

БИОХИМИЯ КРОВИ

ПЛАН ЛЕКЦИИ

Основные вопросы:

1. Физико-химические свойства и химический состав крови.
2. Характеристика белков плазмы.
3. Свертывание крови.

КРОВЬ - жидкая ткань, которая транспортирует химические вещества и обеспечивает постоянство внутренней среды организма.

ПЛАЗМА – кровь без форменных элементов.

В пробирку **антикоагулянты**, а затем кровь \square 3000 об/мин в течении 5-6 мин. Форменные элементы выпадают в осадок, в надосадке – **плазма**.

СЫВОРОТКА – плазма без фибриногена.

- 1) В пробирку наливают свежую кровь \square сгусток \square 3000 об/мин в течении 5-6 мин \square получают **сыворотку**.
- 2) Из плазмы при долгом стоянии на холоде в осадок выпадает фибрин, в надосадке – **сыворотка**.

ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИ

1. количество - 7% от массы тела (в среднем 5 л)
2. плазма составляет 55%, форменные элементы 45%
3. плотность (удельный вес) крови составляет 1,050-1,064, плазмы – 1,024-1,030 г/см³.
4. осмотическое давление равно 7,6 атм, в том числе 0,02-0,04 атм. приходится на долю белков (т.е. онкотическое давление)
5. рН крови = 7,36 (или $7,4 \pm 0,04$)
6. вязкость в 4-5 раз больше вязкости воды

ФУНКЦИИ КРОВИ

1. Дыхание - транспорт O_2 и CO_2 .
2. Питание - транспорт питательных веществ.
3. Выделение - перенос конечных продуктов метаболизма в почки, легкие, кожу, кишечник для последующего их выделения.
4. Регуляция водного баланса.
5. Буферная - поддержание кислотно-щелочного равновесия в пределах $pH\ 7,4 \pm 0,04$
6. Терморегуляция - путем распределения тепла.
7. Метаболическая (некоторые обменные процессы протекают в самой крови. Например: превращение ЛПОНП в ЛПНП).
8. Транспорт гормонов и регуляция обмена веществ.
9. Транспорт различных метаболитов.
10. Защита от инфекций - осуществляется лейкоцитами и циркулирующими в крови антителами.
11. Коагулирующая (свертывающая).

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПЛАЗМЫ

1. **Белки** 65-85 г/л.

2. **Небелковые азотсодержащие вещества:**

- Остаточный азот 17-35 ммоль/л.
- Мочевина 3,3-6,6 ммоль/л.
- Мочевая кислота 0,18-0,24 ммоль/л.
- Креатин 15-70 мкмоль/л.
- Креатинин 53-106 мкмоль/л.

3. **Углеводы, их производные и продукты обмена:**

- Глюкоза 3,3-5,5 ммоль/л.
- Гексозамины, сиаловые кислоты, лактат, пируват и др.

4. **Липиды:**

- Общие липиды 4-8 г/л.
- Фосфолипиды 1-3 г/л.
- Холестерин 3,3-6,6 ммоль/л.
- Кетоновые тела 8-30 мг/л и др.

5. **Минеральные вещества и электролиты**

- Na^+ , K^+ , Mg^{++} , железо;
- бикарбонаты, хлориды, сульфаты.
- Фосфор 0,8-1,45 ммоль/л.
- Общий Са 2,2-2,6 ммоль/л.

6. **Вода** 90%

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

- знать нормальные величины
- уметь объяснять отклонения от нормы
- использование при постановке диагноза, контроле за ходом лечения, прогнозе.

РОЛЬ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ

1. онкотическое давление
 2. вязкость
 3. поддерживают рН
 4. резерв при голодании
 5. транспорт
 6. гуморальный иммунитет
 7. ингибиторы протеаз (альфа-1-антитрипсин, альфа-2-макроглобулин, антиплазмин, антитромбин)
 8. ферментные протеолитические системы:
 - свертывающая
 - фибринолитическая
 - комплемента
 - калликреин-кининовая
 - ренин-ангиотензиновая
- обеспечивают в основном альбумины

ФРАКЦИОННЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ КРОВИ

Белки плазмы подразделяются на фракции с помощью методов:

