

УДК 612.118.44;577.115.2

Гусак В.В., Абрat О.Б.

Біохімія крові. Короткий курс

У навчальному посібнику «Біохімія крові. Короткий курс» розглянуті основні біохімічні характеристики крові, її склад та головні функції. Також наведені основні хімічні перетворення, які пов'язані з функціонуванням крові. У цьому посібнику детально описані основні клініко-діагностичні показники та активності маркерних ферментів крові, розглянуті особливості метаболізму еритроцитів.

Навчальний посібник адресується студентам, аспірантам, науковим працівникам, викладачам, які ведуть дослідження в різних галузях медицини і біології.

Рецензенти:

Завідувач кафедри біохімії та біотехнології Прикарпатського національного університету, проф., д.б.н. Байляк М.М.

Викладач кафедри клінічної фармакології та фармації Івано-франківського національного медичного університету, к.б.н. Данилів С.І.

Посібник схвалено на засіданні кафедри біохімії та біотехнології Факультету природничих наук (протокол № 2 від 18 жовтня 2023р.)

Рекомендовано до друку Вченою радою Факультету природничих наук (протокол № 2 від 27 жовтня 2023р.)

Відповідальний редактор В.В. Гусак, кандидат біологічних наук, доцент

©Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника», 2023

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА.....	4
ГЛАВА 1. КРОВ ЯК РІДКА БІОЛОГІЧНА ТКАНИНА: ФУНКЦІЇ. БІЛКОВИЙ СКЛАД ТА ФОРМЕНІ ЕЛЕМЕНТИ.....	5
1.1. Кров: поняття, склад та функції.....	5
1.2. Склад плазми крові.....	7
1.2.1. Електролітний склад плазми крові.....	8
1.2.2. Небілкові азотисті компоненти плазми крові.....	11
1.2.3. Безазотисті органічні компоненти плазми крові.....	14
1.2.4. Білковий склад плазми крові.....	19
1.3. Формені елементи крові.....	21
1.4. Еволюція кровоносної системи.....	30
ГЛАВА 2. ГЕМОГЛОБІН ТА БІЛКИ ПЛАЗМИ КРОВІ.....	34
2.1. Гемоглобін: структура, властивості та похідні.....	34
2.2. Основні білкові фракції плазми крові.....	47
2.2.1. Альбуміни.....	47
2.2.2. Глобуліни.....	48
2.2.3. Ліпопротеїни.....	60
2.2.4. Деякі «індикаторні» білки крові.....	62
2.2.5. Фібриноген.....	63
ГЛАВА 3. ФРАКЦІОНУВАННЯ БІЛКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ. ГІПО-, ГІПЕР-, ДИСПРОТЕЇНЕМІЇ. ПАРАПРОТЕЇНЕМІЇ.....	66
3.1. Фракціонування білків сироватки крові.....	66
3.2. Гіпо-, гіпер-, диспротеїнемії. Парапротеїнемії.....	70
ГЛАВА 4. БУФЕРНІ СИСТЕМИ КРОВІ.....	73
4.1. Загальні уявлення про буферні системи організму.....	73
4.2. Гемоглобінова буферна система.....	75
4.3. Бікарбонатна (гідрокарбонатна) буферна система.....	76
4.4. Фосфатна буферна система.....	78

4.5. Білкова (протеїнова) буферна система.....	79
4.6. Ефективність буферних систем.....	79
ГЛАВА 5. ФЕРМЕНТИ ПЛАЗМИ КРОВІ.....	85
5.1. Функціонування ферментних систем в плазмі крові.....	84
5.2. Індикаторні ферменти плазми крові.....	83
5.2.1. Аспартатамінотрансфераза (АСТ) та аланінамінотрансфераза (АЛТ).....	86
5.2.2. Амілаза.....	90
5.2.3. γ -глутамілтранспептидаза.....	91
5.2.4. Креатинкіназа (КК).....	93
5.2.5. Лактатдегідрогеназа (ЛДГ).....	96
5.2.6. Лужна (ЛФ) та кисла фосфатази (КФ).....	98
5.2.7. Холінестераза.....	101
5.2.8. Ліпаза.....	102
ГЛАВА 6. КАЛІКРЕЇН-КІНІНОВА СИСТЕМА ПЛАЗМИ КРОВІ.....	103
6.1. Поняття та значення калікреїн-кінінової системи.....	103
6.2. Біологічні ефекти кінінів та зв'язок ККС з іншими ферментними системами плазми крові.....	105
6.3. Стан калікреїн-кінінової системи при різних патологічних процесах.....	107
ГЛАВА 7. ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ ЕРИТРОЦИТІВ.....	111
7.1. Особливості будови і диференціювання еритроцитів.....	111
7.2. Енергетичний обмін.....	115
7.3. Механізми знешкодження активних форм кисню в еритроцитах.....	118
ТЛУМАЧНИЙ СЛОВНИК ТЕРМІНІВ.....	120
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА.....	126

ПЕРЕДМОВА

У навчальному посібнику «Біохімія крові. Короткий курс» розглянуті статичні і динамічні біохімічні характеристики крові, її хімічний склад та головні функції. Також наведені основні хімічні перетворення, які пов'язані з функціонуванням крові.

Цей посібник написаний головним чином для студентів біологічного та медичного спрямування, в яких вже викладались такі дисципліни, як «Біоорганічна хімія», «Біохімія», «Імунологія» та «Клінічна біохімія». У даному посібнику детально охарактеризовані основні складові крові, описані основні клініко-діагностичні показники та активності ферментів крові, розглянуті особливості метаболізму еритроцитів.

ГЛАВА 1. КРОВ ЯК РІДКА БІОЛОГІЧНА ТКАНИНА: ФУНКЦІЇ. БІЛКОВИЙ СКЛАД ТА ФОРМЕНІ ЕЛЕМЕНТИ

1.1. Кров: поняття, склад та функції

Кров – невід'ємна складова життєвого ритму, що забезпечує постійний взаємозв'язок між системами живих організмів. Ця складна рідина має в своєму складі плазму – блідо-жовтий розчин, і формені елементи – еритроцити, лейкоцити та тромбоцити.

Кількість крові в організмі варіює залежно від таких факторів, як стать, маса тіла, обмін речовин та фізична активність. Зазвичай, кров становить приблизно 7% від маси тіла дорослої людини, а у новонароджених це число може сягати 15%. Припустимо, що особа масою 70 кг має близько 5 літрів крові. Відносна кількість крові, яка циркулює по організму, різниться залежно від статі – від 52 до 85 мл/кг в чоловіків і від 50 до 75 мл/кг у жінок.

Система крові не обмежується лише самою рідиною, що протікає по судинах. До неї входять також органи, які відіграють важливу роль у формуванні та руйнуванні клітин крові, такі як кістковий мозок, виличкова залоза, лімфатичні вузли, печінка та селезінка. Окрім того, деяка кількість крові може бути депонована в різних органах – наприклад, печінка може містити до 20% загальної кількості крові, шкіра – 10%, а селезінка – від 1,5% до 2%. Ця депонована кров, маючи більше формених елементів, рухається повільніше, ніж кров по судинах.

Центральним органом кровотворення є червоний кістковий мозок. Тут містяться стовбурові кровотворні клітини, які в процесі диференціювання формують мієлоїдний та лімфоїдний ряди клітин. Тут можна знайти різні типи гематопоетичних клітин, які утворюються з плюрипотентної стовбурової кровотворної клітини. Еритроцити, тромбоцити та мієлоїдні лейкоцити тут проходять повний етап диференціювання та виходять у кровотік уже у зрілому стані. Також тут відбувається повне або часткове дозрівання лімфоїдного ряду клітин. Зокрема, у червоному кістковому мозку довершується повне

антигеннезалежне дозрівання В-лімфоцитів, які належать до імунокомпетентних клітин і задіяні у адаптивній імунній відповіді. Тоді як попередники Т-лімфоцитів утворюються в кістковому мозку, а своє фенотипування проходять в тимусі (вилочкова залоза). Диференційовані субпопуляції Т-клітин далі, разом із В-лімфоцитами, заселяють вторинні лімфоїдні органи (селезінку, лімфатичні вузли, лімфоїдну тканину, асоційовану зі шкірою та слизовими) і вже там, за умови зустрічі з антигеном, проходять остаточне антигензалежне диференціювання. Загалом шлях диференціювання кровотворних клітин перебуває під контролем різних факторів, серед яких визначальними є мікроорточення стовбурової кровотворної клітини та вплив гематопоетичних ростових факторів.

Серед периферичних органів дозрівання імунокомпетентних клітин варто виокремити селезінку, оскільки вона поєднує функцію імуногенезу з функцією елімінації старих формених елементів крові. Основна функція селезінки – підтримання балансу крові (фагоцитоз пошкоджених і старих еритроцитів, чужорідних для організму речовин, пошкоджених клітин крові, фарбуючих сполук і чужорідних білків, підтримка гомеостазу гему). За потреби селезінка може бути і депо еритроцитів, що якийсь час поповнюють кровотік при пошкодженні кісткового мозку.

Кров виконує такі важливі функції в організмі:

1) *транспортну* – кров переносить по організму різні речовини, такі як кисень, оксид карбону, медіатори, ферменти, електроліти, гормони тощо. Ці речовини можуть транспортуватись у вільному стані або в комплексі з білками чи ліпопротеїдами;

2) *поживну (трофічну)* – транспорт поживних речовин, а саме: вуглеводів, ліпідів та амінокислот від тонкого кишківника до клітин організму;

3) *видільну (екскреторну)* – видалення надлишку речовин, що потрапили з їжею (води, мінеральних і органічних речовин) або утворилися в організмі у процесі метаболізму (сечовини, сечової кислоти, аміаку та ін.);

4) *дихальну* – переносить кисень від альвеолів легень до клітин організму і вуглекислого газу у зворотньому напрямку. Тому кисень і вуглекислий газ містяться, в основному, у зв'язаному стані;

5) *регуляторну* – у кров виділяються біологічно активні речовини (БАРи), які розповсюджуються нею в різні органи, завдяки чому організм може функціонувати як єдина система;

6) *захисну* – у крові містяться захисні компоненти (лейкоцити, імуноглобуліни, система комплементу), а також система коагуляції, яка захищає організм від втрати крові;

7) *терморегуляторну* – кров бере участь у підтримці та перерозподілі тепла всього організму. Завдяки тому, що кров циркулює по судинах і надходить у різні органи частини організму, вона сприяє відведенню надлишкового тепла із метаболічно активних органів і таким чином сприяє збереженню сталої температури тіла.;

8) *гомеостатичну* – кров підтримує сталість внутрішнього середовища організму: рН, водно-електролітного балансу, рівня глюкози тощо;

9) *функцію креаторних зв'язків* – вона полягає в перенесенні плазмою і форменими елементами крові макромолекул, які здійснюють в організмі інформаційні зв'язки (регулювання процесів синтезу білка, підтримання постійності структури клітин та їх диференціювання).

1.2. Склад плазми крові

Плазма крові – це рідка частина крові, складає 52-61% її загального вмісту. Макроскопічно вона виглядає як однорідна каламутна (іноді майже прозора) жовтувата рідина, яка після осадження формених елементів збирається у верхній частині посудини з кров'ю. До її складу входить вода (91%), у якій розчинені білки (7-8% від маси плазми) та інші органічні і мінеральні сполуки (рис. 1).

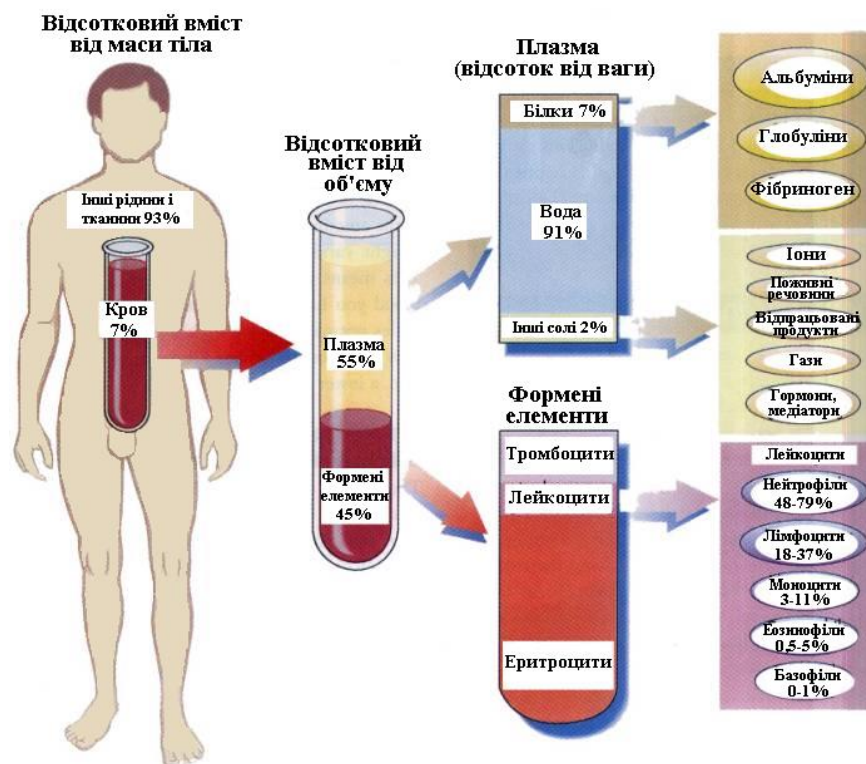


Рис. 1. Вміст та склад крові в організмі людини (модифіковано із сайту muhadharaty.com)

Альбуміни є основними білками плазми. Вони складають 55-65% від загального вмісту білка. Окрім того, серед білків плазми слід виділити α_1 -глобуліни (2-4%), α_2 -глобуліни (6-12%), β -глобуліни (8-12%), γ -глобуліни (2-4%) і фібриноген (0,2-0,4%). Плазма крові містить також поживні речовини (глюкоза, ліпіди), вітаміни, ферменти, гормони тощо.

В середньому один літр плазми крові людини містить 900-950 г води, 65-85 г білка і 20 г низькомолекулярних сполук та іонів. Щільність плазми становить 1,025-1,029 г/мл, рН – 7,34-7,43.

1.2.1. Електролітний склад плазми крові

Неорганічні речовини крові становлять 0,9-1%. До них належать: катіони Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , аніони Cl^- , PO_4^{3-} , HCO_3^- , I^- та вода. Присутність іонів є важливою умовою для підтримки осмотичного тиску, функціонування клітинних елементів крові та судинних стінок, кислотно-лужного стану, активності ферментів, процесів згортання крові і фібринолізу.

Вміст електролітів у плазмі крові значною мірою визначає і фундаментальні властивості клітинних елементів органів (збудливість і скоротливість, біоенергетичні процеси, секреторну активність і проникність мембран). Вміст основних електролітів у плазмі крові, еритроцитах і тканинному мікросередовищі представлений табл. 1 і на рис. 2.

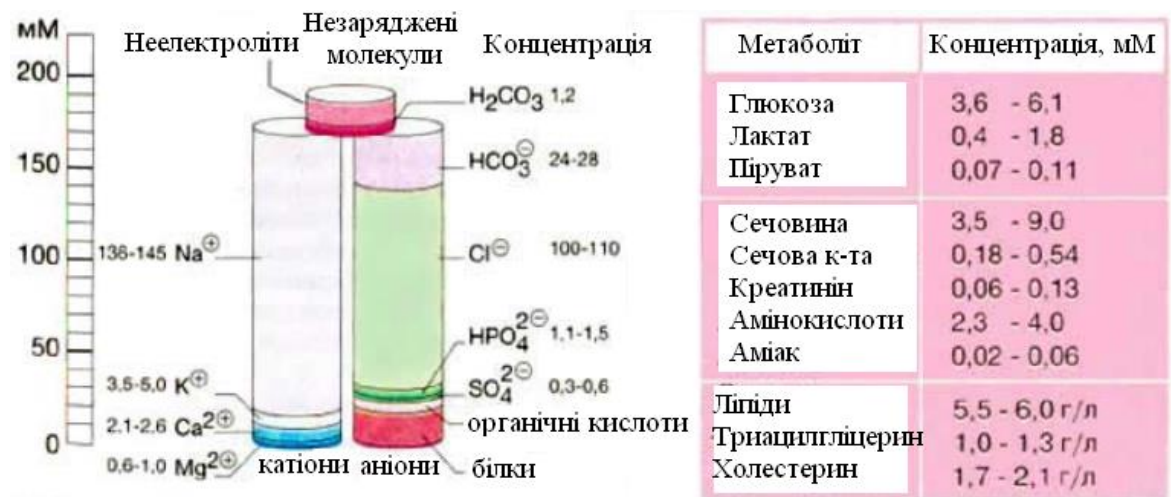


Рис. 2. Склад плазми крові

З таблиці 1 видно, що вміст іонів натрію і калію в плазмі та еритроцитах відрізняється, що забезпечується відмінностями проникності мембран і роботою Na/K-, Ca- та інших іонних pomp. Проте слід зазначити і те, що значна частина катіонів плазми зв'язана з аніонами білків і органічних кислот. Це забезпечує підтримання лужно-кислотної рівноваги і реалізацію функцій білків.

Табл. 1. Вміст електролітів у плазмі крові, еритроцитах і мікросередовищі тканин (ммоль/л) у людини

Іони	Плазма	Еритроцити	мікросередовище клітин
Катіони			
Na ⁺	136-145	10-25	142-144
K ⁺	3,5-5,0	95-110	4,0-5,0
Ca ²⁺	2,1-2,6	0,12-0,30	0,8-1,2
Mg ²⁺	0,6-1,0	1,7-2,3	0,75-1,2
Аніони			
Cl ⁻	100-110	40-60	100-120
HCO ₃ ⁻	24-28	13-18	28-32
HPO ₄ ²⁻	1,1-1,5	38-48	0,8-1,2
SO ₄ ²⁻	0,3-0,6	6-8	0,4-0,6

Натрій – це основний катіон позаклітинної рідини. Його вміст у плазмі крові складає 135-150 ммоль/л. Саме йони натрію, в основному, відповідають за підтримання осмотичного тиску позаклітинної рідини. Гіпернатріємія спостерігається при гіперфункції кори надниркових залоз, введенні гіпертонічного розчину хлориду натрію парентерально. Гіпонатріємія може бути зумовлена безсольовою дієтою, наднирковою недостатністю та діабетичним ацидозом.

Калій є основним внутрішньоклітинним катіоном. Як і натрій, калій підтримує осмотичний і кислотно-основний гомеостаз клітини. Концентрація іонів калію в плазмі крові становить 5 ммоль/л. Гіперкаліємія відзначається при посиленому руйнуванні клітин (гемолітична анемія), при порушенні виділення калію нирками, при зневодненні організму. Проте при гіперфункції кори надниркових залоз і при діабетичному ацидозі спостерігається гіпокаліємія.

Кальцій в плазмі крові міститься у вигляді трьох форм: зв'язаний з білками (0,9 ммоль/л), іонізований (1,25 ммоль/л) і неіонізований (0,35 ммоль/л), проте біологічно активним є тільки іонізований кальцій. Регуляція рівня іонізованого кальцію в плазмі крові здійснюється спеціальною гуморальною системою, що включає ряд спеціальних гормонів: прищитовидних залоз

(паратиреоїдний гормон), щитовидної залози (кальцитонін і його аналоги) і нирок (кальцитріол). Гіперкальціємія спостерігається при гіперпаратиреозі, гіпервітамінозі D, синдромі Іценко-Кушинга, деструктивних процесах кісткової тканини. Гіпокальціємія зустрічається при рахіті, гіпопаратиреозі та захворюваннях нирок.

Хлориди беруть участь у підтримці осмотичного тиску, кислотно-основного стану позаклітинної рідини. Гіперхлоремія спостерігається при серцевій недостатності, артеріальній гіпертензії, гіпохлоремія – при блювоті, захворюваннях нирок.

Фосфати в плазмі крові є компонентами буферної системи. Гіперфосфатемія спостерігається при захворюваннях нирок, гіпопаратиреозі, гіпервітамінозі D. Гіпофосфатемія відзначена при гіперпаратиреозі, мікседемі, рахіті.

У плазмі крові міститься і велике число різних мікроелементів. Як мінімум 15 мікроелементів, що містяться в плазмі крові (марганець, цинк, кобальт, мідь, хром, стронцій та ін.), входять до складу ферментів, і тим самим відіграють важливу роль у процесах метаболізму клітин і забезпеченні їх функцій.

1.2.2. Нєбілкові азотисті компоненти плазми крові

До цієї групи речовин належать: сечовина, сечова кислота, амінокислоти, креатин, креатинін, аміак, індикан, білірубін та інші сполуки (рис. 3).

Сечовина (3,33-8,32 ммоль/л) утворюється в печінці як кінцевий продукт знешкодження аміаку. Сама по собі сечовина малотоксична, проте при підвищенні її концентрації, виникають набряки тканин паренхіматозних органів, міокарду та ЦНС. У клініці її визначають для діагностики захворювань нирок. Крім того, для диференціальної діагностики захворювань нирок та дистрофічних уражень паренхіми печінки використовують спеціальний коефіцієнт Urea ratio:

$$\text{Urea ratio} = (\text{азот сечовини/залишковий азот}) \times 100\%$$

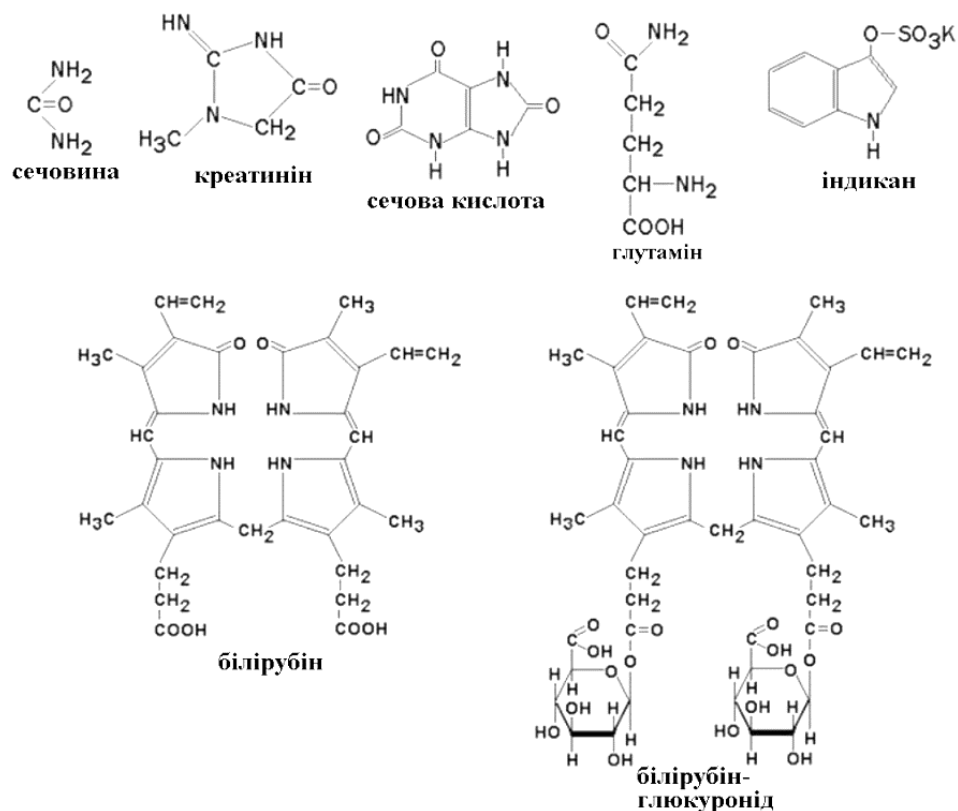


Рис. 3. Небілкові азотисті компоненти плазми крові

Для здорової людини цей показник має становити 46–60 %. Цей показник зростає при хронічному нефриті (майже до 90 %), перитоніті, злоякісній анемії, опіках, а при тяжких формах гепатиту – значно зменшується.

Амінокислоти є важливими компонентами, які потрапляють до крові через всмоктування у шлунково-кишковому тракту або внаслідок розпаду тканинних білків. В організмі здорових осіб, серед амінокислот крові переважають аланін і глутамін. Ці амінокислоти, крім біосинтезу білків, виступають як транспортні форми аміаку.

Сечова кислота, рівень якої в крові чоловіків становить від 0,12 до 0,38 ммоль/л, а жінок – від 0,12 до 0,46 ммоль/л, є кінцевим продуктом розпаду пуринових нуклеотидів. Після виділення у кров, сечова кислота утворює солі з лужними катіонами, головним чином натрієм, у вигляді уратів. Ці урати зв'язуються з α -глобулінами та виділяються через нирки (2/3) та тонкий

кишечник (1/3). Зростання концентрації сечової кислоти у крові (гіперурикемія) спостерігається при подагрі, синдромі Леша-Ніхана, патологіях, що супроводжуються підвищеним розпадом клітин, розладах екскреції сечової кислоти, змінах в ендокринній регуляції обміну пуринів. Крім того, підвищення рівня сечової кислоти впливають їжа, багата на пурини (печінка, нирки, червоне вино), тривале голодування, алкоголь. Зниження рівня сечової кислоти (гіпоурикемія) спостерігається при хворобі Вільсона-Коновалова, лімфогранулематозі, після приймання піперезину, саліцилатів, кортикотропіну.

Креатин, який синтезується в нирках і печінці, трансформується в м'язах до креатинфосфату – джерела енергії для м'язових скорочень. В нормі, вміст креатину в плазмі крові становить від 15,3 до 45,8 мкмоль/л (чоловіки) та від 45,8 до 76,3 мкмоль/л (жінки). Збільшення рівня креатину в крові спостерігається при травмах м'язів, м'язовій дистрофії, поліомієліті, голодуванні, опіках, інфекціях, цукровому діабеті, гіпертиреозі, акромегалії, лейкозах та інших станах.

Креатинін, кінцевий продукт азотистого обміну, формується шляхом дефосфорилювання креатинфосфату в м'язових тканинах та виводиться з організму нирками. Зазвичай, у плазмі крові концентрація креатиніну становить від 53 до 106 мкмоль/л. Зниження рівня креатиніну в крові спостерігається при захворюваннях м'язової системи, водночас збільшення рівня може свідчити про ниркову недостатність.

Індикан (калієва або натрієва сіль індоксилсірчаної кислоти) – це речовина, яка утворюється в печінці як результат знешкодження одного з продуктів гниття білків у кишечнику – індолу. На початковій стадії розвитку ниркової недостатності, при гломерулонефриті, туберкульозному ураженні легень, при підсиленні процесів гниття білків у кишечнику у хворих спостерігається гіперіндіканемія.

Білірубін (прямий і непрямий) – продукт катаболізму гемоглобіну. В крові вміст білірубіну збільшується при жовтухах: гемолітичній (за рахунок

непрямого білірубіну), обтураційній (за рахунок прямого білірубіну), паренхіматозній (за рахунок обох фракцій).

