

Раздел 11.

Функциональная биохимия

Дисциплина: СЗ.Б.6.2. Общая биохимия

Специальность: 30.05.01 медицинская биохимия

НГМУ, кафедра медицинской химии

Д.б.н., доцент Суменкова Дина Валерьевна

ЛЕКЦИЯ 22-23

□ Белки плазмы крови

□ Биохимические механизмы
иммунитета

□ Особенности метаболизма
эритроцитов

□ Биохимические механизмы
гемостаза

Актуальность темы раздела

- Метаболические процессы, протекающие в клетках различных тканей и органов организма человека имеют определенные особенности
- Метаболический «паспорт» клеток и тканей определяет особенности функционирования органов и систем
- Нарушения метаболических процессов являются основой функциональной дисфункции и развития заболеваний
- Знания метаболических особенностей различных тканей и органов необходимы для понимания патогенеза заболеваний соответствующих систем

Актуальность темы лекции

- Изучение основных белков плазмы крови, их функций, особенностей метаболизма клеток крови, включая клетки иммунной системы, а также механизмов гемостаза продиктованы необходимостью понимания биохимических основ функций крови
- **ЦЕЛЬ ЛЕКЦИИ:** знать биохимические основы функционирования крови

План лекции

❑ Белки плазмы крови

- Альбумины: особенности строения, функции
- Глобулины: особенности строения, функции
- Диспротеинемии: понятие, причины

❑ Биохимические механизмы иммунитета

- Особенности метаболизма фагоцитирующих клеток
- Строение и функции иммуноглобулинов
- Цитокины: понятие, функции
- Система комплемента: понятие, функции

❑ Особенности метаболизма эритроцитов

- Основные метаболические пути эритроцитов
- Гемоглобин: структура, функции
- Обмен гема. Нарушения обмена гема: порфирии, желтухи

❑ Биохимические механизмы гемостаза

- Свертывающая система крови
- Противосвертывающая система крови. Фибринолиз

Белки плазмы крови

(7% белков всего организма)

- **Общий белок: 60-80 г/л**
 - альбумин 40-50 г/л
 - глобулины 20-30 г/л

Основные фракции (электрофореграмма):

альбумин (55 – 65%) – имеет наибольшую подвижность

α 1-глобулины (2 – 4%)

α 2-глобулины (6 – 12%)

β -глобулины (8 – 12%)

γ -глобулины (12 – 22%) – имеет наименьшую подвижность

Большинство белков синтезируются в печени (искл. γ -глобулины)

Функция белков плазмы крови

- Буферная система (поддержание рН 7,37 – 7,43)
- Осмотическое давление (удерживают воду в сосудистом русле)
- Транспорт (витамины, ионы металлов, лекарственные препараты)
- Вязкость крови
- Резерв аминокислот
- Защитная роль

Альбумин

- Синтезируется в печени
- М.м. ~ 65кДа
- Высокое содержание аспартата и глутамата (анионогенные АК), поэтому удерживает Na^+ , Ca^{2+} , Zn^{2+} и отличается высокой степенью гидратации)
- Поддерживает коллоидно-осмотическое давление
- Транспортирует жирные кислоты, билирубин, гормоны, лекарственные препараты

Глобулины

- Большой размер молекул
- Относительно небольшой заряд
- Низкая степень гидратации
- Специфические и защитные функции
- Транскортин, тироксин-связывающий белок, трансферрин, церулоплазмин (ферроксидаза), гаптоглобин, С-реактивный белок, интерфероны, иммуноглобулины

Диспротеинемии

- **Гиперпротеинемия**
 - обусловлена гиперглобулинемией: повышением содержания γ -глобулинов и белков острой фазы воспаления (С-реактивный белок, гаптоглобин, фибриноген)
- **Гипопротеинемия**
 - обусловлена гипоальбуминемией
 - **Относительные нарушения** связаны с изменением объема жидкости
 - ✓ потерей воды (относительная гиперпротеинемия при рвоте, диарее, полиурии)
 - ✓ водным отравлением (относительная гипопротеинемия)
 - **Абсолютные изменения** связаны с уменьшением или увеличением количества белков

Абсолютная гипопроотеинемия (гипоальбуминемия)

□ Причины:

- Потеря белка (болезни почек)
- Нарушение синтеза белка (патология печени)
- Нарушение поступления экзогенного белка (голодание, нарушение переваривания и всасывания)
- Усиленный катаболизм белка (раковая кахексия, ожоговая болезнь)

№	Тип протеинограммы, соответствующий	Альбумин	Глобулины			
			$\alpha 1$	$\alpha 2$	β	γ
1	Острым воспалительным процессам	↓	↑	↑	-	-
2	Хроническому воспалению	↘	↗	↑	-	↑
3	Нефротическому симптомокомплексу (патология почек)	↓	-	↑	↑	↘
4	Злокачественным новообразованиям	↓	↑	↑	↑	↑
5	Гепатитам	↘	-	-	↗	↑
6	Циррозам печени	↓	-	↓	↑	↑
7	Обтурационной желтухе	↘	-	↗	↗	↗
8	β -глобулиновым плазмоцитомам	↓	↓	↓	↑	↓
9	γ -глобулиновым плазмоцитомам	↓	↓	↓	↓	↑
10	$\alpha 2$ -глобулиновым плазмоцитомам	↓	↓	↑	↓	↓

- «↓» значительное снижение
- «↘» умеренное снижение
- «↑» значительное повышение
- «↗» умеренное повышение
- «-» нормальное значение

❖ Подумайте!



- Почему абсолютная гипопротейнемия обусловлена снижением количества альбуминов, а не глобулинов?
- Почему абсолютная гипопротейнемия сопровождается отеками?
- Почему избыточное потребление воды может вызвать летальный исход (водное отравление) ?

Парапротеинемия

- Появление в крови структурно аномальных и функционально неполноценных белков из фракции иммуноглобулинов (парапротеины)
- Пример: специфические «миеломные» белки при миеломной болезни

**Особенности метаболизма фагоцитирующих
клеток**

Иммуноглобулины

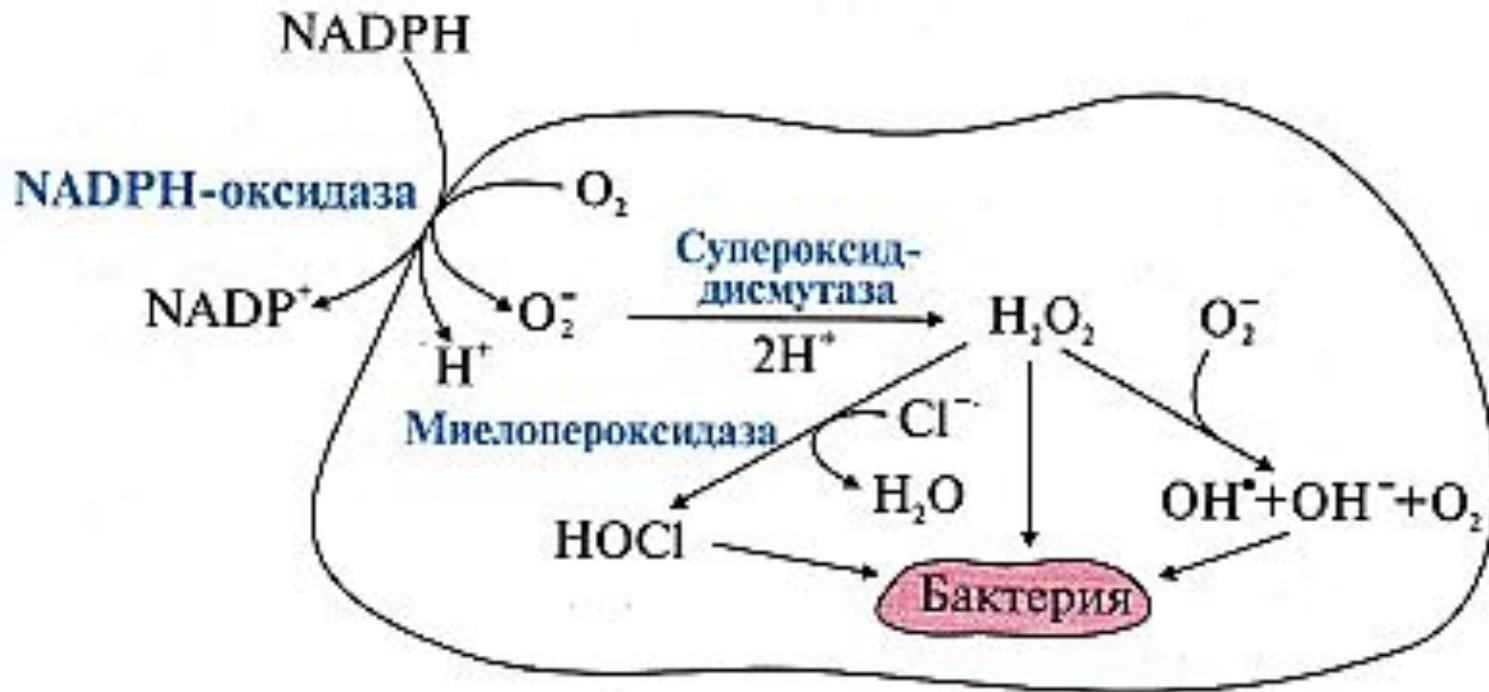
Система комплемента

БИОХИМИЯ ИММУНИТЕТА

Метаболизм фагоцитирующих клеток

- В фагоцитозе участвуют лизосомные ферменты: нуклеазы, протеазы, фосфатазы и др.
- Фагоцитоз сопровождается резким увеличением потребления O_2 - **респираторным взрывом**
- Кислород – источник образования высокореакционных метаболитов (супероксид-аниона, пероксида водорода, гидроксил-радикал, гипохлорита, пероксинитрита), являющихся сильными окислителями, вызывающими переокисление липидов мембран (бактерицидное и лизирующее действие на микроорганизмы)

