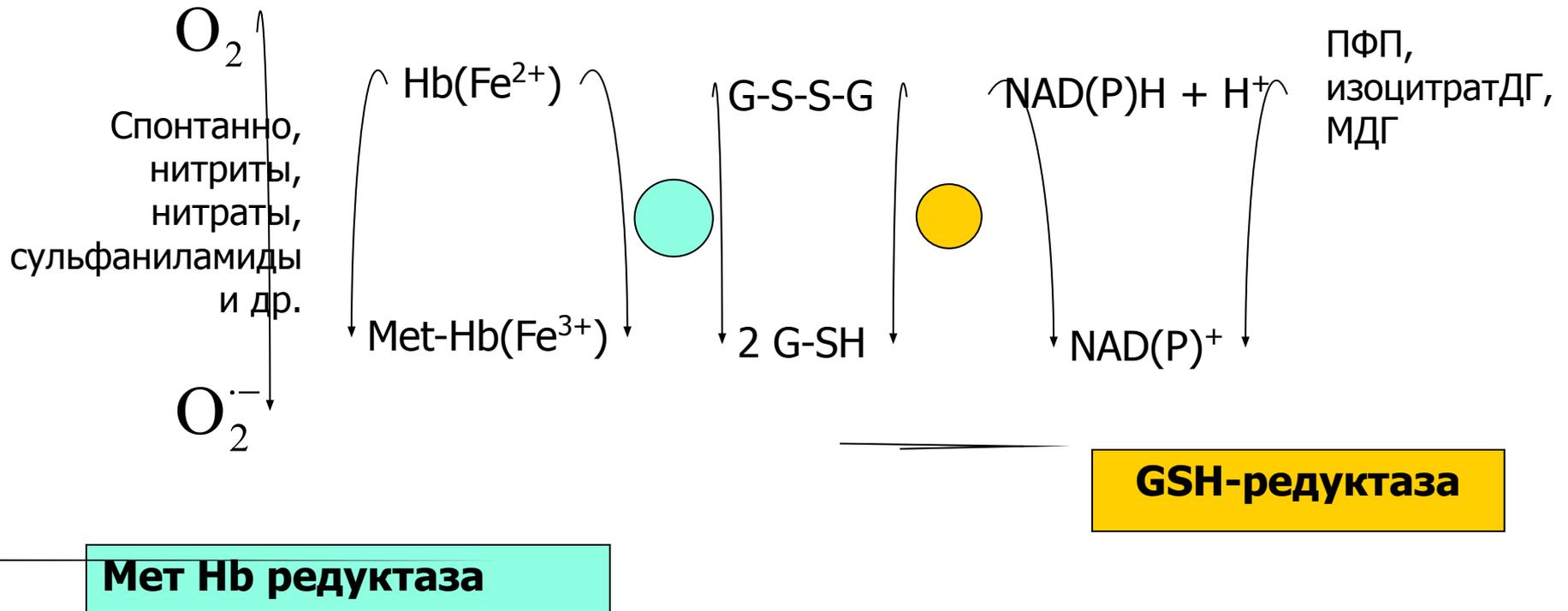
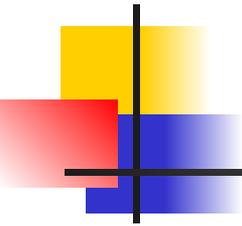
Метаболизм глюкозы в Э

- 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)

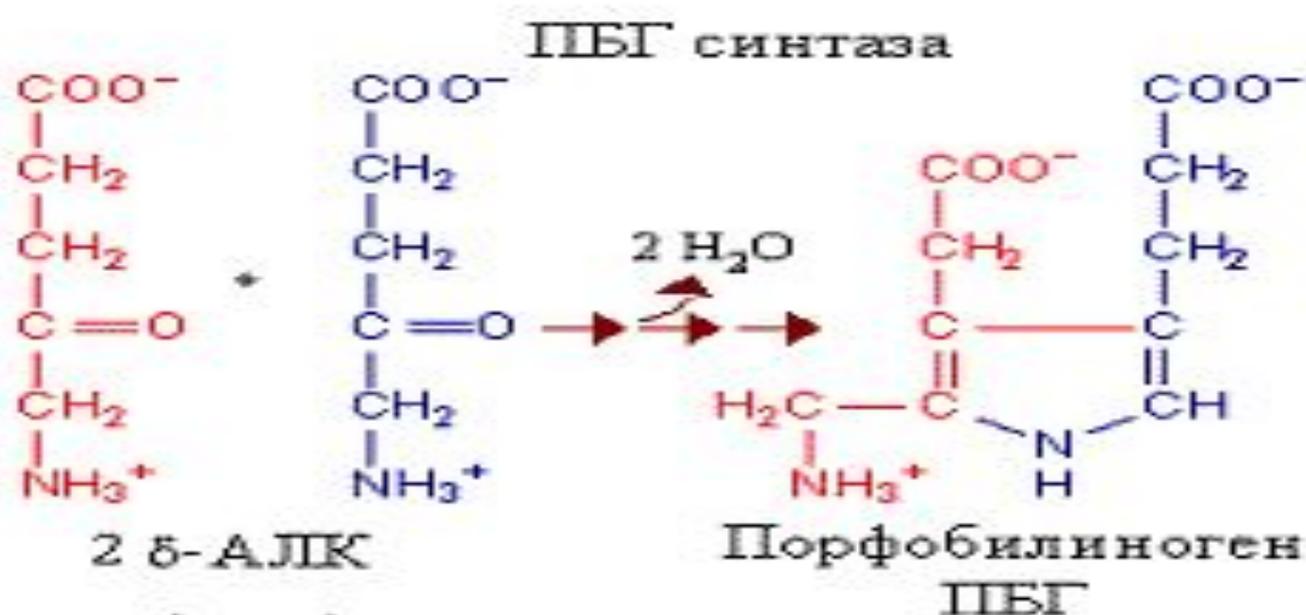
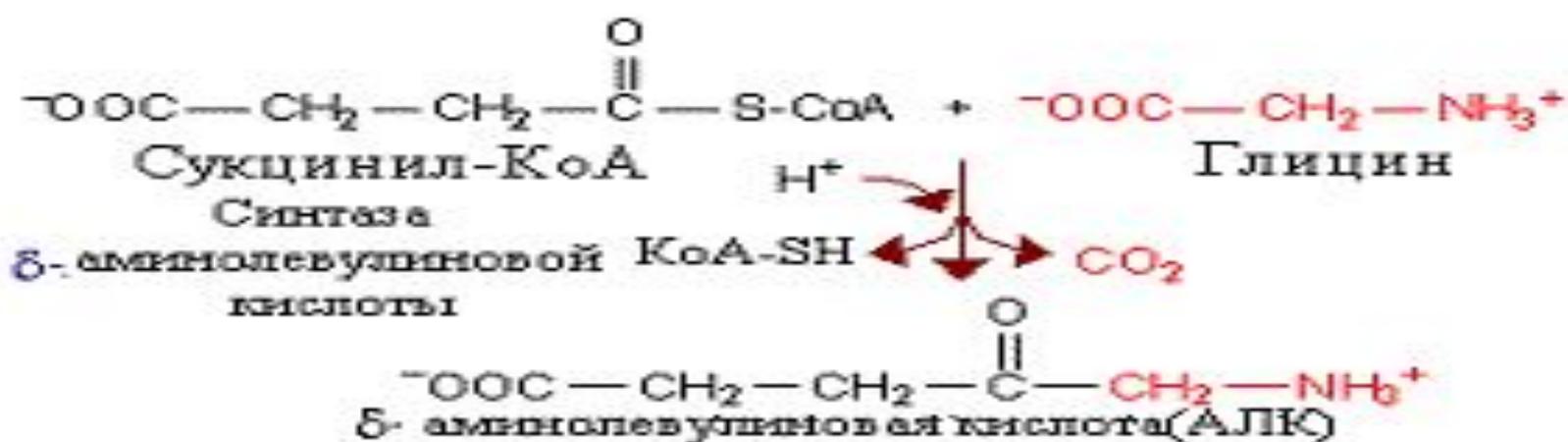