Вміст залишкового азоту в плазмі крові здорових людей – 15-25 ммоль/л. Підвищення вмісту залишкового азоту в крові називається азотемією. Залежно від причини, азотемія підрозділяється на ретенційну і продукційну.

Ретенційна азотемія виникає при порушенні виведення продуктів азотистого обміну (насамперед сечовини) з сечею і характерна для недостатності функції нирок. У цьому випадку до 90% небілкового азоту крові доводиться на азот сечовини замість 50 % в нормі.

Продукційна азотемія розвивається при надмірному надходженні азотистих речовин у кров внаслідок посиленого розпаду тканинних білків (тривале голодування, цукровий діабет, тяжкі поранення і опіки, інфекційні захворювання).

Визначення залишкового азоту проводять в безбілковому фільтраті сироватки крові. В результаті мінералізації безбілкового фільтрату при нагріванні з концентрованою H_2SO_4 азот всіх небілкових сполук переходить у форму $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Іони NH_4^+ визначають за допомогою реактиву Несслера.

Аміак (17-78 мкмоль/л) – це кінцевий продукт білкового обміну. Основними його джерелами є процеси дезамінування (відбуваються в тканинах) та катаболізм азотовмісних сполук (у кишечнику під дією гнилісних бактерій). При печінковій комі, частковому видаленні печінки, спадкових ензимопатіях орнітинового циклу та інших паталогічних станах спостерігається підвищення концентрації аміаку в крові .

1.2.3. Безазотисті органічні компоненти плазми крові

У цю групу речовин входять поживні речовини (вуглеводи, ліпіди) і продукти їх метаболізму (органічні кислоти). Найбільше значення в клініці має визначення вмісту в крові глюкози, холестеролу, вільних жирних кислот, кетонових тіл і молочної кислоти. Формули цих речовин представлені на рис. 4.

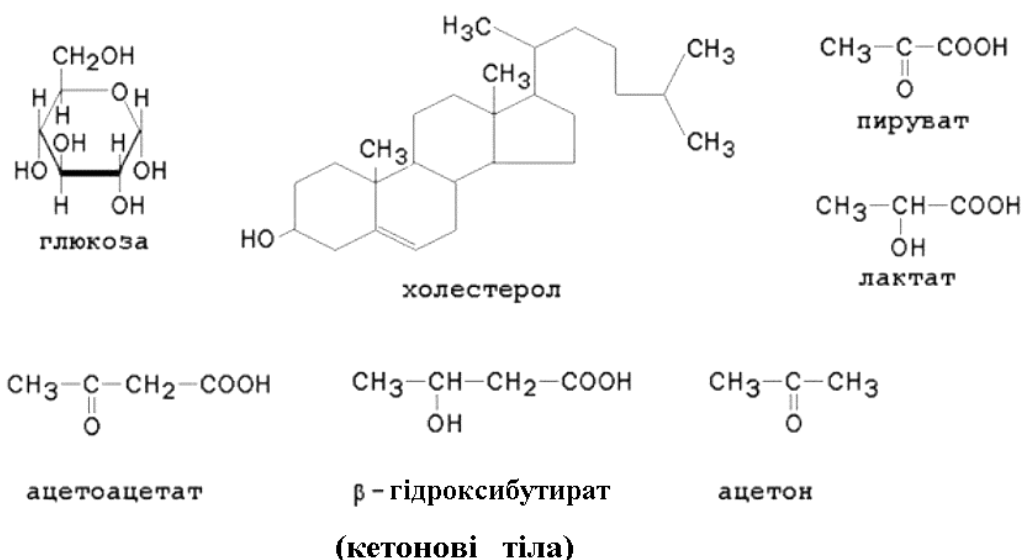


Рис. 4. Безазотисті органічні речовини плазми крові

Вуглеводи плазми крові. У плазмі крові містяться, головним чином моносахариди, такі як глюкоза, фруктоза, галактоза, молочна і піровиноградна кислоти, рибоза і дезоксирибоза.

Глюкоза – головний енергетичний субстрат організму. Вміст глюкози в артеріальній крові вищий, ніж у венозній, так як вона безперервно використовується клітинами тканин. У здорової людини в венозній крові міститься в нормі (за даними американської антидіабетичної асоціації 2022 року) 3,6-5,6 ммоль/л глюкози. Глюкоза транспортується з кишечника або печінки до клітин організму через кровотік і стає доступною для поглинання. Поглинання глюкози тканинами відбувається інсулінзалежним та інсуліннезалежним шляхом. Основними клітинами, у поглинанні глюкози якими задіяний гормон інсулін (виробляється організмом у підшлунковій залозі) є поперечнопосмуговані м'язеві клітини, кардіоміоцити та адипоцити. Рівень глюкози в крові, як правило, найнижчий вранці, до першого прийому їжі (називається "рівень поста"), а також підвищується після прийому їжі протягом години на кілька мілімолей (рис. 5).

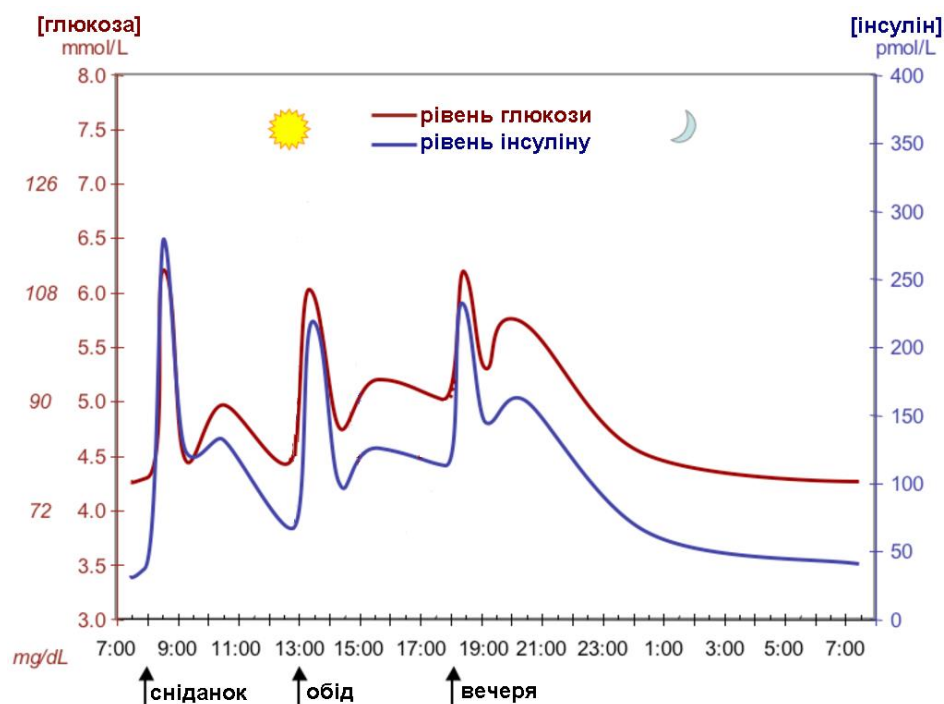


Рис. 5. Коливання рівня глюкози в крові (червона лінія) і інсуліну (синя лінія) в організмі людини протягом одного дня з трьома прийомами їжі (модифіковано з *Suckale Jakob i Solimena Michele [22]*).

Рівень цукру в крові за межами нормального діапазону, може бути індикатором медичного стану. Постійно високий рівень глюкози в крові називається гіперглікемія; низькі рівні називається гіпоглікемією. Цукровий діабет (як першого, так і другого типу) характеризується стійкою гіперглікемією, пов'язаною з недостатністю регулювання рівня цукру в крові. При цьому збільшення рівня глюкози в крові за діабету першого типу пов'язано із нестачею інсуліну, а другого – навпаки його надлишком та інсулінорезистентністю м'язевих клітин. Крім того, деякі препарати можуть збільшувати або зменшувати рівень глюкози в крові.

Молочна кислота (лактат) – кінцевий продукт анаеробного окислення вуглеводів. В крові вміст її в нормі становить 8-17 мг %. Концентрація молочної кислоти в крові є вищою при великих фізичних навантаженнях або інших умовах, таких як серцева недостатність, важка інфекція (сепсис), захворювання печінки. Дуже високий рівень молочної кислоти викликає серйозний, іноді небезпечний для життя стан, який називається лактоацидоз.

Лактоацидоз може також статися в людині, яка приймає метформін для боротьби з діабетом, коли серцева або ниркова недостатність або важка інфекція. Тест на молочну кислоту, як правило, робиться на зразку крові, взятої з вени в руці, але він також може бути зроблений на зразку крові, взятої з артерії.

Піровиноградна кислота (піруват) – проміжний продукт катаболізму вуглеводів і деяких амінокислот. Найбільш різке підвищення вмісту піровиноградної кислоти в крові (в нормі 0,4-2,5 мг %) відзначається при м'язовій роботі і недостатності вітаміну В₁.

Ліпіди плазми крові. Ліпіди крові (або жири крові) є гадрофобними речовинами, які можуть бути як вільними, так і зв'язаними з іншими молекулами. Вони в основному транспортуються в капсулі білка. Концентрація ліпідів в крові залежить від споживання і виведення з кишечника, а також від поглинання і секреції з клітин. Загальна концентрація ліпідів у плазмі крові складає в середньому 5-7 г/л. У фізіологічних мовах після вживання їжі, багатої на жири (аліментарна гіперліпідемія) загальна кількість ліпідів крові може збільшуватися до 10-15 г/л.

Серед ліпідів плазми крові найбільшу кількість становлять сполуки таких класів (А.Н.Клімов, 1980):

- тригліцериди – 0,5-1,9 г/л;
- фосфоліпіди – 1,1-2,75 г/л;
- холестерин загальний – 1,5-2,6 г/л;
- холестерин етерифікований – 1,0-2,1 г/л;
- жирні кислоти (неетерифіковані) – 0,08-0,2 г/л.

У складі аполіпопротеїнів різні класи ліпідів можуть транспортуватися кров'ю. Існує п'ять класів аполіпопротеїнів, а саме: А, В, С, D і Е, що в певних кількісних співвідношеннях входять до складу різних ліпопротеїнів.

Виділяють такі транспортні форми ліпопротеїнів плазми крові:

- хіломікрони (1-2,5 г/л) – основна транспортна форма триацилгліцеролів (ТАГ). Їхня основна функція – доставка ТАГ зі ШКТ до інших тканин;

– ліпопротеїни дуже низької щільності (ЛПДНЩ), або пре- β -ліпопротеїни (1,3-2,0 г/л) – містять значну кількість триацилгліцеролів, а також фосфоліпіди та холестерин. Їхня основна функція – доставка ТАГ та інших форм ліпідів, зокрема холестерину, з печінки до інших тканин;

– ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ), або β -ліпопротеїни (2,1-4,0 г/л) – основна транспортна форма холестерину. Вони доставляють холестерин до тканин з печінки і утворюються з ЛПДНЩ, які віддали ТАГ тканинам при транспортуванні. Зростання концентрації в крові ЛПНЩ сприяє проникненню холестерину в ендотелій і утворенню атеросклеротичної бляшки, що є фактором ризику розвитку атеросклерозу;

– ліпопротеїни високої щільності (ЛПВЩ), або α -ліпопротеїни (0,2-0,25 г/л) – містять значну кількість фосфоліпідів, а також холестерин та триацилгліцероли. ЛПВЩ сприяють виходу холестерину із судинної стінки. Їхня основна функція – доставка холестерину із тканин до печінки на утилізацію.

Підвищення концентрації в плазмі крові різних класів ліпопротеїнів (гіперліпопротеїнемії) свідчить про серйозні зміни ліпідного обміну, найчастіше пов'язані з певними генетичними порушеннями. Відомо п'ять основних типів гіперліпопротеїнемій, що залежать від дефектів у ферментних системах розщеплення або перетворення певних ліпопротеїнів (типи I, II, III, IV, V) та можуть проявлятися раннім розвитком атеросклерозу, ожирінням, ксантоматозом, захворюваннями печінки, нирок, зниженням толерантності до глюкози.

Холестерол – обов'язковий ліпідний компонент біологічних мембран, попередник стероїдних гормонів, вітаміну D₃, жовчних кислот. Вміст його в плазмі крові здорових людей – 3,9-6,5 ммоль/л. Підвищення вмісту холестеролу в крові (гіперхолестеролемія) спостерігається при атеросклерозі, цукровому діабеті, мікседемі, жовчно-кам'яній хворобі. Зниження рівня холестеролу в крові (гіпохолестеролемія) виявляється при гіпертиреозі, цирозі

печінки, захворюваннях кишечника, голодуванні, при прийомі жовчогінних препаратів.

Вільні жирні кислоти (ВЖК) використовуються тканинами та органами в якості енергетичного матеріалу. Вміст СЖК в крові підвищується при голодуванні, цукровому діабеті, після введення адреналіну і глюкокортикоїдів; знижується при гіпотиреозі, після введення інсуліну.

Кетонові тіла. До кетонівих тіл відносяться ацетоацетат, β -гідроксибутират, ацетон – продукти неповного окислення жирних кислот. Вміст кетонівих тіл в крові підвищується (гіперкетонемія) при голодуванні, лихоманці, цукровому діабеті.

1.2.4. Білковий склад плазми крові

У плазмі крові розрізняють *власне білки* і *середньомолекулярні пептиди*.

Білки плазми (сироваткові білки або білки крові) є білками, які присутні в плазмі крові. Вони виконують багато різних функцій, в тому числі транспорт ліпідів, гормонів, вітамінів і мінеральних речовин в кровоносній системі і функціонуванні імунної системи. Інші білки крові діють як ферменти, компоненти комплементу, інгібітори протеази або кінінових попередників. Всупереч поширеній думці, гемоглобін не є білком крові, оскільки він знаходиться в еритроцитах, а не в сироватці крові.

Сироватковий альбумін становить 55% білків крові, і є однією з основних причин для підтримки осмотичного тиску плазми, перенесить ліпіди і стероїдні гормони. Глобуліни складають 38% білків крові і, в основному, виконують роль транспорту іонів, гормонів та ліпідів, які надають допомогу в функціонуванні імунної системи. Фібриноген складає 7% білків крові; перетворення фібриногену в нерозчинний фібрин має важливе значення для згортання крові. Близько 1% від всіх білків плазми є регуляторними білками, такими як ферменти, проферменти і гормони. Основними їх функціями є наступні:

- підтримують колоїдно-осмотичний (онкотичний) тиск крові. Осмотичний тиск плазми в крові в нормі складає 7,3-7,6 атм (5600 мм рт.ст. або 745 кПа);
- визначають в'язкість крові;
- беруть участь у функціонуванні згортальної та антизгортальної систем крові;
- виступають як буферна система (підтримують сталість рН);
- беруть участь в транспорті різних речовин (гормонів, ліпідів, пігментів, жиророзчинних вітамінів, мінеральних речовин);
- використовуються як пластичний матеріал для синтезу білків тканин;
 - є носіями природного та набутого імунітету.

Основна маса білків плазми крові синтезується в печінці – це альбуміни (10-16 г/доб; період піврозпаду альбумінів складає 10-15 днів), α -глобуліни, частина β -глобулінів, фібриноген, компоненти системи згортання крові (II, V, VII, IX, X, XI фактори).

Загальна кількість білків плазми становить 65-85 г/л, проте можливі добові коливання в межах 10-20 г/л. У новонароджених кількість загального білка в крові становить 50-60 г/л. До 3 років це значення досягає нормального рівня.

Зменшення (гіпопротеїнемія) або збільшення (гіперпротеїнемія) загального білка плазми та окремих білкових фракцій можуть бути викликані багатьма причинами. Гіперпротеїнемія може бути викликана втратою води організмом при поліурії, діареї, блювоті або обумовлена підвищенням вмісту γ -глобулінів і деяких інших білків при гострих запальних процесах, травмах, мієломній хворобі. Їх називають білками гострої фази, і до них відносять, наприклад, С-реактивний білок, гаптоглобін, фібриноген. Гіпопротеїнемія в основному є наслідком порушення синтезу або втраті організмом альбуміну, тобто є гіпоальбумінемією. Вона спостерігається при нефриті, гепатиті, цирозі печінки, опіках, тривалому голодуванні.

У нормі співвідношення кількості альбумінів до кількості глобулінів (альбумін-глобуліновий коефіцієнт) становить: $A/G=1,2-2,0$. Зменшення цього

значення можливе як за рахунок зменшення концентрації альбумінів, так і в разі підвищення кількості глобулінів крові. Наприклад, це може бути результатом інгібування синтезу альбумінів у печінці або втрати білка із сечею, а також у разі підвищення синтезу γ -глобулінів у відповідь на інфекцію.

Середньомолекулярні пептиди – це речовини з молекулярною молярною масою 0,3-5 кДа, які не осаджуються трихлороцтовою кислотою (ТХО) і входять до фракції залишкового азоту крові. До них належать нейропептиди, гормони, медіатори імунної відповіді, нуклеотиди, деякі вітаміни, продукти розпаду фібрину та інші. Склад середньомолекулярних пептидів залежить від виду патології та характеру ускладнень. Підвищення концентрації середніх молекул у крові спостерігається при всіх патологічних станах, які супроводжуються інтоксикацією (захворюваннях печінки, гострій та хронічній нирковій недостатності, гнійних перитонітах, черепно-мозкових травмах, запаленні легень).

1.3. Формені елементи крові

Формені елементи крові (еритропоетичні клітини, клітини крові) – це клітини, які виникають в результаті кровотворення і зустрічаються в основному в крові. У ссавців, їх поділяють на три основні категорії:

- червоні кров'яні кільця – еритроцити;
- білі кров'яні тільця – лейкоцити;
- пластинки – тромбоцити (рис. 7, 8).

Всі ці клітини утворюються з кісткового мозку (рис. 6).

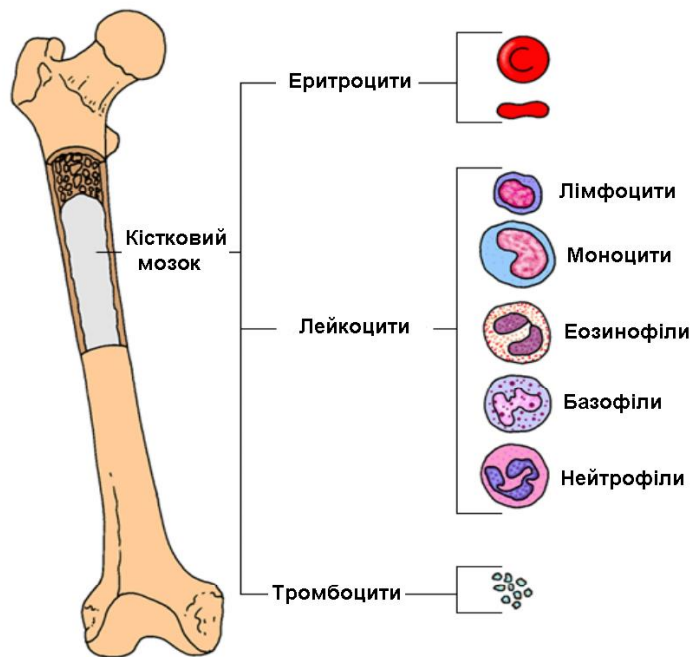


Рис. 6. Червоний кістковий мозок та клітини крові (взято із сайту *leukeemia.ee*)

Вони починають своє життя як стовбурові клітини, а пізніше через ряд етапів диференціюються в зрілі форми (еритропоез – утворення і розвиток еритроцитів; лейкопоез – утворення і розвиток лейкоцитів; тромбопоез – утворення і розвиток тромбоцитів) (рис. 7).

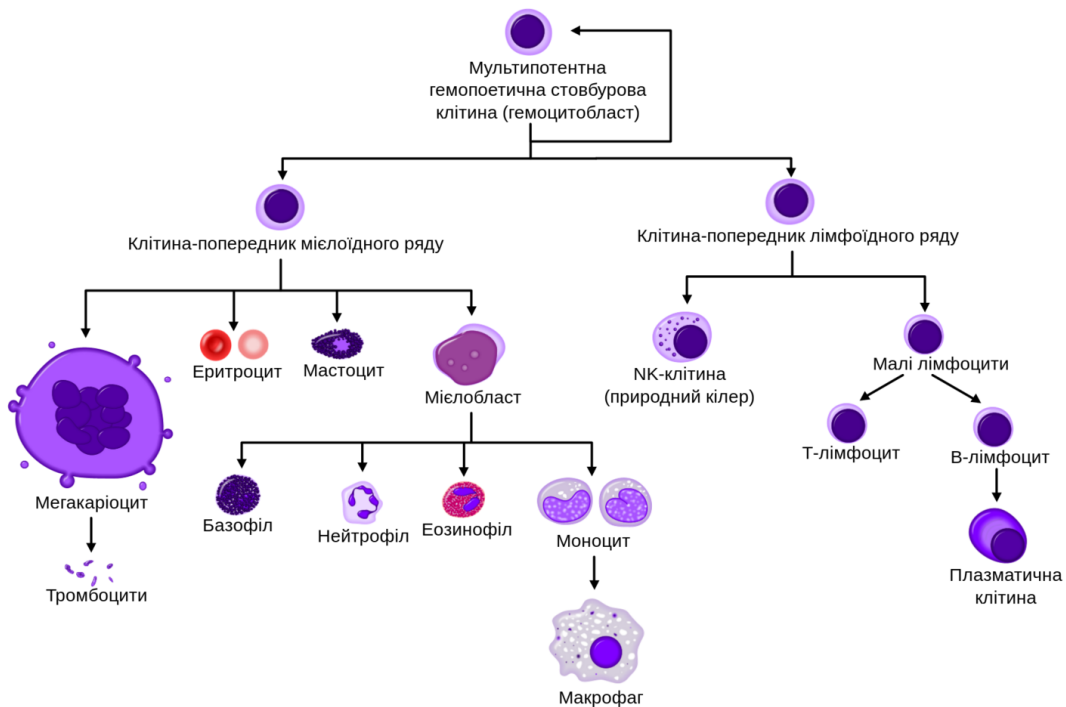


Рис. 7. Основні етапи розвитку формених елементів крові (автор *рисунку Mikael Häggström*)

Розглянемо ці форменні елементи крові більш детально.

Еритроцити (червоні кров'яні клітини). Один мікролітр крові містить: від 4,7 до 6,1 мільйона у чоловіків і від 4,2 до 5,4 мільйона еритроцитів у жінок. Еритроцити містять гемоглобін, який здатний, здебільшого, переносити кисень та до тканин організму та забирати від останніх вуглекислий газ. Зрілі еритроцити людей та інших ссавців, на відміну від риб, амфібій та птахів, не мають ядер. Частка крові, яку займають червоні кров'яні клітини, називається гематокритом, і, як правило, він становить близько 45%. Площа поверхні всіх еритроцитів людини є приблизно в 2000 разів більша, ніж її зовнішня поверхня тіла. Еритропоез – це процес утворення еритроцитів; він триває близько семи днів (рис. 7). За допомогою цього процесу еритроцити безперервно виробляються в червоному кістковому мозку великих кісток, зі швидкістю близько 2 млн. в секунду в здорових дорослих людей (у ембріонів, печінка є основним місцем виробництва червоних кров'яних клітин.) Безпосередньо після виходу з кісткового мозку, еритроцити є ще незрілими, у вигляді так званих ретикулоцитів. Ретикулоцити складають близько 1% від об'єму циркулюючих червоних кров'яних тілець. Функціональний час життя еритроцитів складає близько 100-120 днів.

Відомо велику кількість хвороб крові, пов'язаних з еритроцитами. Це, наприклад, анемії – захворювання, що характеризуються низьким транспортним потенціалом кисню крові, через низьку кількість еритроцитів або ненормальні червоні кров'яні тільца або гемоглобін. Залізодефіцитна анемія є найбільш поширеною анемією; це має місце, коли дієтичне споживання або поглинання заліза є недостатнім, і гемоглобін, який містить залізо, не може бути сформований. Серповидна хвороба є генетичним захворюванням, яке призводить до ненормальної форми еритроцитів. Це може призвести закупорку кровоносних судин, болі, інсульти та інші пошкодження тканин. Таласемія є генетичним захворюванням, яке призводить до утворення аномальних субодиниць гемоглобіну. Спадковий сфероцитоз являє собою

групу спадкових захворювань, що характеризуються дефектами в клітинній мембрані червоних кров'яних клітин, в результаті чого клітини, щоб бути маленькими і дископодібними, вони стають великими і кулястими. Ці ненормальні еритроцити руйнуються в селезінці. Апластична анемія обумовлена нездатністю кісткового мозку виробляти клітини крові. Чиста червона аплазія викликана нездатністю кісткового мозку виробляти тільки червоні кров'яні клітини.

Гемоліз є загальним терміном для надмірного розпаду червоних кров'яних клітин. Він може мати кілька причин і може привести до гемолітичної анемії. Малярійний паразит проводить частину свого життєвого циклу в червоних кров'яних клітинах, харчується їх гемоглобіном, а потім руйнує їх один за одним, що призводить до лихоманки.

Поліцитемія є захворюванням, що характеризуються надлишком червоних кров'яних тілець. Підвищена в'язкість крові може викликати цілий ряд симптомів.

Клінічні аналізи крові включають червоні кров'яні клітини, в тому числі кількості еритроцитів (кількість червоних кров'яних клітин в обсязі крові), гематокрит (у відсотках від обсягу крові, який займають червоні кров'яні тілця) і ШОЕ.

Лейкоцити (білі кров'яні клітини). В одному мікролітрі крові їх вміст становить 4,000-9,000 клітин. Білі клітини крові є частиною імунної системи організму; вони руйнують і видаляють старі або аберантні клітини та клітинні залишки, а також атакують інфекційні агенти (патогени) і сторонні речовини. Рак лейкоцитів називається лейкомією. Всі білі клітини крові є нуклеарними, що вигідно відрізняє їх від безядерних червоних кров'яних тілець і тромбоцитів (рис. 8)

Види лейкоцитів можна класифікувати стандартними способами. Їх класифікують за структурою (гранулоцити або агранулоцити) або за допомогою клітинної лінії (мієлоїдні клітини або лімфоїдні клітини).

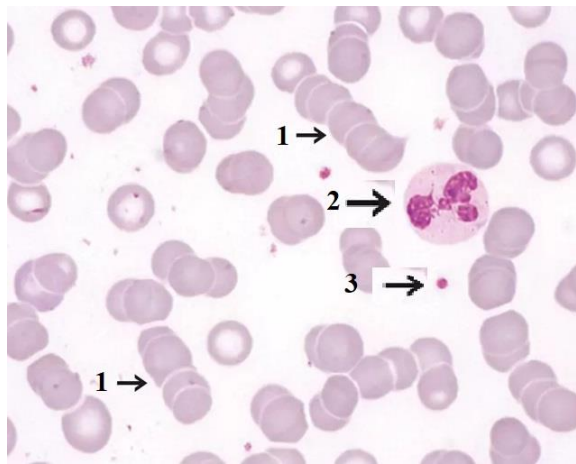


Рис. 8. Формені елементи крові: 1. Еритроцити, 2. Лейкоцити, 3. Тромбоцити (модифіковано із сайту sysmex-europe.com)

В кров'яному руслі можна зустріти п'ять основних типів лейкоцитів: нейтрофіли, еозинофіли, базофіли, лімфоцити та моноцити. Всі вони відрізняються за своїми фізичними і функціональними характеристиками.