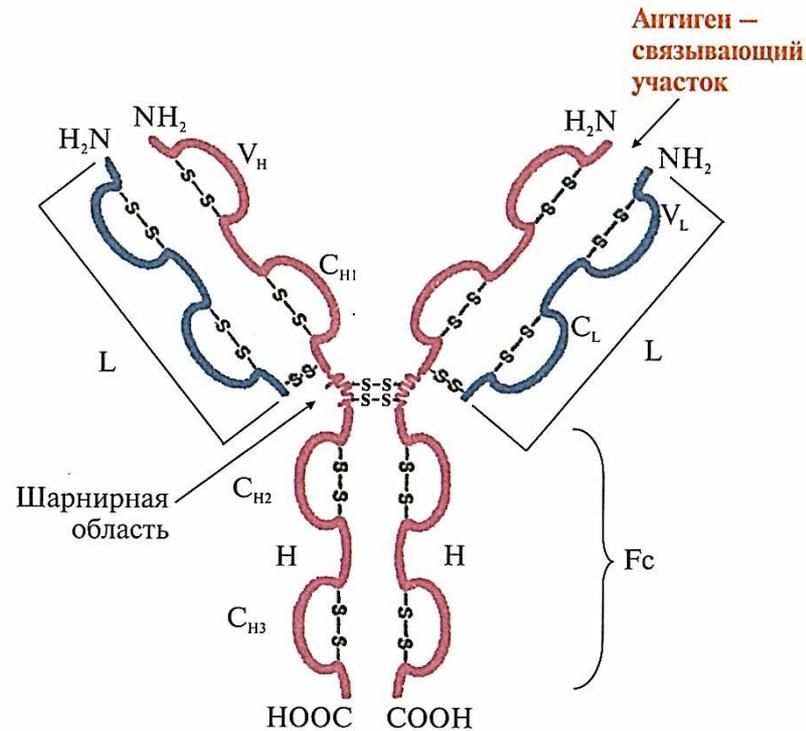
Метаболизм фагоцитирующих клеток



Иммуноглобулины (антитела)

- Гликопротеины
- Синтезируются В-лимфоцитами (плазматическими клетками) в ответ на поступление в организм чужеродных агентов (антигенов), которые они обезвреживают
- В основе деления иммуноглобулинов на классы – тип тяжелых цепей (α , δ , ϵ , γ , μ). Эти различия обуславливают характерную для каждого класса иммуноглобулинов конформацию и функции
- Легкие цепи (κ , λ) присутствуют во всех классах
- Все домены легких и тяжелых цепей имеют β -складчатую структуру и стабилизируются дисульфидными связями между остатками цистеина
- Шарнирная область имеет много остатков пролина, препятствующих формированию вторичной структуры
- Связывание антигена происходит в переменном участке цепей (гипервариабельный участок из 20-30 АК «распознает» антиген)

Общий план строения иммуноглобулинов



H – тяжелая цепь;

L – легкая цепь;

V_L, V_C – переменные участки тяжелой и легкой цепей;

C_L, C_{H1}, C_{H2}, C_{H3} – константные участки тяжелой и легкой цепей;

Fc – фрагмент, отвечающий за связывание с другими компонентами иммунной системы

Классы иммуноглобулинов

- ❑ IgM секретируется на ранних стадиях иммунного ответа
 - мономерная (ранняя) форма - рецептор В-лимфоцитов (взаимодействует с клеткой с помощью гидрофобного участка на Fc-области)
 - секреторная (поздняя) форма – пентамер (мономеры связаны J-цепью) – секретируются при первичном иммунном ответе
- ❑ IgG – мономер, секретируются при вторичном ответе
 - не встраиваются в мембраны клеток
 - «запускают» систему комплемента
 - проникают через плаценту, обеспечивают иммунитет плода и новорожденного

Классы иммуноглобулинов

- ❑ Ig A – «первая линия защиты»
 - 2, 3, 4 мономера
 - присутствует в секретах (слезы слюна, молоко, мочеполовые, респираторные, желудочные секреты)
 - препятствует прикреплению микроорганизмов к поверхности слизистых оболочек
- ❑ IgE – мономер, активатор тучных клеток и эозинофилов (взаимодействует с мембраной клеток с помощью гидрофобного участка Fc); участвует в аллергических реакциях, противопаразитарном иммунитете
- ❑ IgD – мономер, обнаруживается на малом количестве В-лимфоцитов
 - рецептор для узнавания антигена

ЦИТОКИНЫ

- Белки, вырабатываемые активированными клетками иммунной системы, лишенные специфичности в отношении антигенов и являющиеся медиаторами межклеточных коммуникаций при иммунном ответе, гемопоэзе, воспалении
- Группы цитокинов:
 - ✓ Интерлейкины (ИЛ) – факторы взаимодействия между лейкоцитами (про- и противовоспалительные)
 - ✓ Интерфероны (ИНФ) – цитокины с противовирусной активностью
 - ✓ Факторы некроза опухоли (ФНО)
 - ✓ Колониестимулирующие факторы (КСФ) – гемопоэтические цитокины, хемокины

Система комплемента

- Сывороточные белки, которые каскадно активируются комплексом антиген – антитело (классический путь активации) или клеточными стенками бактерий, факторами повреждения тканей (альтернативный путь активации), что сопровождается бактериолизисом и воспалением

Задание для самостоятельной работы

- Используя материалы информационно-коммуникационной сети «Интернет», подготовьте доклад на тему «Цитокины как регуляторные молекулы»

(на примере особенностей строения и функций одного из цитокинов)

**Основные метаболические пути
эритроцитов**

Гемоглобин

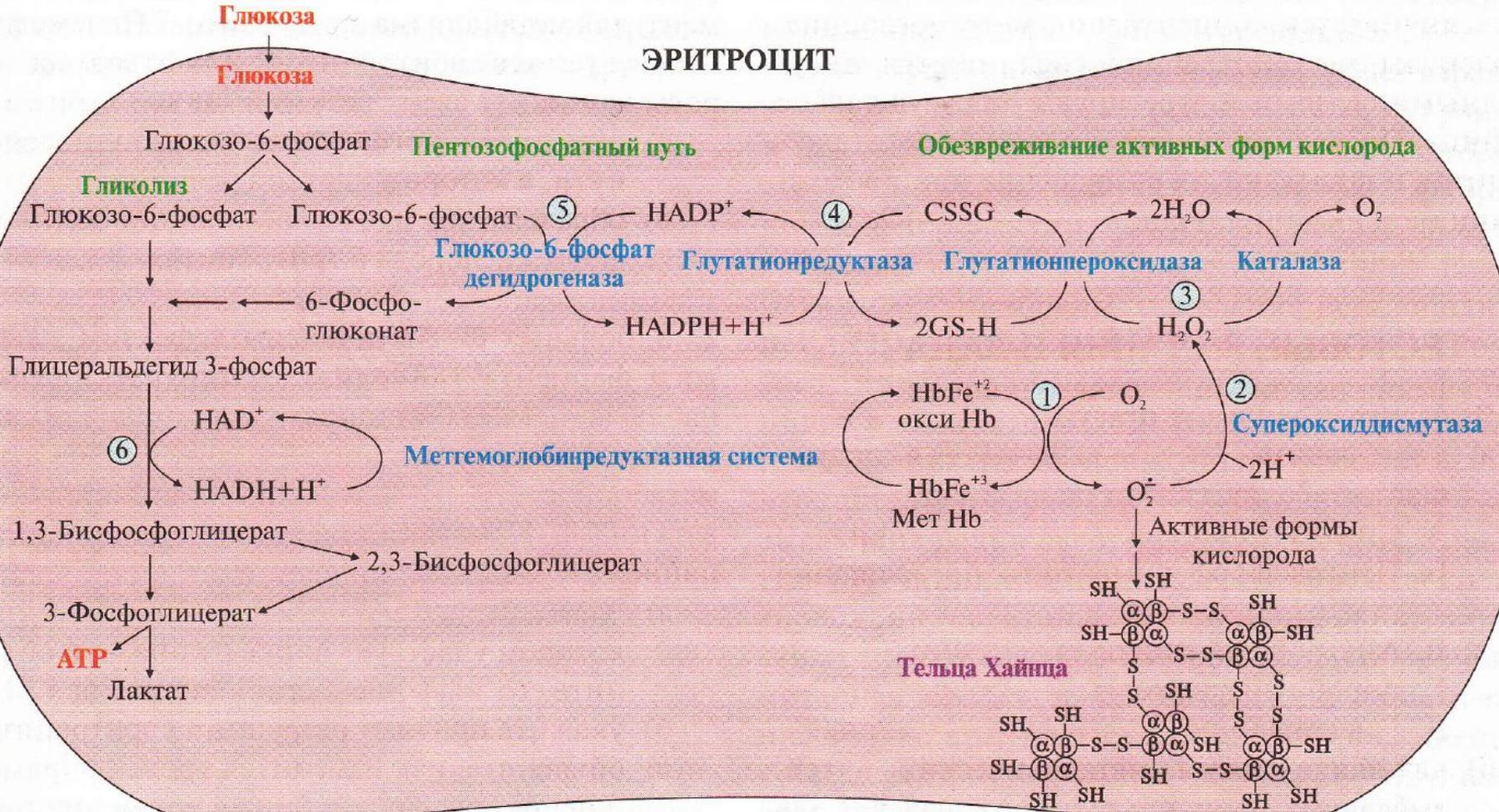
Метаболизм гема

МЕТАБОЛИЗМ ЭРИТРОЦИТОВ

Метаболические пути эритроцитов

- **Анаэробный гликолиз – единственный источник энергии (90% глюкозы)**
 - АТФ используется для работы АТФаз
 - NADH используется для восстановления метHb (метгемоглобинредуктазная система)
 - 1,3-дифосфоглицерат → 2,3-дифосфоглицерат (снижает сродство Hb к O₂)
- **Пентозофосфатный путь окисления глюкозы (10% глюкозы) – источник NADPH для восстановления глутатиона, окисление которого связано с обезвреживанием активных метаболитов кислорода (АМК)**
- **Ферменты антиоксидантной защиты (АОЗ): каталаза, СОД, ГПО**
- **Генетические дефекты ферментов АОЗ и гликолиза вызывают гемолиз эритроцитов**