Мет Hb редуктазная система Э

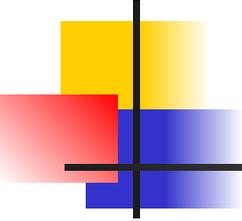


Синтез порфобилиногена и гема

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

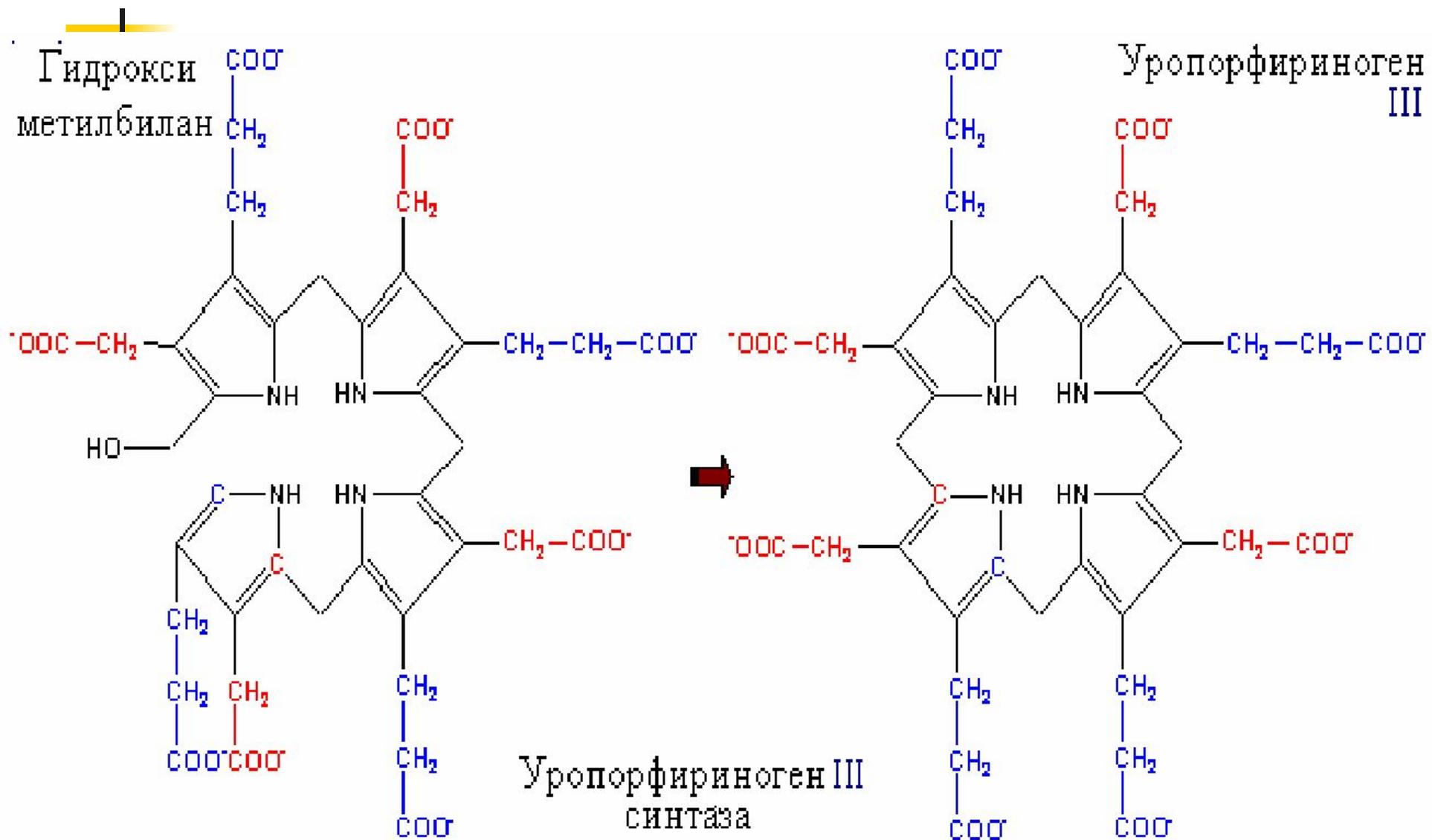


Синтез порфобилиногена и гема (прод)