Розглянемо їх більш детально.

Нейтрофіли. Вони є найбільш поширеними серед білих кров'яних клітин і становлять 60-70% від об'єму циркулюючих лейкоцитів.

Нейтрофіли захищають організм, здебільшого, від бактеріальної або грибкової інфекції. Це професійні фагоцити, які діють на перших стадіях запалення, виходячи з кровотоку у тканини. Їх робота – «вбивати та ламати». При цьому ступінь їх руйнівної дії настільки великий, що вони одразу запрограмовані на смерть і їх існування у наших тканинах складає від 1 до 5 днів. Виходячи із кісткового мозку у зрілому стані вони потрапляють у кровотік і існують там у неактивному стані. Активовні макрофаги, які теж належать до клітин фагоцитів, але є вартовими нашого організму, виділяють спеціальні речовини, які сигналізують що відбулося вторгнення клітинам ендотелію судин. Це сприяє виходу нейтрофілів з кров'яного русла і міграцію у місце запалення. У цитоплазмі цих клітин є гранули трьох типів, що містять різні антимікробні білки, пептиди та ферменти, за допомогою яких вони знищують фагоцитовані бактерії. Серед них мієлопероксидаза, що продукує гіпохлоридний аніон, який має яскраво виражені протимікробні властивості.

Мієлопероксидаза, разом із НАДН-оксидазою, яка продукує супероксидний аніон, а з нього і пероксид водню, здійснюють кисневий вибух, який вбиває не тільки фагоцитовані антигени, але і самого нейтрофіла. Також для нейтрофілів характерне явище нетозу. Ціклітини, як правило, перші на шляху захисту організму від мікробної інфекції; їх активність і смерть в великих кількостях утворює гній.

Нейтрофіли легко розпізнати під мікроскопом, застосовуючи технологію фарбування (рис. 9).

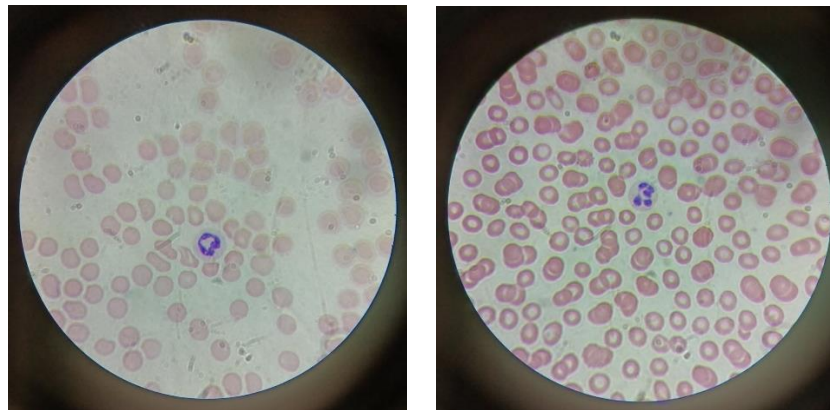


Рис. 9. Нейтрофіл у мазку крові людини

Їхнє ядро може мати різну форму – від паличковидної до мультилопатевої, яке фарбується лужними барвниками у яскраво-фіолетовий колір. Тому їх ще називають поліморфноядерними нейтрофілами (ПМН). У цитоплазмі після фарбування видимі прозорі гранули, вміст яких не фарбується ні лужними, ні кислими барвниками. Звідси і назва самих клітин. .

Еозинофіли. Вони складають близько 2-4% від загальної кількості циркулюючих лейкоцитів. Ця кількість коливається протягом дня, з урахуванням сезонних змін, а також під час менструації у жінок. Їхній вміст може бути підвищений у відповідь на алергії, хронічні захворювання, паразитарні інфекції, а також захворювання селезінки і центральної нервової системи. Вони рідко зустрічаються в крові, але їх багато в слизових оболонках дихальних шляхів, травного тракту і нижніх сечових шляхів. Еозинофіли, в першу чергу, мають справу з паразитарними інфекціями, здійснюючи антитілозалежну цитотоксичність. Гранули нейтрофілів фарбуються кислими

барвниками (рис. 10). До їх складу входить нейротоксин, фосфоліпаза, а також гістамін. Дегрануляція еозинофілів відбувається часто при взаємодії їхніх рецепторів із імуноглобулінами класу E, які обсонізували паразита.

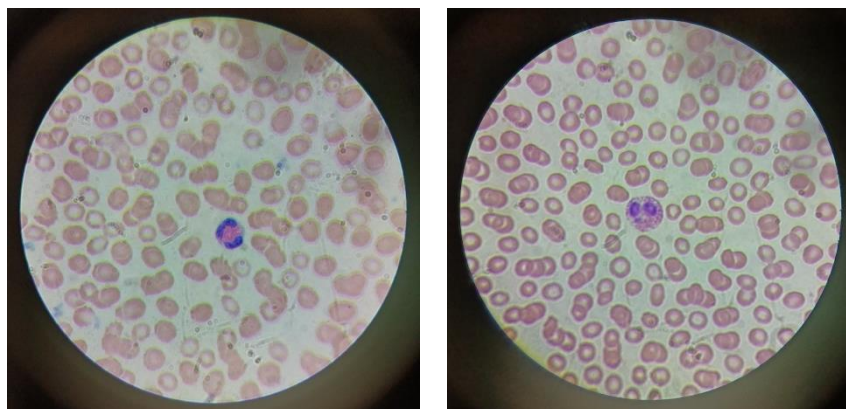


Рис. 10. Еозинофіл у мазку крові людини

Цікаво, що еозинофіли здатні до фагоцитозу, хоча їх не вважають професійними фагоцитами. Також вони можуть виділяти гістаміназу, яка нейтралізує дію гістаміну при алергічних реакціях. Таким чином, еозинофіли можуть діяти протилежно, залежно від ситуації. Під час алергічних реакцій вони можуть «гасити» дію гістаміну, що виділяється базофілами та мастоцитами.

Загалом, ядро еозинофілів дволопатеве. Лопаті з'єднані тонкою ниткою. Цитоплазма наповнена гранулами, які фарбуються еозином у характерний рожево-оранжевий колір. Звідси і назва клітини.

Базофіли. Базофіли, головним чином, відповідальні за алергічну відповідь. Їхня дегрануляція призводить до виділення гістаміну у великих кількостях. Останній є гістогормоном, який викликає фізіологічні зміни, що супроводжують запалення. Локальна активація значної кількості базофілів призводить до розширення стінок капілярів, набряку тканин, залучення до осередку запалення інших лейкоцитів. Іншим важливим компонентом гранул нейтрофілів є гепарин, який пригнічує згортання крові і сприяє руху білих кров'яних клітин в запальну область. Базофіли також можуть продукувати цитокіни, які приваблюють еозинофіли і нейтрофіли до місця інфекції.

Дегрануляція цих клітин, подібно еозинофілам, ініціюється так званою Fc ділянкою імуноглобулінів класу E.

Базофіли є рідкісними білими кров'яними клітинами (менше 0,5% від загальної кількості). Ядро бі- або трилопатеве, але це важко зрозуміти, через кількість грубих гранул, які теж фарбуються лужним барвником у фіолетовий колір і приховують його (рис. 11).



Рис. 11. Базофіл у мазку крові людини

Моноцити. На відміну від гранулоцитів, моноцити не містять цитоплазматичних гранул і мають добре сформоване округле ядро характерної підково- чи ниркоподібної форми (рис. 12). Моноцити є незрілими формами

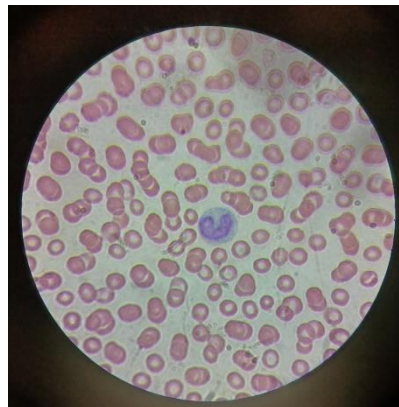


Рис. 12. Моноцит у мазку крові людини

клітин. Їхні зрілі похідні – це тканинні макрофаги. Моноцити мають округлу форму, а тканинні макрофаги, як правило, амебоїдну. Всі клітини моноцитарного ряду здатні до фагоцитозу, як і гранулоцити. Для них також характерне явище «кисневого вибуху». Однак, активність моноцитарного фагоцитозу залежить від стану активації (нормальний фагоцит, активований

або гіперактивованій). У активованому та гіперактивованому стані моноцити/макрофаги здатні не тільки до інтенсивного фагоцитозу, але і до презентації фагоцитованих антигенів. Такі презентовані антигени можуть розпізнаватися Т-лімфоцитами і далі забезпечувати роботу адаптивного імунітету. Детальніше про презентацію антигенів моноцитами/макрофагами, а також дендритними клітинами (які не висвітлено у цьому розділі) ви ознайомилися в курсі імунології.

Лімфоцити. Лімфоцити зустрічаються набагато частіше в лімфатичній системі, ніж в крові. При фарбування лімфоцити виділяються зафарбованим ядром, яке може займати майже весь вміст клітини (рис. 13). Їхня цитоплазма

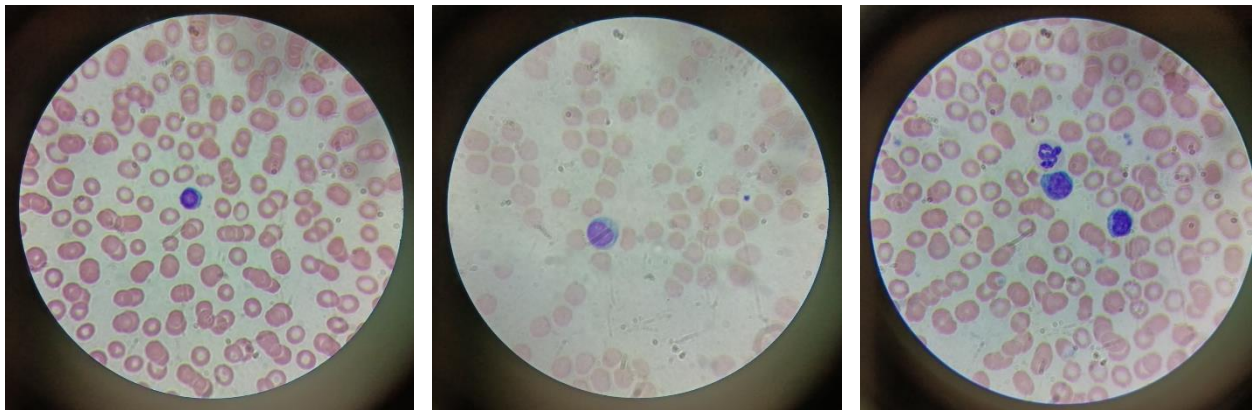


Рис. 13. Лімфоцити у мазку крові людини (ліворуч – малий, по середині – великий, праворуч – середній та великий поруч з нейтрофілом)

здебільшого без гранул. Лімфоцити включають в себе: В-клітини, Т-клітини та природні клітини-кілери. Ці клітини схожі за своєю морфологією і їх відрізняють шляхом імунофенотипування по наявності рецепторних молекул-маркерів на поверхні клітин. В та Т- лімфоцити належать до імукомпетентних клітин, що беруть участь у адаптивній імунній відповіді. В-лімфоцити діють гуморальним шляхом, а Т-лімфоцити можуть брати участь як у клітинній, так і гуморальній ланці набутого імунітету. Більше деталей можна отримати при вивченні курсу імунології. Природні кілери за механізмом дії відносяться до вродженого клітинного імунітету. За своєю будовою, вони схожі на інші лімфоцити, при цьому їхня цитоплазма заповнена великими азурофільними гранулами. У гранулах містяться перфорини та гранзими, які сприяють

знищенню вірус-інфікованих та ракових клітин (детальний механізм також розглянуто в курсі імунології).

Зазвичай категорії розладів лейкоцитів поділяють на розлади, викликані надмірною кількістю лейкоцитів (проліферативні розлади), а також розлади, які викликані недостатньою їх кількістю (лейкопенія). Неоплазії білих кров'яних тілець можуть бути доброякісними, але часто злоякісні. З різних пухлин крові і лімфи, рак білих кров'яних тілець може бути класифікований як лейкоз і лімфома, хоча ці категорії перетинаються і часто групуються у парі.

Тромбоцити. Їх вміст складає 200,000-500,000 клітин на 1 мкл. Вони беруть участь в процесі згортання крові (коагуляції). Тромбоцитопенія є умовою низького рівня тромбоцитів і несе в собі підвищений ризик кровотечі. З іншого боку, високий рівень тромбоцитів (тромбоцитемія) несе підвищений ризик утворення тромбів в кров'яному руслі. Це може позбавити життєво важливі органи, такі як серце і мозок, їх кровопостачання, викликаючи інфаркти та інсульти, відповідно.

Як і у випадку всіх клітин крові, тромбоцити походять із стовбурових клітин в кістковому мозку (рис. 7). Стовбурові клітини розвиваються в попередники тромбоцитів (так звані мегакаріоцити), які «проливають» тромбоцити в кровотік. Там тромбоцити циркулюють протягом 9 днів. Якщо вони зустрічаються з пошкодженими стінками кровоносних судин протягом цього часу, прилипають до пошкодженої області і активуються з утворенням тромбу. Це закупорює отвір. В іншому випадку, в кінці їхнього життєвого терміну вони видаляються з кровотоку через селезінку. У різноманітному ряді захворювань, де селезінка надактивна, наприклад ревматоїдний артрит і лейкомія, селезінка видаляє занадто багато тромбоцитів, що призводить до підвищеної кровоточивості.

1.4. Еволюція кровоносної системи

У різних тварин деталі будови кровоносної системи можуть варіювати, але функція її завжди полягає в постачанні тканин киснем і поживними речовинами і видаленні продуктів обміну. У більшості випадків кисень не

просто розчинений в плазмі, а з'єднаний з тими чи іншими гемопротеїдами (гемоглобін у дощового черв'яка містить білок і пігмент залізопорфірину, а у краба - гемоціанін, що містить мідь, є й інші дихальні пігменти).

У найпростіших тварин перенесення речовин відбувається шляхом дифузії, цьому сприяє рух цитоплазми. У кишковопорожнинних центральна порожнина виконує як травну, так і транспортну функції. У планарії порожнини тіла немає, вона заповнена пухкими клітинами мезодерми, між якими розташовується тканинна рідина (нагадує тканинну рідину людини); скорочення м'язів (як і у кишковопорожнинних) приводить в рух рідкий вміст тканинної рідини, яка і транспортує поживні речовини по всьому організму.

Замкнута кровоносна система вперше з'являється у немертин. Вона складається з двох бічних кровоносних судин і одної спинної, з'єднаних між собою поперечними судинами.

У дощового черв'яка і інших кільчастих хробаків кровоносна система влаштована складніше: вона складається із спинної судини, по якій кров тече від заднього кінця тіла до переднього; черевної і субневральної судин, по яких вона тече назад, і п'яти пар пульсуючих трубок («сердечь»), розташованих на передньому кінці тіла, які переганяють кров із спинної судини до черевної. Крім того, в кожному сегменті є кільцеві судини і мережа тонких капілярів.

У членистоногих і молюсків кровоносна система незамкнута: кровоносні судини відкриваються в порожнину тіла – гемоцель. Кров, здійснюючи повний оборот, проходить частину свого шляху в цій порожнині. У них вже є серце, яке лежить в порожнині і омивається цією кров'ю. Серце членистоногих в типовому випадку являє м'язову трубку, що лежить ближче до спинної поверхні, а кров надходить у нього через отвори – остії і перекачується в артерії, що несуть кров від серця до органів. У молюсків вже багатоканальне серце: одне або два (іноді більше) передсердь і один шлуночок. Серце укладене в перикардіальну сумку і штовхає кров під дуже малим тиском (всього лише кілька міліметрів ртутного стовпчика).

Замкнутій кровоносній системі хребетних потрібно набагато більший тиск (близько 100-120 мм), щоб проштовхувати кров через незліченну кількість вузьких капілярів. В процесі еволюції сформувався потужний м'язовий орган з товстими стінками – серце. Найбільш потужні стінки має шлуночок серця, більш досконала будова якого властива ссавцям. Кровоносна система хребетних тварин побудована за одним принципом: є серце, аорта, артерії, капіляри і вени. Еволюційні зміни в системі кровообігу пов'язують з переходом живих організмів від зябрового дихання до легеневого.

Серце риб складається з чотирьох відділів, розташованих один за одним: венозного синуса, передсердя, шлуночка і артеріального конуса. Кров з вен надходить у черевну аорту, а потім в зябра. Насичена киснем в зябрах кров по спинній аорті розподіляється по всьому тілу, тобто через серце проходить венозна кров. Одна порція крові проходить через серце тільки один раз – таким чином у риб існує одне коло кровообігу. У Дводишних риб вже з'являється друге передсердя (у зв'язку з розвитком легеневого дихання) і два кола кровообігу. Однак перегородка в передсерді неповна, а друге коло кровообігу працює в певні сезони; при проживанні в воді, коли риби дихають зябрами, функціонує одне коло кровообігу. Лейкоцити крові риб поділяються на дві основні групи: гранулоцити, що включають нейтрофіли, еозинофіли, базофіли, і агранулоцити, представлені моноцитами / макрофагами, великими лімфоцитами, середніми лімфоцитами і малими лімфоцитами, а також тромбоцитами. Вміст фагоцитуючих мононуклеарів в крові риб незначний і коливається від 4 до 7%. Так само, як і у інших тварин, макрофаги спільно з нейтрофілами забезпечують неспецифічний імунний захист і беруть участь в запальних реакціях. У зоні запалення макрофаги можуть зливатися, утворюючи гігантські багатоядерні клітини. Крім того, фагоцитуючі мононуклеари риб, як і ссавців, здатні до презентації антигену, демонструючи свою участь в процесах клітинної взаємодії при формуванні специфічної імунної відповіді. Понад 70% лейкоцитів периферичної крові риб представлена лімфоцитами. Популяція цих лімфоцитів функціонально

неоднорідна і представлена як В-клітинами, так і Т-клітинами. Більш того, Т-клітини діляться на субпопуляції з цитотоксичною, хелперною і супресорною активністю. Таким чином лімфоїдний клітинний комплекс риб досить гетерогенний і фактично не відрізняється від клітинного комплексу найбільш високоорганізованих хребетних тварин.

У амфібій вже повна перегородка в передсерді, а венозний синус відкривається в праве передсердя. Вена, що несе кров від легенів, впадає в ліве передсердя. У амфібій в серці відбувається змішання аерованої і неаерованої крові. Кров з вен переходить в венозний синус, праве передсердя, потім в шлуночок, з нього в легеневу артерію, легені, легеневі вени, ліве передсердя, знову в шлуночок і, нарешті, до клітин тіла. Однак в шлуночку відбувається деяке перемішування крові, і частина крові з венозного синуса може потрапити замість легеневих артерій в аорту. Особливість полягає в тому, що кров з правого передсердя надходить у шлуночок раніше, ніж з лівого, і тому виявляється ближче до виходу. В результаті неаерована кров першої виходить з шлуночка і заповнює легеневі артерії, а аерована – направляється до клітин тіла, в першу чергу до голови. Тому кожна порція крові може пройти через серце один, два і навіть більше число разів.

У рептилій еволюційний процес пішов далі: утворення, хоча і неповної, перегородки в шлуночку серця і поділ артеріального конуса. У крокодилів перегородка в серці – повна, проте, як і у інших рептилій, у великому колі кровообігу у них відбувається перемішування аерованої і неаерованої крові (у крокодилів по виході з серця). Остаточний поділ аерованої і неаерованої крові відбулося у птахів і ссавців. Залишки венозного синуса у них збереглися у вигляді синусового вузла, розташованого в місці з'єднання порожнистої вени з правим передсердям. Синусний вузол збуджує скорочення серцевого м'яза і регулює їх частоту. Кров при кожному обороті внаслідок повного відділення лівої половини серця від правої проходить через серце двічі. Кров в аорті птахів і ссавців містить більше кисню, ніж кров в аорті інших хребетних. Якщо у амфібій і рептилій дві дуги аорти, то у птахів тільки права дуга, а у ссавців (і

у людини) – ліва. Завдяки кращому постачанню киснем тканин тіла у ссавців і птахів здатні підтримувати обмін на більш високому рівні, що обумовлює їх «теплокровність», тобто здатність зберігати постійну температуру тіла навіть в холодному середовищі. Насиченню крові киснем сприяють клітинні елементи – еритроцити. Перші клітинні елементи з'являються у безхребетних, але часто вони безбарвні. У хребетних еритроцити ядерні та їх киснева ємність збільшується по еволюційному ланцюжку. І тільки у ссавців еритроцити не містять ядер, що значно збільшує їх кисневу ємність. Крім того, у більшості ссавців вони мають дископодібну форму, яка збільшує поверхню газообміну.

ГЛАВА 2. ГЕМОГЛОБІН ТА БІЛКИ ПЛАЗМИ КРОВІ

2.1. Гемоглобін: структура, властивості та похідні

Гемоглобін (Hb, від грец. *haima* – кров і лат. *globus* – куля) – складний залізовмісний білок еритроцитів тварин і людини, здатний зворотно зв'язуватися з киснем, забезпечуючи його перенесення до тканин. Гемоглобін є складним білком класу хромопротеїнів, тобто таких, що містять простетичну групу, в якості якої виступає гем, що містить залізо (рис. 14).

Концентрація гемоглобіну (Hb) в крові значною мірою варіює в залежності від віку та статі особи. Наприклад, у новонароджених цей показник може сягати 192-232 г/л, тоді як у дорослих жінок він зазвичай складає 120-150 г/л, а у чоловіків – 130-160 г/л.

Гемоглобін відіграє ключову роль в ряді фізіологічних процесів. По-перше, він активно задіяний у переносі кисню та вуглекислого газу в організмі. По-друге, система гемоглобіну є потужним регулятором рН крові. По-третє, він відповідає за транспорт дихальних газів.

Структурно гемоглобін є тетрамером і складається з чотирьох субодиниць. У кожній субодиниці є гем, що пов'язаний з білком через залишок амінокислоти гістидину. Молекула гемоглобіну включає два типи поліпептидних ланцюгів: $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ і $\beta 2$, які у дорослій людині формують ізологічний тетраедр. Ця структура утримується завдяки гідрофобним взаємодіям між субодиницями. Молекулярна маса цієї складної біомолекули приблизно дорівнює 66,8 кДа.

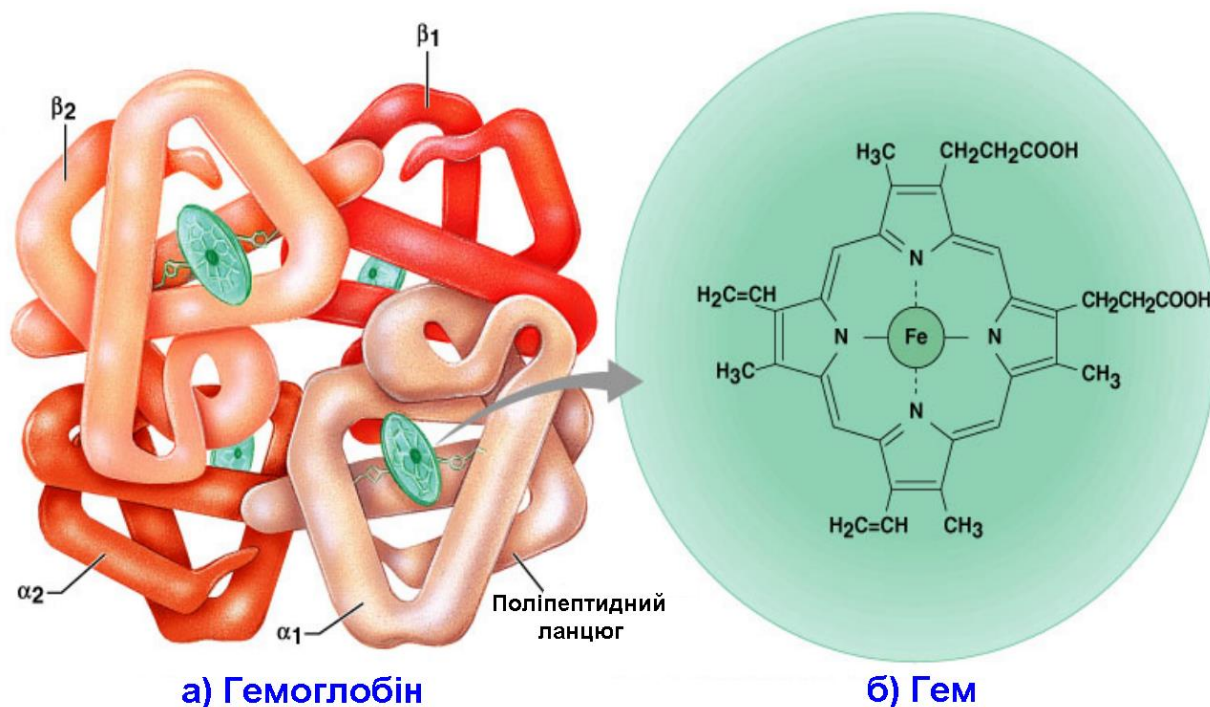


Рис. 14. Структура гемоглобіну (взято із Benjamin Cummings)

Гем (від грецького "Αἷμα", що означає кров) є кофактором, що складається з іона Fe^{2+} , що міститься в центрі великого гетероциклічного органічного кільця порфірину, що складається з чотирьох піррольних груп, з'єднаних між собою метіновими містками. Залізо (II) в гемоглобіні демонструє особливу геометрію: октаедричну координаційну структуру з шістьма лігандами. Центральна частина цього комплексу складається з азотових атомів порфіринового кільця, розташованих в одній горизонтальній площині, і вони забезпечують чотири з шести координаційних взаємодій. Позиції для двох інших лігандів розташовані на вертикальній осі, яка перетинає площину порфірину перпендикулярно. Одна з цих вертикальних позицій зазвичай заповнена азотом залишку амінокислоти гістидину, що знаходиться на 93-му місці поліпептидного ланцюга, в секції відомої як ділянка F. Така унікальна координаційна геометрія заліза (II) не тільки забезпечує стабільність гемоглобіну, але і грає ключову роль в його функціональних властивостях, включаючи здатність переносити кисень. Молекула кисню, що зв'язується гемоглобіном, координується до заліза зі зворотного боку і виявляється поміщеною між атомом заліза і азотом ще

одного залишку гістидину, розташованого в 64 положенні ланцюга (ділянка E). Всього в гемоглобіні чотири ділянки зв'язування кисню (один гем на кожен субодиницю). Не всі порфіріни містять залізо, але значну частину порфіринів містять металопротейни, що мають гем в якості своєї простетичної групи; вони відомі як гемопротейди. Крім того, що гем входить до складу гемоглобіну, він також зустрічається в ряді інших біологічно важливих гемопротейдах, таких як міоглобін, цитохром, каталаза, гем пероксидази і ендотеліальної синтази оксиду азоту.