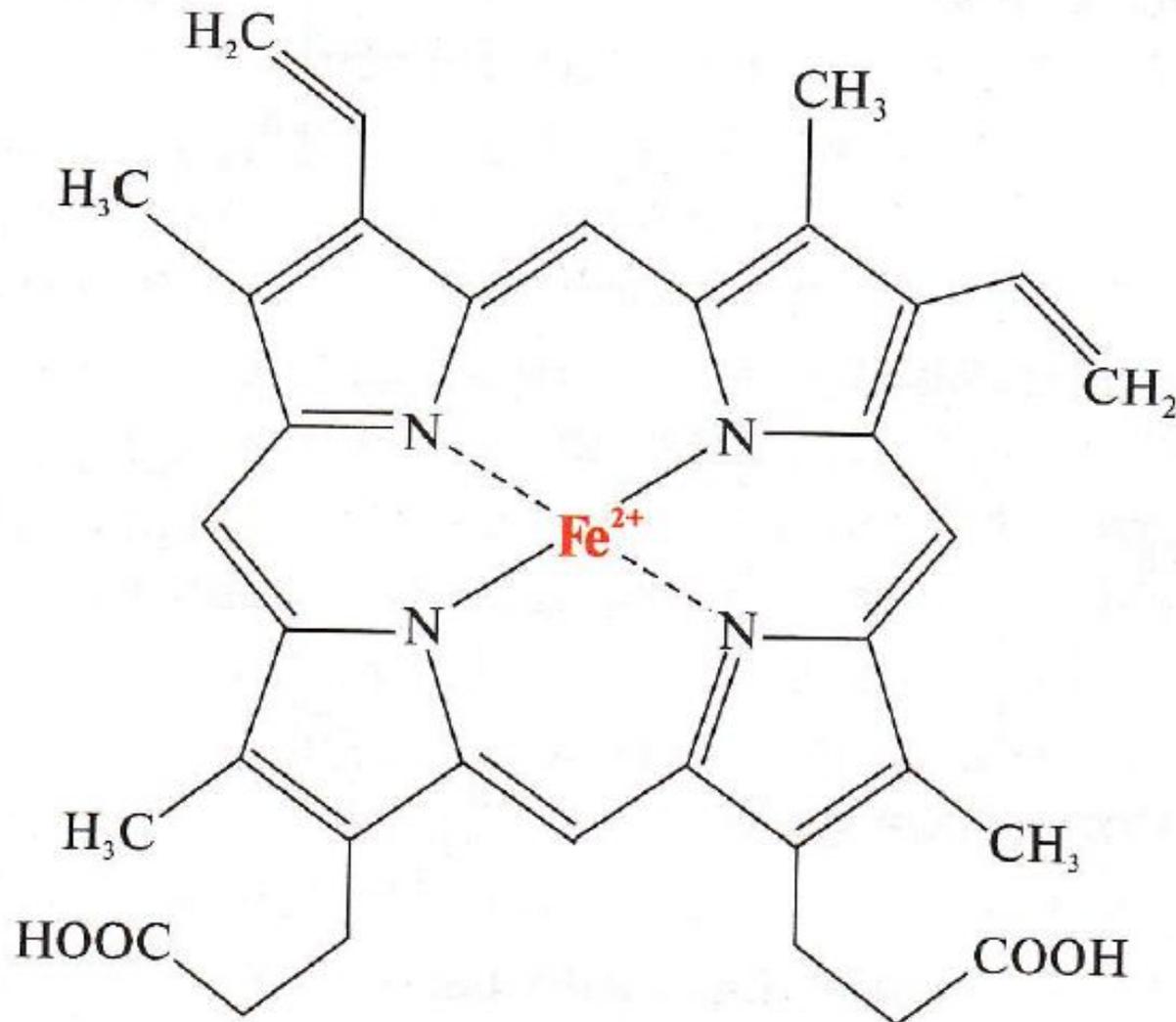
ЭРИТРОЦИТ



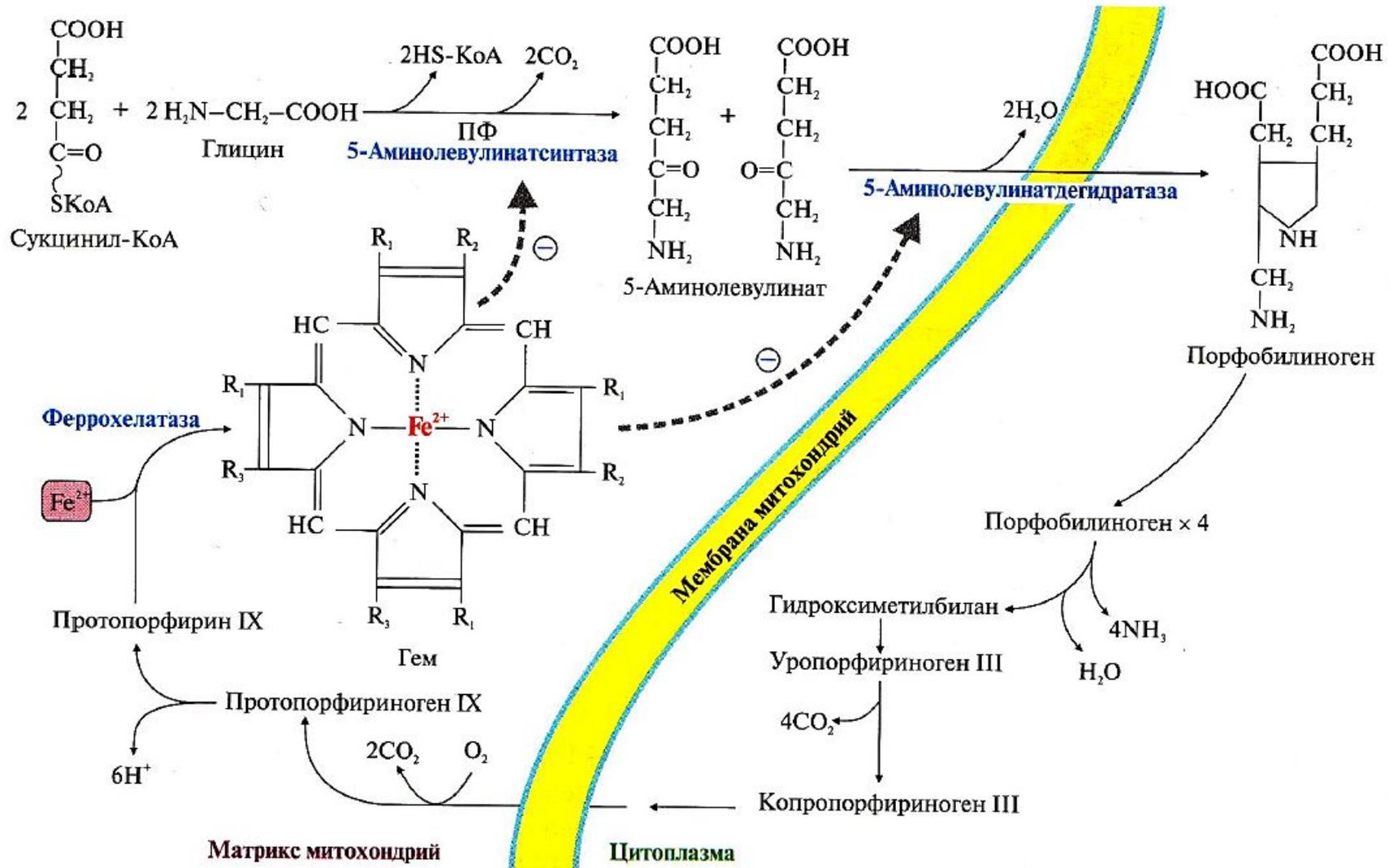
Гемоглобин (Hb)

- Гемопротейд (574 АК), тетрамер (каждая субъединица имеет центр связывания гема)
- 90% белков эритроцитов
- связывает и транспортирует O_2
- Hb A: $(2\alpha 2\beta)$; Hb F (фетальный): $2\alpha 2\gamma$
- гем (ферропротопорфирин) придает красный цвет
- гем взаимодействует пиррольными циклами с неполярными радикалами АК и атомом железа с гистидином в активном центре Hb
- Fe^{2+} образует 6 координационных связей: 4 – с атомами азота пиррольных колец, 1 – с атомом азота гистидина, 1 – с O_2
- Hb присоединяет 4 O_2 (4-я молекула присоединяется в 300 раз легче за счет конформационных изменений активного центра в процессе связывания предыдущих молекул кислорода)
- Аллостерические регуляторы активности гемоглобина: H^+ , CO_2 , 2,3-дифосфоглицерат (снижают сродство к кислороду)