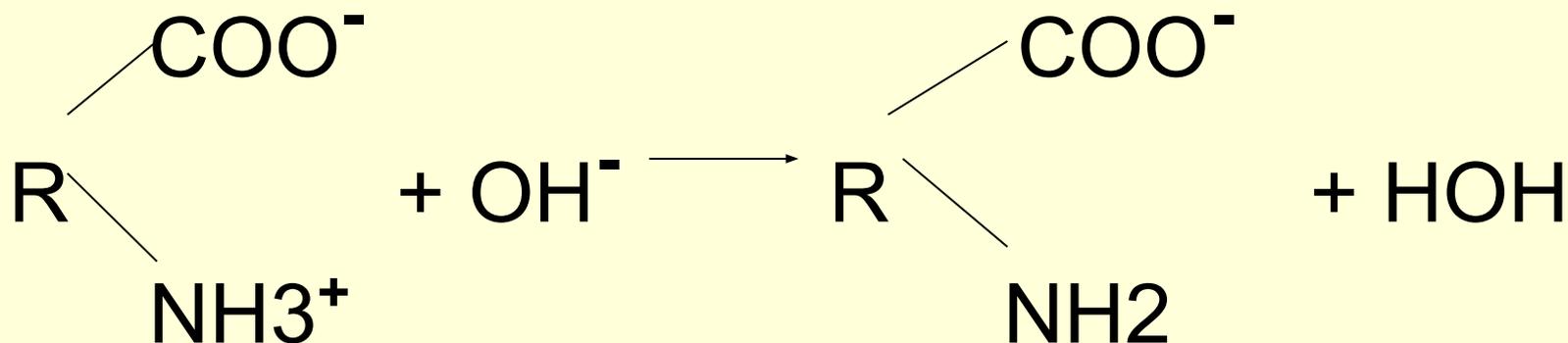
- А) высаливания (осаждения),
- Б) электрофореза.

При высаливании

- | | |
|------------------------|-----------------------------------|
| 1. альбумины 40-50 г/л | } общий белок
плазмы 65-85 г/л |
| 2. глобулины 20-30 г/л | |
| 3. фибриноген 2-4 г/л | |

электрофорез

бумага пропитывается буферным раствором $\text{pH}=8,6$, при этом белки приобретают выраженный (-) заряд и в электрическом поле двигаются к «+».



ФРАКЦИОННЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ

Преальбумины	0 - 0,2%
Альбумины	50 – 60%
Альфа 1-глобулины	1 – 5%
Альфа 2- глобулины	8 – 11%
Бета-глобулины	11 - 15%
Гамма-глобулины	12 – 25%

ПРЕАЛЬБУМИНЫ

появляется не всегда, 0 - 0,2% от всех белков плазмы.

Белки этой фракции передвигаются перед альбуминами, так как:

- имеет небольшую молекулярную массу
21 кДа - ретинальсвязывающий белок,
17 кДа - тироксинпереносящий белок;
- более выраженный отрицательный заряд (например: альбумины, нагруженные антибиотиками, которые и придают дополнительный отрицательный заряд).

АЛЬБУМИНЫ

АЛЬБУМИНЫ – 50-60 % от всех белков плазмы. М.м.69 тыс. Да, синтез в печени, осаждаются при 100% насыщении, быстро обновляются. Альбумины имеют выраженный отрицательный заряд, ИЭТ=4,7. Альбумины связывают и транспортируют:

- «+»-заряженные ионы кальция, магния, натрия, меди, цинка.
- В гидрофобных карманах - ВЖК, непрямой билирубин, стероидные гормоны.
- лекарственные вещества (антибиотики, сердечные гликозиды, барбитураты и др.).

ГЛОБУЛИНЫ

это разнородная группа белков, которые осаждаются при 50% насыщении.

- М.м. больше 100 тыс. Да.
- Синтез в печени (кроме гамма-глобулинов).
- Гликопротеины (подавляющее большинство).

АЛЬФА-1-ГЛОБУЛИНОВАЯ ФРАКЦИЯ 1-5 %

1. **альфа-1-антитрипсин** - ингибитор протеиназ (трипсина, плазмина).
2. **альфа-фетопротейн** – синтезируется молодыми гепатоцитами, эмбриональный белок, появляется при токсических отравлениях печени, раке печени и метастазах в печень.
3. **серомукоиды** (альфа-1-кислый гликопротеин, орозомукоид) – ГП, содержащие до 35 % углеводов, на концах олигосахаридных цепей много остатков сиаловых кислот, поэтому серомукоиды имеют выраженный отрицательный заряд, являются защитными белками, имеют рецепторные участки для связывания микроорганизмов и вирусов.