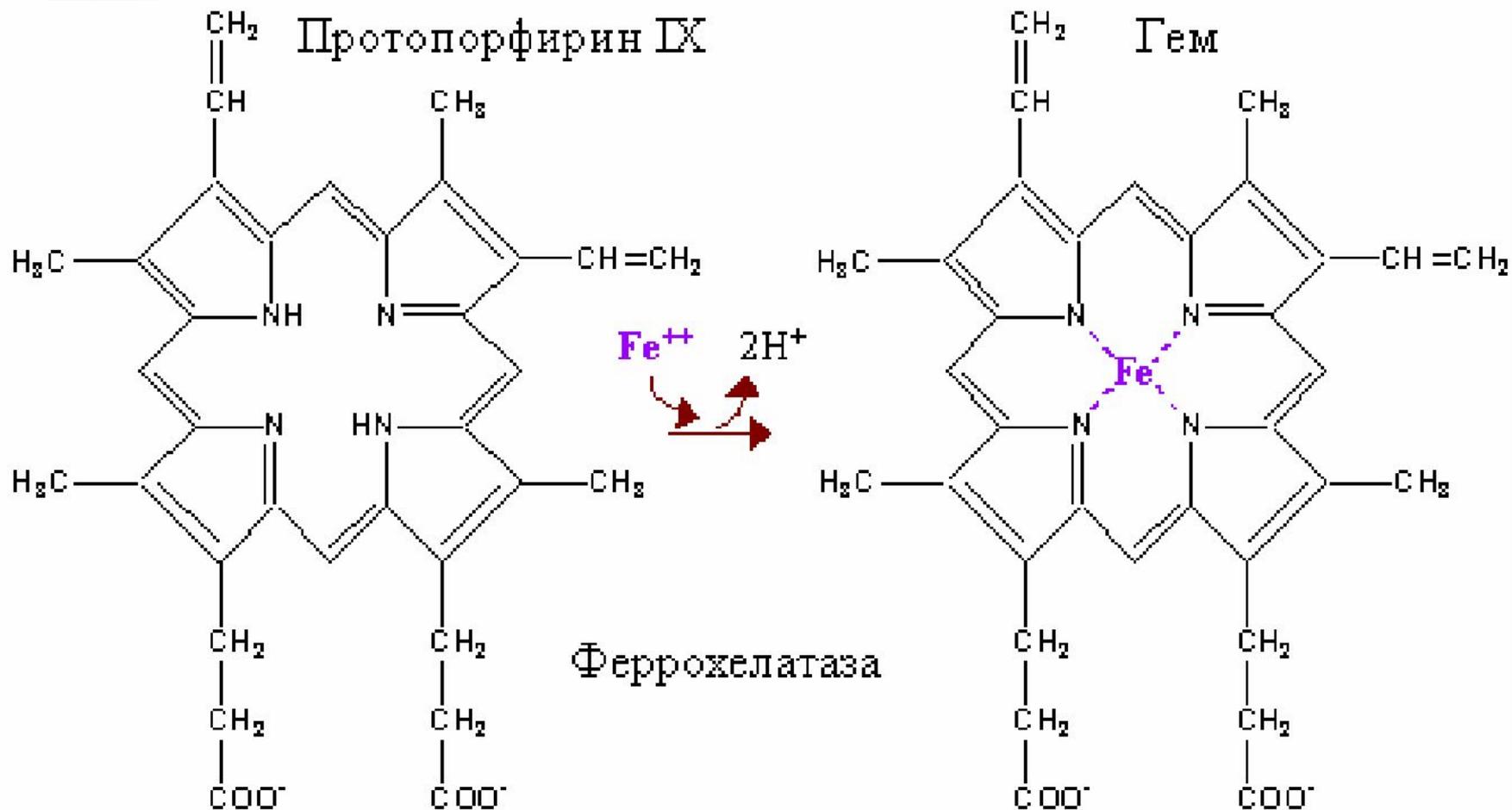


- Затем следует этап конденсации (голова-хвост) 4 молекул порфобилиногена с образованием линейного тетрапиррола – *гидроксиметилбилана* при участии фермента *порфобилиноген деаминаза* (*уропорфирин I синтаза*)
- *Гидроксиметилбилан* превращается в *Уропорфириноген III* и далее в гем (фермент *уропорфириноген синтаза*)

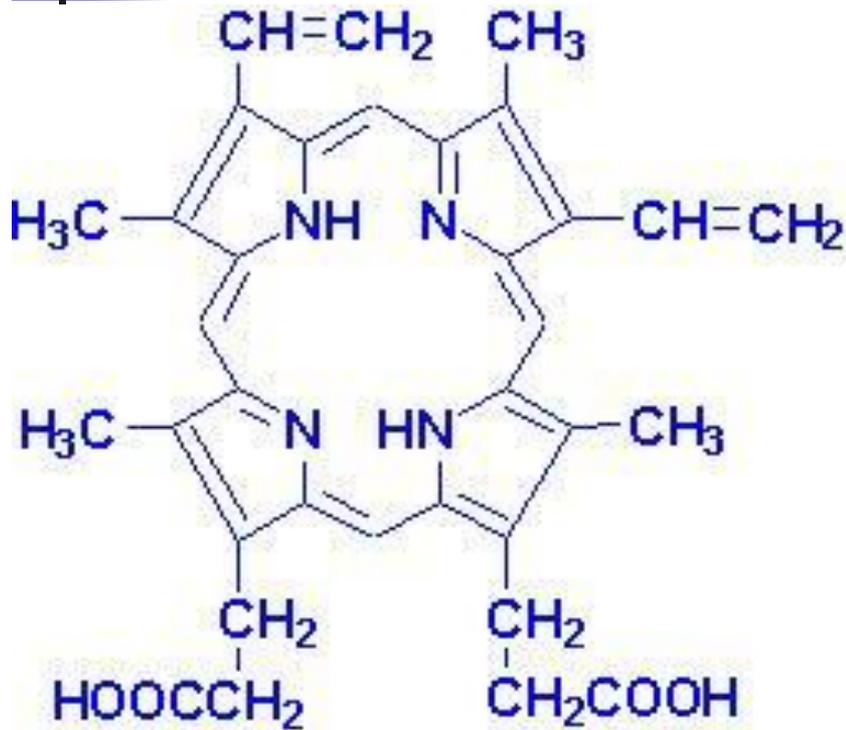
Б/с гема



Б/с гема (прод)