Структура гема гемоглобина



Синтез гема



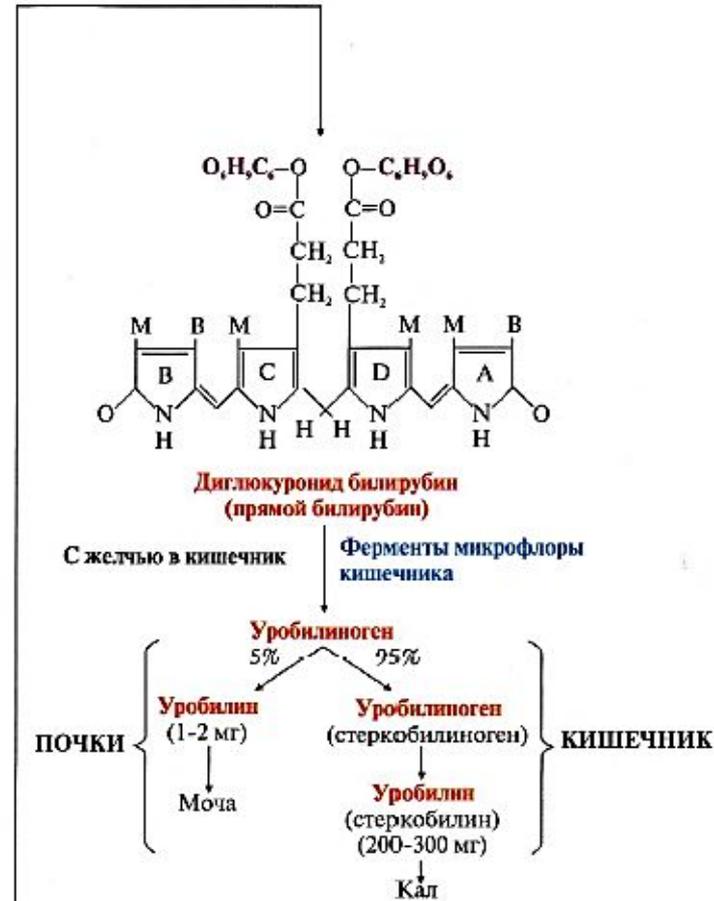
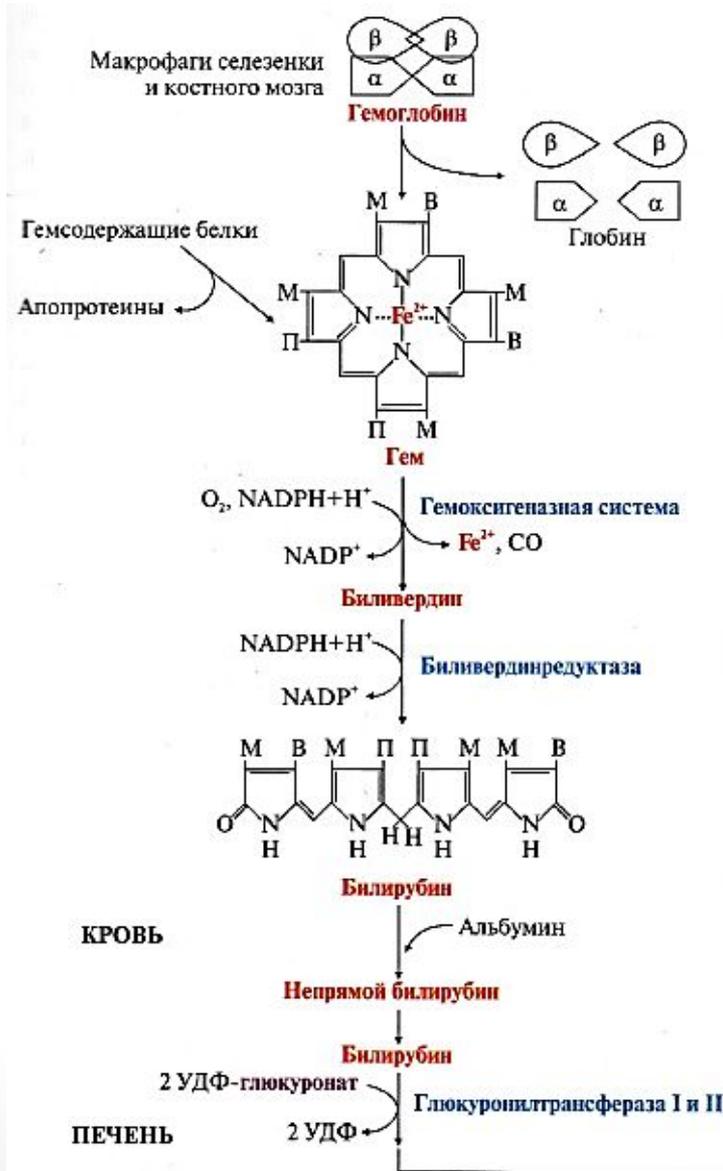
Регуляция синтеза гема



Нарушения синтеза гема

- **Порфирии** – наследственные и приобретенные нарушения, сопровождающиеся повышением содержания промежуточных продуктов синтеза гема – **порфириногенов** и продуктов их окисления (окрашивают мочу в красный цвет) вследствие энзимопатии
- Порфириногены – нейротоксины, активаторы ПОЛ
- Порфирии сопровождаются нервно-психическими расстройствами и фотосенсибилизацией
- Легкие формы протекают бессимптомно, но прием лекарств-индукторов синтеза аминолевулинатсинтазы (сульфаниламиды, барбитураты, стероиды, вольтарен, диклофенак) может вызвать обострение болезни
- Полагают, что порфирии – это научно обоснованный «вампиризм»

Катаболизм гема



Билирубин

- Билирубин – продукт катаболизма гема, гидрофобное вещество, токсичное, проходит через гематоэнцефалический барьер, в крови связан с альбумином (**непрямой билирубин**)
- **Прямой билирубин** (диглюкуронид билирубин) образуется в печени в результате конъюгации с глюкуроновой кислотой – хорошо растворим в воде, нетоксичен, через желчные протоки как пигмент желчи поступает в кишечник
- **Уробилиноген** – конечный продукт катаболизма гема, образуется в кишечнике. Окисленный уробилиноген – пигмент кала (**стеркобилин**) и мочи (**уробилин**).
- **Норма билирубина в крови: 1,7 – 17 мкмоль/л**
- ✓ 75% - непрямой билирубин
- ✓ 25% - прямой билирубин

Нарушения катаболизма гема: желтухи

- Желтуха – окрашивание слизистых оболочек, кожи, склер глаз в результате гипербилирубинемии (более 50 мкмоль/л) и поступления билирубина в ткани
- Для дифференциальной диагностики желтух в крови определяют концентрацию общего, непрямого, прямого билирубина, а также уробилина и стеркобилина в моче и кале, соответственно

Виды желтух

- **Гемолитическая желтуха – следствие ускоренного гемолиза эритроцитов** (например, при дефекте глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы): ↑ **непрямой билирубин, стеркобилин и уробилин**
- **Механическая желтуха – следствие нарушения секреции желчи:** ↑ **непрямой и прямой билирубин, билирубинурия (коричневый цвет мочи), в моче и кале отсутствует уробилин и стеркобилин (кал бесцветный)**
- **Печеночная желтуха (паренхимотозная) – следствие гепатитов:** ↑ **непрямой и прямой билирубин, билирубинурия (коричневый цвет мочи), ↓ уробилин и стеркобилин, билирубинурия, кал светлый**

Виды желтух (продолжение)

- **Физиологическая желтуха новорожденных** – следствие
 - ▢ усиленного распада эритроцитов, содержащих фетальный гемоглобин
 - ▢ «незрелости» глюкуронилтрансферазы
 - ▢ «незрелости» транспортной системы гепатоцитов

Для ускорения индукции синтеза глюкуронилтрансферазы назначают барбитураты
Фототерапия (620 нм) приводит к окислению билирубина с образованием гидрофильных изомеров, которые выводятся с мочой

Виды желтух (продолжение)

- **Наследственные желтухи – следствие генетических дефектов белков, участвующих в метаболизме билирубина**
- **Синдром Жильбера:** дефект белков, захватывающих билирубин из крови
- **Синдром Дубина-Джонсона:** дефект белков, участвующих в экскреции прямого билирубина в кишечник
- **Синдром Криглера-Найяра:** дефект глюкуронилтрансферазы

Свертывающая система крови

Противосвертывающая система
крови

Фибринолиз

БИОХИМИЯ ГЕМОСТАЗА

Система гемостаза

- **Обеспечивает**

- предупреждение и быструю остановку кровотечений путем образования сгустка крови - тромба
- растворение тромба и сохранение жидкого состояния циркулирующей крови

Этапы процесса образования и растворения тромба

- Рефлекторное сокращение поврежденного сосуда
- Образование тромбоцитарной пробки (белого тромба) при взаимодействии тромбоцитов с эндотелием (процессы адгезии и агрегации) – **первичный гемостаз**
- Образование красного тромба с участием фибрина и эритроцитов – **вторичный гемостаз**
- Растворение тромба (фибринолиз) и заживление поврежденного сосуда

Первичный гемостаз

- Активаторы адгезии тромбоцитов к эндотелию (появляются на поверхности эндотелия при травме сосуда):
коллаген, фактор Виллебранда, фибронектин
- Индукторы агрегации тромбоцитов (вызывают высвобождение из гранул тромбоцитов в цитоплазму активаторов агрегации):
АДФ, адреналин, тромбин, коллаген, тромбоксан А₂
- Активаторы агрегации тромбоцитарного происхождения:
АТФ, АДФ, серотонин, Са²⁺, фибриноген, фибронектин, фактор Виллебранда (вызывают изменение свойств ЦПМ)
- Ингибиторы активации тромбоцитов, вазодилататоры:
NO, простаглицлин PGI₂