АЛЬФА-2-ГЛОБУЛИНОВАЯ ФРАКЦИЯ 8-11 %

1. **альфа-2-макроглобулин** – м.м. 725 тыс.Да, ингибитор протеаз (плазмина, тромбина, трипсин и др.).
2. **гаптоглобин** – связывает свободный гемоглобин и транспортирует его в клетки РЭС, составляет примерно четверть всех альфа-2-глобулинов.
3. **гемопексин** – связывает свободный гем и транспортирует его в клетки РЭС
4. **церулоплазмин** – содержит 8 атомов меди, окисляет Fe^{2+} в Fe^{3+} , окисляет витамин С.

БЕТА-ГЛОБУЛИНОВАЯ ФРАКЦИЯ 11-15 %

1. **трансферрин** – транспортирует 2 атома 3-х валентного железа.
2. **C₃** – компонент комплемента. Система комплемента - группа белков, обладающих протеолитической активностью. Активируются при связывании с комплексом а/г-а/т и разрушают его до аминокислот.
3. **апопротеины липопротеинов (ЛПНП)**

ГАММА-ГЛОБУЛИНОВАЯ ФРАКЦИЯ 12-25 %

Иммуноглобулины

- **Ig A,**
- **Ig G**
- **Ig M**
- **Ig E**
- **Ig Д**

Строение иммуноглобулинов

Ig - олигомерные белки, состоят из 2-х тяжелых (H) и 2-х легких (L) цепей, соединенных между собой дисульфидными связями. В каждой цепи различают:

- переменный участок (V), расположенный на N-конце каждой цепи
- константный участок (C), расположенный на C-конце цепей.
- **Переменный участок:** аминокислотная последовательность этого участка непостоянна (варьирует), это определяет уникальность каждого вида антитела. При взаимодействии переменных участков тяжелых (VH) и легких цепей (VL) формируется своеобразный активный центр, который связывает антиген. Образуется комплекс антиген-антитело.
- **Константный участок (C):** аминокислотная последовательность постоянна для каждого типа цепей и отвечает за связь молекулы иммуноглобулина с рецепторами на мембранах лимфоцитов, макрофагов, тучных клеток.

- Ig -гликопротеины, содержание углеводов от 3 до 10%. Углеводная (олигосахаридная) цепочка обеспечивает гидрофильность молекул и защиту от протеолиза, в связывании антигена не участвует.
- Ig циркулируют в крови свободно или связанными с лимфоцитами. Ig содержатся в крови, во внеклеточной жидкости, слюне, молозиве, молоке, поте, секрете слизистых оболочек дыхательных путей, ЖКТ.

КЛАССИФИЦИРУЮТСЯ Ig по строению тяжелых цепей на 5 классов: А, М, G, E, D.

- **Ig A** - секреторный, синтезируется субэпителиальными плазматическими клетками. Защищает слизистые, сообщающиеся с внешней средой от микроорганизмов, токсинов, вирусов в месте их внедрения.
- **Ig M** - самый крупный из всех Ig, пентамер, м.м. 900 тыс. Да. Содержание в крови резко повышается в первые часы и дни заболевания.
- **Ig G** - наиболее широко представлены, их 80%-90% от общего количества Ig. Могут проникать через плаценту (создают пассивный иммунитет ребенку в течение примерно месяца, т.к. время их полужизни 21 день).
- **Ig E** - фиксируются своими константными участками тяжелых цепей на мембранах тучных клеток, а переменными участками связывают антиген. При образовании комплекса а/г-а/т из тучных клеток секреторно выделяются в окружающее пространство гистамин и серотонин, которые обеспечивают появление симптомов аллергии. Содержание Ig E повышается при паразитарных инфекциях, глистных инвазиях, а также при заболеваниях, имеющих аллергическую природу (например, при бронхиальной астме).
- **Ig D** - содержание от 0 до 1% от всех Ig. Функция точно не установлена. Повышается при хронических инфекционных заболеваниях, заболеваниях соединительной ткани.



В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ИССЛЕДУЮТ:

- Общий белок плазмы.
- Фракции белков (содержание и %-соотношение).
- Содержание отдельных белков.

ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ОБЩЕГО БЕЛКА ПЛАЗМЫ

В норме = 65-85 г/л

ГИПЕРПРОТЕИНЕМИЯ - выше 90 г/л.