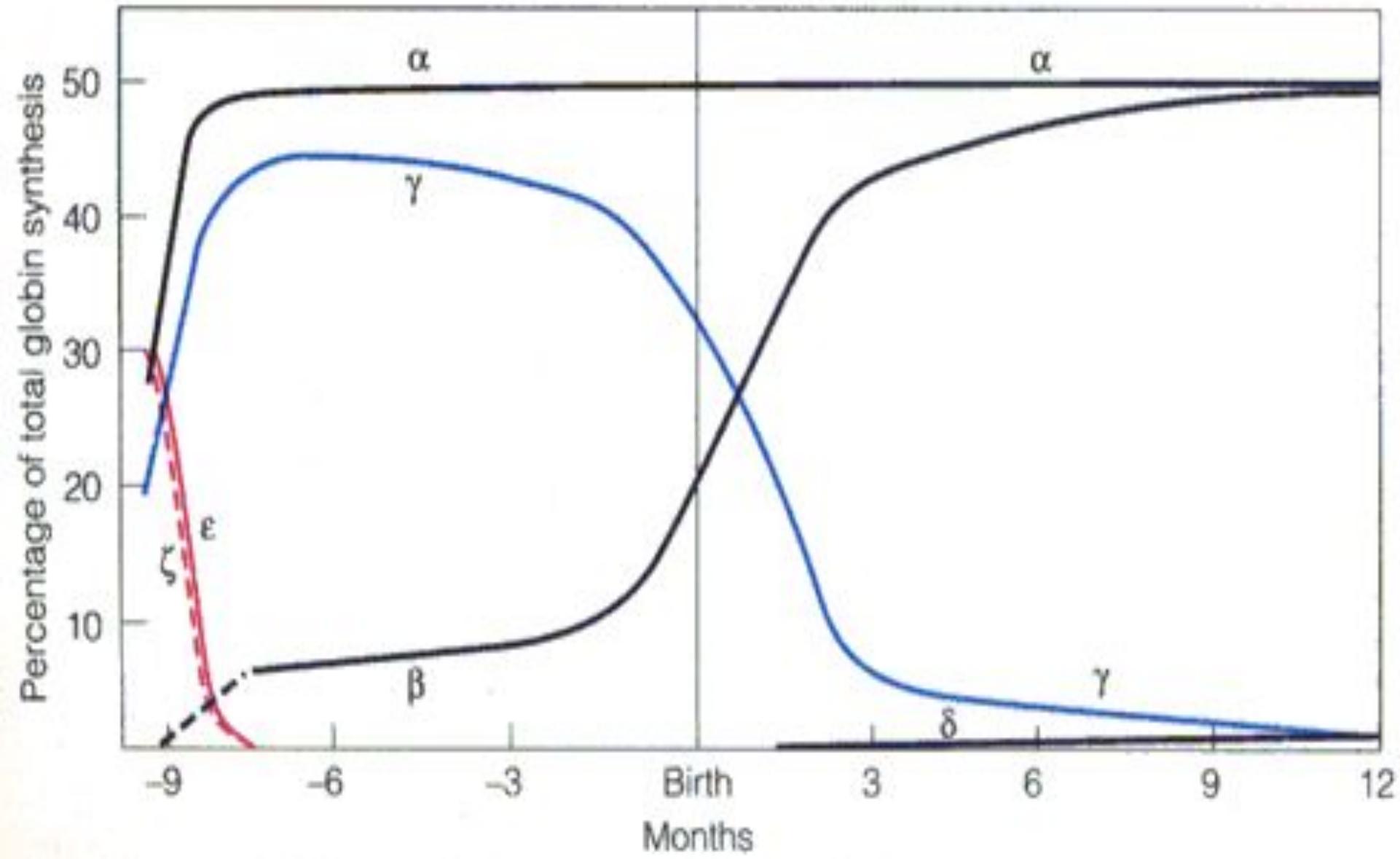


Протопорфирин и Pb

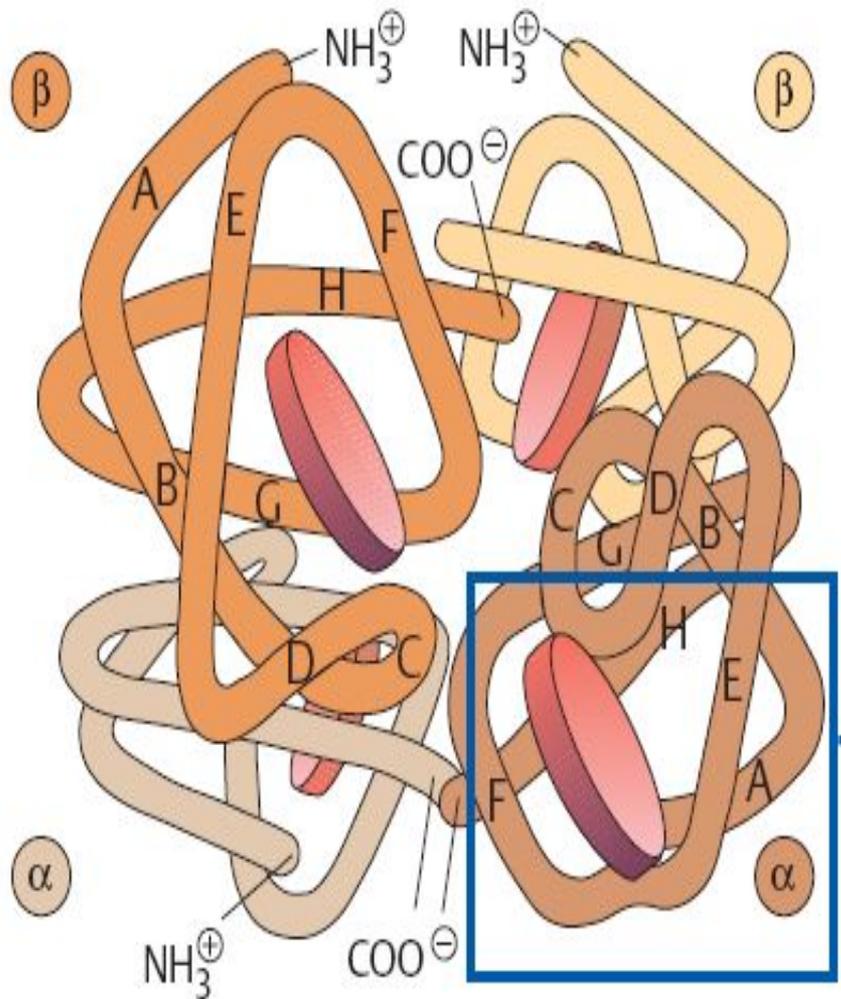


- SH-содержащие ферменты - *Феррохелатаза, синтаза дАЛК и дАЛК дегидратаза* высокочувствительны к действию тяжелых металлов
- Характерный признак для интоксикации Pb - возрастание в крови содержания дАЛК