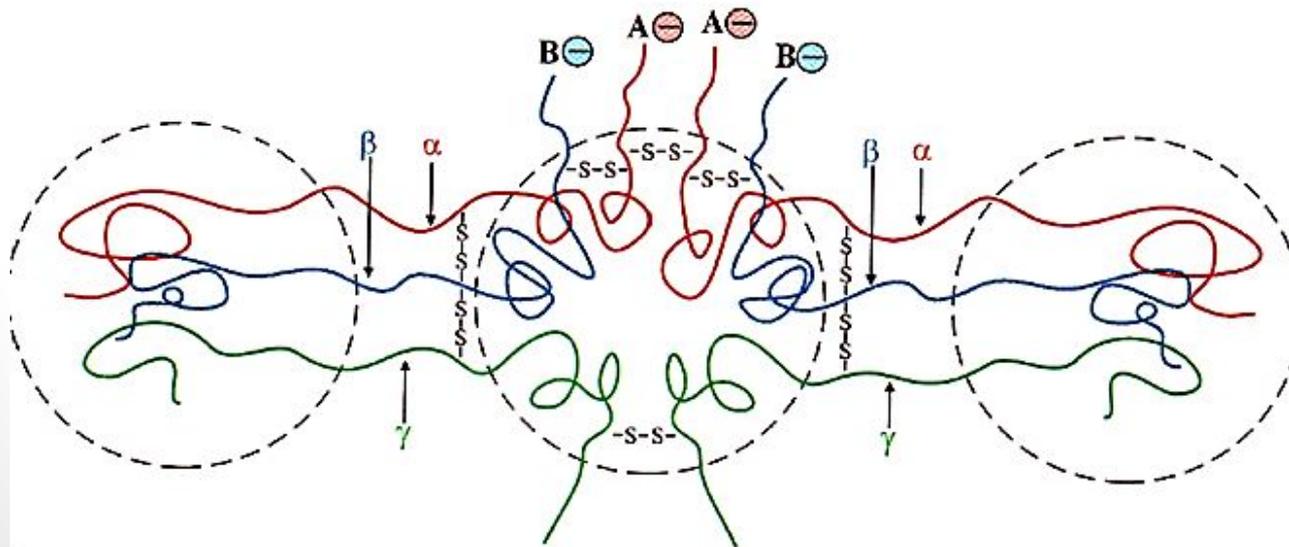
Вторичный гемостаз

ЭТАПЫ

- Превращение фибриногена в мономер фибрина
- Образование нерастворимого геля фибрина
- Стабилизация геля фибрина
- Сжатие геля фибрина

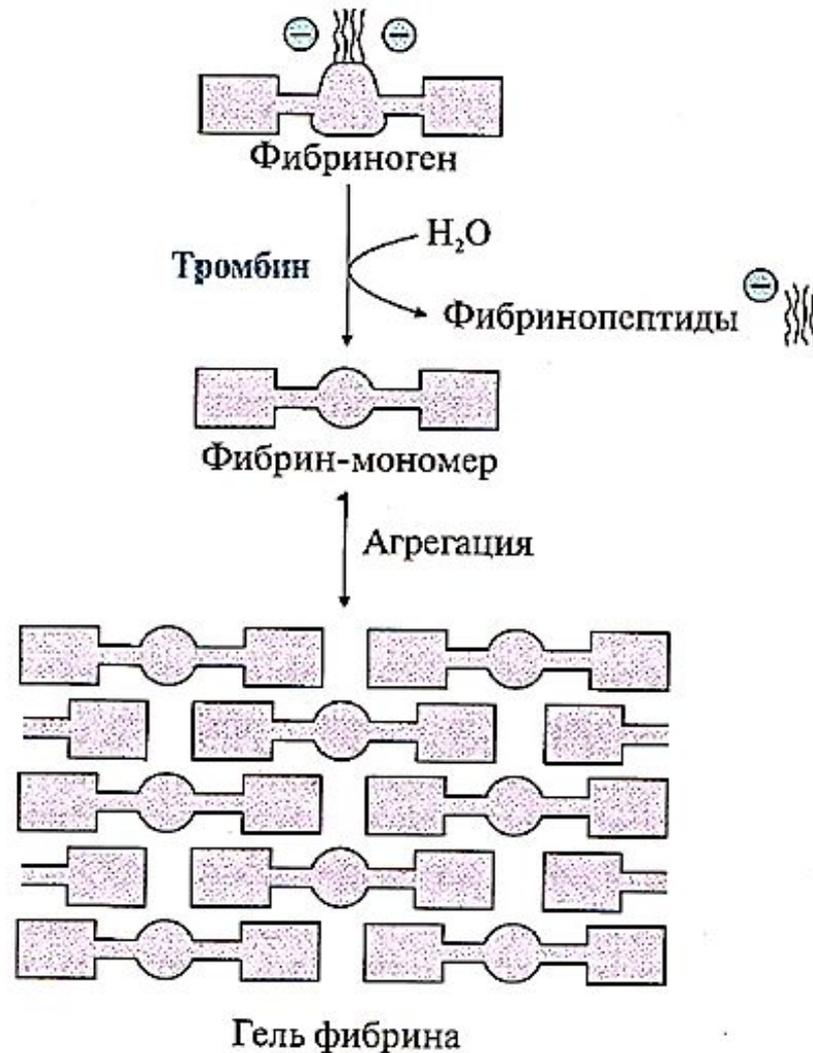
Фибриноген (фактор I)

Гликопротеин из 6 полипептидных цепей 3 типов: $2\text{A}\alpha$, $2\text{B}\beta$, 2γ , связанных дисульфидными связями и образующих 3 домена. N-концевые участки A и B цепей $\text{A}\alpha$, $\text{B}\beta$ содержат много дикарбоновых кислот, заряженных отрицательно, поэтому молекулы фибриногена не агрегируют.



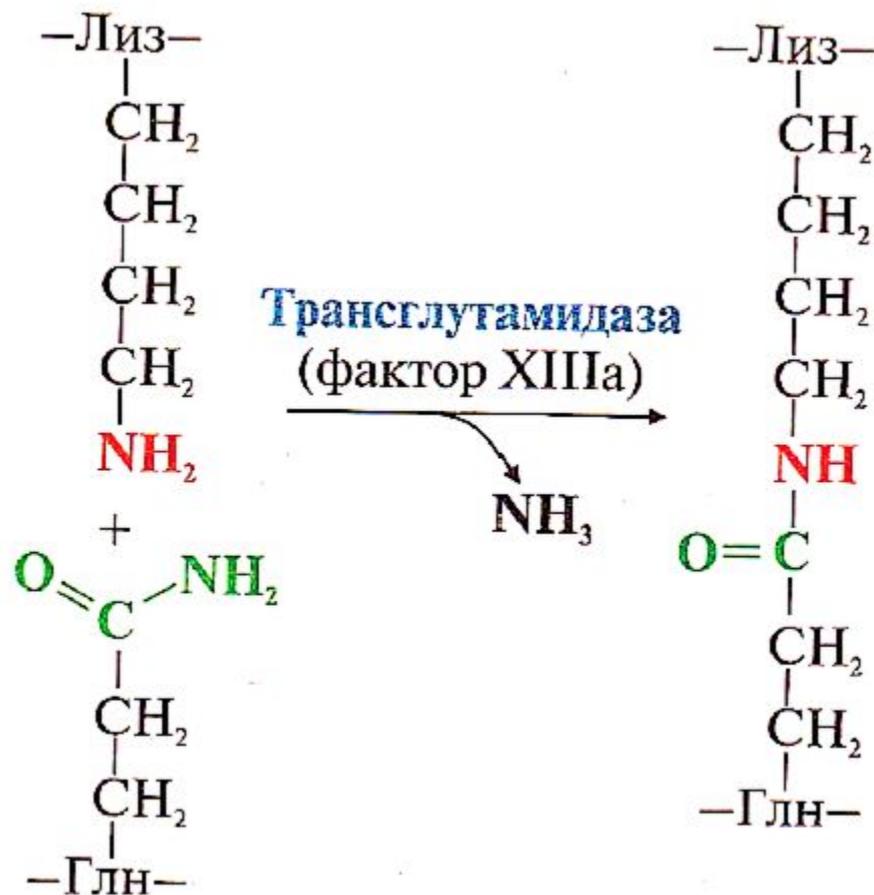
Образование фибрина-мономера и геля фибрина

- Сериновая протеаза **тромбин** отщепляет А и В-фибринопептиды от фибриногена, образуя фибрин-мономер. Взаимодействие комплементарных участков в доменах молекул фибрина-мономера приводит к образованию геля фибрина, который поддерживается нековалентными связями.