- **Относительная** связана с потерей воды при диарее (поносе), рвоте, обширных ожогах.
- **Абсолютная** обусловлена увеличением уровня патологически измененных гамма-глобулинов).
Содержание белка может увеличиваться до 100-160 г/л при миеломной болезни.

ГИПОПРОТЕИНЕМИЯ

снижение общего белка плазмы ниже 60 г/л (в основном за счет альбуминов).

ПРИЧИНЫ:

1. Белковая недостаточность.
2. Потеря белка с мочой; кровопотери.
3. Нарушение синтеза белков плазмы (поражение печени).
4. Ускоренный распад белков в организме (гипертиреоз, острые инфекции).

Гипопротеинемии сопровождаются **нарушением коллоидно-осмотического давления**, при этом жидкость выходит из сосудистого русла в окружающие ткани и возникают **отеки**.

ДИСПРОТЕИНЕМИЯ

изменение процентного соотношения белковых фракций плазмы крови, хотя общее содержание белка в плазме может оставаться в пределах нормы.

Наблюдается при:

- циррозе печени – снижение всех фракций, кроме гамма-глобулинов;
- нефротическом синдроме (массивной протеинурии) – всех кроме альфа-2-глобулинов (компенсаторно повышается синтез альфа-2-макроглобулина с большой м.м.);
- миеломной болезни – повышается гамма-глобулиновая фракция.
- острофазной реакции организма - повышаются альфа-1 и альфа-2-глобулины.

БЕЛКИ "ОСТРОЙ ФАЗЫ"

белки плазмы крови, содержание которых быстро и значительно изменяется при инфекционных, травматических или злокачественных процессах в организме.

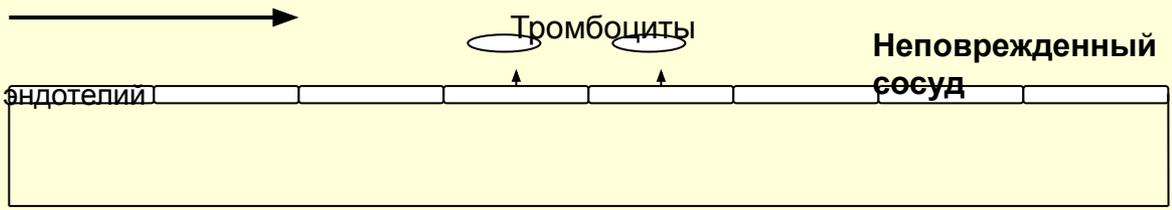
Располагаются в основном в альфа-1 и альфа-2 фракциях.

К основным острофазным белкам относятся:

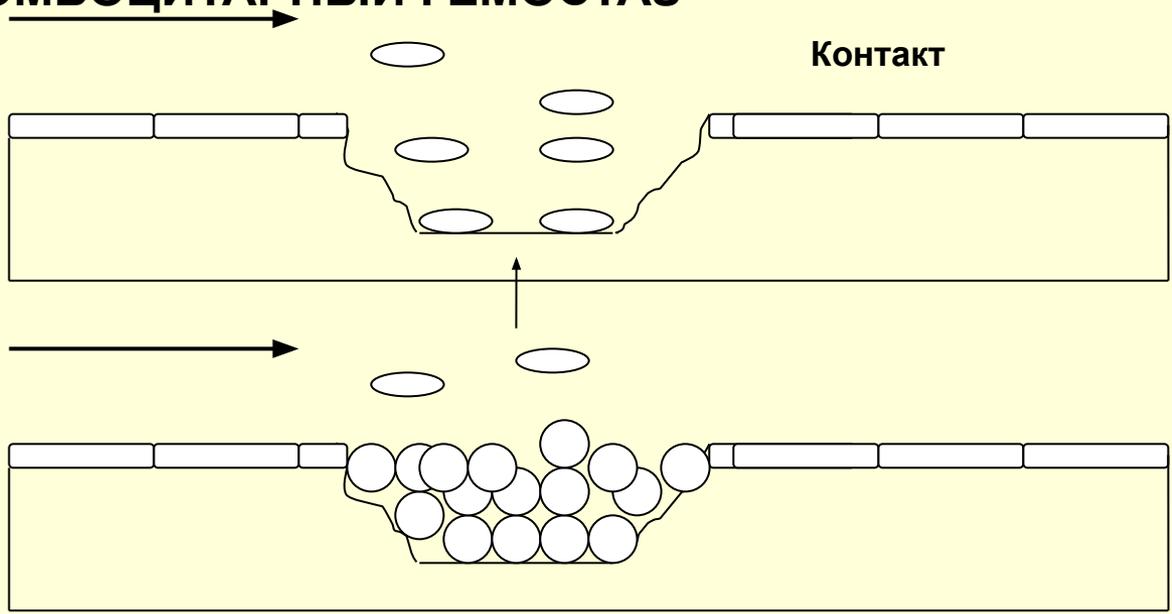
- С-реактивный белок,
- серомукоиды,
- альфа1-антитрипсин.