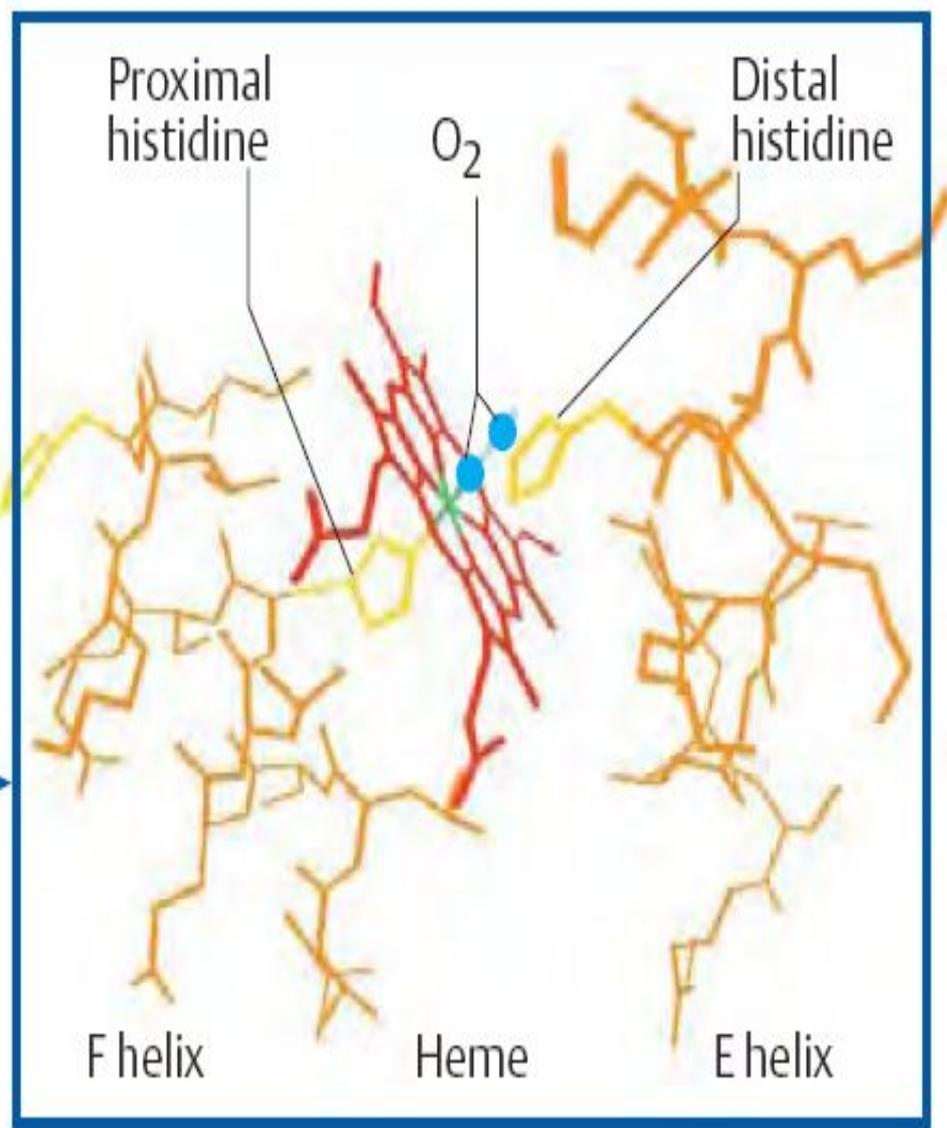
Экспрессии субъединиц глобина



A. Hemoglobin: structure



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



Кривая диссоциации HbO_2

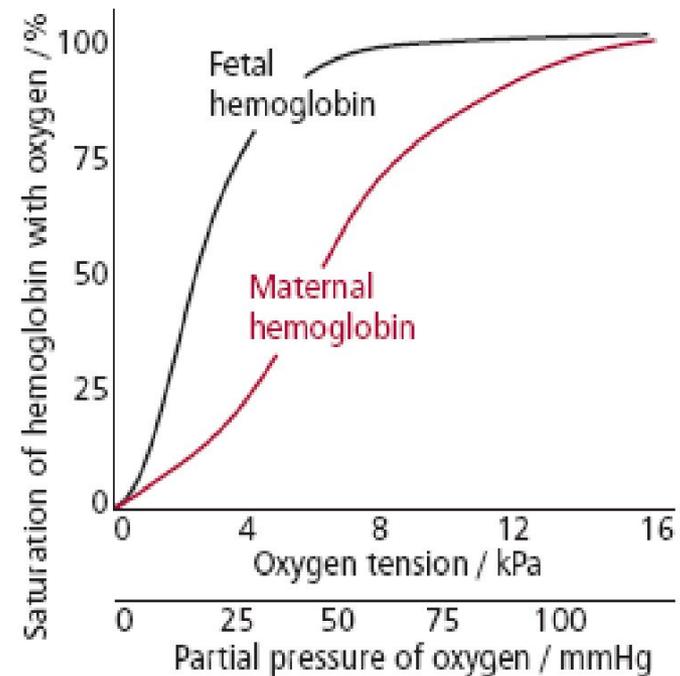
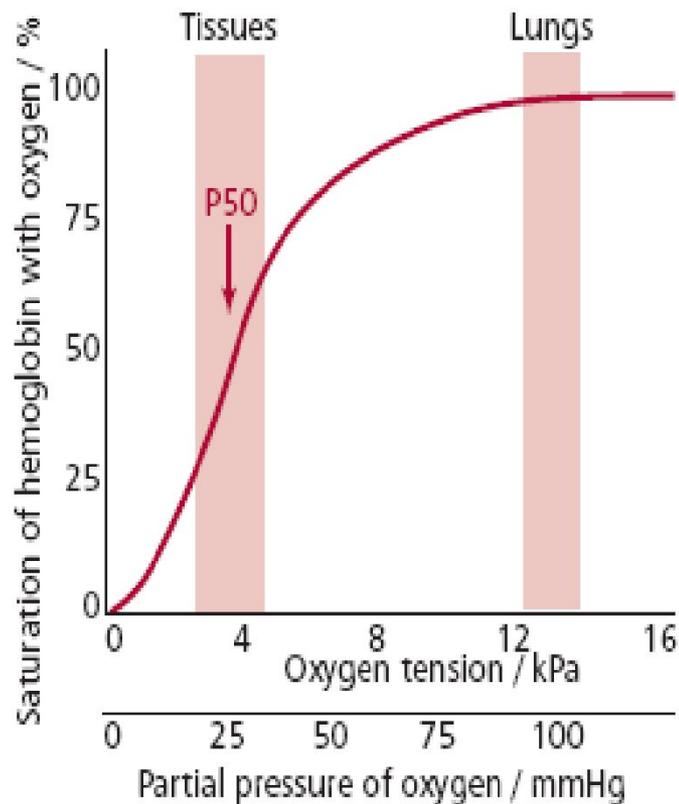
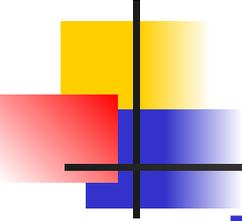


Figure 13.8 Graph showing that fetal hemoglobin has a higher affinity for oxygen than adult, maternal hemoglobin. This allows the fetus to obtain oxygen from the maternal blood.

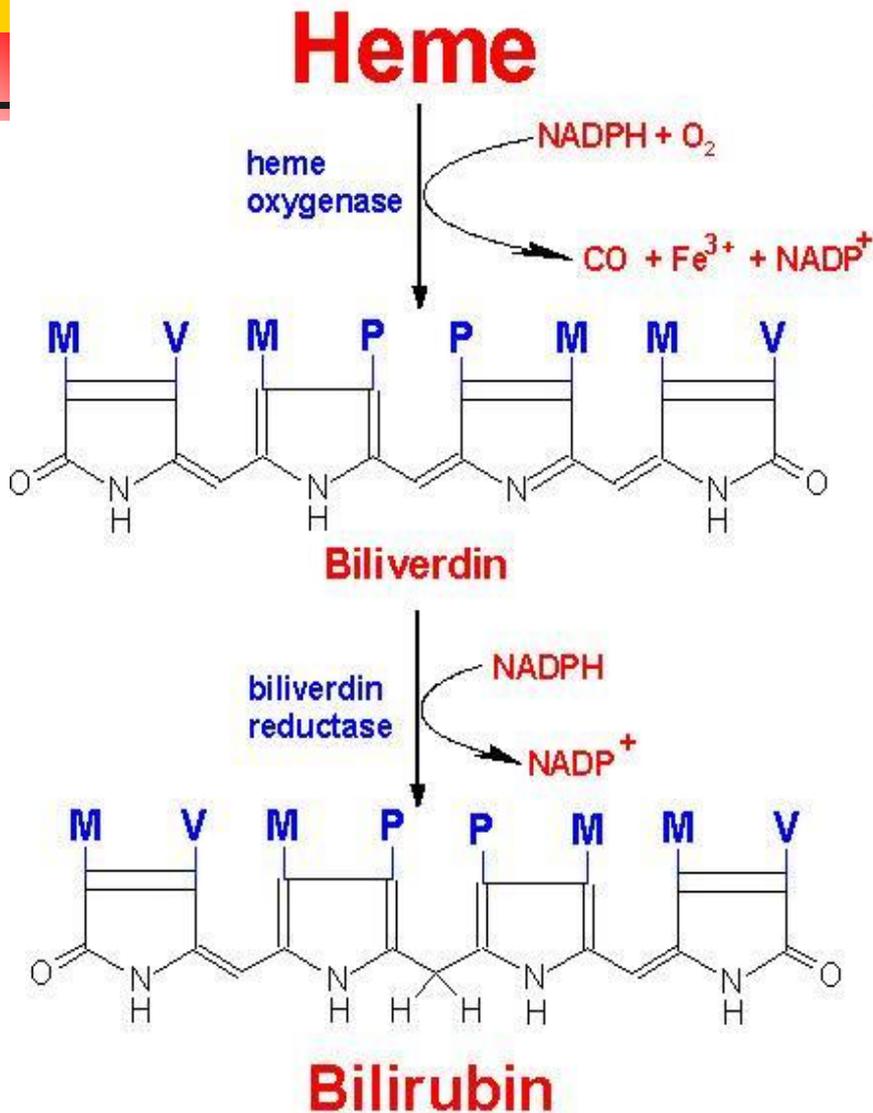
Распад гема

- 
- Продолжительность жизни **Э** ~ 120 дней, ежедневный оборот **Нв** ~ 6 г/день.
 - Гем из старых **Э** и др источников (цитохромы и др. гем-содержащие ферменты) освобождаются в РЭС.
 - Глобин деградирует обычным путем и АК реутилизируются.
 - Гем окисляется в ЭПС **гем оксигеназой** с разрывом цикла и образованием линейного тетрапиррола – **биливердина**, выделения Fe^{3+} и **СО**.
 - Стадия окисления The oxidation step requires heme as a substrate, and any hemin (Fe^{3+}) is reduced to heme (Fe^{2+}) prior to oxidation by heme oxygenase. The oxidation occurs on a specific carbon producing the linear tetrapyrrole **biliverdin**, ferric iron (Fe^{3+}), and carbon monoxide (CO).
 - СО выделяется легкими и его количество является показателем активности **гем оксигеназы** I.