Стабилизация геля фибрина и его сжатие

- Образование амидных связей между глутамином и лизином мономеров фибрина, а также между фибрином и фибронектином
- Сжатие геля осуществляет сократительный белок тромбоцитов тромбостенин в присутствии АТФ



Протеолитические реакции, предшествующие коагуляции (образованию фибринового тромба)

Прокоагулянтные реакции

- инициируются на поврежденной или измененной тромбогенным сигналом клеточной мембране клеток крови и эндотелия
- катализируются протеазами, которые активируются частичным протеолизом и проявляют максимальную активность в составе мембранных комплексов (фосфолипиды, белки-активаторы, Ca^{2+})
- заканчиваются образованием тромбина

Большинство факторов свертывания крови активируются по механизму положительной обратной связи

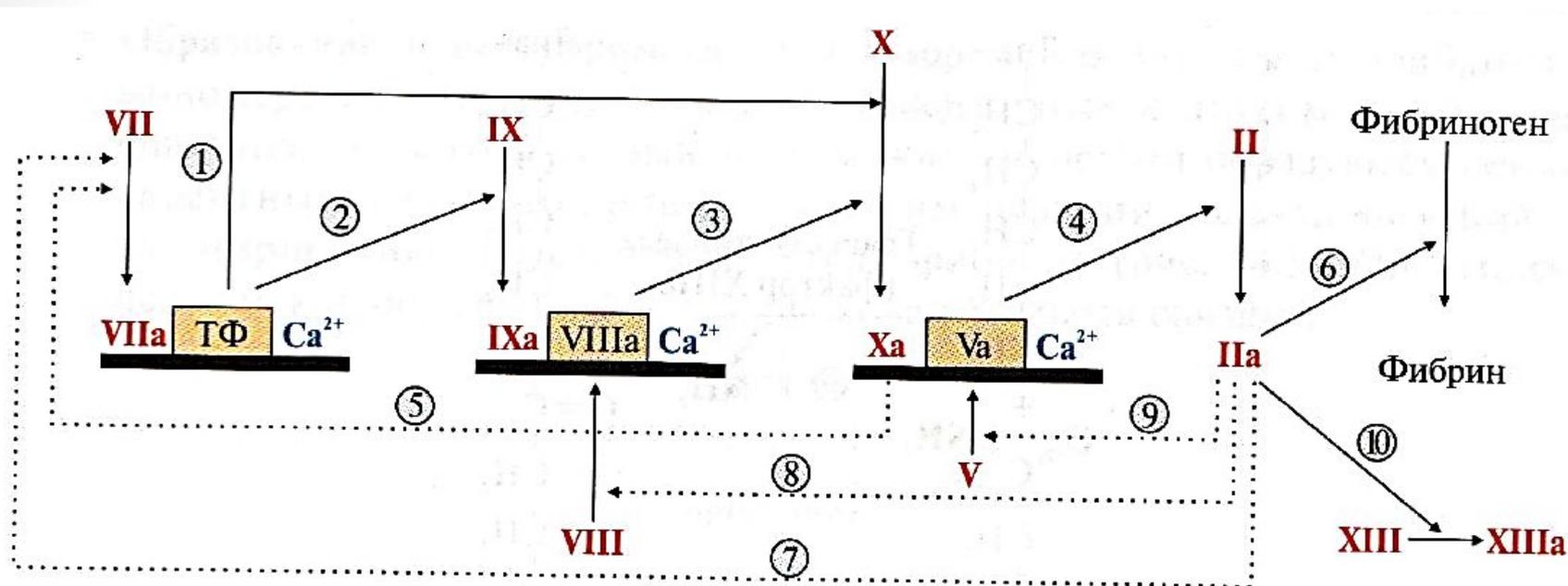
Внешний и внутренний пути свертывания крови

- Внешний путь инициируется при взаимодействии белков свертывающей системы с тканевым фактором (ТФ), который экспонируется на мембранах поврежденного эндотелия и активированных тромбоцитах
- Внутренний путь инициируется при контакте белков свертывающей системы с отрицательно заряженными участками поврежденного эндотелия

Мембранные комплексы внешнего пути свертывания крови

- **Белки-активаторы протеолитического фермента:**
 - тканевой фактор (ТФ)
 - факторы V и VIII (активируются частичным протеолизом)
- **Отрицательно заряженные ФЛ мембран эндотелия и тромбоцитов**
- **Са 2+** (участвует в связывании протеолитических ферментов с мембранами клеток)
- **Протеолитические ферменты – сериновые протеазы:** факторы VII, IX, X (содержат на N-конце молекулы 10-12 остатков γ -карбоксиглутаминовой кислоты)

Прокоагулянтный этап свертывания крови и превращение фибриногена в фибрин



Стрелка – активация факторов свертывания крови

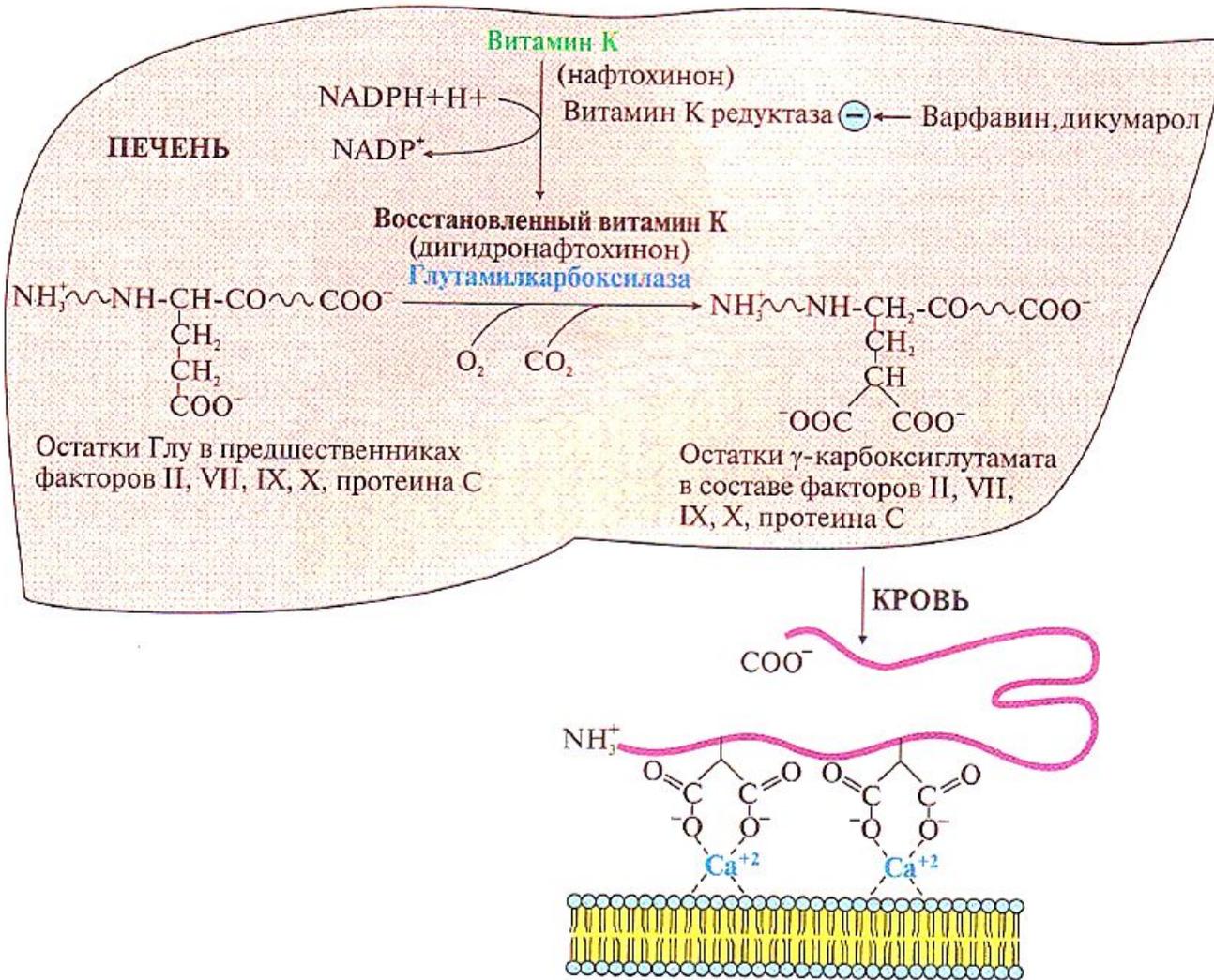
Стрелка с точками – активация факторов свертывания по механизму положительной обратной связи

Жирная линия – мембранный ФЛ-компонент

В рамке – белки-активаторы

Фактор II – протромбин, **фактор IIa** – тромбин, **фактор XIIIa** - трансклутамидаза

Посттрансляционное карбоксилирование остатков глутамата в молекулах сериновых протеаз свертывающей системы крови (факторы II, VII, IX, X) и роль кальция в связывании этих ферментов на тромбогенных участках клеточных мембран



Протромбин (фактор II)

- Протромбин – гликопротеин, синтезируется в печени
- Концентрация в крови 0,1 – 0,2 г/л
- Содержит остатки γ -карбоксиглутамата и дисульфидную связь
- Остатки γ -карбоксиглутамата необходимы для связывания посредством Ca^{2+} с поврежденной мембраной, что обеспечивает доступность протромбина для **протромбиназного комплекса Ха-Va- Ca^{2+}**