Синтез гемоглобіну відбувається в попередниках еритроцитів, які містять ядро. Для синтезу гему необхідні залізо і антианемічні вітаміни – B_{12} (ціанокобаламін) і фолієва кислота, а для синтезу глобіну – амінокислоти, джерелом яких є повноцінні білки їжі. При нестачі цих факторів, а також при вродженому дефіциті окремих ферментів обміну глюкози (глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, піруваткінази та ін.) розвиваються анемії. Причиною ще однієї групи анемій – гемолітичних, є прискорене руйнування еритроцитів (гемоліз).

Розрізняють гемоглобін ембріональний (гемоглобін плоду (foetus) – HbF) та гемоглобін дорослих (adult) – HbA. Так, основний гемоглобін дорослої людини – HbA₁ (96-99% усього гемоглобіну) – містить два α - та два β -ланцюги ($\alpha_2\beta_2$). Глікозильований гемоглобін, відомий як HbA_{1c}, є специфічною формою HbA₁, яка утворюється через неензиматичну реакцію між гемоглобіном і молекулами глюкози. Він служить як біомаркер для визначення рівня цукру в крові протягом тривалого періоду часу, і є важливим параметром в діагностиці та контролі діабету. Цей процес глікування змінює хімічну структуру гемоглобіну, надаючи йому нові властивості. Нормальна концентрація HbA_{1c} – 4-7% (рис.14).

Поряд з цією основною формою (HbA₁) в крові присутні незначні кількості (2-3%) іншої форми з більш високою спорідненістю до O_2 , в якій β -ланцюги замінені δ -ланцюгами (HbA₂, $\alpha_2\delta_2$). Дві інші форми Hb зустрічаються тільки в ембріональному періоді розвитку організму. У перші три місяці

утворюються ембріональні гемоглобіни складу $\xi_2\epsilon_2$ і $\alpha_2\gamma_2$. Потім аж до народження домінує фетальний гемоглобін (HbF, $\alpha_2\gamma_2$), який поступово замінюється на першому місяці життя на HbA (рис. 15).

Фетальний гемоглобін (HbF) має більш високу спорідненість до O_2 в порівнянні з HbA, так як він повинен переносити кисень з системи материнського кровообігу. Цей гемоглобін має особливі характеристики кисневого зв'язування, що нагадують властивості міоглобіну. Його крива зв'язування кисню має гіперболічний характер, що означає відсутність швидкої дисоціації та вивільнення кисню при зниженні його парціального тиску, аналогічно до дорослого гемоглобіну (HbA).

У випадках спадкового персистування HbF, концентрація цього типу гемоглобіну у крові дорослої особи може зрости в 10-20 разів. Така аномалія може клінічно проявлятися через важкі форми гіпоксії. Причина цьому — недолік у спроможності такого гемоглобіну ефективно переносити кисень між артеріальною та венозною системами кровообігу, що може призвести до серйозних медичних наслідків.

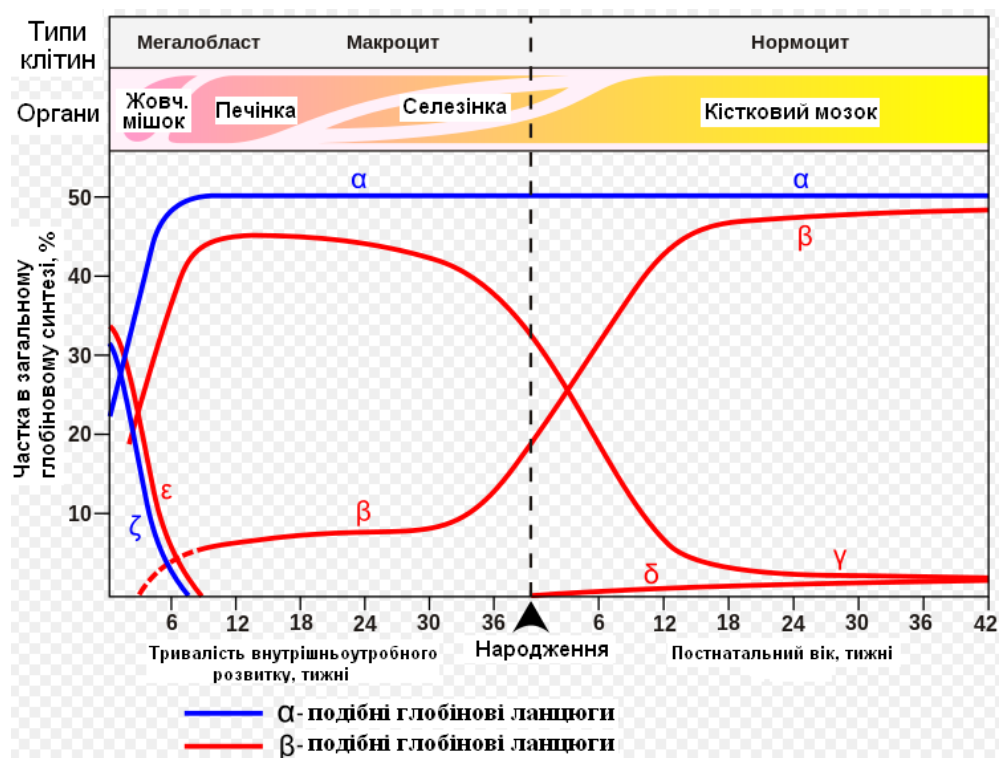


Рис. 15. Експресія генів гемоглобіну до і після народження. Також вказані типи клітин та органи, в яких відбувається експресія гена (дані по Wood WG, 1976. Br. Med. Bull. 32, 282).

Похідні гемоглобіну

Розрізняють наступні сполуки гемоглобіну:

HbO₂ – оксигемоглобін – має яскраво-червоний колір.

Оксигемоглобін утворюється при фізіологічному диханні, коли кисень зв'язується з гемом – компонентом білка гемоглобіну в еритроцитах. Цей процес відбувається в легневих капілярах, прилеглих до альвеол легенів. Потім кисень проходить через потік крові і в клітинах використовується в якості термінального акцептора електронів у виробництві АТФ в процесі окисного фосфорилювання

Крива зв'язування гемоглобіном кисню та, відповідно, дисоціації оксигемоглобіну, має S-подібну форму, що свідчить про кооперативний характер процесу (рис. 16).

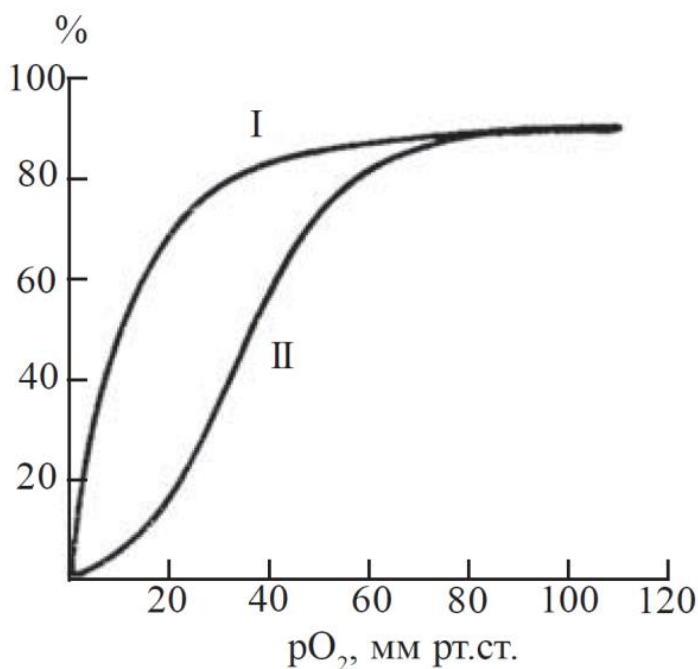
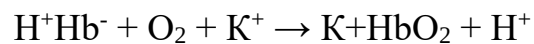


Рис. 16. Залежність ступеня оксигенації (% від максимальної) від парціального тиску O₂ для гемоглобіну (II) та міоглобіну (I) — кисеньзв'язуючого білка м'язів, що не має кооперативних властивостей

Дійсно, приєднання молекули O₂ до першої субодиниці гемоглобіну внаслідок конформаційних змін, що відбуваються, підвищує здатність гемопротеїну до взаємодії з подальшими трьома молекулами кисню. Спорідненість гемоглобіну до кисню значно зростає після зв'язування з

першою молекулою O₂. Статистично, спорідненість до четвертої молекули кисню може бути величезною, наближаючись до значення, яке в майже 300 разів вище, ніж спорідненість до першої молекули. Це підкреслює інтригуючу характеристику "кооперативності" в системі гемоглобін-кисень, де зв'язування однієї молекули кисню полегшує подальше зв'язування інших молекул. Така висока спорідненість до четвертої молекули кисню є критично важливою для ефективного переносу кисню в тканини організму.

Оксигемоглобін – більш сильна кислота у порівнянні з дезоксигемоглобіном і легше віддає протони. В еритроцитах катіонів калію витісняють протони із оксигемоглобіну з утворенням його калієвої солі (K⁺HbO₂):



У капілярах легенів, де напруга O₂ близько 100 мм рт.ст., гемоглобін зв'язується з O₂. Цей процес називається оксигенацією, в результаті якого гемоглобін перетворюється на оксигенований гемоглобін (оксигемоглобін). У капілярах тканин, де напруга O₂ значно нижча (бл. 40 мм рт.ст.), відбувається дисоціація оксигемоглобіну на гемоглобін і O₂. Останній надходить в клітини органів і тканин, де парціальний тиск O₂ ще нижче (5-20 мм рт. ст.). В глибині клітин ця напруга кисню падає практично до нуля. Різниця парціального тиску O₂ між альвеолярним повітрям та міжклітинною рідиною дорівнює 65 мм рт.ст. Велика різниця у спорідненості гемоглобіну до кисню на різних етапах його зв'язування допомагає забезпечити ефективний транспорт O₂. Це фундаментально важливо для перенесення кисню від альвеол в легенях, де він зв'язується з гемоглобіном крові, до міжклітинної рідини, де кисень постачається у тканини. Саме завдяки цій різниці в спорідненості, кисень ефективно вбирається легеньми і так само ефективно віддається там, де його потребують клітини. Крім того, функціонування цитохромоксидази дихального ланцюга призводить до безперервного використання кисню і зниження парціального тиску кисню в мітохондріях до 4-5 мм рт.ст. Таким

чином, практично створюється «кисневий вакуум» у мітохондріях, що спрямовує потік кисню в клітини.

У вигляді HbO_2 транспортується значна частина кисню. В 1 л плазми крові розчинено тільки близько 3,2 мл O_2 . Гемоглобін, що міститься в еритроцитах, здатний зв'язати 220 мл O_2 /л. Формування оксигемоглобіну є динамічним процесом, який визначається рядом факторів. Парціальний тиск крові відіграє ключову роль в зв'язуванні кисню з гемоглобіном. Крім того, рівень рН в крові може вплинути на афінітет гемоглобіну до O_2 , змінюючи його здатність зв'язувати або віддавати кисень. Концентрація CO_2 та вміст 2,3-дифосфогліцерату (2,3-ДФГ) також є важливими параметрами. Вони можуть модулювати властивості гемоглобіну, роблячи його більш або менш чутливим до змін парціального тиску кисню. Зокрема, 2,3-ДФГ знижує афінітет гемоглобіну до кисню, полегшуючи його вивільнення в тканинах, де це необхідно. Отже, інтенсивність утворення HbO_2 не є статичною величиною, а динамічно регулюється в залежності від змін у середовищах організму.

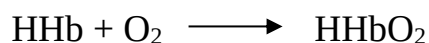
HHb – дезоксигемоглобін, або відновлений гемоглобін (віддає кисень) – має темно-червоний колір, що визначає колір венозної крові. В капілярах тканин, де рівень кисню знижений і парціальний тиск O_2 також нижчий, відбувається дисоціація оксигемоглобіну. Цей процес приводить до розпаду оксигемоглобіну на гемоглобін та вільний кисень. Таким чином, кисень може бути вивільнений в міжклітинну рідину та насичувати клітини, які в ній знаходяться. Це ключовий механізм, який забезпечує доставку кисню до тканин, де він необхідний для їх життєдіяльності.

HbCO_2 – карбгемоглобін (CO_2 з'єднується з N-кінцевими групами гемоглобіну) має вишневий колір і утворюється при проходженні крові через тканини. У складі цього похідного транспортується до 20% CO_2 . Негативний вплив зменшення рН та збільшення концентрації діоксиду вуглецю (CO_2) на утворення оксигемоглобіну має назву *ефекту Бора*. Ефект Бора зумовлений конформаційними перетвореннями в структурі гемопротеїну при взаємодії з певними лігандами. Ці структурні зміни в гемоглобіні позначаються на його

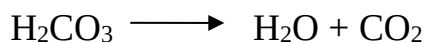
способі зв'язування та дисоціації кисню, що є критично важливим для функцій транспорту кисню в організмі. Конформаційні перетворення в гемоглобіні активізують чи знижують його афінитет до кисню, залежно від зовнішнього середовища, тим чином адаптуючи транспортну здатність гемоглобіну до потреб організму. Процеси, що лежать в основі здатності гемоглобіну брати участь у транспорті CO₂, описуються такими рівняннями реакцій:

А. В легневих капілярах

В легневих капілярах та капілярах периферичних тканин відбуваються ряд біохімічних реакцій, які регулюють оксигенацію та транспорт кисню і вуглекислого газу в організмі. В легенях гемоглобін набирає кисень, стаючи більш кислотним, а в периферичних тканинах цей кисень відділяється для клітинного дихання:



Фермент карбоангідраза відіграє ключову роль в регулюванні вмісту CO₂, перетворюючи його на вугільну кислоту, яка далі дисоціює:



У процесі цих реакцій бікарбонат (HCO₃⁻) з еритроцитів переходить в плазму крові, допомагаючи забезпечити її кислотно-основний баланс.

Слід звернути увагу на потенційно небезпечний аспект: наявність вуглецю оксиду (CO) в повітрі може вести до утворення карбоксигемоглобіну. Гемоглобін має значно вищу афінитет до CO, ніж до кисню, це може заблокувати нормальний транспорт кисню в крові, призводячи до гіпоксії або навіть смерті (рис. 17).

Загалом, ці біохімічні процеси відображають складну, але добре зкоординовану систему транспорту та регуляції газів у організмі людини.

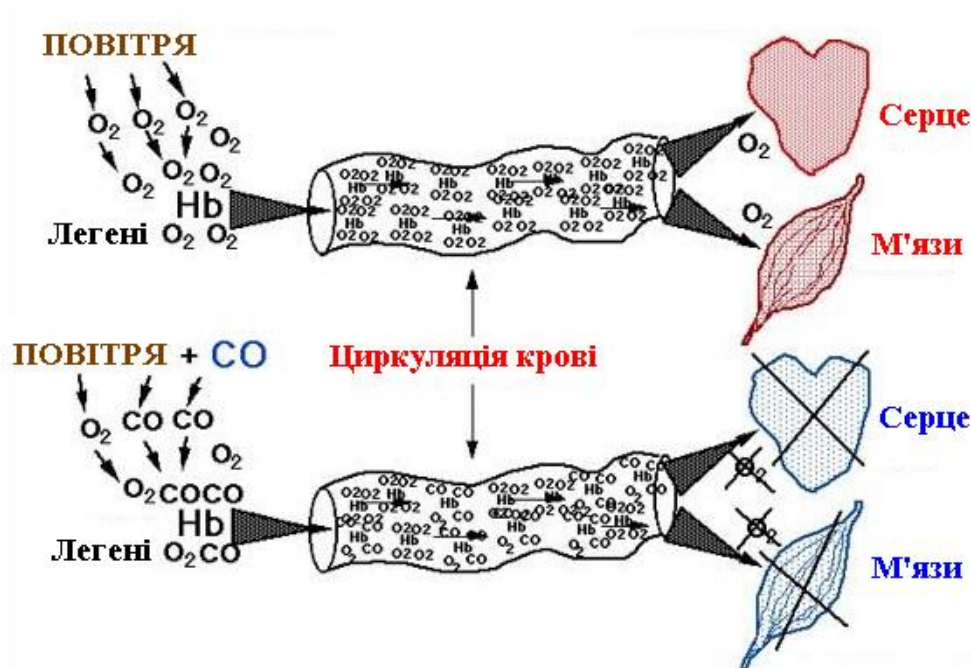


Рис. 17. Схематичне зображення блокування чадним газом утворення оксигемоглобіну і транспорту кисню

Саме тому навіть незначні кількості чадного газу в повітрі є небезпечними для життя. В осіб, які не палять, карбоксигемоглобіну міститься 0,5-1,5%; в осіб, які палять, – 8-9%.

HbOH (MetHb) – метгемоглобін має бурий колір. Він утворюється при деяких патологічних станах, наприклад при отруєннях потужними окисниками (бертолетова сіль, перманганат калію, сульфаніламідні препарати та ін.). Вміст метгемоглобіну становить 0-37 мкмоль/л. Цей вид гемоглобіну не може зв'язувати кисень. У нормі в еритроцитах міститься до 2% метгемоглобіну, який утворюється в результаті аутоокиснення. Така незначна кількість не пригнічує газообміну. Накопиченню метгемоглобіну перешкоджає функціонування ферменту *метгемоглобінредуктази*, який відновлює MetHb. *Метгемоглобінемія* (підвищення концентрації MetHb) може мати спадковий характер (при дефіциті метгемоглобінредуктази) та розвиватися внаслідок надходження в організм значної кількості окисників – нітритів, нітробензолу, аніліну та ін. (розвивається гостра токсична метгемоглобінемія).

Зв'язування гемоглобіну з різними лігандами, такими, як H^+ (при зниженні pH) та CO_2 призводить до конформаційних змін у молекулі гемоглобіну і змінює спорідненість Hb до кисню. У тканинах CO_2 витісняє O_2 з гемоглобіну, в легенях, навпаки, кисень витісняє CO_2 з крові в альвеолярне повітря. В тканинах збільшення кількості H^+ (при утворенні вугільної кислоти із CO_2) знижує спорідненість Hb до кисню. У капілярах легень, навпаки, протон вивільняється, і O_2 зв'язується з Hb.

Варіації гемоглобіну можуть бути пов'язані з етапом розвитку ембріона і плоду, а також через патологічні стани, викликані змінами генетики.

Якщо у ембріонів розрізняють наступні форми гемоглобіну: Gower 1 ($\zeta_2\varepsilon_2$); Gower 2 ($\alpha_2\varepsilon_2$), гемоглобін Portland I ($\zeta_2\gamma_2$), гемоглобін Portland II ($\zeta_2\beta_2$), то у плода наявний гемоглобін F ($\alpha_2\gamma_2$). Після народження розрізняють гемоглобін A ($\alpha_2\beta_2$), який є найпоширеніший з нормальною кількістю понад 95%; гемоглобін A2 ($\alpha_2\delta_2$) – δ синтез ланцюга починається в кінці третього триместру вагітності та у дорослих, у нього є нормальний діапазон 1,5-3,5%.

При порушенні синтезу гемоглобіну виникають *гемоглобінопатії* і *таласемії*, які мають спадковий характер і належать до «молекулярних хвороб». Відомі наступні варіаційні форми гемоглобіну, які викликають хвороби:

Гемоглобін D-Пенджаб ($\alpha_2\beta^{D_2}$) – варіаційна форма гемоглобіну (він названий так через його високу поширеність в регіоні Пенджаб Індії та Пакистану. Він також є найбільш поширеною ненормальною варіантою гемоглобіну в Синьцзян-Уйгурському автономному районі Китаю. Дослідження показують, що гемоглобін D-Пенджаб там становить понад 55% від всіх варіацій гемоглобіну);

Гемоглобін H (β_4) – варіаційна форма тетрамерного гемоглобіну, мономерами якого є β -ланцюги, які можуть бути присутніми в варіантах α -таласемій;

Гемоглобін Barts (γ_4) – варіаційна форма гемоглобіну, мономерами якого є γ -ланцюги, які можуть бути присутніми в варіантах α -таласемій;

Гемоглобін S ($\alpha_2\beta^S_2$) – варіаційна форма гемоглобіну, яка зустрічається у людей з серповидно-клітинною анемією. Існує варіація в гені β -ланцюга, що призводить до вироблення серповидно-клітинних еритроцитів;

Гемоглобін C ($\alpha_2\beta^C_2$) – цей варіант викликає помірну хронічну гемолітичну анемію;

Гемоглобін E ($\alpha_2\beta^E_2$) – викликає помірну хронічну гемолітичну анемію;

Гемоглобін AS – гетерозиготна форма викликає серповидну форму еритроцитів з одним геном дорослого і одним геном захворювання на серповидні еритроцити;

Гемоглобін SC – викликає серповидну форму еритроцитів.

Деградація еритроцитів та гемоглобіну

Еритроцити видаляються з кровотоку шляхом фагоцитарної активності макрофагів в селезінці і печінці або гемолізом. Основним кінцевим продуктом деградації гему є білірубін, який секретується в кишечник в складі жовчі. У кишечнику білірубін перетворюється в уробіліноген. Уробіліноген видаляється з організму у складі фекалій. Глобулін метаболізується до амінокислот, які використовуються для синтезу багатьох білків. Підвищені рівні глобуліну виявляють в крові, якщо еритроцити руйнуються швидше, ніж зазвичай. Залізо, яке видаляється з гему, зберігається у вигляді гемосидерину або феритину в тканинах і транспортуються в плазмі бета-глобулінами, такими як трансферин.

Інші кисень-зв'язуючі білки

Міоглобін. Знайдений в м'язовій тканині багатьох хребетних, включаючи людину. Завдяки цьому білку м'язова тканина має яскраво виражений червоний або темно-сірий колір. За своєю структурою він дуже подібний на гемоглобін, але не є тетраметром. Він являє собою мономер, який не виявляє кооперативні взаємодії. Він використовується для зберігання кисню, а не транспортувати його.

Гемоціанін. Його виявили в крові багатьох членистоногих і молюсків. В структурі гему в нього замість йонів заліза містяться йони міді, в результаті чого він має синій колір.

Гемоеритрин. Наявний в деяких морських безхребетних і кількох видів кільчастих червів. Це залізовмісний негемовий білок, який здатний переносити кисень в крові. Має рожеве або фіолетове забарвлення, коли є окисленим.

Еритрокруорин. Знайдений у багатьох кільчастих, в тому числі дощових черв'яках. Це гігантський вільно плаваючий білок крові, що містить багато десятки субодиниць, пов'язаних між собою в єдиний комплекс білка з молекулярною масою понад 3,5 мільйона Дальтон.

Хлорокруорин. Знайдений у багатьох кільчастих. Він дуже подібний на еритрокруорин, але гем істотно відрізняється за своєю структурою. Може мати зелене (дезоксигенована форма) або червоне (окислена форма) забарвлення.

Ванабінс (також відомий як ванадієвий білок) являє собою металопротеїн, зв'язаний з йонами ванадію. Ванабінс зустрічається в деяких асцидій і покривників. Ці організми здатні концентрувати ванадій до рівня більш ніж в 100 разів вищий, ніж в навколишній морській воді. В даний час немає переконливих доказів розуміння того, чому ці організми збирають ванадій, і це залишається біологічною загадкою.

Піноглобін. Виявлений в молюска *Pinna squamosa*. Це порфіриновий білок, в основі якого містяться йони марганцю.

Легоглобін. Це гемопротеїн азотфіксуючих бульбочкових бактерій бобових рослин, який є азот- або кисень-носієм. Легоглобін має високу спорідненість до кисню (K_M близько 0,01 мкМ), яка приблизно в десять разів вища, ніж бета-ланцюга гемоглобіну людини. Його функція полягає у забезпеченні киснем дихаючих симбіотичних бактеріальних клітин способом, аналогічним до того, як гемоглобін транспортує кисень до дихаючих тканин у тварин.

Кобоглобін. Синтетичний білок на основі кобальту, хімічно подібний до гемоглобіну або міоглобіну. Так само, як і гемоглобін і міоглобін, кобоглобін здатний зворотньо зв'язувати молекулярний кисень (O_2) при атомі металу. Проте, він втрачає цю здатність набагато швидше, ніж природні молекули. Кров цього типу буде жовтого кольору, коли тече по венах, і безбарвною, коли тече по артеріях.

2.2. Основні білкові фракції плазми крові

2.2.1. Альбуміни

Сироватковий альбумін, який часто називають просто як альбумін крові, є глобулярним білком, знайденим в крові хребетних. Людський сироватковий альбумін кодується геном ALB. Інші форми альбумінів ссавців, такі як бичачий сироватковий альбумін, хімічно подібні.

Сироватковий альбумін, виробляється печінкою, є розчиненим в плазмі крові і є найбільш поширеним білком в крові у ссавців. Він синтезується в печінці у вигляді препоальбуміну з N-кінцевим пептидом, який видаляється в ендоплазматичному ретикулумі (ЕПР). Продукт, преальбумін, в свою чергу, розщеплюється у везикулах Гольджі з отриманням альбуміну, який секретується в кров. Альбумін має важливе значення для підтримки онкотичного тиску, необхідного для правильного розподілу рідин організму між кровоносними судинами і тканинами організму. Він також виступає в якості носія стероїдних гормонів і в якості транспортного білка для геміну і жирних кислот. Занадто багато або занадто мало циркулюючого сироваткового альбуміну може бути шкідливим. Альбумін в сечі зазвичай означає наявність захворювання нирок. Час від часу альбумін з'являється в сечі здорових людей після тривалого стояння (ортостатична альбумінурія).

У молекулі альбуміну міститься 600 амінокислот. Молекулярна маса 67 кДа. Альбуміни, як і більшість інших білків плазми крові, синтезуються в печінці. Приблизно 40% альбумінів знаходиться в плазмі крові, решта – в

інтерстиціальній рідині і в лімфі. Визначаються їх високою гідрофільністю і високою концентрацією в плазмі крові.

Частка альбумінів – 40-50 г/л (52-65% загального білка).