Образование билирубина

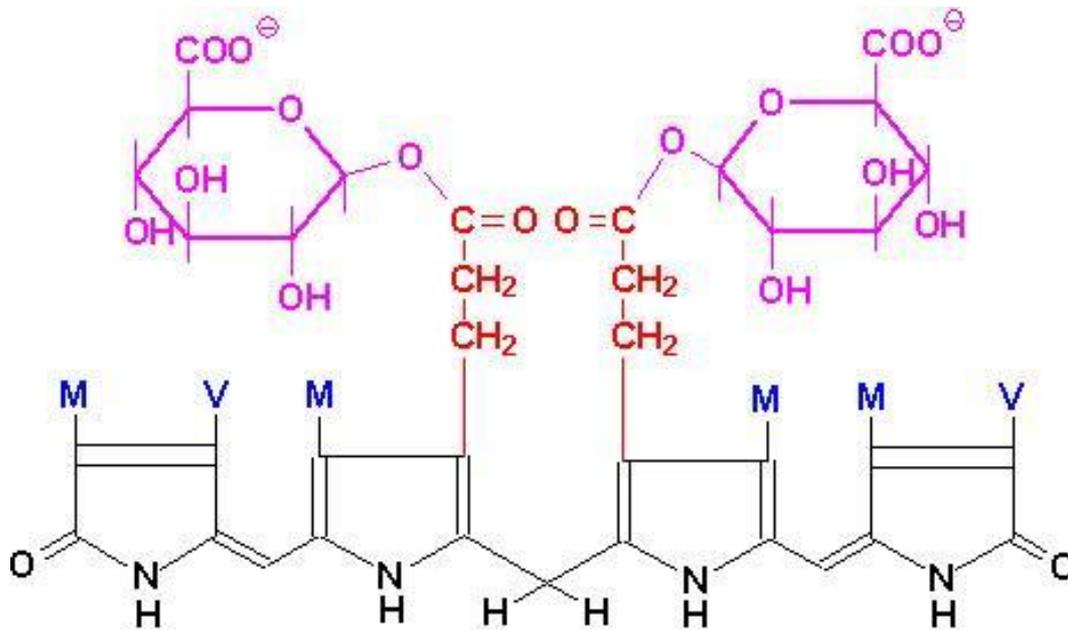
- Следующий этап CH_2 мост (между кольцами III и IV) **биливердина** восстанавливается **биливердин редуктазой** до **билирубина**, с соответствующим изменением цвета
 - Деградация гема отражается при прогрессирующем «цветении» гематом-синяков **темно-синий** → **красно-желтый** → **желтый**.
 - **Билирубин**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

Деградация гема



- **M = Метил,**
P = Пропионил
V = Винил

Билирубин-диглюкуронид



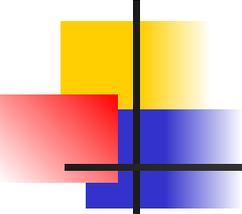
- В гепатоцитах **УДФ-глюкуронил трансфераза** присоединяет 2 остатка ГК к **билирубину** с образованием гидрофильного **билирубина-диглюкуронида**, что облегчает его экскрецию.

- Билирубин и его метаболиты** называются **желчными пигментами**.

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).

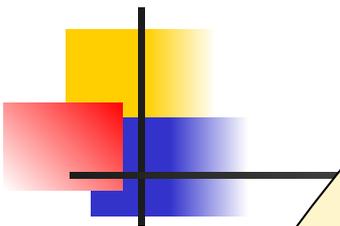
Желтухи

- 
- 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.
 - Bilirubin and its catabolic products are collectively known as the bile pigments.