ГЕМОСТАЗ

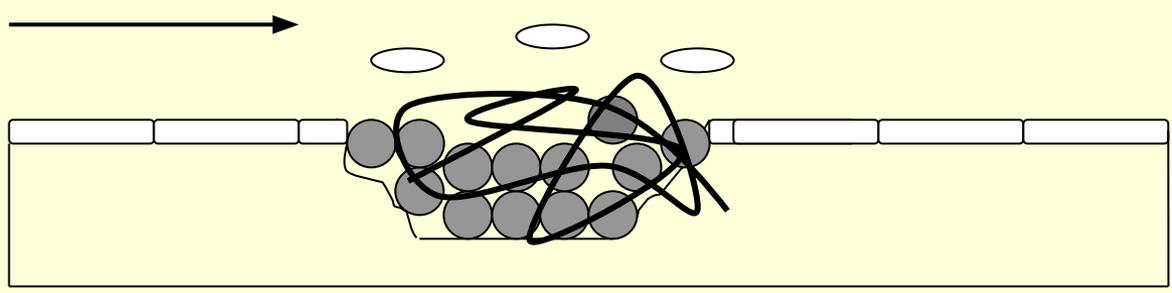
система, обеспечивающая
жидкое состояние крови и
остановку кровотечения.



СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНЫЙ ГЕМОСТАЗ



КОАГУЛЯЦИОННЫЙ ГЕМОСТАЗ



- **первичный (сосудисто-тромбоцитарный) гемостаз**, цель которого образование тромбоцитарной пробки в месте повреждения сосуда (т.н. белый тромб)
- **вторичный (коагуляционный, плазменный) гемостаз**, цель которого формирование фибриновой сети, которая повышает плотность тромба и закрепляет тромб на сосудистой стенке в месте повреждения (т.н. красный тромб, т.к. застревают эритроциты и др. форменные элементы).

ФАКТОРЫ СВЕРТЫВАНИЯ

Их номенклатура введена Международным комитетом. Выделяют тринадцать плазменных факторов (обозначаются римскими цифрами). Тромбоцитарные (пластиночные) факторы обозначаются арабскими цифрами (P_3 , 3).

Характеристика плазменных факторов свертывания по химической природе и функции

- синтезируются в печени,
- циркулируют в крови в неактивной форме (проферменты), активируются путем частичного протеолиза.

I – фибриноген (растворимый фибриллярный белок), при отщеплении «-» заряженных концевых пептидов превращается в нерастворимый фибрин, обладающий способностью к самосборке с образованием фибриновой сети.

II, VII, IX, X, XI, XII – проферменты протеаз;

XIII – профермент трансглутаминазы, образует ковалентные сшивки между молекулами фибрина

III – тканевой тромбопластин – комплекс апопротеинаIII с фосфолипидами (P_3 – тромбоцитарный тромбопластин)

IV – ионы кальция

V, VIII - белки, обеспечивают взаимную ориентацию и стыковку факторов.

Название факторов свертывания крови

I - Фибриноген

II - Протромбин

III - Тканевой тромбопластин

IV - Кальций

V - Проакцелерин , акцелератор-глобулин,

VII - Проконвертин

VIII - Антигемофильный глобулин

IX - Фактор Кристмаса

X - Фактор Стюарта – Провера, тромботропин

XI - Плазменный предшественник тромбопластина

XII - Фактор Хагемана

XIII - Фибринстабилизирующий фактор, фибринолегаза

Фактор Виллебранда

Прекалликреин, фактор Флетчера

Высокомолекулярный кининоген, фактор Фицджеральда

Фибронектин

ФАЗЫ КОАГУЛЯЦИОННОГО ГЕМОСТАЗА

1. Образование активной **протромбиназы** (тромбокиназы) - комплекс факторов [Xa, Va, Ca⁺⁺, P₃]
2. Превращение протромбина в тромбин.
3. Превращение фибриногена в фибрин.
Сначала образуется непрочный фибриновый гель. Затем под действием XIIIa возникают ковалентные связи между молекулами фибрина.