Функції альбумінів:

1) підтримують онкотичний тиск плазми крові. Тому при зменшенні вмісту альбумінів в плазмі падає онкотичний тиск, і рідина виходить з кров'яного русла в тканини. Розвиваються "голодні" набряки. Альбуміни забезпечують близько 80% онкотичного тиску плазми. Саме альбуміни легко губляться з сечею при захворюваннях нирок. Тому вони відіграють велику роль у падінні онкотичного тиску при таких захворюваннях, що призводить до розвитку «ниркових» набряків;

2) беруть участь у транспорті вуглеводів, ліпідів, гормонів, пігментів, мінеральних речовин;

3) транспортують некон'югований білірубін;

4) транспортують багато ліків; рівні сироваткового альбуміну можуть вплинути на період напіврозпаду наркотиків;

5) запобігають фотодеградації фолієвої кислоти;

6) проявляють буферні властивості;

7) виконують резервну та будівельну (пластичну) функції. Альбуміни служать джерелом запасних амінокислот в органічних системах і формуються через протеолітичну деградацію відповідних білків.

2.2.2. Глобуліни

Глобуліни – це сімейство глобулярних білків, які мають більш високі молекулярні маси, ніж альбуміни і нерозчинні в чистій воді, але розчинні в розведених розчинах солей. Деякі глобуліни утворюються в печінці, в той час як інші виробляються імунною системою. Глобуліни, альбуміни і фібриноген і є основними білками крові.

За допомогою електрофорезу глобуліни можна розділити на чотири групи: α_1 , α_2 , β і γ . Збільшення глобулінної фракції зазвичай є результатом

збільшення імуноглобулінів, але може бути і збільшення концентрації інших білків в патологічних станах, які мають характерну електрофореограму. Недоїдання і вроджена імунна недостатність можуть призвести до зниження загальної кількості глобулінів внаслідок зниження їх синтезу. Нефротичний синдром може призвести до зниження концентрації глобулінів через втрату білка через нирки.

Глобуліни мають різну молекулярну масу. Найлегшими глобулінами є альфа-глобуліни, які зазвичай мають молекулярну масу близько 92 кДа, в той час як найважчим класом глобулінів є гамма-глобуліни, які зазвичай важать близько 120 кДа.

Концентрація глобулінів у сироватці крові людини становить 20-30 г/л.

α -Глобуліни

Виділяють дві фракції α_1 - (4,5 $\pm$ 0,2 г/л) та α_2 - глобуліни (5,6 $\pm$ 0,2 г/л).

α_1 -глобуліни

Функції α_1 -глобулінів:

1. Транспортна. Білки цієї групи функціонують як переносники ліпідів, інтегруючи їх у складні структури, відомі як ліпопротеїни. Одним з особливих білків у цій групі є тироксин-зв'язуючий білок, який спеціалізується на переносі тироксину (гормон щитовидної залози).

2. Участь у функціонуванні системи згортання крові і системи комплементу – у складі цієї фракції перебувають також деякі фактори згортання крові та компоненти системи комплементу.

3. Регуляторна функція. Деякі білки фракції α_1 - глобулінів яляються ендogenousними інгібіторами протеолітичних ферментів.

α_1 -глобуліни мають високу гідрофільність і низьку молекулярну масу – тому при патології нирок легко виводяться з сечею. Проте їх втрата не робить істотного впливу на онкотичний тиск крові, тому що їх вміст у плазмі крові невеликий. До складу фракції α_1 -глобулінів входять білки, простетичною групою яких є вуглеводи, переважно гексози і гексозиміни. До них належать

α_1 -антитрипсин, α_1 -кислий глікопротеїн, α -фетопропротеїн та інші. Найбільш висока в плазмі концентрація α_1 -антитрипсину.

α_1 -Антитрипсин (2-2,5 г/л) – це глікопротеїн (природний інгібітор протеїнази), молекулярною масою – 58-59 кДа. Головна його функція – пригнічення еластази – ферменту, що гідролізує еластин (один з основних білків сполучної тканини). α_1 -антитрипсин також є інгібітором протеаз: тромбіну, плазміну, трипсину, хімотрипсину і деяких ферментів системи згортання крові. Рівень даного білка вищий у випадках запалення та клітинної деградації, але знижується при серйозних патологіях печінки. Це зменшення – результат порушення синтезу α_1 -антитрипсину, і воно пов'язане з надмірним розщепленням еластину. Спадкові порушення синтезу α_1 -антитрипсину призводять до розвитку емфіземи легень у людей віком 20-40 років та неонатального гепатиту, наслідком якого може бути цироз печінки. Причиною емфіземи є відсутність механізмів інгібування еластази (також протеїнази), яка бере участь у деструктивних процесах у легенях.

α_1 -кислий глікопротеїн (орозомукоїд, AGP – α_1 -acid glycoprotein) – високомолекулярний білок, фізіологічна роль якого до кінця ще не встановлена, але існує точка зору про наявність у нього імуномодуляторних властивостей – AGP може зв'язуватися з ендогенними та екзогенними медіаторами запалення. Підвищення його концентрації спостерігається при запаленнях, злоякісних пухлинах, хронічному больовому синдромі. Зниження його рівня в організмі спостерігається в ранньому дитячому віці, а також при прийманні контрацептивів, генетичних дефектах.

α -фетопропротеїн (АФП, α -Fetoprotein) – глікопротеїн сироватки крові, який починає вироблятися на 5-му тижні розвитку плоду. За будовою АФП подібний до альбумінів і виконує аналогічну функцію в організмі плода. У дорослих людей цей білок визначається в крові у високих концентраціях у разі доброякісних або злоякісних проліферативних процесів у клітинах, в яких він виробляється в ембріональному періоді (гепатоцелюлярна карцинома).

α_1 -антихімотрипсин. Він пригнічує хімотрипсин і деякі протеїнази формених елементів крові.

α_2 -глобуліни

До α_2 -глобулінів належать високомолекулярні білки, а саме: гаптоглобін, α_2 -макроглобулін, церулоплазмін, С-реактивний білок, тироксин-зв'язуючий білок, транскобаламін (вітамін В₁₂-зв'язуючий глобулін), білірубін-зв'язуючий глобулін, транскортин (кортизолзв'язуючий глобулін).

Гаптоглобіни (Hr) – глікопротеїни, біологічною функцією яких є зв'язування вільного гемоглобіну, що вивільняється при внутрішньосудинному гемолізі. Таким чином, Hr перешкоджає втраті організмом гемоглобіну тому, що комплекс Hr-Hb не може пройти крізь ниркові клубочки. Крім того, встановлено, що комплекс Hr-Hb має високу пероксидазну активність та бере участь у функціонуванні антиоксидантної системи організму. Комплекси Hr-Hb руйнуються клітинами ретикуло-ендотеліальної системи (клітини системи мононуклеарних фагоцитів), після чого глобін розщеплюється до амінокислот, гем руйнується до білірубину та екскретується жовчю, а залізо залишається в організмі, і може бути реутілізовано.

Вміст цих білків становить приблизно 1/4 частину від усіх α_2 -глобулінів.

Цей білок синтезується в печінці і належить до білків гострої фази. Його кількість зростає і є наслідком стимуляції синтезу інтерлейкінами при всіх ексудативно-запальних процесах. Вміст Hr свідчить про стан сполучної тканини – кількість цього білка зростає при деструктивних змінах у тканині та знижується при терапії глюкокортикоїдами. Збільшення концентрації гаптоглобіну можливе при нефротичному синдромі, пухлинах, холестазі, колагенозах, лімфогранулематозі тощо. При гострих та хронічних проблемах з печінкою, а також при різних формах гемолізу та недостатній активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази спостерігається зменшення рівня даного білка.

α_2 -Макроглобулін (АМГ, α_2 -сіромукоїд) – білок α_2 -глобулінової фракції, універсальний сироватковий інгібітор протеїназ, вміст якого в крові найвищий, порівняно з іншими протеїназними інгібіторами, складаючи в середньому 2,5 г/л. α_2 -Макроглобулін є глікопротеїном з молекулярною масою 725 кД. Концентрація в плазмі крові – 1,5-3 г/л.

Це білок гострої фази, який синтезується в підшлунковій залозі, є інгібітором протеаз (як і антитрипсин, але з більш широким спектром активності). Він інактивує плазмін, а також знижує активність тромбіну. Він є ендогенним інгібітором протеїназ всіх класів, має антиоксидантні властивості, а також зв'язує гормон інсулін. Час напівжиття АМГ дуже малий – 5 хвилин. Це універсальний "чистильник" крові, комплекси "АМГ-фермент" здатні сорбувати на собі імунні пептиди, наприклад, інтерлейкіни, фактори росту, фактор некрозу пухлин, і виводити їх з кровотоку. У дітей вміст АМГ підвищується при нефротичному синдромі.

Визначення цього білка у крові не має самостійного значення. У сукупності з іншими маркерами, такими як С-реактивний білок та сіалові кислоти, цей показник може вказувати на присутність запалення, особливо в контексті ревматоїдного артриту та ревматизму. В той же час, зниження його концентрації може бути індикатором проблем з підшлунковою залозою або наявності інфаркту міокарда.

Церулоплазмін – головний мідьвмісний металопротеїн крові (містить 95% міді сироватки крові та 3% міді організму). Цей білок має 8 ділянок зв'язування міді. Він виконує декілька функцій. По-перше, церулоплазмін зв'язує і забезпечує транспорт міді у крові. По-друге, він має ферментативні властивості – є оксидазою аскорбінової кислоти, адреналіну, норадреналіну, ДОФА, серотоніну, інактивує активні форми кисню (антиоксидантна властивість). Також він може каталізувати окиснення Fe^{2+} до Fe^{3+} , саме тому його ще називають фероксидазою. Церулоплазмін належить до білків гострої фази. Зростання концентрації цього білка у крові спостерігається при гострих та хронічних інфекційних захворюваннях, цирозі, гепатиті, інфаркті міокарда,

лімфогранулематозі, деяких злоякісних пухлинах, у хворих на шизофренію. Недостатність церулоплазміну є результатом пригнічення його синтезу в печінці та спостерігається при хворобі Вільсона-Коновалова або тяжких ураженнях печінки. Дефіцит цього білка може бути також наслідком його втрати організмом (нефротичний синдром).

С-Реактивний білок (CRP) – це глікопротеїд, який отримав назву завдяки здатності вступати в реакцію преципітації з С-полісахаридом пневмококів (цей важливий механізм раннього захисту організму від інфекції). Цей білок належить до білків гострої фази, є чутливим індикатором ураження тканин при запаленні, некрозі, травмі. За хімічною природою є глікопротеїном.

CRP синтезується переважно у печінці. У сироватці крові здорової людини він міститься в дуже низькій концентрації, тому не виявляється звичайними методами. Концентрація С-реактивного білка може раптово зрости (навіть у сотні разів) при різноманітних запальних станах, інфекціях, ушкодженнях або у присутності пухлин, які супроводжуються запаленням та некрозом. Особливо, після інфаркту міокарда, його рівень у крові може збільшитися вже на другий день, тоді як при стенокардії такого явища не спостерігається. Цей білок також виявляють у гострій фазі ревматизму, колагенозах, ракових захворюваннях та при інфекційних процесах. Якщо хвороба переходить у хронічний стан, рівень С-реактивного білка може знизитися майже до нуля, але знову підвищується під час рецидиву.

Відносно нова можливість використання визначення CRP у крові – це оцінка ризику розвитку атеросклерозу та його ускладнень. За допомогою високочутливих методів діагностики можна визначити навіть мінімальні зміни концентрації білка, менше ніж 10 мг/л. Спад рівня α -глобулінів зазвичай вказує на серйозні дистрофічні зміни в печінці, такі як цирози або мієломи.

Зниження концентрації α -глобулінів спостерігається при тяжких дистрофічних процесах у печінці, цирозах, мієломі. Підвищення вмісту α_1 - та α_2 -глобулінів у крові спостерігається при усіх гострих запальних процесах. Підвищення рівня α_2 -глобулінів може вказувати на активізацію хронічного

захворювання. Така динаміка часто зустрічається в перших годинах після інфаркту міокарда.

β-Глобуліни

До β-глобулінів належать важливі білкові переносники ліпідів і полісахаридів. Важливе значення ліпопротеїнів полягає в тому, що вони утримують в розчині нерозчинні в воді жири та ліпоїди і забезпечують таким чином їх перенесення кров'ю. β-глобуліни відіграють ключову роль у перенесенні фосфоліпідів, холестерину, стероїдних гормонів та катіонів металів в організмі. Біля 75 % усіх жирів і ліпоїдів плазми входять до складу ліпопротеїнів. Незначна кількість ліпопротеїнів входить до α₁-фракції глобулінів. Ця фракція включає в себе такі компоненти, як трансферин, гемопексин, β₂-мікроглобулін, а також ліпопротеїди низької щільності та елементи системи комплементу, зокрема C3.

Трансферин (Tf) – це глікопротеїн плазми, який синтезується в печінці і є основним транспортером іонів заліза (кожна молекула трансферину містить два атоми тривалентного заліза). Синтез Tf в печінці залежить від функціонального стану органу, потреб та резервів заліза в організмі. У нормі приблизно 30% цього білка зв'язано із залізом; кожна молекула білка містить 2 атоми металу. 1 г трансферину зв'язує 1,25 мг заліза. Трансферин має велику спорідненість до заліза, тому теоретично в 1 літрі крові міститься лише 1 атом вільного заліза. Вміст Tf у жінок на 10% вищий ніж у чоловіків. Концентрація його знижується у людей похилого віку. При недостатній кількості заліза або під час прийому естрогенів може відбутися зростання концентрації трансферину в крові. Хоча цей білок є частиною гострої фази відповіді організму, його рівень зазвичай знижується під час активного запального процесу. Для прикладу, синтез трансферину (Tf) може бути пригнічений інтерлейкінами в умовах лихоманки. Зниження вмісту трансферину супроводжує такі захворювання, як хронічні запальні процеси, цироз,

злаякісні новоутворення, приймання андрогенів та кортикостероїдів, гемохроматоз, мієлома тощо.

Гемопексин (Р-глобулін) – білок, який зв'язує вільний гем гемопротейнів (гемоглобіну, міоглобіну, каталази) та транспортує його в клітини РЕС печінки для реутилізації. Це перешкоджає виведенню гему нирками і втраті заліза із сечею.

У клініко-лабораторній діагностиці гемопексин вважають кращим показником гемолізу ніж гаптоглобін, тому що цей білок не належить до білків гострої фази. Концентрація гемопексину знижується при гемолізі, хворобах печінки та нирок; підвищується – при запаленні.

β_2 -Мікроглобулін (β_2 -МГ) – низькомолекулярний білок поверхневих антигенів клітинних ядер. Це компонент білків першого класу головного комплексу гістосумісності. β_2 -МГ має антиоксидантні властивості. Цей білок має концентрацію в крові приблизно 2,4 мг/л, а його вміст у сечі досягає приблизно 130 мкг/л. Збільшення його рівня часто відзначається в ситуаціях, таких як онкологічні хвороби, ревматоїдний артрит, серцеві інфаркти, опіки, аутоімунні стани та імунодефіцитні умови, такі як СНІД. Також підвищення концентрації цього білка може бути пов'язане з трансплантацією органів. У сечі концентрація β_2 -МГ підвищується при діабетичній нефропатії, інтоксикації важкими металами (наприклад, кадмієм).

γ -Глобуліни

Ця фракція містить основну масу антитіл (імуноглобулінів), що забезпечують гуморальну захисну реакцію організму, а також аглютиніни крові (α і β) та кріоглобуліни. Глобуліни, що відповідають за різні функції в організмі, формуються у таких органах як печінка, кістковий мозок, лімфатичні вузли та селезінка. Одна з їх основних підгруп - імуноглобуліни, відомі також як антитіла. Ці спеціалізовані білки з'являються в організмі, коли він стикається з чужорідними агентами, такими як віруси або бактерії.

Ці антитіла виробляються як реакція на внутрішні сигнали про присутність антигенів. Їх основними «виробниками» є В-лімфоцити. В-лімфоцити, які активно синтезують імуноглобуліни (здебільшого у лімфатичних вузлах та селезінці) називають плазматичними клітинами. Це дозволяє організму швидко та ефективно реагувати на зовнішні загрози. Виділяють 5 класів імуноглобулінів – IgA, IgG, IgM, IgD, IgE.

Молекули імуноглобулінів мають єдиний план будови (рис. 18). Структурну одиницю імуноглобуліну (мономер) утворюють чотири поліпептидні ланцюги, з'єднані між собою дисульфідними зв'язками: два важкі (ланцюга H) і два легкі (ланцюги L) (рис. 19). N-кінцеві ділянки як L-, так і H-ланцюгів називаються варіабельною ділянкою (V). Саме варіабельна ділянка імуноглобулінів відповідає за специфічне зв'язування з антигеном. С-кінцеві домени H- та L-ланцюгів мають відносно постійну первинну структуру в межах кожного класу антитіл і називаються константною областю або ділянкою (C). Характеристики різних класів імуноглобулінів в значній мірі залежать від їх константної області. Ця частина молекули відіграє ключову роль у тому, як і де ці білки будуть функціонувати в організмі. Наприклад, саме завдяки константній області можливий розподіл антитіл по тканинах та органах. Більше того, константна область може активізувати ряд біологічних механізмів, призначених для нейтралізації антигенів. Це може включати в себе запуск процесів, які призводять до руйнування чи усунення зовнішніх агентів. Таким чином, константна область не просто допомагає визначити клас імуноглобуліну, але і активно бере участь у забезпеченні імунної відповіді організму.

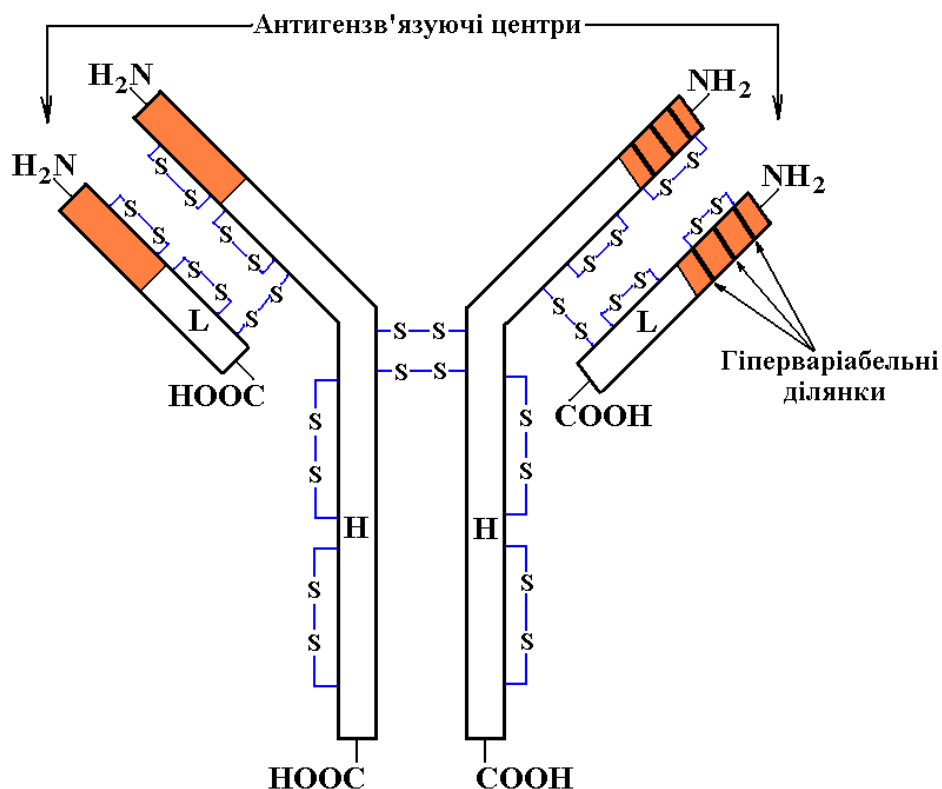


Рис. 18. Схема будови імуноглобулінів (оранжевим кольором показані варіабельні ділянки, незафарбовані – константні ділянки).

IgG, IgD і IgE за своєю структурою, як правило, є мономерами, молекули IgM побудовані з п'яти мономерів, IgA складаються з двох і більше структурних одиниць, або є мономерами (рис. 13).

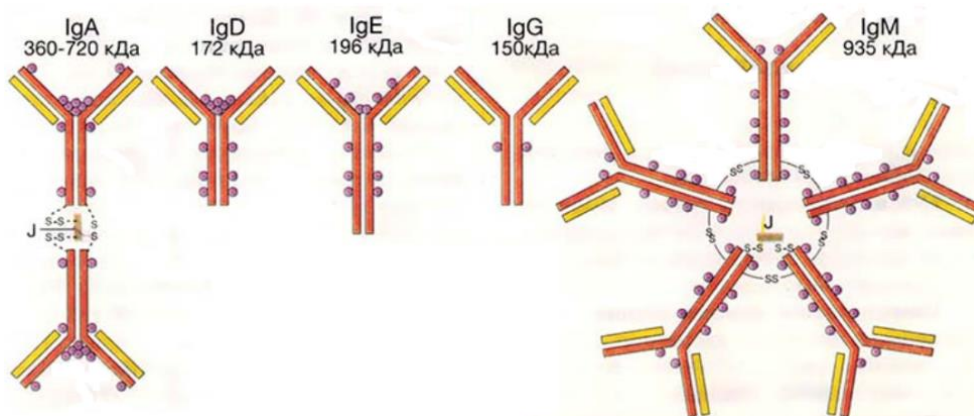


Рис. 19. Класи імуноглобулінів (взято і модифіковано із сайту ppt-online.org)

Імуноглобуліни різних класів відрізняються за біологічними властивостями, а саме: за здатністю до зв'язування з антигеном.

Функції імуноглобулінів:

IgG (59-75 мкмоль/л) – основні антитіла вторинного імунітету. Вони становлять 80% усіх імуноглобулінів сироватки крові. Основні імуноглобуліни сироватки крові, такі як IgG та IgA, виконують життєво важливі функції у захисті організму. IgG є унікальними в тому сенсі, що вони можуть перетинати плацентарний бар'єр, надаючи таким чином пасивний імунітет немовлятам ще до народження. Ці антитіла діляться на чотири підкласи, кожен з яких має свої відмінності на рівні структури важких ланцюгів.

IgA, з іншого боку, є домінуючими антитілами в секретах, таких як слина, бронхіальна слиз, сльози, а також жіноче молоко. Ці антитіла забезпечують першу лінію захисту на мукозних поверхнях, що є ключовими місцями входу для багатьох патогенів. Концентрація IgA в крові зазвичай коливається від 19 до 25 мкмоль/л і вони є основними агентами імунної системи в серозно-слизових секретах.

Таким чином, IgG та IgA не тільки забезпечують захист від широкого спектра інфекцій, але і спеціалізуються на різних аспектах імунної відповіді, від пасивного імунітету для немовлят до захисту мукозних оболонок від бактерій та вірусів.

IgM (0,8-1,2 мкмоль/л) – основні антитіла первинного імунітету. Це потужний активатор системи комплементу. Імуноглобуліни відіграють різні ролі в імунній системі та мають різну спеціалізацію. Наприклад, антитіла Вассермана, ревматоїдний фактор, холодові аглютини та ізогемаглютини є основними імуноглобулінами, які синтезуються як у плода, так і при імунізації дорослих. Ці антитіла відзначаються тим, що вони одні з перших реагують на присутність антигенів в організмі.

IgD, з іншого боку, є присутніми на поверхні В-лімфоцитів і відіграють ключову роль у розпізнаванні антигенів, допомагаючи імунній системі «знайти» чужорідні елементи.

Що стосується IgE, вони зазвичай знаходяться на мастоцитах та базофілах і можуть бути важливими у боротьбі проти паразитичних інфекцій, таких як гельмінти, а також в алергічних реакціях.

На електрофореограмі, різні імуноглобуліни мають свої характерні зони переміщення. Зокрема, більшість імуноглобулінів рухається в зоні γ -глобулінів, в той час як IgA та IgM відносяться до фракцій β - та α_2 -глобулінів.

Така різноманітність функцій та локалізацій імуноглобулінів свідчить про велику адаптивну здатність імунної системи, що дозволяє їй ефективно реагувати на широкий спектр загроз.

Кількість γ -глобулінів у плазмі крові залежить від морфологічної зрілості та функціональної повноцінності імунореактивної тканини. У новонароджених дітей рівень γ -глобулінів спочатку відповідає рівню, який є у їх матерів. Це забезпечує тимчасовий, але важливий захист на початкових етапах життя. Основний компонент цих γ -глобулінів у новонароджених – це імуноглобуліни класу IgG, передані від матері через плаценту. Проте, ця «запозичена» імунітетна захистова система не є довгостроковою. Після народження рівень материнських IgG у крові дитини поступово знижується. Від приблизно 4 місяців життя організм дитини починає активний синтез своїх власних імуноглобулінів IgG, які вже будуть адаптовані до індивідуальних умов та потреб. Цей процес підкреслює важливість перших місяців життя у формуванні імунної системи, а також роль материнських антитіл у забезпеченні тимчасового захисту на початкових етапах розвитку.

Відомі захворювання, при яких порушена продукція певних класів Ig. Зміни в рівні Ig часто пов'язані з аномаліями у процесах синтезу або виділенні цих молекул в організмі. Це підкреслює їх важливість у регулюванні імунної відповіді.

Щодо кріоглобулінів, ці білкові структури особливі тим, що вони можуть втрачати розчинність і осідати при зниженні температури сироватки. Ця властивість робить їх інтересними для дослідження і може бути вказівником

певних станів організму. У здорових людей їх у сироватці немає. Вони з'являються у хворих з ревматичним артритом, мієломною хворобою.

Серед кріоглобулінів існує білок *фібронектин*. Це високомолекулярний глікопротеїн (молекулярна маса 220 кДа). Він присутній в плазмі крові і на поверхні багатьох клітин (макрофагів, ендотеліальних клітин, тромбоцитів, фібробластів). Функції фібронектину:

1. Забезпечує взаємодію клітин один з одним;
2. Сприяє адгезії тромбоцитів;
3. Запобігає метастазування пухлин.

Плазмовий фібронектин є опсоніном – підсилює фагоцитоз. Відіграє важливу роль в очищенні крові від продуктів розпаду білків, наприклад, розпаду колагену. Вступаючи в зв'язок з гепарином, бере участь у регуляції процесів згортання крові. В даний час цей білок широко вивчається і використовується для діагностики особливо при станах, що супроводжуються пригніченням системи макрофагів (сепсис тощо).

2.2.3. Ліпопротеїни

Ліпопротеїни представляють собою комплексні молекули, що відіграють ключову роль у транспорті ліпідів в крові. Ці структури складаються з гідрофобного ядра, яке включає триацилгліцероли та холестерольні ефіри, обгорнутого амфіфільною оболонкою (рис. 20). Оболонка складається з фосфоліпідів, вільного холестеролу та апопротеїнів, що є білковими компонентами.