Активация протромбина

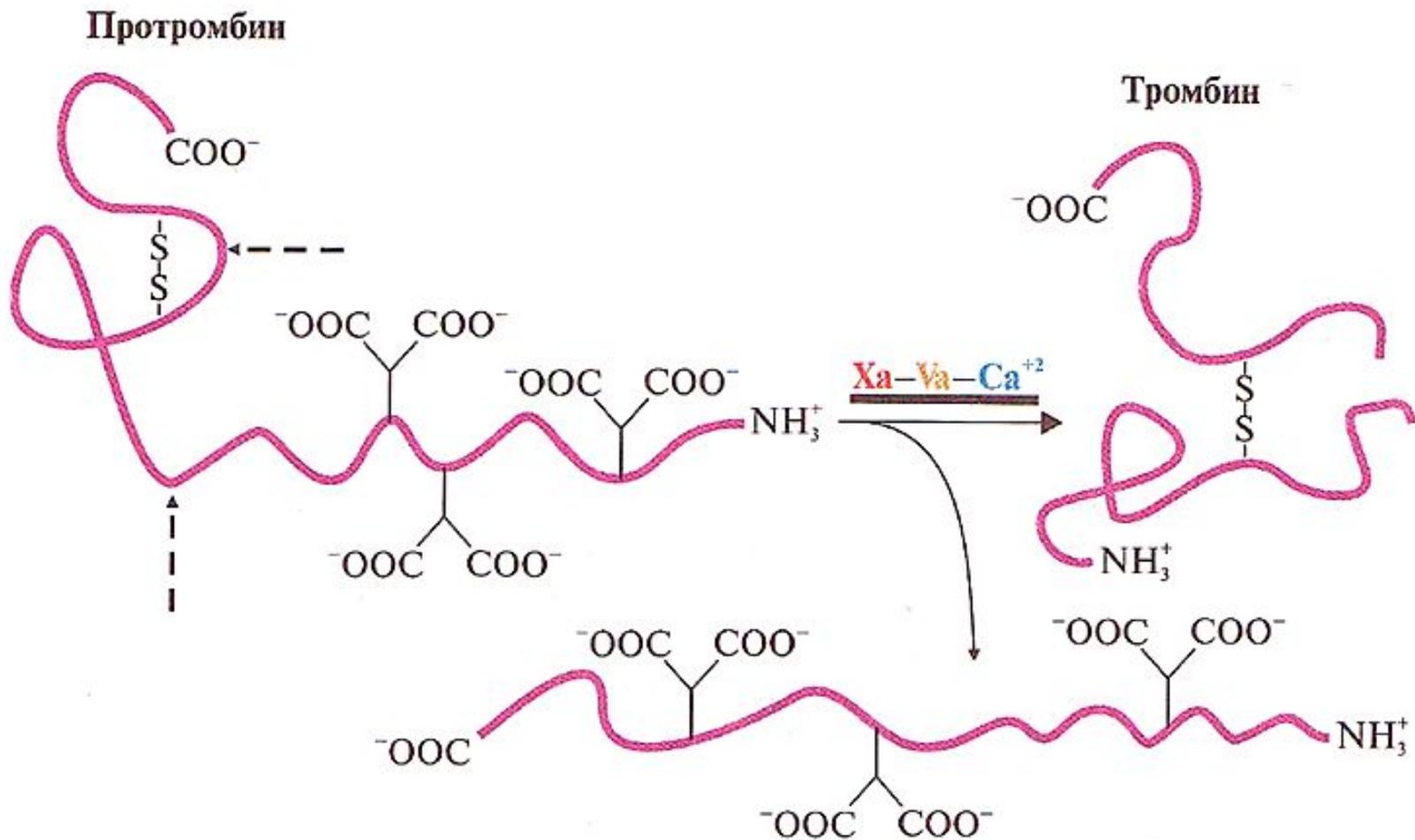
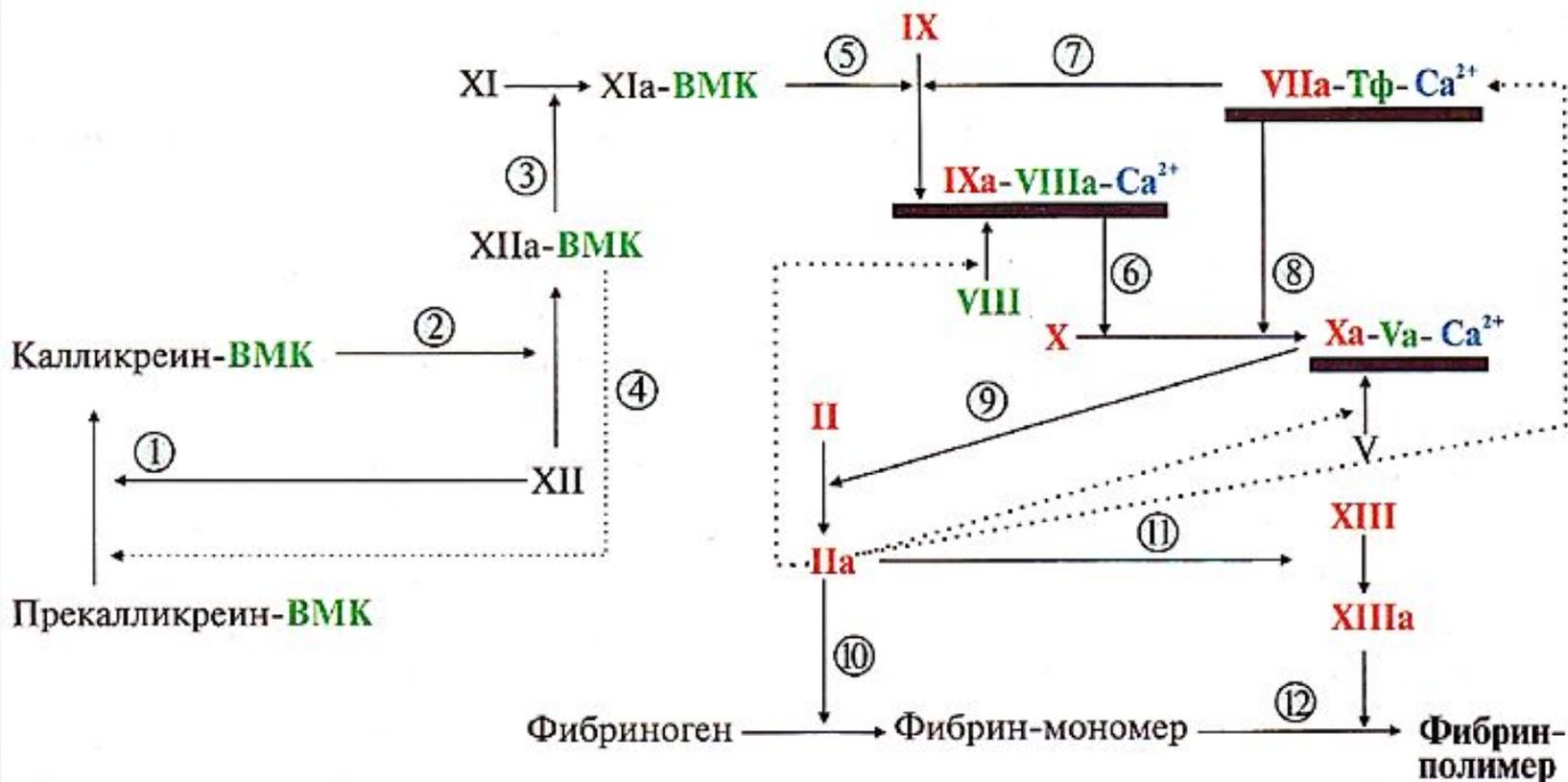


Схема внешнего и внутреннего пути свертывания крови



ВМК – высокомолекулярный кининоген (белок-активатор)

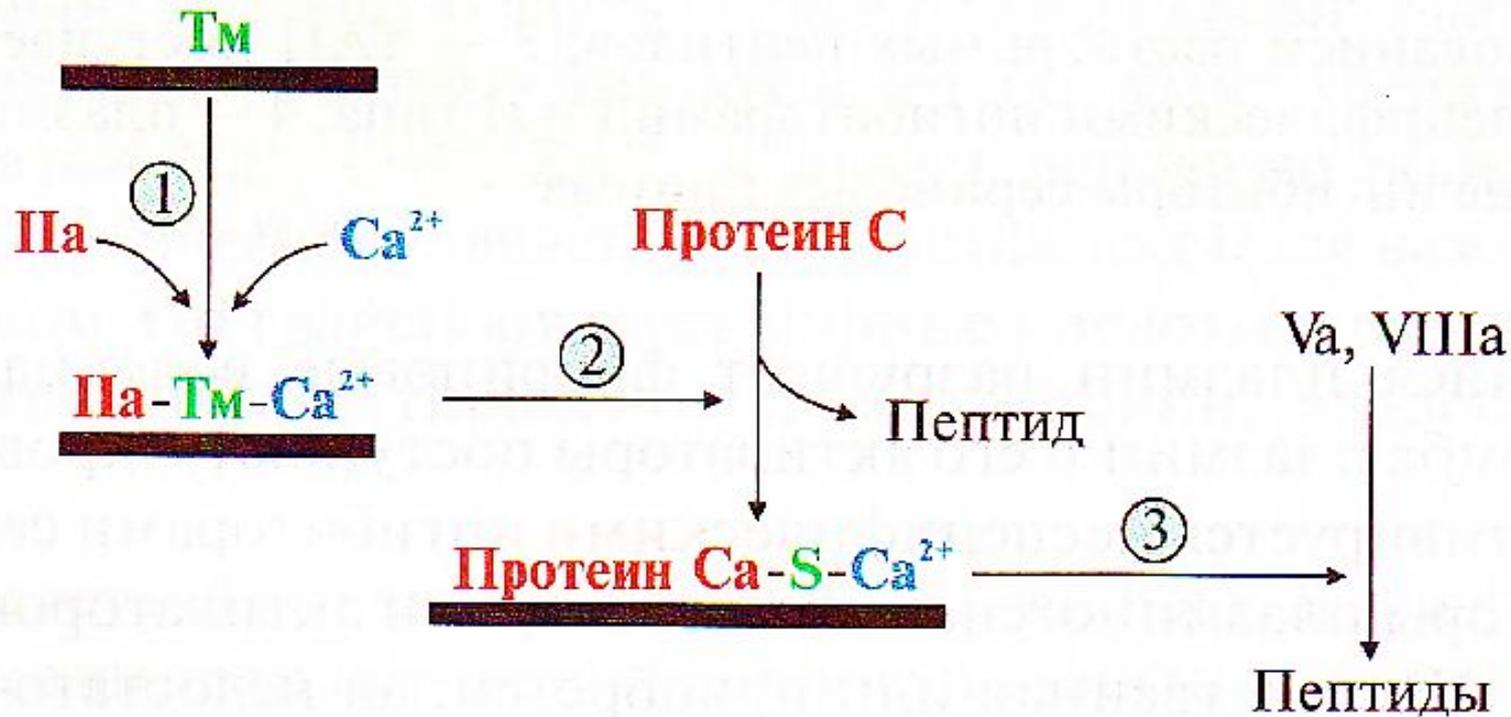
Самостоятельно проследите внутренний путь свертывания крови, который начинается с аутокаталитической активации фактора XII, вызванной контактом этого профермента с участком поврежденного эндотелия