ПОСЛЕФАЗЫ:

1. **ретракция** - сокращение (сжатие) фибрина-полимера при участии АТФ и тромбостенина (фактор тромбоцитов).
2. **фибринолиз** - разрушение тромба.

ПУТИ СВЕРТЫВАНИЯ

- **внутренний**

пусковой момент - повреждение эндотелия сосуда.

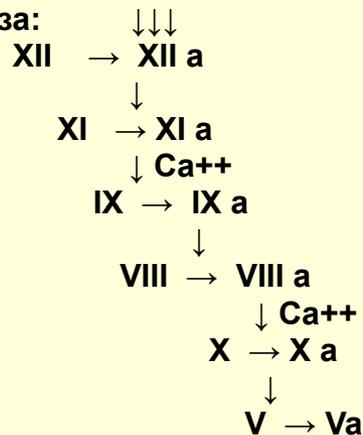
- **внешний**

пусковой момент – попадание в кровь тканевого тромбопластина III при повреждение тканей

СХЕМА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

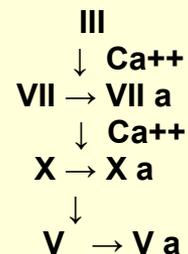
ВНУТРЕННИЙ ПУТЬ

1 фаза:



ВНЕШНИЙ ПУТЬ

↓ ↓ ↓



[Xa, Va, Ca⁺⁺, P3]

2 фаза: ПРОТРОМБИН (II) → ТРОМБИН (IIa)

3 фаза: ФИБРИНОГЕН (I) → ФИБРИН-МОНОМЕР

1 послефаза (ретракция):



2 послефаза (фибринолиз):



ХАРАКТЕРИСТИКА ФИБРИНОЛИЗА (2-ой послефазы)

ПЛАЗМИНОГЕН (профермент)

Активаторы плазминогена

ПЛАЗМИН

Ингибиторы плазмина

ТРОМБ

ПЕПТИДЫ (ПДФ)



Активаторы плазминогена

- Кровяные активаторы
- Тканевой активатор (ТАП) -протеаза
- Урокиназа (в почках) -протеаза
- Трипсин -протеаза
- Стрептокиназа (м/о, лекарственный препарат)

Активаторы плазминогена и плазмин образуют фибринолитическую систему.

Ингибиторы плазмина

- антиплазмин
- альфа-2-макроглобулин
- альфа-1-антитрипсин

Ингибиторы плазмина относятся к антифибринолитической системе.

ПРОТИВОСВЕРТЫВАЮЩАЯ СИСТЕМА КРОВИ

Контролирует свертывание крови.

1. Антикоагулянты (вещества, препятствующие свертыванию).
2. Фибринолитическая система (разрушает тромбы).

АНТИКОАГУЛЯНТЫ

А) естественные (прямые) - циркулируют в крови, оказывают прямое действие:

- 1. антитромбин** (белок, ингибирует тромбин и др. факторы свертывания, на его долю приходится до 80-90% антикоагулянтной активности крови, препятствует распространению тромбообразования в кровотоке)
- 2. гепарин** (ГАГ, усиливает действие антитромбина, синтезируется в тучных клетках)
- 3. антифакторы** на каждый фактор (антиакцелерин на V, антиконвертин на VII и т.д.)
- 4. протеин С [си] и протеин S [эс]**

АНТИКОАГУЛЯНТЫ

Б) искусственные (непрямые):

- применяются как лекарственные препараты для снижения свертываемости (при болезнях, характеризующихся повышенной свертываемостью, в частности при коронарных тромбозах, тромбофлебитах).
- являются **антивитаминами витамина К** (производные кумарина: дикумарол, синкумар, неодикумарин, пелентан, фенилин, варфарин и др.) - нарушают синтез факторов свертывания.
- являются антикоагулянтами **непрямого** действия, так как действие оказывают через несколько дней.