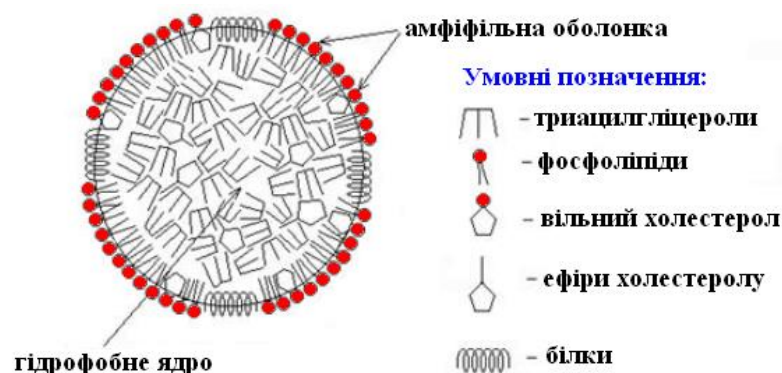


Рис. 20. Схема будови ліпопротеїну плазми крові

В плазмі крові людини можна виявити декілька основних типів ліпопротеїнів:

Ліпопротеїни високої щільності (α -ліпопротеїни) – це пріоритетно «добрі» ліпопротеїни, що переносять холестерол від периферійних тканин до печінки для подальшої його утилізації. Вони багаті на білки та фосфоліпіди.

Ліпопротеїни низької щільності (β -ліпопротеїни) – ці молекули відомі як «погані» ліпопротеїни і є основними носіями холестеролу від печінки до периферичних тканин.

Ліпопротеїни дуже низької щільності (пре- β -ліпопротеїни) - їх основна функція полягає у транспортуванні ендогенних триацилгліцеролів. Ці ліпопротеїни служать попередниками β -ліпопротеїнів.

Хіломікрони – це електрофоретично нерухомі ліпопротеїни, які транспортують харчові ліпіди. Вони не можуть бути виявлені в крові, зданої на голодний шлунок.

Кожен з цих типів ліпопротеїнів має унікальну роль в метаболізмі ліпідів і взаємодії з різними клітинами та тканинами організму.

2.2.4. Деякі «індикаторні» білки крові

До цих білків можна віднести тропонін Т та міоглобін, які виявляються в сироватці крові при інфаркті міокарда.

Тропонін Т належить до скорочувальних білків м'язів. Незалежно від інтенсивних фізичних зусиль рівень тропоніну Т в крові залишається стабільним, що робить його надійним кардіоспецифічним індикатором. Його концентрація в крові починає збільшуватися приблизно через 3-4 години після початку симптомів інфаркту міокарда. Максимальне зростання концентрації – через 3-4 доби. Специфічність методів визначення концентрації тропоніну Т – 90-100%, що значно вище, ніж визначення інших маркерів, таких, як креатинфосфокіназа (КФК), лактатдегідрогеназа (ЛДГ), міоглобін. Після виникнення інфаркту міокарда рівень тропоніну Т у крові піднімається набагато більше, ніж активність таких ферментів, як креатинфосфокіназа (КФК) та лактатдегідрогеназа (ЛДГ). Це робить тропонін Т особливо цінним маркером для діагностики серцевих захворювань. Цікаво, що концентрація тропоніну Т також може підвищуватися в умовах гострої алкогольної інтоксикації, але в хронічних випадках цей показник не змінюється.

Визначення концентрації *міоглобіну* має значення не лише для встановлення діагнозу інфаркту міокарда, а й з прогностичною метою. Максимальне значення концентрації цього білка виявляють через 4-6 годин після початку захворювання. Встановлено, що висока концентрація міоглобіну в перші години після початку розвитку інфаркту міокарда свідчить про поганий прогноз.

Інтерферони – це глікопротеїни, молекулярною масою близько 26 кДа, які володіють видовою специфічністю і виробляються в клітинах у відповідь на проникнення в них вірусів. Інтерферони класифікуються на основі типу рецепторів, які вони активують, на три основні категорії: Тип I (включає IFN- α , IFN- β , IFN- ω), Тип II (IFN- γ) та Тип III (IFNLR1, IL10R2). У здоровому стані концентрація цих молекул в плазмі крові є досить низькою. Однак в ситуаціях вірусної інфекції рівень інтерферонів може суттєво підвищитися, служачи

таким чином показником імунної відповіді організму. Безпосередню противірусну дію мають тільки інтерферони типу I, два інші типи є імуномодуляторами.

2.2.5. Фібриноген

Фібриноген (фактор I) являє собою глікопротеїн, який допомагає у формуванні тромбів.

Фібриноген є гексамером, що містить два набори трьох різних ланцюгів (α , β , і γ), з'єднаних один з одним дисульфідними зв'язками. Мається на увазі, що N-кінцеві ділянки цих трьох ланцюгів містять залишки цистеїну, які беруть участь в процесі зшивання ланцюгів.

Молекула фібриногену є розчинною з молекулярною масою 340 кДа, яка перетворюється тромбіном в фібрин в процесі утворення згустку крові. Він має стрижень-подібну форму з розмірами $9 \times 47,5 \times 6$ нм, це показує негативний сумарний заряд при фізіологічному значенні рН. Молекула має форму глобули діаметром близько 22 нм. Фібриноген синтезується в печінці гепатоцитами. Концентрація фібриногену в плазмі крові становить 200-400 мг/дл (зазвичай вимірюється з використанням методу Клаусса). Сироватка є специфічною формою плазми крові, в якій відсутній фібриноген. Цей білок відіграє ключову роль у процесі згортання крові. При активації цього процесу фібриноген розщеплюється під впливом ферменту тромбіну, перетворюючись на мономер фібрину. Далі, за участю активованого XIII фактора згортання, мономер фібрину проходить полімеризацію. Це веде до утворення стабільних білих ниток полімеру фібрину, які осідають і служать основою для тромбу (рис. 21).

Наявність фібриногену в крові є критичною для нормального згортання. Його відсутність або аномалії в структурі можуть викликати кровоточивість. Цей білок є важливим показником в діагностиці різних станів, включаючи передопераційну підготовку, пренатальну оцінку, а також у випадках запальних та кардіоваскулярних захворювань.

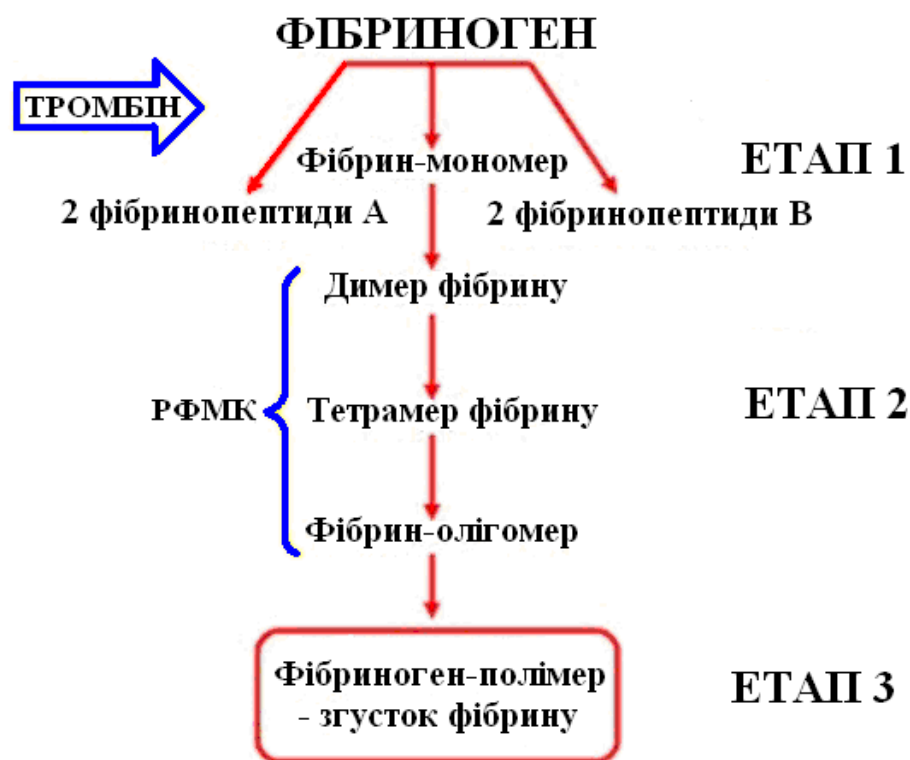


Рис. 21. Схема перетворення фібриногену у фібрин: *РФМК* – розчинні фібрин-мономерні комплекси

Концентрація фібриногену також може змінюватися в залежності від фізіологічного стану. Наприклад, під час вагітності рівень фібриногену зазвичай підвищується, досягаючи до 6 г/л у третьому триместрі. Це може бути пов'язано з підготовкою організму до пологів.

Аналіз рівня фібриногену є частиною коагулограми – комплексного тесту, що оцінює систему згортання крові. Крім того, високий рівень фібриногену може вказувати на гострі запальні процеси або некроз тканин. Цей білок також впливає на швидкість осідання еритроцитів, яка є іншим показником запального стану. Нормативні значення фібриногену можуть коливатися: для дорослих це 2-4 г/л, для новонароджених – 1,25-3 г/л. В інших випадках підвищений фібриноген у крові людини – симптом наступних захворювань: гострі запальні та інфекційні захворювання (грип, туберкульоз), інсульт, інфаркт міокарда, гіпотиреозамілоїдоз, пневмонія, злоякісні пухлини (рак легень тощо). Підвищення фібриногену супроводжує опіки, операційні втручання, прийом естрогенів і оральних контрацептивів.

Нормальний рівень фібриногену знижується при таких захворюваннях, як: захворювання печінки (гепатит, цироз), токсикоз вагітності, нестача вітаміну С і В₁₂-емболія навколоплідними водами (у новонароджених), хронічний мієлолейкоз, поліцитемія. Рівень фібриногену знижується також при отруєннях зміною отрутою, при прийомі анаболічних гормонів, андрогенів і риб'ячого жиру.

Вроджена фібриноген недостатність (афібриногенемія) може привести або до кровотечі або до тромбоемболічних ускладнень. У пацієнтів з дефіцитом фібриногену, корекція кровотечі можлива шляхом інфузії свіжозамороженої плазми (СЗП), кріопреципітату (плазми, збагаченої фібриногеном) або за допомогою концентратів фібриногену. Існує все більше доказів того, що корекція дефіциту фібриногену або розладів полімеризації фібриногену є дуже важливим у пацієнтів з кровотечею. Низькі рівні фібриногену також можуть вказувати на системні активації системи згортання крові, з споживанням факторів згортання крові швидшим, ніж синтез. Цей стан відомий як дисемінованого внутрішньосудинне згортання крові або «ДВС-синдром».

Етаноловий осад фібриногену з плазми крові має широке застосування в медичній практиці для контролю кровотеч. Особливо цінний він виходить в хірургічних втручаннях, а також в акушерській та гінекологічній областях. Цей вид фібриногену також активно використовується для лікування гемофілії та інших станів, які супроводжуються зниженою концентрацією цього важливого для згортання крові білка. Завдяки йому можна ефективно управляти ризиком кровотеч при різних медичних процедурах і станах. Випускаються препарати фібриногену для лабораторних досліджень. Фібриноген, отримуваний з крові людини, використовують для клінічних цілей.

ГЛАВА 3. ФРАКЦІОНУВАННЯ БІЛКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ. ГІПО-, ГІПЕР-, ДИСПРОТЕЇНЕМІЇ. ПАРАПРОТЕЇНЕМІЇ

3.1. Фракціонування білків сироватки крові

Метод електрофорезу, винайдений А. Тиселіусом та відзначений Нобелівською премією в 1948 році, є ключовим для вивчення білків сироватки крові та ідентифікації парaproteїнів. У сучасній медичній діагностиці результати електрофорезу оцінюють на візуальному рівні, порівнюючи їх із нормативними електрофореграмами. Кількісний аналіз застосовується для деталізації результатів та моніторингу динаміки показників.

Техніка включає в себе використання різних носіїв для електрофорезу, включаючи хроматографічний папір, ацетатцелюлозні мембрани та спеціалізовані гелі. Сучасні прилади для електрофорезу часто комплектуються високоточними сканерами та мініатюрними фотокамерами для збільшення точності досліджень.

Основа методу полягає в розміщенні молекул білків у постійному електричному полі. Залежно від заряду і молекулярної маси, білки рухаються на різні відстані, формуючи характерні смужки на носії. Важливою є регуляція рН та іонної сили буферного розчину, що впливає на напрямок руху білкових молекул.

По завершенні процесу смужки на носії висушують і забарвлюють, часто використовуючи бромфеноловий синій, для подальшого аналізу і порівняння зі стандартними електрофореграмами.

Таким чином, отримують смужки, які мають назву електрофореграми, або протеїнограми. Інтенсивність забарвлення відповідає концентрації окремих фракцій та визначається за допомогою фотометра або денситометра.

Результати фіксують у відносних одиницях (%) або абсолютних значеннях концентрації (г/л). Для отримання достовірних значень та зменшень вірогідності похибок визначення концентрації проводять у г/л. Для цього

відсотковий вміст окремих фракцій перемножують на значення концентрації загального білка у сироватці крові.

Як правило, для фракціонування білків крові використовують сироватку, оскільки фібриноген плазми дає смужку в зоні β_2 -глобулінів, що ускладнює ідентифікацію деяких білків крові, а також може внести похибку при визначенні парапротеїнів.

За допомогою найпростішого методу електрофорезу на папері в сироватці крові здорової людини виявляють 5 фракцій, а саме: альбуміни, глобуліни (α_1 , α_2 , β та γ) (рис. 22).

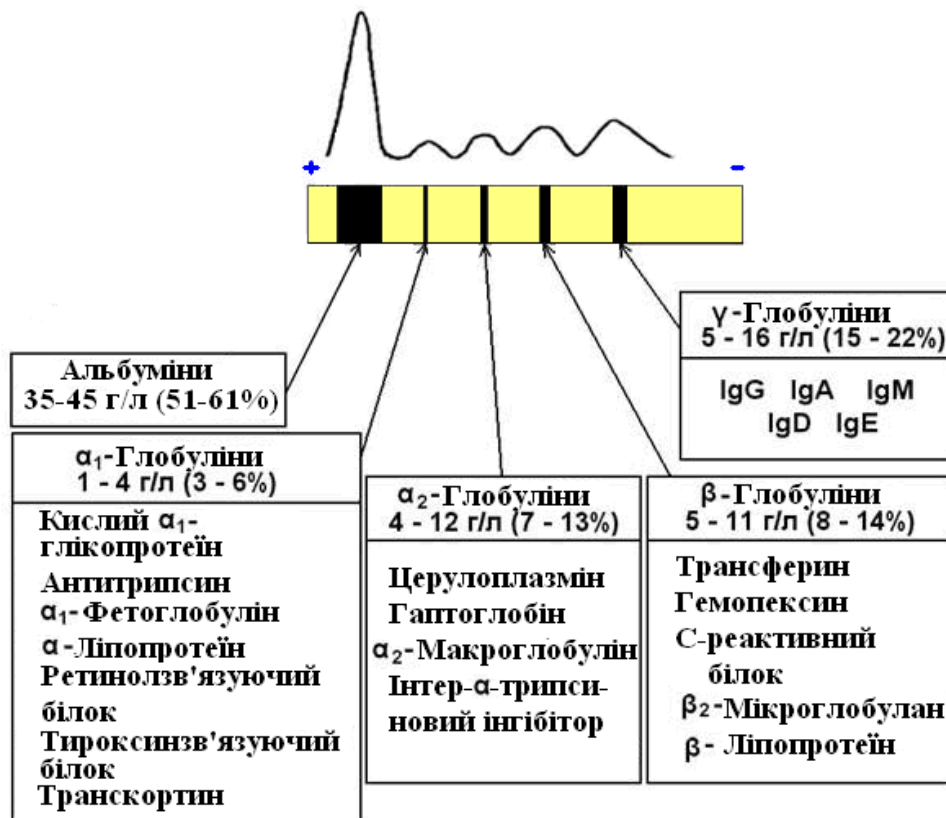


Рис. 22. Денситограма та протеїнограма білків плазми крові в нормі

На рис. 22 та таблиці 2 наведені електрофореграми (протеїнограми) білків сироватки крові здорової людини та при деяких патологічних станах, яку отримують за допомогою електрофорезу на папері (5 фракцій).

Таблиця 2. Типові протеїнограми, які отримують за допомогою електрофорезу на папері

Тип	Захворювання	Альбумін	Глобуліни			
			α_1	α_2	β	γ
1	Гострі запальні процеси	↓	↑	↑	→	→
2	Хронічні запалення	↓п	↑п	↑	→	↑
3	Нефротичний синдром	↓	→	↑	↑	↓п
4	Злоякісні новоутворення	↓	↑	↑	↑	↑
5	Гепатити	↓п	→	→	↑п	↑
6	Цирози печінки	↓	→	↓	↑	↑
7	Обтураційна жовтяниця	↓п	→	↑п	↑п	↑п
8	β -глобулінові плазмоцитомии	↓	↓	↓	↑	↓
9	γ – глобулінові плазмоцитомии	↓	↓	↓	↓	↑
10	α_2 – глобулінові плазмоцитомии	↓	↓	↑	↓	↓
↓ – зниження; ↓п – помірне зниження; ↑ – підвищення; ↑п – помірне підвищення; → – без змін						

1-й тип протеїнограми характерний для *гострих запальних процесів* (а також сепсису, початкової стадії пневмонії, інфаркту міокарда, туберкульозу легень). При цьому спостерігається підсилення синтезу білків гострої фази, і саме тому зростає концентрація α_1 - та α_2 -глобулінів. Крім того, знижується синтез альбумінів, але концентрація загального білка у крові не змінюється;

2-й тип протеїнограми є характерною ознакою *хронічних запалень* (холецистит, цистит, пізня стадія пневмонії, хронічні форми туберкульозу легень). Ці захворювання супроводжуються зменшенням співвідношення альбуміни/(α_2 - + γ -глобуліни) нижче 2,2, що пояснюється підвищенням синтезу α_2 - та γ -глобуліну;

3-й тип протеїнограми властивий для *синдрому порушення функції ниркового фільтра*, токсикозу вагітних, який зумовлений ліпоїдозом або

амілоїдозом нирок, та деяких інших захворювань. При цьому типі спостерігаються значне зменшення концентрації альбумінів, збільшення концентрації α_2 -глобулінів та β -глобулінів (за рахунок зростання концентрації α_2 -мікроглобуліну або пре- β -ліпопротеїнів);

4-й тип протеїнограми спостерігається при *метастатичних новоутвореннях* з різною локалізацією первинної пухлини. Цей тип характеризується зниженням синтезу альбумінів у печінці та підсиленням утворення білків усіх глобулінових фракцій;

5-й тип протеїнограми є характерним для *гепатитів, токсичного ураження печінки, лейкемії, злоякісних новоутворень лімфатичної системи, дерматозів*. Спостерігаються помірно зниження концентрації альбумінів та збільшення рівня γ -глобулінів (у меншому ступені β -глобулінів);

6-й тип протеїнограми спостерігається при *цирозі печінки, тяжких формах туберкульозу легень, колагенозах, хронічному поліартриті*. Характеризується суттєвим зниженням вмісту альбумінів та α_2 -глобулінів, а також значним збільшенням γ -глобулінової фракції;

7-й тип протеїнограми властивий *обтураційній жовтяниці, злоякісному новоутворенню голівки підшлункової залози, яке супроводжується синдромом холестазу; спостерігається зменшення концентрації альбумінів та зростання вмісту α_2 -, β - та γ -глобулінів;*

8-й тип протеїнограми є характерним для *β -глобулінових плазмоцидом*; супроводжується зниженням вмісту альбумінів та глобулінів;

9-й тип протеїнограми спостерігається при *γ -глобулінових плазмоцитомах*; супроводжується зменшенням концентрації альбумінів та всіх глобулінових фракцій, за винятком γ -глобулінів, вміст яких у крові зростає;

10-й тип протеїнограми властивий для *α_2 -глобулінових плазмоцитом*; спостерігається зростання концентрації виключно α_2 -глобулінів на фоні зменшення вмісту білків усіх інших фракцій.

При використанні агарозного гелю спостерігають 6 фракцій, а саме:

Альбумінова: альбуміни;

α_1 -зона: α_1 -антитрипсин, орозомукоїд, α_1 -антихімотрипсин;

α_2 -зона: гаптоглобін, церулоплазмін, α_2 -макроглобулін, α -ліпопротеїни;

β_1 -зона: трансфери-гемопексин;

β_2 -зона: β -ліпопротеїн, C_3 -компонент комплементу;

γ -зона: IgG, IGA, Ig M, IgD, IgE.

При електрофорезі в поліакриламідному гелі спостерігають до 17 білкових фракцій. Ще більшу кількість можна отримати за допомогою імуноелектрофорезу, який є найбільш інформативним для виявлення мінімальних концентрацій аномальних імуноглобулінів (парапротеїнів), наприклад, при мієломі або хворобі Вальденстрема.

Рухомість деяких білків може змінюватись (особливо альбумінів) при їх зв'язуванні з лікарськими препаратами або іншими лігандами (наприклад, білірубін). Це призводить до формування додаткових смуг на електрофореграмі.

Протеїнограми розглядають як додатковий діагностичний тест, тому що їх значення для діагностики та контролю лікування досить суперечливе.

3.2. Гіпо-, гіпер-, диспротеїнемії. Парапротеїнемії

Гіпопротеїнемія виникає внаслідок зниження концентрації альбумінів і може бути:

- набутою – при голодуванні, захворюваннях печінки, порушенні всмоктування білків;
- спадковою.

Крім того гіпопротеїнемії поділяють на:

- абсолютні (недостатність надходження білків в організм з їжею; порушення синтезу білків у печінці; втрати білка організмом при хронічних захворюваннях нирок; дефектопротеїнемії, яка виникає як результат спадкового порушення синтезу білків крові);

- відносні (збільшення об'єму рідкої частини крові при анурії, порушенні регуляції водно-сольового обміну, метаболічному ацидозі тощо).

До гіпопротеїнемії може привести також вихід білків з судинного русла (крововтрата, плазмовтрата, ексудація, транссудація) і втрата білків з сечею (протеїнурія).

Гіперпротеїнемія – це збільшення загальної кількості білків плазми крові. Також буває абсолютною (пов'язана з підвищенням γ -глобулінів у результаті токсичного або інфекційного процесу) та відотною (при опіках, генералізованому перитоніті, холері, нецукровому діабеті, хронічному нефриті в стадії поліурії, респіраторному ацидозі тощо). Абсолютна гіперпротеїнемія зазвичай пов'язана з гіперглобулінемією, як правило, зі збільшенням рівня гамма-глобулінів (як компенсаторна реакція при пониженому вмісті альбумінів в крові, посилення синтезу антитіл).

Диспротеїнемії – це зміни співвідношення окремих білкових фракцій при нормальному вмісті загального білка та носять як набутий, так і спадковий характер.

Умовно вони діляться на:

- дисглобулінемія;
- дисгаммаглобулінемія;
- дисімуноглобулінемія.

Прикладом диспротеїнемій, які найчастіше зустрічаються, є диспротеїнемія зі збільшеним вмістом альфа-2-глобулінів, а також диспротеїнемія, пов'язана із сульфатуванням глікозамінів, яка виникає при всіх патологічних станах, що ведуть до полімеризації протеогліканів сполучної тканини (гострі запальні процеси, дифузні захворювання сполучної тканини, аутосомні захворювання). При порушенні функції печінки знижується кількість синтезованих в ній альфа - і бета-ліпопротеїдів.

Наявність паталогічних гамма-глобулінів PIg в плазмі крові, які секретуються пухлинними клітинами системи В-лімфоцитів та в нормі не виявляються, називається **парапротеїнеміями**. Збільшення їх кількості в

крові називається моноклональними гіпергаммаглобулінемією і спостерігаються зазвичай при проліферації відповідних клонів, найчастіше зумовленої пухлинною природою патологічного процесу (мієломна хвороба, макроглобулінемія Вальденстрема).

Різновидом парапротеїнемії є також кріоглобуліни – патологічні протеїни з особливостями імуноглобулінів, які преципітують при охолодженні.

Парапротеїни виявляють при мієломі (плазмоцитомі), макроглобулінемії Вальденстрема.

Зростання рівня парапротеїнів в крові призводить до значного збільшення вмісту загального білка, досягаючи показників до 200 г/л. Це також впливає на в'язкість крові, роблячи осадові проби позитивними.

ГЛАВА 4. БУФЕРНІ СИСТЕМИ КРОВІ

4.1. Загальні уявлення про буферні системи організму

Функціонування клітини в нормі залежить від об'єму, складу і рН рідин організму. Регуляторні механізми, які контролюють нормальний об'єм, осмотичну концентрацію, іонний склад і вміст H^+ в рідинах організму взаємопов'язані. Система, яка підтримує рН, є системою динамічної рівноваги: H^+ постійно з'являється у внутрішньоклітинному середовищі як метаболіт і виділяється з нього. Кислотність або основність крові залежить від концентрації H^+ . рН артеріальної крові – 7,35-7,45, венозної – на 0,02 одиниці нижча. З їжею поступає багато кислих і основних солей, вуглеводів, білків, жирів, електролітів і мікроелементів. Їх метаболізм тісно взаємопов'язаний і при цьому утворюються кислоти – вугільна, молочна, піровиноградна, ацетооцтова, β -оксимасляна, сірчана, хлористоводнева та ін. У крові людини існують спеціальні буферні системи, які сприяють підтримці сталості рН крові. Завдяки тому, що в крові присутні потужні буферні системи, рН крові – це найбільш стабільна константа внутрішнього середовища живих організмів.

У нормі величина рН в різних рідких середовищах організму неоднакова, але її коливання невеликі, рН внутрішньоклітинної, тканинної рідини і крові належить до жорстких гомеостатичних констант. У табл. 3 наведені значення рН різних середовищ організму.

Таблиця 3. Актуальна реакція рідин організму

Найменування рідин	рН
Артеріальна кров	7,36 – 7,42
Венозна кров	7,26 – 7,36
Цереброспінальна рідина	7,4 – 7,5
Міжклітинна рідина тканин	7,26 – 7,38
Тканинна рідина м'язів	6,7 – 6,9
Підшлунковий сік	7,8 – 8,4
Жовч печінкова	7,3 – 8,0
Жовч міхурна	6,0 – 7,0

Слюна	5,8 – 7,8
Шлунковий сік	1,4 – 1,8
Сік тонкої кишки	7,5 – 8,6
Сік товстої кишки	8,0 – 9,0

Як правило, буферна система – це суміші слабких кислот з солями цих кислот та сильних лугів, що нейтралізують, відповідно, луги та кислоти, які можуть накопичуватися в організмі під час обміну речовин, протидіючи тим самим відхиленням рН від фізіологічного рівня.