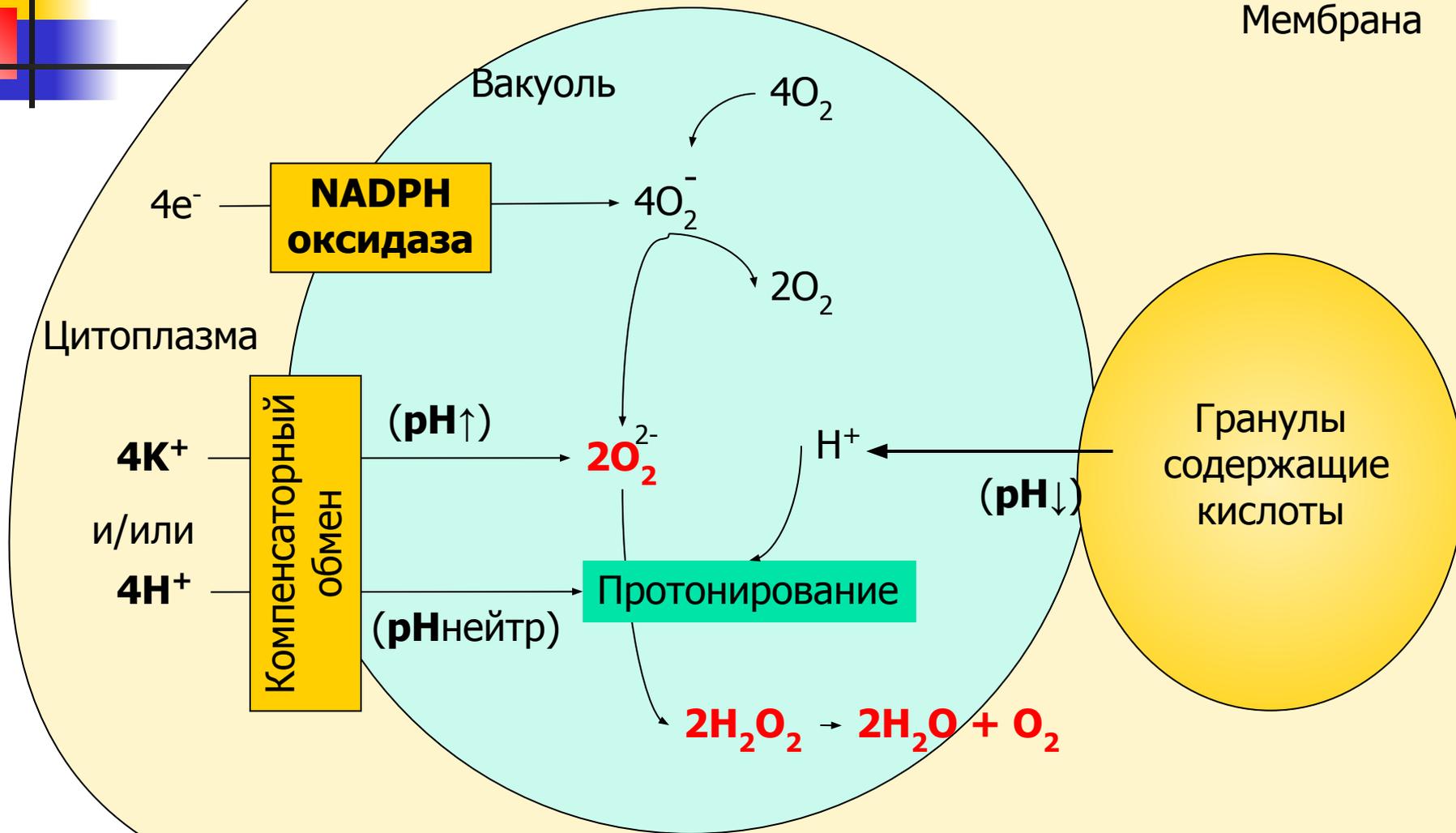
Нейтрофилы (гранулоциты) – полиморфноядерные лейкоциты:

- 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

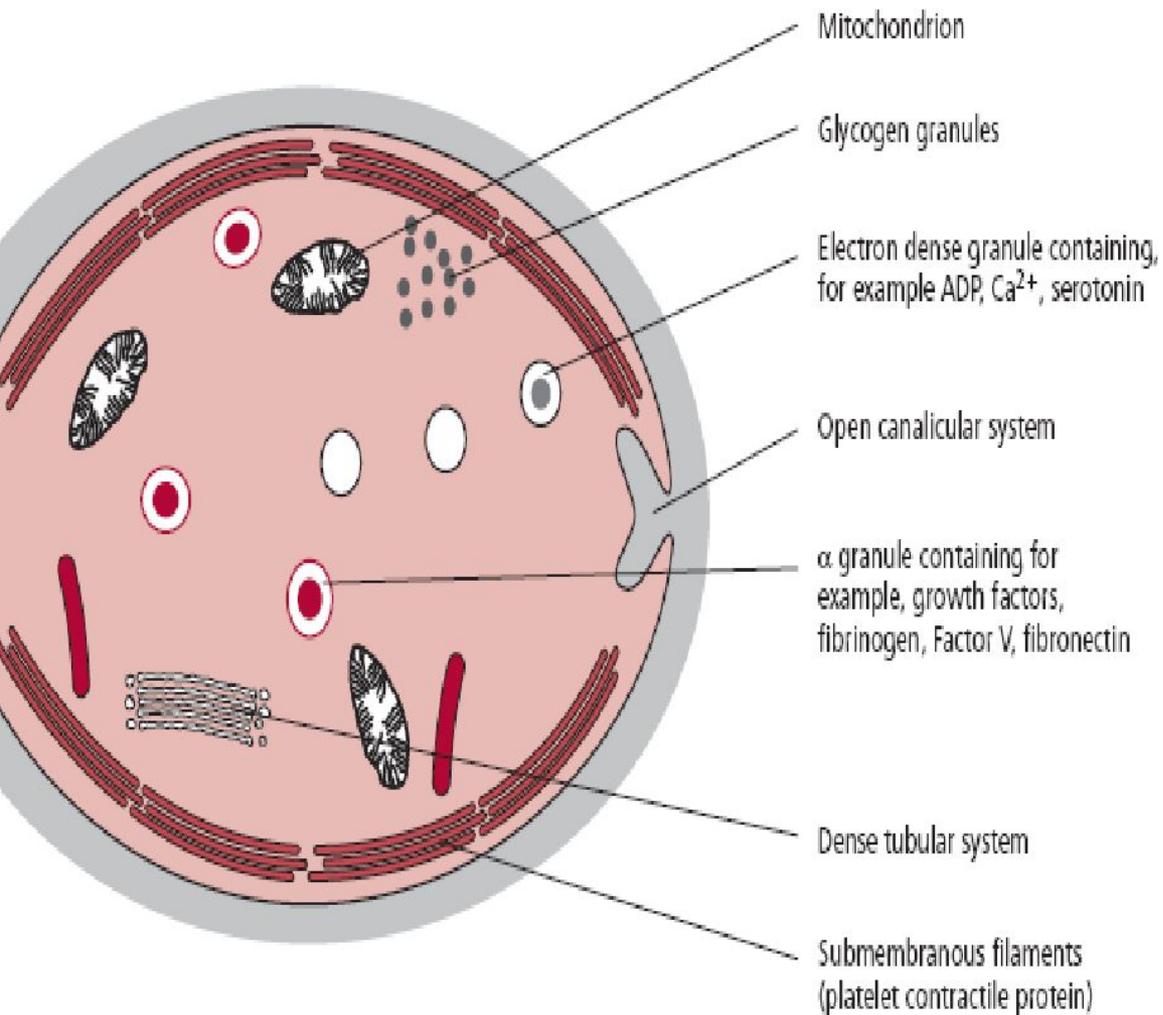
Плазмалемма



Мембрана



Структура тромбоцита



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