Свертывание крови в ПРОБИРКЕ предотвращают

1. Гепарин

2. оксалат Na

3. цитрат Na

связывают Ca, декальцинированная
кровь не свертывается

БУФЕРНЫЕ СИСТЕМЫ КРОВИ

1. Бикарбонатная - 10% (самая быстрореагирующая)
2. Фосфатная - 1%
3. Белковая - 10-15%
4. Гемоглобиновая - 75% (самая мощная)

В норме рН крови составляет
 $7,4 \pm 0,04$.

Сдвиг рН в кислую сторону - АЦИДОЗ

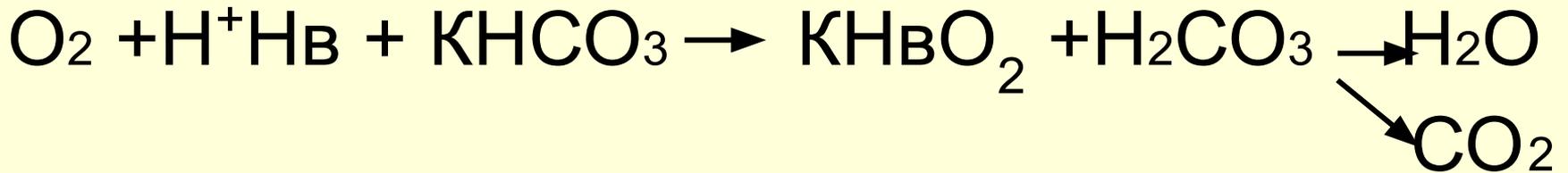
- а) метаболический - накопление в крови кислореагирующих продуктов: кетоновых тел (ацетоуксусной и бета-гидроксимасляной), молочной и пировиноградной кислот.
- б) дыхательный - связан с изменением минутного объема дыхания.

Сдвиг рН в щелочную сторону - АЛКАЛОЗ

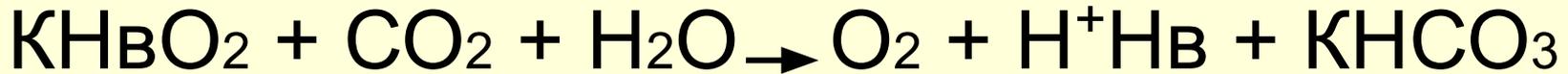
- а) метаболический - накопление в крови аммиака:
 $\text{NH}_3 + \text{HON} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$.
- б) дыхательный - связан с гипервентиляцией легких.

МЕХАНИЗМ СВЯЗЫВАНИЯ И ПЕРЕНОСА O₂ И CO₂ ГЕМОГЛОБИНОМ

В легких:



В тканях:



ФЕРМЕНТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ

- 1. секреторные** - плазмоспецифические, синтезируются в печени, работают в плазме крови.

Например: псевдохолинэстераза, факторы свертывания крови.

- 2. индикаторные** (внутриклеточные) - синтезируются и работают в клетках различных тканей. В норме активность индикаторных ферментов. в крови очень низкая, резко возрастает при патологиях, связанных с разрушением этих клеток.

Например:

при инфаркте миокарда – АСТ (ГОТ), ЛДГ₁, креатинкиназа КК-МВ

при гепатите – АЛТ (ГПТ), ЛДГ₅

при патологии мышечной ткани – креатинкиназа КК-ММ

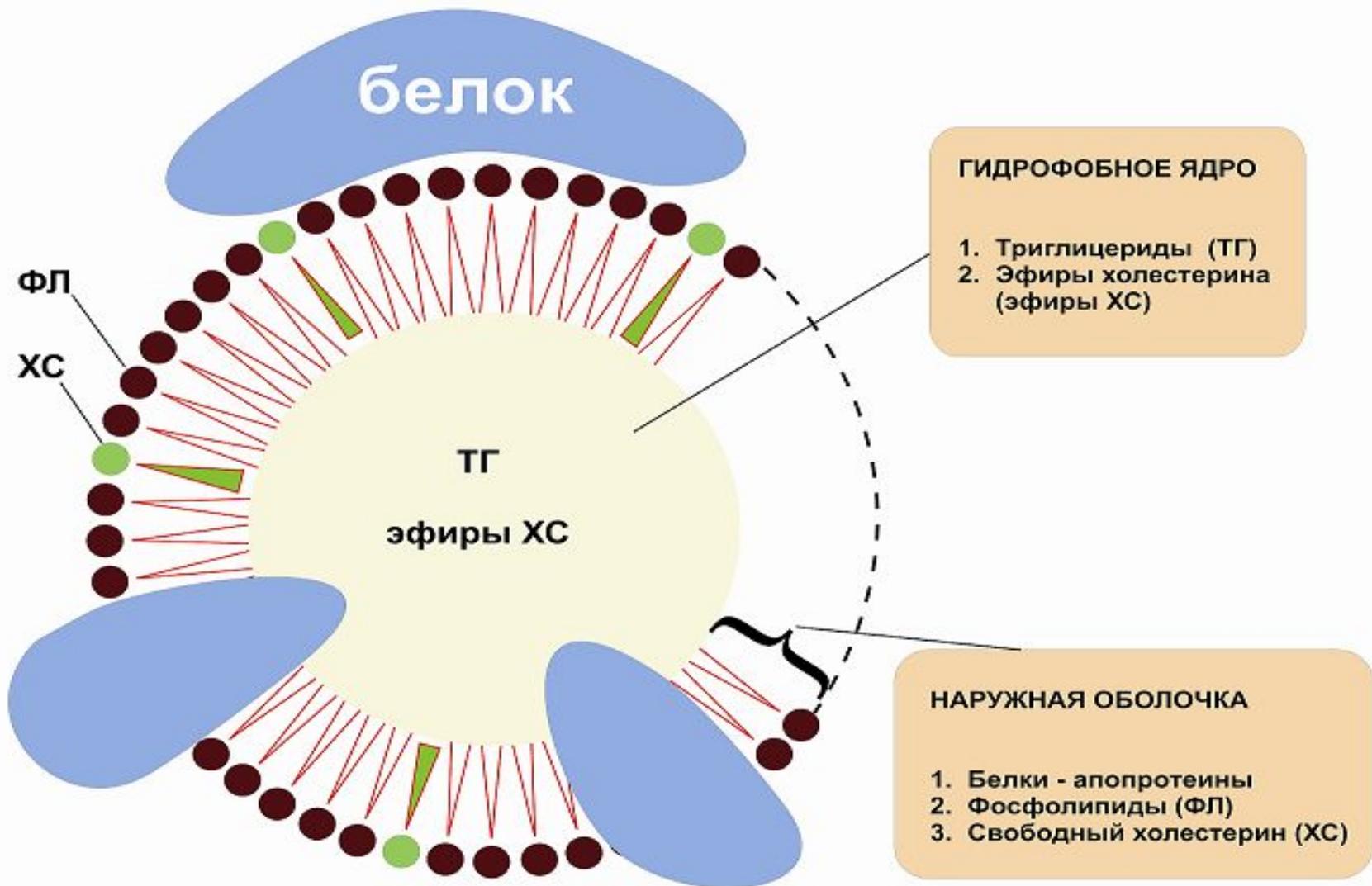
- 3. экскреторные** - синтезируются в печени и ЖКТ, работают в полости ЖКТ (участвуют в пищеварении). В норме активность их в крови низкая или не определяется. Активность этих ферментов повышается при воспалении, увеличении проницаемости мембран, разрушении тканей).

Например:

при холестазах - щелочная фосфатаза, 5`-нуклеотидаза, лейцинаминопептидаза,

при панкреатите - трипсин, альфа-амилаза, липаза, химотрипсин и др.

Строение липопротеина



Состав липопротеинов

ЛИПОПРОТЕИНЫ	БЕЛОК	ТРИАЦИЛ- ГЛИЦЕРИДЫ	ХОЛЕСТЕРИН		ФОСФОЛИПИДЫ
			ЭФИРЫ	СВО- БОД- НЫЙ	
ХИЛОМИКРОНЫ	2	85	4	2	7
ЛПОНП (ПРЕ- β -ЛП)	10	50	15	7	18
ЛПНП (β -ЛП)	25	7	40	7	21
ЛПВП (α -ЛП)	45	5	20	5	25

[Empty box]

ХИМИЧЕСКИЕ

ГЛЮКОЗА 3,3-5,5 ММОЛЬ/Л

ПИРУВАТ

ГЕКСОЗАМИНЫ

СИАЛОВЫЕ КИСЛОТЫ

[Empty box]

[Empty box]

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПЛАЗМЫ

ЛИПИДЫ

**ХОЛЕСТЕРИН 3,3-6,6
ММОЛЬ/Л**

ТРИГЛИЦЕРИДЫ

ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ (НЭЖК)

ФОСФОЛИПИДЫ