рН будь-якої буферної системи можна розрахувати за рівнянням:

$$pH = pK_{\text{кислоти}} + \lg \frac{[\text{сіль}]}{[\text{кислота}]}$$

Поглинання і вивільнення протонів з оточуючого середовища допомагає утримувати оптимальне значення рН біологічних рідин (наприклад, крові та тканин) при змінах вмісту кислот або основ. В буферних розчинах зазвичай присутні слабка кислота та її сіль, що утворена за участю сильної основи (це називається спряженою кислотно-основною парою). Ця комбінація забезпечує певний і стабільний рівень концентрації водневих іонів, який регулюється взаємодією між кислотою, сіллю та загальною іонною активністю розчину.

В крові діють різні буферні механізми, і для кожного з них характерна власна кислотно-основна пара (Вказана в дужках):

- *гемоглобінова* (відновлений Нб – калійна сіль Нб: HNb-KNbO_2);
- *гідрокарбонатна або бікарбонатна* (вугільна кислота – двовуглекислий натрій: $\text{H}_2\text{CO}_3 - \text{NaHCO}_3$);
- *фосфатна* (одноосновний – двоосновний фосфорнокислий натрій: $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$);
- *білкова*.

Кожна з них має певну буферну ємність та їх дія взаємозв'язана.

Найбільш потужною буферною системою крові є гемоглобінова. Її буферна ємність – 73-76%. Відповідно для бікарбонатної – 17-27%, білкової – 2-5%, фосфатної – 1-2%.

Головною фізико-хімічною системою регуляції плазми є бікарбонатна буферна система. Крім того, гемоглобінова, білкова та фосфатна буферні системи регулюють рН крові саме через стабілізацію цього буфера.

4.2. Гемоглобінова буферна система

Найбільшу буферну ємність крові забезпечує гемоглобінова буферна система. Константа дисоціації у гемоглобіну нижча, ніж рН крові, тому гемоглобін дисоціює як кислота. Оксигемоглобін є сильнішою кислотою, ніж відновлений гемоглобін. При дисоціації оксигемоглобіну в капілярах тканин з віддачею кисню з'являється більша кількість лужнореагуючих солей гемоглобіну, здатних зв'язувати H^+ іони, що надходять з кислот тканинної рідини, наприклад, вугільної кислоти. Оксигемоглобін зазвичай являє собою калієву сіль. При взаємодії кислот з калієвою сіллю оксигемоглобіну утворюється відповідна калієва сіль кислоти і вільний гемоглобін з властивостями дуже слабкої кислоти.

Гемоглобінові буферна система представлена декількома підсистемами – $HHb/HHbO_2$, KNb/HHb , $KNbO_2/HHbO_2$.

В еритроцитах периферичних тканин $KNbO_2$ віддає кисень, який дифундує в тканини, та іон K^+ . Після цього Hb приєднує H^+ , який вивільняється при дисоціації вугільної кислоти і перетворюється до HHb – більш слабкої кислоти. Іони калію з'єднуються з гідрокарбонатом, який утворився з CO_2 . Послідовність реакцій виглядає так:

- 1) $CO_2 + H_2O \leftrightarrow H_2CO_3$;
- 2) $H_2CO_3 \leftrightarrow H^+ + HCO_3^-$;
- 3) $HCO_3^- + K^+ \leftrightarrow KHSO_3$;
- 4) $KNb + H_2CO_3 \rightarrow KHSO_3 + HHb$.

В крові, що тече до легень через венозну систему, присутні еритроцити із регенованим гемоглобіном (HHb). В легенях цей гемоглобін перетворюється на оксигемоглобін ($HHbO_2$). Водночас, в легенях відбувається вивільнення великої кількості діоксиду вуглецю, через що концентрація

бікарбонатних аніонів (HCO_3^-) зростає, що може призвести до зміщення рН у лужну сторону. Однак цього не стається, оскільки бікарбонати активно переносяться в еритроцити та перетворюються на карбонат калію (KHCO_3).

Коли KHCO_3 реагує з оксигемоглобіном, утворюється комплекс KNbO_2 та вугільна кислота (H_2CO_3). Під впливом ензиму карбоангідрази, вугільна кислота розпадається на воду та діоксид вуглецю, який видаляється через легені.

Виділення CO_2 з організму запобігає зниженню рН крові.

Приєднання кисню до Нб у легенях, віддача кисню в тканинах, проникнення всередину еритроцитів CO_2 – це досить складний процес, у якому беруть участь аніони хлору, катіони калію та інші іони.

4.3. Бікарбонатна (гідрокарбонатна) буферна система

В системі регуляції рН крові ця система за своєю потужністю займає друге місце

Щодо вимірювання кислотності в бікарбонатній системі, це можна зробити використовуючи формулу Гендерсона-Хассельбаха:

$$\text{pH} = 6,1 + \lg \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]}$$

Вугільна кислота в плазмі і міжклітинній рідині присутня в чотирьох формах: фізично розчиненого вуглекислого газу (CO_2), вугільної кислоти (H_2CO_3), аніону карбонату (CO_3^{2-}) і аніону бікарбонату (HCO_3^-).

Між концентрацією в плазмі крові діоксиду вуглецю та бікарбонату натрію існує співвідношення:

$$\frac{[\text{CO}_2]}{[\text{NaHCO}_3]} = 1/18 - 1/20 ,$$

тобто концентрація бікарбонатів у плазмі крові є в 18-20 разів вищою за концентрацію вільного діоксиду вуглецю, що визначає певний лужний характер крові (рис. 23).

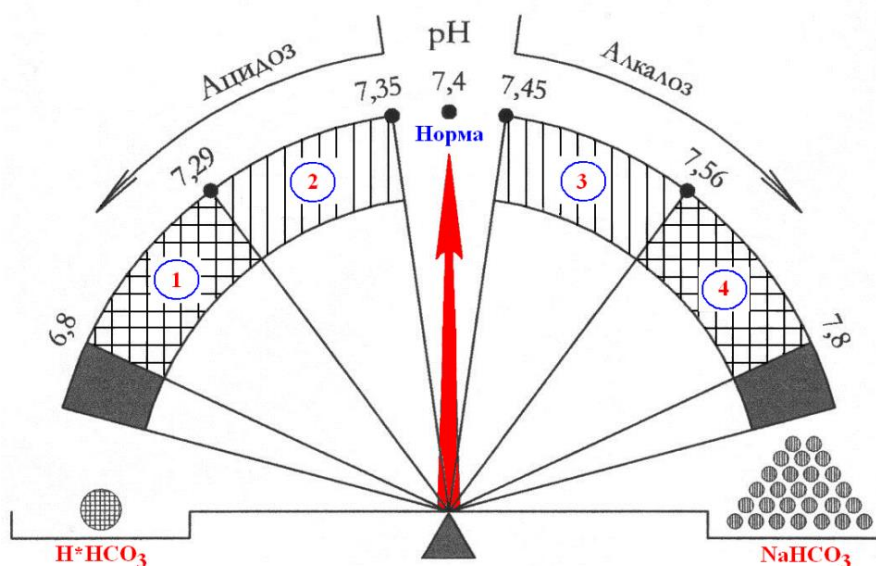


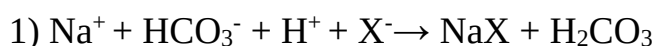
Рис. 23. Кислотно-лужний стан

- 1 – декомпенсований ацидоз;
- 2 – субкомпенсований ацидоз;
- 3 – субкомпенсований алкалоз;
- 4 – декомпенсований алкалоз.

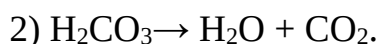
Бікарбонат представлений у вигляді натрієвих і калієвих солей. Бікарбонат натрію NaHCO_3 знаходиться переважно в плазмі, а калію KHCO_3 - в еритроцитах.

Ваги, що відображають співвідношення кислота/основа або дихальна/недихальна компоненти рівняння Гендерсона-Гассельбаха в нормі (1/20) і його зрушення, що ведуть до зміщення в бік алкалозу або ацидозу.

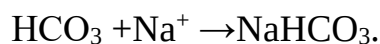
Якщо у кров надходить кислота, яка більш сильніша, ніж вугільна, в реакцію вступає бікарбонат. Утворюється нейтральна сіль та слабкодисоційована вугільна кислота. Під дією карбоангідрази розщеплюється вугільна кислота до H_2O та CO_2 :



(X – аніон кислоти);



У разі, якщо в кров надходить луг, в реакцію вступає вугільна кислота і утворюються гідрокарбонат і вода:



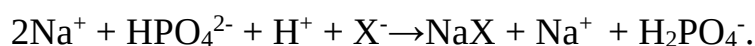
Надлишок бікарбонату виділяється нирками.

4.4. Фосфатна буферна система

Фосфатна буферна система складається з дигідрофосфату іонів фосфату (H_2PO_4^-) в якості водневого іона донора (кислоти) і гідрофосфату іонів (HPO_4^{2-}) в якості водневого іона акцептора. Ці два іона знаходяться в рівновазі один з одним.

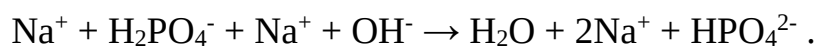
Ця буферна система може забезпечити значну частку буферної ємності крові, стримувати зміни рН в інтервалі 6,2-8,2. На жаль ємність цього буферу невелика у зв'язку з низьким вмістом фосфатів у крові.

При підвищенні вмісту кислот у крові відбувається така реакція:

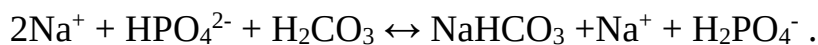


Надлишок гідрофосфату натрію виділяється із сечею.

При підвищенні кількості лугів процес, що відбувається, ілюструє така реакція:



Слід зауважити, що між неорганічними буферними системами існує динамічна рівновага. Так, наприклад, фосфатна буферна система може підвищувати резерви бікарбонатної за рахунок відновлення гідрокарбонату натрію:



У результаті ліквідується надлишок H_2CO_3 в плазмі та відновлюється постійне співвідношення концентрацій вугільної кислоти та бікарбонату натрію (1/20).

4.5. Білкова (протейнова) буферна система

Білки виконують буферну роль через їх амфотерність (наявність вільних $-\text{COOH}$ та $-\text{NH}_2$), а характер їх дисоціації залежить від природи білка і рН внутрішнього середовища. При цьому глобуліни мають більш виражену кислотну дисоціацію, тобто від'єднують більше протонів, ніж гідроксильних Іонів, і відповідно відіграють велику роль у нейтралізації лугів. Білки, що містять багато діамінокислот, дисоціюють більше як луги, і тому в більшій мірі нейтралізують кислоти. Буферна ємність білків плазми крові порівняно з бікарбонатною системою невелика, проте в тканинах її роль може бути дуже високою.

4.6. Ефективність буферних систем

Вище було зазначено, що нормальне значення такого показника, як рН крові, становить $7,4 \pm 0,04$ (7,36-7,44).

Різна відносна ефективність спостерігається у буферних системах плазми крові та еритроцитів. Так, ефективність буферних систем еритроцитів вища (за рахунок гемоглобінового буферу), ніж плазми крові (табл. 4).

Табл. 4. Відносна ефективність буферних систем крові

Плазма крові	%	Еритроцити	%
Бікарбонатний	35	Гемоглобіновий	35
Білковий	7	Бікарбонатний	18
Фосфатний	1	Фосфатний	4
Загальна:	43%	Загальна:	57%

Відомо, що зменшення концентрації H^+ -іонів у напрямку клітина $\rightarrow$ міжклітинне середовище $\rightarrow$ кров свідчить про те, що найбільшу буферну ємність має кров, а найменшу внутрішньоклітинне середовище. Утворені в клітинах при метаболізмі кислоти надходять в міжклітинну рідину тим легше, чим більше їх утворюється в клітинах, так як надлишок H^+ -іонів підвищує проникність клітинної мембрани. У буферних властивостях міжклітинного середовища відіграє роль сполучна тканина, особливо колагенові волокна,

відомі як «ацидофільні». Якщо спостерігатиметься мінімальне накопичення кислот, то вони реагуватимуть набуханням, поглинаючи дуже швидко кислоту. Ця здатність колагену пояснюється властивістю абсорбції.

Для характеристики регуляторних фізико-хімічних, фізіологічних та інших механізмів, які забезпечують сталість рН введений термін «*кислотно-основний стан*» організму (КОС). У процесі контролю оксидативного стану організму (КОС) беруть участь різноманітні органи та системи, включаючи легені, нирки, печінку та кишечник. Легені відіграють важливу роль у видаленні летких кислот, особливо вугільної кислоти. Нирки відповідають за видалення нелетких кислот, таких як кислі фосфати, та сполук лужного характеру, таких як гідрокарбонати, іони амонію та інші. Роль печінки у процесі підтримки сталості КОС організму полягає у тому, що в цьому органі відбуваються процеси повного катаболізму недоокиснених продуктів, що утворюються при метаболізмі. У паренхіму печінки за різних патологій надходять речовини, які здатні зменшувати величину рН. Участь ШКТ у регуляції КОС активно проявляється при втраті іонів водню, хлору, калію при блюванні та бікарбонатів – при діарейі.

Для характеристики КОС організму використовують мікрометод Аструпа, що базується на принципі Зигарда-Андерсена. В основу методу (згідно з рівнянням Гендерсона-Гессельбаха) покладена залежність між рН та $p\text{CO}_2$. Метод полягає у визначенні рН плазми крові до і після еквілібризації проби крові двома газовими сумішами, що містять 4% та 8% CO_2 . Дані, які отримують у ході експерименту, використовують для визначення $p\text{CO}_2$, SB (стандартний бікарбонат) та BE (base excess або надлишок основ) за стандартною нанограмою. Нанограма являє собою залежність між рН та $p\text{CO}_2$, тобто є графічним зображенням буферної лінії крові.

Оцінити значення КОС можна за трьома основними показниками рН, $p\text{CO}_2$ (парціальний тиск CO_2 у плазмі крові), BE (відображає кількість невикористаних буферів крові, головним чином бікарбонатного та

гемоглобінового) та SB (вміст іона бікарбонату в плазмі крові, яка повністю насичена киснем та приведена до стандартних умов).

Можуть також використовуватись для характеристики КОС такі показники:

BB (buffer base) – сума всіх аніонів нерозбавленої крові (фактично, SB + аніонний запас білкового буфера).

BD (base deficit) – різниця між фактичним та необхідним значенням BB при метаболічному ацидозі.

AB (актуальний бікарбонат крові) – концентрація гідрокарбонатів (HCO_3^-) при фізіологічних конкретних умовах.

Нормальними значеннями основних показників КОС організму є:

pH – 7,36-7,42 (артеріальна);

7,26-7,36 (венозна);

7,35-7,44 (капілярна);

pCO₂ – 35,1-45,1 мм Hg (артеріальна);

46-58 Hg (венозна);

BB – 42-52 ммоль/л;

BE та BD - $\pm 2,5$ ммоль/л;

SB - 20-26 ммоль/л;

AB – 21-26 ммоль/л.

Якщо регуляторні системи (у тому числі й буферні) не можуть підтримувати значення pH на постійному рівні, в крові накопичуватимуться або кислоти (*ацидоз*), або луги (*алкалоз*). При ацидозі в крові з'являється відносний або абсолютний надлишок кислот, при цьому спостерігається зниження pH крові ($\text{pH} < 7,37$). Алкалоз характеризується підвищенням вмісту лугів у крові і підвищенням pH ($\text{pH} > 7,43$).

Кожний з цих двох типів змін КОС поділяють на декілька видів залежно від причин порушення сталості pH. Можна виділити дихальний (респіраторний, газовий) та метаболічний (негазовий, недихальний, нереспіраторний) ацидоз/алкалоз.

Класифікація порушень КОС наступна:

Ацидоз:

1. Газовий

2. Негазовий:

а) метаболічний: кетоацидоз, лактоацидоз, ацидоз при накопиченні органічних та неорганічних кислот (при запаленнях, травмах);

б) видільний: затримка кислот (дифузний нефрит, уремія), втрата лугів (нирковий);

в) екзогенний: довготривале вживання кислої їжі, приймання ліків, отруєння кислотами;

г) комбіновані форми.

3. Мішаний (1+2): при асфіксії, серцево-судинній недостатності.

Алкалоз:

1. Газовий:

а) гіпервентиляція;

б) підсилене виділення CO_2 як наслідок інших причин.

2. Негазовий:

а) видільний: затримка лугів, втрата кислот, гіпохлоремічний (метаболічний);

б) екзогенний: довготривале вживання лужної їжі, введення ліків (бікарбонатів та інших лужних сполук).

3. Мішані форми (1 + 2).

Негазовий (метаболічний) ацидоз є найбільш поширеною формою порушення КОС.

Стани, які призводять до виникнення негазового ацидозу.

Підвищення введення іонів H^+ (екзогенний ацидоз) – введення може бути у вигляді кислот або деяких кислих солей (CaCl_2 , NH_4Cl).

Підвищення утворення H^+ (власне «метаболічний» ацидоз) – утворення великої кількості кислих продуктів метаболізму (кетонових тіл, лактату, інших органічних кислот). Кетоацидоз може розвиватися у пацієнтів, у яких є

цукровий діабет, тиреотоксикоз, або під час лікувального голодування та інших ситуаціях. Лактоацидоз може виникнути внаслідок тканинної гіпоксії при недостатній функції серцево-судинної системи, під час ефірної анестезії, в умовах шоку або при ускладнених пневмоніях та інших станах. Метаболічний ацидоз може приймати різні форми, такі як у випадку сепсису, опіків, гострої печінкової недостатності, рахіту у дітей та інших ситуаціях.

Зниження виділення іонів H^+ із сечею – це спостерігається при олігурії або анурії, нирковій недостатності (яка супроводжується накопиченням залишків сірчаної та фосфорної кислот), захворюванні нирок зі зниженою клубочковою фільтрацією.

Підвищення втрати бікарбонатів через кишечник (при діареї), із сечею (*видільний ацидоз*) – при тубулярному нефриті, під впливом інгібіторів карбоангідрази (діуретиків діакарбу, діамоксу), які порушують процеси «реабсорбції» бікарбонату.

Газовий ацидоз, також відомий як респіраторний ацидоз, виникає тоді, коли в організмі накопичується велика кількість вуглекислого газу. Це може статися через недостатнє видихання (гіповентиляція легень), набряки легень, або порушення механіки дихання та інші фактори.

Негазовий алкалоз, відомий також як метаболічний алкалоз, розвивається внаслідок різних обставин, таких як великі дози гідрокарбонату натрію (при корекції метаболічного ацидозу), втрата значної кількості кислот і хлоридів (у випадках багаторазового блювання), некоректна гормональна терапія, яка не враховує втрату калію (у випадках синдрому Іценко-Кушинга, Конна) та інших обставин.

Газовий (респіраторний) алкалоз – є результатом гіпервентиляції легень, виникає при гематологічних та серцево-судинних захворюваннях, стимуляції дихального центру при органічних ураженнях ЦНС, сепсисі, невротичній задусі, яка викликана стресом, біллю, сильним плачем у дітей тощо.

ГЛАВА 5. ФЕРМЕНТИ ПЛАЗМИ КРОВІ

5.1. Функціонування ферментних систем в плазмі крові

В основі багатьох патологічних і передпатологічних станів організму лежать порушення функціонування ферментних систем. Активність ферментів, що локалізуються всередині клітин, в сироватці (плазмі) крові низька або взагалі відсутня. Саме тому, аналізуючи позаклітинні рідини (кров), по активності певних ферментів можна виявити зміни, що відбуваються всередині клітин різних органів і тканин організму. Інші ферменти постійно містяться в крові, у відомих кількостях і мають певну функцію (наприклад, ферменти системи згортання крові).

Активність ферментів у сироватці крові відображає збалансованість швидкості синтезу ферментів всередині клітин і виходу їх з клітин. Збільшення активності ферментів крові може бути результатом прискорення процесів синтезу, зниження швидкості виведення, підвищення проникності клітинних мембран, дії активаторів, некрозу клітин. Зменшення активності ферментів викликається підвищенням швидкості виведення ферменту, дією інгібіторів, пригніченням синтезу. Підвищення активності в крові того чи іншого ферменту є досить раннім діагностичним тестом.

В сучасних медичних клініках часто приділяють увагу аналізу активності специфічного спектру ферментів крові для діагностики, моніторингу хвороб та прогнозування ефективності терапії. Сироватка крові є основним матеріалом для такого аналізу, оскільки її ферментний профіль є відносно стабільним і може вказувати на різні фізіологічні або патологічні стани організму.

У клінічній практиці ферменти сироватки крові зазвичай класифікують на три основні групи. Це розподіл допомагає спеціалістам зрозуміти джерело активності ферментів та їх можливий вплив на організм. На основі такої інформації, лікарі можуть планувати подальші діагностичні заходи та стратегії лікування:

1) *індикаторні (клітинні, маркерні) ферменти* – локалізовані в клітинах тканин, потрапляють у кров у результаті фізіологічного старіння та руйнації клітин або в результаті підвищення проникливості клітинних мембран. У крові міститься декілька десятків індикаторних ферментів. Зазвичай клітинні ферменти в крові мають обмежену активність і не здійснюють конкретних ролей. Однак, коли вони потрапляють до крові, їх діяльність пригнічується протеазами, які містяться в сироватці та тканинах організму. Активність цих ферментів зростає при ураженні органів, коли спостерігається потужна руйнація клітинних мембран. Неспецифічні індикаторні ферменти каталізують універсальні реакції метаболізму та локалізовані в більшості органів і тканин. Органоспецифічні ферменти містяться лише в тих органах і тканинах, де відбуваються специфічні реакції, властиві лише для клітин цього органа. Збільшення активності клітинних ферментів в крові може бути індикатором наявності патологічних змін в конкретному органі;

2) *секреторні ферменти* в основному виробляються у печінці і виконують важливі ролі в крові, такі як згортання крові та фібриноліз. Вони також включають такі ензими як холінестераза та церулоплазмін;

3) *екскреторні ферменти*, з іншого боку, синтезуються в ряді тканин, включаючи печінку, підшлункову залозу і кишечник. Їх поява в крові зазвичай є наслідком природного процесу розпаду клітин, в яких вони були сформовані. До цієї категорії належать такі ферменти як лужна фосфатаза, ГГТП, та ліпаза.

5.2. Індикаторні ферменти плазми крові

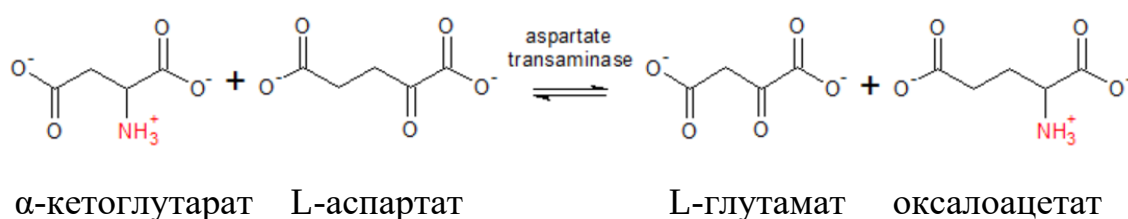
Специфічну сферу застосування ферментів у клінічних дослідженнях становить ензимодіагностика. Деякі ферменти, проферменти та їх субстрати в нормі циркулюють в крові. У крові присутні також нефункціональні ферменти, концентрація яких у плазмі на декілька порядків нижча, ніж у тканинах і органах. Високі рівні ферментів у плазмі крові часто сигналізують про наявність патологічних станів у організмі. Зазвичай, коли клітини конкретного органу починають руйнуватися через захворювання, ферменти,

які вони містять, виходять у кровообіг. Це призводить до збільшення їх активності в плазмі, що може бути виявлено під час лабораторних досліджень.

5.2.1. Аспартатамінотрансфераза (АСТ) та аланінамінотрансфераза (АЛТ)

Амінотрансферази (трансамінази) – ферменти з групи трансфераз, що переносять групи атомів, які містять азот. До цієї групи ферментів відносяться такі важливі для клінічної лабораторної діагностики ферменти, як АСТ і АЛТ.

Аспартатамінотрансфераза (АСТ; глутамат-оксалоацетат-трансаміназа; L-аспартат:2-оксалоглутарат-амінотрансфераза, КФ 2.6.1.1) каталізує зворотнє перенесення альфа-аміногрупи між аспартатом та глутаматом і, як такий, є важливим ферментом в метаболізмі амінокислот:

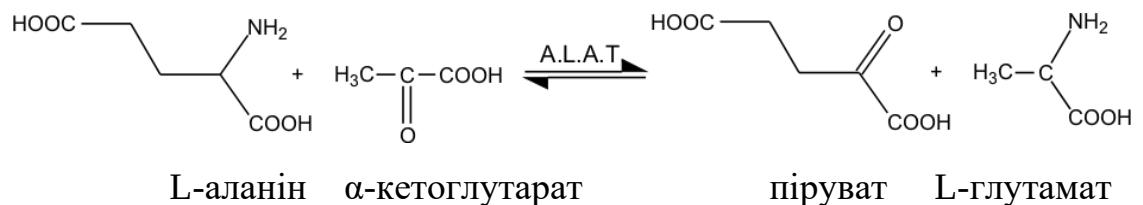


Кофактором для АСТ є піридоксальфосфат (вітамін В6). Перенесення аміногрупи, що каталізується цим ферментом є вирішальними в деградації амінокислот і біосинтезі. Глутамат, який утворюється в ході реакції, згодом піддається окислювальному дезамінуванню з утворенням іонів амонію, який виводиться з організму у вигляді сечовини. У зворотній реакції, аспартат, можуть бути синтезований з оксалоацетату, який є ключовим проміжним продуктом в циклі лимонної кислоти (цикл Кребса).

У ссавців найбільш висока активність і концентрація АСТ відзначена в печінці, нервовій тканині, скелетних м'язах та міокарді. У більшості тканин існує як мінімум два ізоферменти АСТ: мітохондріальний ізофермент (МАСТ), який на всіх підтримуваних середовищах рухається до катода, і розчинний у цитозолі ізофермент АСТ (ЦАСТ), які мігрує до аноду. ЦАСТ

складається з двох ідентичних субодиниць; це димер з молекулярною масою 93 кДа. МАСТ – теж димер з молекулярною масою 91 кДа. Виділення ізоферментів виявило існування декількох ізоформ з подібною кінетикою, але вираженими імунологічними відмінностями. Ізоферменти АСТ мають також певну відмінність у кінетичних характеристиках: оптимум дії МАСТ нижчий, ніж ЦАСТ.

Аланінамінотрансфераза (АЛТ; АЛАТ; ALT; глутаматпіруват-трансаміназа; L-аланін:2-оксоглутарат-амінотрансаміназа, КФ 2.6.1.2) каталізує перенесення аміногрупи від L-аланіну до α -кетоглутарату, продукти цієї зворотної реакції трансамінування є піруват і L-глутамату:



АЛТ (як і всі трансамінази) потребують кофермент піридоксальфосфат, який потім перетворюють в піридоксамін в першій фазі реакції, коли амінокислота перетворюється в кетокислоту.