Гемофилия – снижение свертываемости крови

- Наследственная недостаточность белков свертывающей системы крови
- **Гемофилия А:** мутация гена фактора VIII, локализованного в X-хромосоме; проявляется как рецессивный признак, поэтому страдают мужчины
- Подкожные, внутримышечные, внутрисуставные кровотечения, опасные для жизни
- Лечение: препараты, содержащие фактор VIII, полученный методом генной инженерии
- **Гемофилия В:** мутация гена фактора IX (встречается реже)

Противосвертывающая система крови (система протеина С)

- Сохраняет кровь жидкой и предотвращает рост тромба за пределы поврежденного участка сосуда

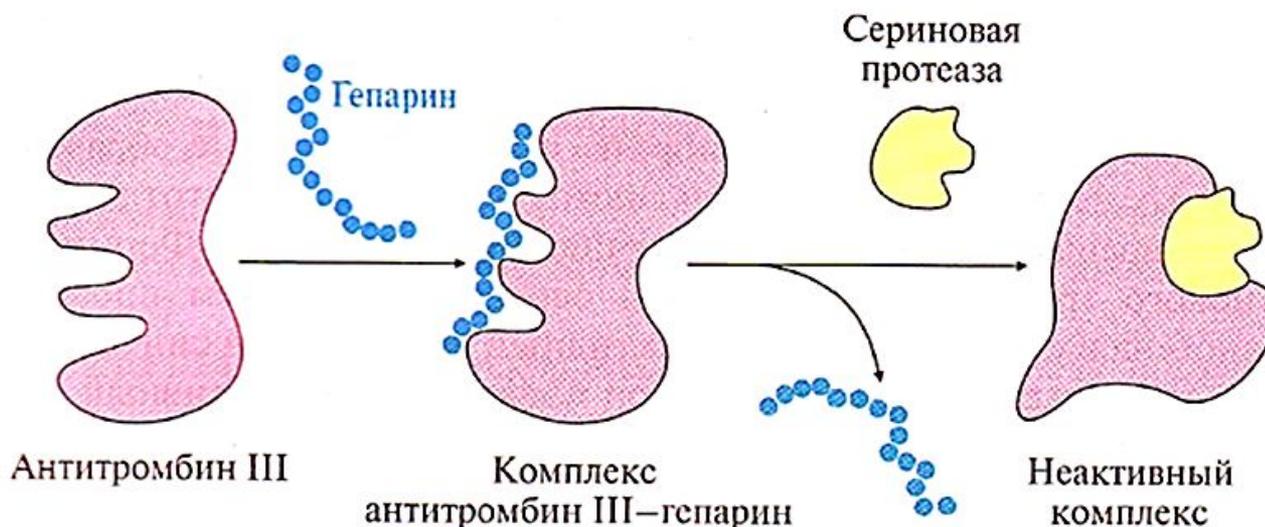


Система протеина С

- Иницируется тромбином
- Тромбин взаимодействует с рецептором неповрежденных клеток эндотелия тромбомодулином (Тм)
- Образуется мембранный комплекс IIa-Тм-Са²⁺
- Тромбин в мембранном комплексе теряет способность активировать факторы V и XIII, превращать фибриноген в фибрин, а также частичным протеолизом активирует протеин С
- Протеин С взаимодействует с белком-активатором S и образуется мембранный комплекс С- S-Са²⁺
- Протеин С в комплексе гидролизует факторы Va и VIIIa
- Торможение каскада реакций внешнего пути свертывания крови
- Наследственный дефицит протеина С, мутация гена фактора V приводит к тромбозам

Антитромбин III

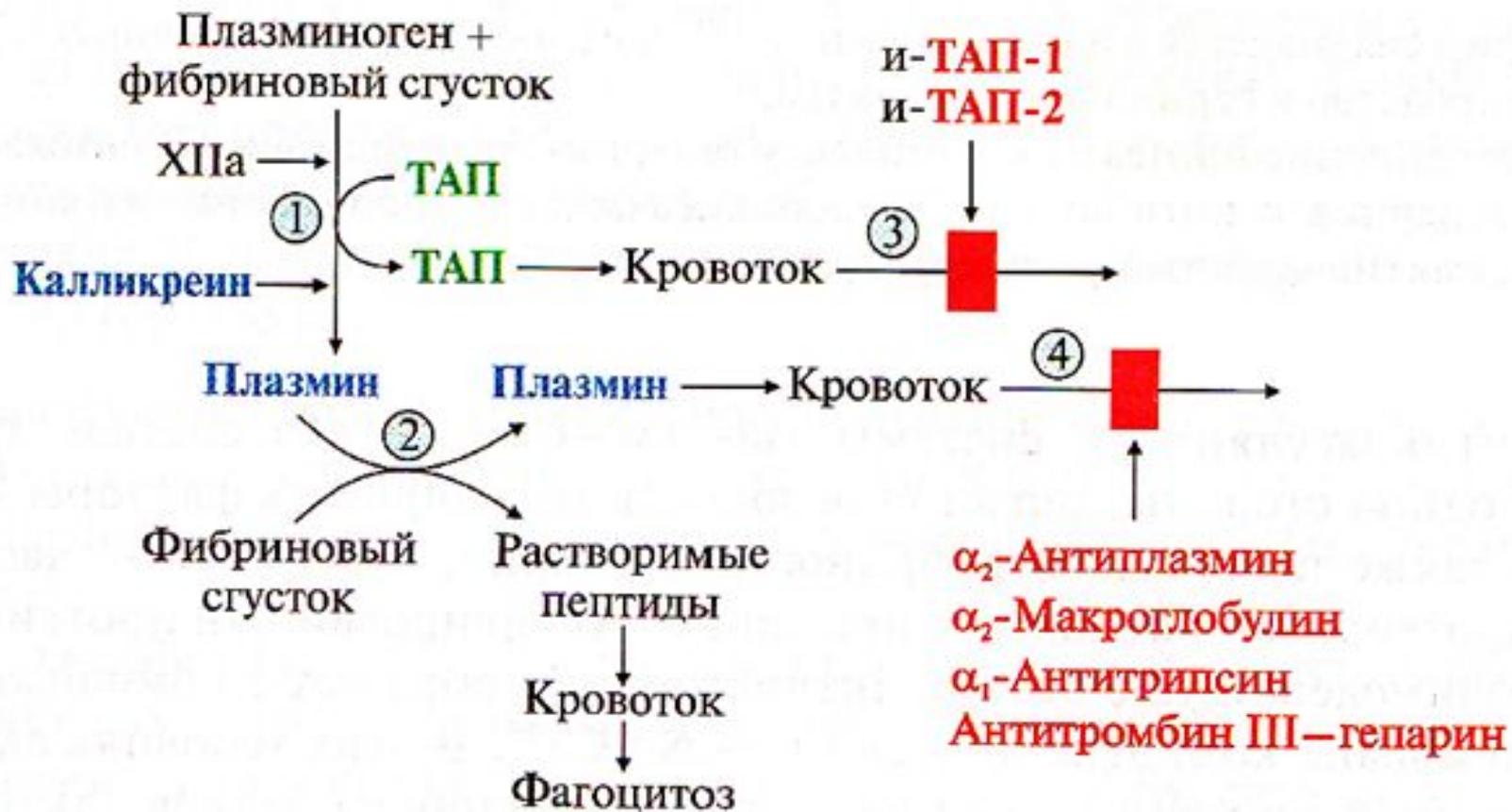
- Белок плазмы крови, инактивирующий ряд сериновых протеаз: тромбин, факторы IXa, Xa, XIIa, плазмин, калликреин
- Активатор антитромбина – гепарин (тучные клетки соединительной ткани)



Фибринолиз

- Гидролиз фибрина тромба ферментом плазмином с образованием растворимых пептидов, которые удаляются из кровотока
- Плазмин образуется в кровотоке из плазминогена, который синтезируется в печени, под действием тканевого активатора плазминогена (ТАП), урокиназы, фактора XIIa и калликреина
- ТАП ингибируется специфическими ингибиторами *и*-ТАП-1 и *и*-ТАП-2
- Плазмин ингибируют неспецифические ингибиторы сериновых протеаз (антиплазмин, антитрипсин и др.)

Фибринолитическая система крови



Нарушения фибринолиза

- Наследственные и приобретенные формы недостаточности белков фибринолитической системы приводят к тромбозам
- Урокиназа, ТАП, получаемые методами генной инженерии применяются в клинике при тромболитической терапии инфаркта, тромбозах вен нижних конечностей и гемодиализе
- Стрептокиназа, выделенная из β -гемолитического стрептококка, образует комплекс с плазминогеном, в котором происходит его аутокаталитическая активация

Литература

1. Биологическая химия с упражнениями и задачами: учебник / ред. С. Е. Северин. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. - 624 с. (модуль 13 С. 570-585, модуль 14 С. 585 – 609)
2. Биологическая химия: учебник для студентов медицинских вузов / А.Я. Николаев. – М.:Мед. информ. агенство, 2007. 568 с.
3. Клиническая биохимия: электронное учебное издание / Новосиб. гос.мед.ун-т; сост. И. В. Пикалов [и др.]. - Новосибирск: Центр очно-заочного образования ГОУ ВПО НГМУ Росздрава, 2008
4. Биохимия: учебник для студентов медицинских ВУЗов / ред. Е. С. Северин -М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. -784 с. (раздел 13 С. 636-656, раздел 14)