АЛТ виявляється в плазмі крові і в різних тканинах організму, але найчастіше зустрічається в печінці. Як і АСТ, АЛТ присутня в клітинах у формі двох ізоферментів – цитозольного та мітохондріального, але останній нестабільний і вміст його в клітині низький.

Клінічне значення визначення концентрації амінотрансфераз. Рівень АСТ, АЛТ, а також їх співвідношення (АСТ/АЛТ) в сироватці крові, зазвичай, вимірюється клінічно як біомаркери стану печінки.

АЛТ зазвичай вимірюється клінічно як частина діагностичної оцінки гепатоцелюлярної травми, щоб визначити стан печінки. При використанні в діагностиці, він майже завжди вимірюється в міжнародних одиницях/літр (МО/л). Еталоном значень для активності АЛТ для пацієнтів є 10-40 МО/л. Така варіація значень пов'язана із добовими змінами в активності АЛТ.

Значно підвищені рівні АЛТ часто припускають існування таких проблем як вірусний гепатит, діабет, застійна серцева недостатність, ураження печінки, проблеми жовчних проток, інфекційного мононуклеозу, або міопатія. Виявлення тої чи іншої проблеми можна діагностувати шляхом вимірювання поряд з активністю АЛТ також і інших ферментів. Наприклад, підвищені рівні АЛТ через пошкодження гепатоцитів можна відрізнити від проблем жовчних проток шляхом вимірювання лужної фосфатази. Крім того, багато медичних препаратів можуть збільшити активність АЛТ, в тому числі омега-3-кислоти етилового ефіру (Lovaza), парацетамол, протизапальні препарати, антибіотики, ліки на основі холестерину, деякі антипсихотичні препарати, такі як рисперидон, і протисудомні.

Активність АЛТ знижується при малярії і вагітності, не змінюється при емболії легеневої артерії, пневмоніях, абсцесах легені, ревматоїдному артриті.

АЛТ є більш точним індикатором захворювань печінки, ніж АСТ, оскільки АСТ може бути підвищена також при захворюваннях, що впливають на інші органи, такі як інфаркт міокарда, гострий панкреатит, гостра гемолітична анемія, важкі опіки, гострі захворювання нирок, опорно-рухового апарату, травми. Еталоном значень для активності АЛТ для пацієнтів є 8-40 МО/л. АСТ був визначений як біохімічний маркер для діагностики гострого інфаркту міокарда ще в 1954 р. АСТ зазвичай вимірюється клінічно як частина діагностичних тестів для визначення стану печінки. Тим не менш, важливо мати на увазі, що джерело АСТ (і, в меншій мірі, АЛТ) в аналізах крові можуть відображати патологію в інших органах.

Активність АСТ у сироватці крові може бути підвищеною:

- фізіологічно (у новонароджених рівень активності в 1,5-2,0 рази вищий від нормальної величини у дорослих);
- внаслідок артефакту, помилки в долабораторній підготовці зразка (гемоліз *in vivo* та *in vitro*);
- незначне підвищення у 2-5 разів при: цирозі печінки, пухлинній інфільтрації, панкреатиті, гіпофункції щитовидної залози;

- підвищення у 5-10 разів: при інфаркті міокарда, після хірургічного втручання, наприклад, на серці, при захворюваннях скелетної мускулатури, холестази, запущеному гепатиті;

- значне підвищення (більше ніж у 10 разів) при: гострому вірусному гепатиті, множинних розчавленнях, важкій тканинній гіпоксемії.

При інфаркті міокарда активність АСТ у сироватці зростає, починаючи з 8-12 години; максимальна активність досягається через 24-36 годин, а її повернення до нормального рівня відбувається на 4-6 день (рис. 23).

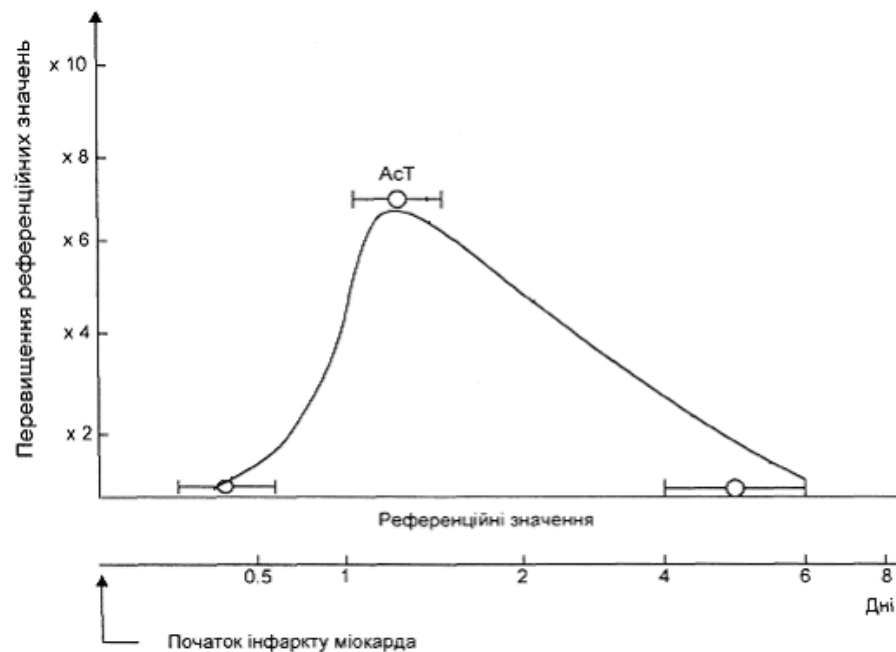


Рис. 23. Кінетика вивільнення у плазмі крові тканинної АСТ під час гострого інфаркту міокарду

У близько 95% пацієнтів з інфарктом міокарда активність АСТ у сироватці є у 2-10 разів вищою від верхньої межі нормального значення. При інфаркті міокарду виявляється також зростання активності АСТ у сироватці, але в значно меншій мірі, ніж зростання активності АСТ. При інфаркті міокарда співвідношення активностей АСТ/АЛТ у більшості випадків перевищує 2, а співвідношення, менше від 1, переважно вказує на ураження печінки.

5.2.2. Амілаза

α -Амілаза [α -(1,4)-глюкан-4-глюканогідролаза, КФ 3.2.1.1] – фермент, що гідролізує внутрішні 1,4- α -глікозидні зв'язки крохмалю, глікогену та інших полімерів глюкози. В організмі людини основні джерела α -амілази - підшлункова і слинні залози. Амілаза є гетерогенним кальцій-залежним металоферментом з молекулярною масою 54-62 кД. Він існує у вигляді двох ізоферментів: панкреатичний (Р-тип) і непанкреатичний (S-тип). Ці ізоферменти є продуктами двох тісно пов'язаних локусів на хромосомі 1. Додаткові форми амілаз обумовлені алель ними змінами (S-тип, 12 алель, Р-тип, 6 алель). Обидва ферменти також піддаються посттрансляційній модифікації шляхом дезамінування і глікозилування.

Амілаза має широкий розподіл в тканинах. Найбільша активність Р- і S-типу ферменту були виявлені в екзокринній підшлунковій залозі і слинних залозах, відповідно. Р-тип амілази синтезується клітинами підшлункової залози і секретується в кишковий тракт через систему повітропроводів підшлункової залози.

Близько 25% амілази, яка знаходиться в плазмі, виводиться нирками, інша частина реабсорбується в проксимальних каналцях печінки.

Клінічне значення визначення активності амілази в сироватці крові.
Нормальна активність: 12-32 г/(год×л); 0,58-1,97 мккат/л діастаза сечі 20-160 г/(год×л).

У сироватці крові амілаза може бути виміряна в цілях медичної діагностики. Висока її активність може відображати одне з декількох захворювань, включаючи гостре запалення підшлункової залози (гострий панкреатин) (це може бути виміряно одночасно з більш специфічною ліпазою), перфоровану виразкову хворобу шлунка, заворот яєчника, мезентеріальну ішемію, епідемічний паротит. Амілаза може бути виміряна в інших рідинах організму, включаючи сечу і перитонеальну рідину.

5.2.3. γ -глутамілтранспептидаза

γ -глутамілтрансфераза або γ -глутамілтранспептидаза (ГГТ, ГГТП, γ -GT, GGT, GGTP) (EC 2.3.2.2) є ферментом, який передає гамма-глутамілфункціональні групи. Він міститься в багатьох тканинах, найбільш помітним з яких є печінка, і має значення в медицині як діагностичний маркер.

ГГТ каталізує перенесення фрагмента гамма-глутамілу до акцептора, який може являти собою амінокислоту, пептид або воду, утворюючи глутамат.

ГГТ відіграє ключову роль в шляхах синтезу і деградації глутатіону, медичних препаратів і детоксикації ксенобіотиків.

ГГТ присутня в клітинних мембранах багатьох тканин, в тому числі нирок, жовчних проток, підшлункової залози, жовчного міхура, селезінки, серця, мозку. Вона бере участь в перенесенні амінокислот через клітинну мембрану. Цей фермент розщеплює позаклітинний глутатіон (GSH) з утворенням глутамінових сполук і цистеїнілгліцину, який далі розщеплюється мембранозв'язаними дипептидазами. Складові амінокислоти потім захоплюються і використовуються клітинами для внутрішньоклітинного ресинтезу GSH. Однією з амінокислот, які таким чином постачається ГГТ, є цистеїн – лімітуючий субстрат для біосинтезу GSH (рис. 24).

Важливо, що цистеїн є кращим акцептором для глутамат-амінокислотної реакції кон'югації глутамат-амінокислот за допомогою ГГТ, а продукт, – глутамілцистин, може транспортуватися всередині клітин і, після відновлення до – ГЦ, використовуватися безпосередньо для біосинтезу GSH. Цей шлях відновлення запасів GSH обходить реакцію обмеження швидкості, яку каталізує глутаматцистеїніліаза (ГЦЛ) у синтезі GSH *de novo* і може відігравати важливу роль у підтримці GSH у клітинах.

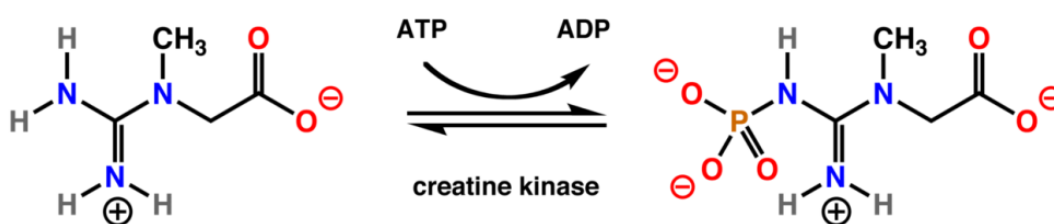
Таким чином, ГГТ є критично важливим для підтримки гомеостазу GSH і цистеїну і для антиоксидантної функції клітин. У мишей за зниженої активності ГГТ спостерігається з глутатіонемія, глутатіонурія, дефіцит цистеїну, зниження рівня GSH у тканинах та підвищена чутливість до оксидативного стресу, що може бути усунуто за допомогою N-ацетилцистеїну.

відношенні вона подібна на лужну фосфатазу (ALP) при виявленні захворювання жовчних шляхів. Дійсно, два маркера, добре корелюють, хоча існують суперечливі дані про те, чи має ГГТ кращу чутливість. Останнім часом, злегка підвищений рівень ГГТ також було виявлено при серцево-судинних захворюваннях і активно досліджуються в якості маркера серцево-судинних захворювань. ГГТ насправді накопичується в атеросклеротичних бляшках, вказуючи на потенційну роль в патогенезі серцево-судинних захворювань, і циркулює в крові у вигляді білкових агрегатів.

Численні медичні препарати можуть підвищувати активність ГГТ, в тому числі барбітурати та фенітоїн. Підвищені рівні ГГТ також можуть бути пов'язані із застійною серцевою недостатністю.

5.2.4. Креатинкіназа (КК)

Креатинкіназа (КК) (креатинфосфокіназа (КФК) або фосфо-креатинкіназа, КФ 2.7.3.2) – фермент, який каталізує перетворення креатину і використовує аденозинтрифосфат (АТФ), щоб утворити фосфокреатин (ФК) і аденозиндифосфат (АДФ). Ця реакція є зворотною і, таким чином, АТФ може бути отриманий з ФК і АДФ:



У тканинах і клітинах, які швидко споживають АТФ, особливо скелетні м'язи, головний мозок, клітини фоторецепторів сітківки, волоскові клітини внутрішнього вуха, сперматозоїди і гладкі м'язи, ФК служить резервуаром енергії для швидкої буферизації і регенерації АТФ. Таким чином, креатинкінази є важливим ферментом в таких тканинах.

КК – цитозольний і мітохондріальний фермент, який функціонує в клітинах багатьох тканин. У той час як мітохондріальна креатинкіназа

безпосередньо бере участь у формуванні фосфокреатину з мітохондріального АТФ, то цитозольні КК регенерує АТФ з АДФ, з використанням ФК.

Цитозольна КК складається з двох субодиниць, які можуть бути або В (мозковий тип) або М (м'язовий тип). А тому є три різних ізоферменти: КК-ММ, КК-ВВ і КК-МВ (рис. 25).

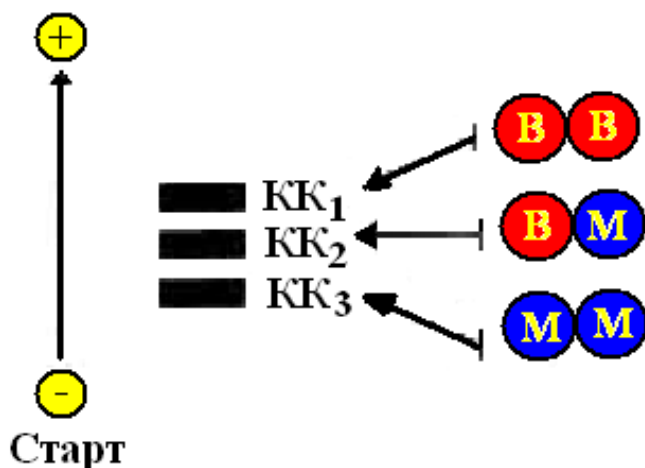


Рис. 25. Структура і електрофоретична рухливість різних ізоформ креатинкінази

Субодиниці являють собою білки з молекулярною масою 41 кДа. Гени для цих субодиниць розташовані на різних хромосомах: В-тип на 14q32 і М-тип на 19q13 хромосомах. На додаток до цих трьох цитозольних КК ізоформ, є дві мітохондріальні ізоформи креатинкінази.

Активність ферменту і розподіл його ізоферментів органоспецифічний. Так, скелетні м'язи містять переважно КК-ММ ізофермент (98%) і низький рівень КК-МВ (1%). Міокард (серцевий м'яз), на відміну від попередньої тканини, містить 70% КК-ММ і 25-30% КК-МВ. СК-ВВ переважно експресується в головному мозку і гладких м'язів, в тому числі судинах і тканинах матки.

В електричному полі найбільшою рухливістю володіє КК-ВВ, найменшою – КК-ММ, гібридна форма КК-МВ займає проміжне становище (рис. 20).

Клінічне значення визначення активності КК та її ізоферментів.

Нормальна активність: до 100 нмоль/(с*л) або до 6 МО при 30 °С.

Клінічно, креатинкінази досліджують в крові в якості маркера пошкодження КК-багатих тканин, таких як інфаркт міокарда (серцевий напад), рабдоміоліз (тяжке руйнування м'язів), м'язова дистрофія і при гострій нирковій недостатності.

Фізичні вправи збільшують відтік креатинкінази в потік крові протягом тижня, і це є найбільш поширеною причиною високого рівня КК в крові. Підвищення активності КК у крові також може бути наслідком травми, переохолодження або перегрівання, голодування і бактеріальної інтоксикації, дегідратації, ураження електричним струмом.

Активність ізоензиму КК-МВ в плазмі починає зростати вже через 4-8 год після інфаркту міокарда, досягає максимального значення через 12-24 год, що дещо швидше, ніж для зростання загальної КК. Ця активність повертається до нормального рівня на 3-тю добу (рис. 26).

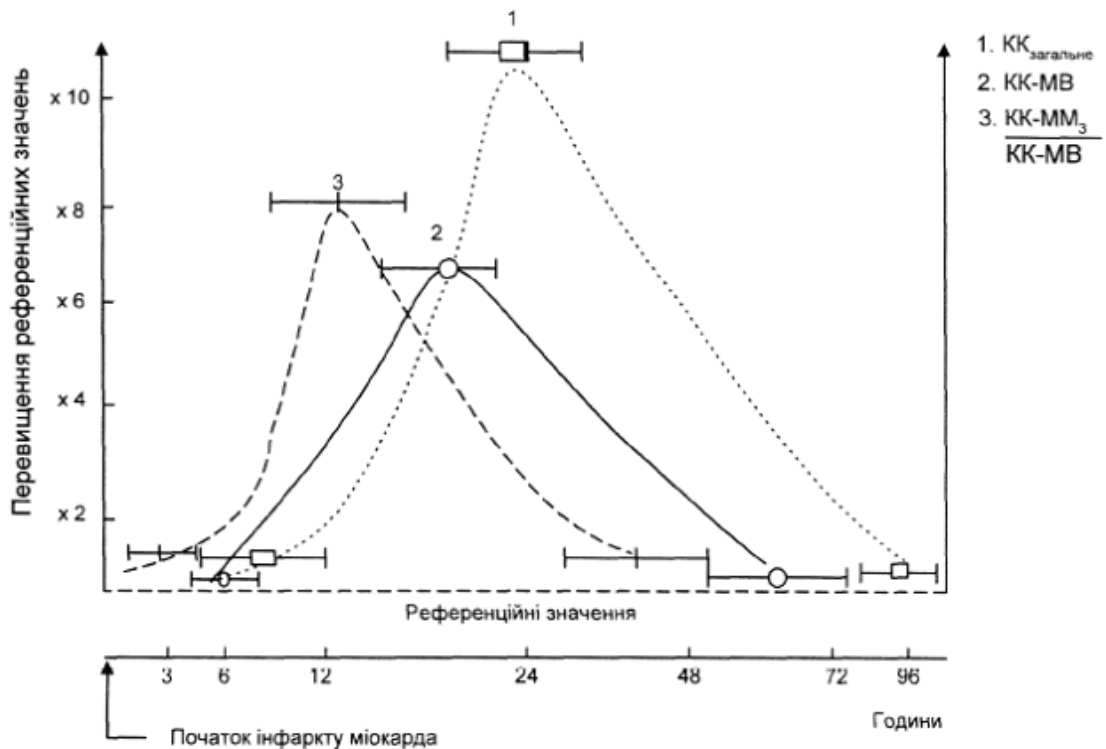


Рис. 26. Креатинкіназа (КК), її ізоензим КК-МВ та співвідношення ізоформ КК-ММ₃/КК-МВ у плазмі крові під час інфаркту міокарду

Вважають, що найкращим ензиматичним тестом для підтвердження чи виключення діагнозу гострого інфаркту міокарда є КК-МВ, особливо за умов використання імунохімічних методів визначення цього ізоензиму. Не виявлено чіткої залежності діагностичного значення КК від локалізації інфаркту міокарда та гемодинамічного стану пацієнта. У багатьох випадках одноразове визначення активності ізоензиму КК-ММ чи КК-МВ та їх ізоформ протягом перших 48 год після виникнення болю дозволяє досить точно визначити момент виникнення інфаркту міокарда. З іншого боку відсутність підвищеної активності КК-МВ протягом 24 год у хворого, який не мав додаткового болю, може виключити інфаркт.

5.2.5. Лактатдегідрогеназа (ЛДГ)

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ, L-лактат-НАД-оксидоредуктаза, КФ 1.1.1.27) – цинквмісний фермент, який знайдений в багатьох живих клітинах (тварини, рослини, і прокаріоти). ЛДГ каталізує зворотнє перетворення лактату в піровиноградну кислоту.

Цей фермент складається з чотирьох субодиниць (тетрамер). Дві найбільш поширені субодиниці білка – ЛДГ-М і ЛДГ-Н, які кодуються, відповідно, генами LDHA і LDHB. Ці дві субодиниці можуть утворити п'ять можливих ізоферменти: ЛДГ-1 (4Н), ЛДГ-2 (3Н1М), 4М, ЛДГ-3 (2Н2М), ЛДГ-4 (1Н3М) і ЛДГ-5 (4М). Ці п'ять ізоферменти подібні між собою, але показують різний розподіл в тканинах. Так, основний ізофермент скелетних м'язів і печінки – ЛДГ-5, в той час як ЛДГ-1 – головний ізофермент для серцевого м'язу, головного мозку та еритроцитів. ЛДГ-2 переважає в ретикулоендотеліальній системі та сироватці крові, ЛДГ-3 – в легенях, а ЛДГ-4 – в нирках, плаценті і підшлунковій залозі.

Активність ЛДГ у тканинах людини на 1 г сухої маси зменшується в послідовності: нирки – скелетний м'яз – підшлункова залоза – селезінка – печінка – плацента.

Клінічне значення визначення активності ЛДГ. Нормальна активність: до 3200 нмоль/(с*л) або до 195 МО при 25 °С, до 5330 нмоль/(с*л) або до 320 МО при 30 °С.

У медицині ЛДГ часто використовується в якості маркера руйнування тканин. Вимірювання активності ЛДГ може бути корисним для моніторингу лікування раку. Збільшення активності ЛДГ в плазмі крові може бути пов'язане також з серцевою недостатністю, гіпотиреозом, анемією, прееклампсією, менінгітом, енцефалітом, гострим панкреатитом, ВІЛ і хворобах печінки.

ЛДГ бере участь в ініціації пухлини і її метаболізмі. У ракових клітинах інтенсивно проходить гліколіз, що призводить до збільшення виробництва лактату замість аеробного дихання в мітохондріях, навіть при кисневмісних достатніх умовах (процес, відомий як ефект Варбурга). Цей стан ферментативного гліколізу каталізується однією з форм ЛДГ (ЛДГ А). Цей механізм дозволяє пухлинним клітинам перетворити більшість своїх запасів глюкози в лактат, незалежно від наявності кисню, зрушуючи використання глюкози від простого виробництва енергії до просування прискореного клітинного росту і реплікації. З цієї причини, інгібування ЛДГ А може бути використано для лікування ракових клітин.

Хімічне придушення активності ЛДГ А продемонструвало помітні зміни в обмінних процесах і загального виживання клітин карциноми. Оксамат є інгібітором цитозольної ЛДГ А, що значно знижує вироблення АТФ у пухлинних клітинах, а також збільшення виробництва активних форм кисню (АФК). При високих концентраціях АФК відбувається пошкодження всіх компонентів клітини. Вторинні продукти окислення ліпідів можуть також інактивувати ЛДГ і впливають на її здатність до регенерації NADH, безпосередньо порушуючи здатність ферментів перетворювати лактат в піруват.

Інші види використання є оцінка руйнування тканин в цілому.

Висока активність лактатдегідрогенази в спинно-мозковій рідині часто пов'язана з бактеріальним менінгітом.

ЛДГ часто вимірюють у пацієнтів з ВІЛ, як неспецифічний маркер запалення легенів.

Активність ЛДГ-5 в сироватці крові – чутливий індикатор гепатиту, гіпоксії печінки (включаючи застій крові в печінці внаслідок серцевої недостатності), лікарської інтоксикації, цирозі, пухлинах і травмі. Активність ЛДГ у сироватці крові не підвищується при хронічних захворюваннях нирок і уремії, але іноді зростає після гемодіалізу або плазмаферезу, що може бути пояснено видаленням з крові інгібіторів (сечовина, оксалати).

ЛДГ також може бути використана в якості маркера інфаркту міокарда (рис. 27) та гепатиту (рис. 28). Після інфаркту міокарда відбувається збільшення активності ЛДГ протягом перших 2 діб і залишається підвищеною протягом до 10 днів (рис. 27).

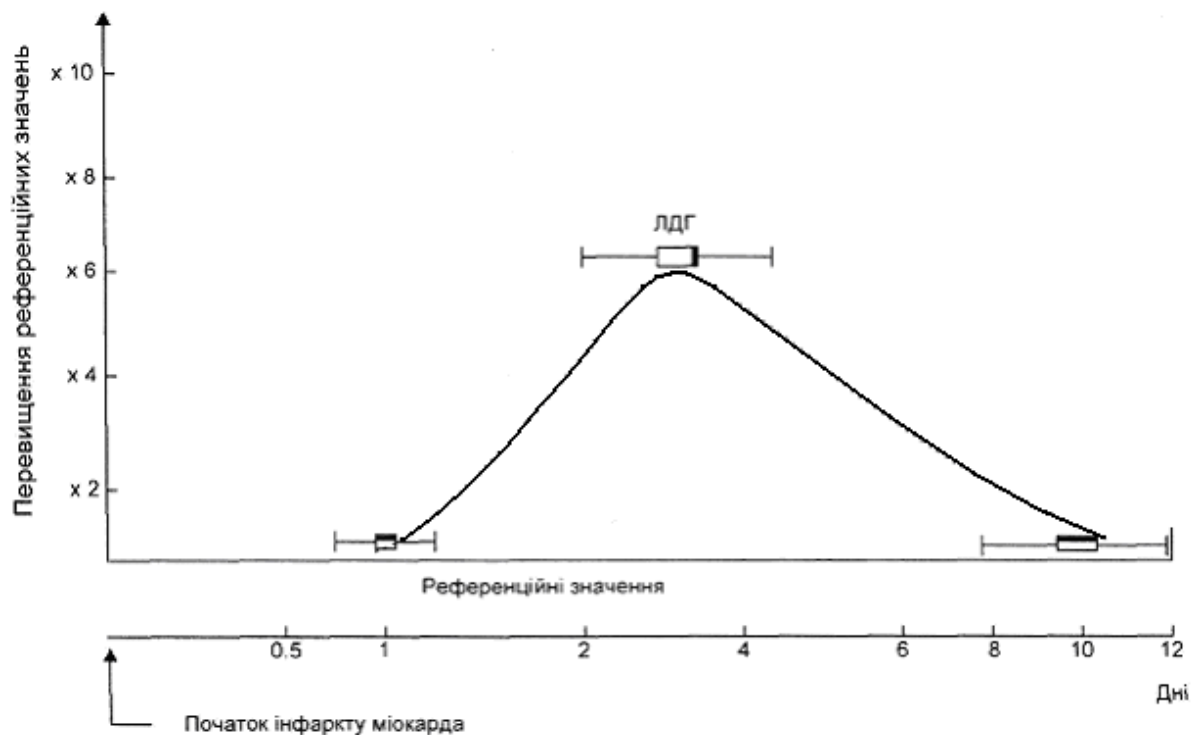


Рис. 27. Кінетика вивільнення у плазмі крові тканинної ЛДГ під час гострого інфаркту міокарду

Зміни в рівні ЛДГ та його ізоферментів можуть вказувати не лише на проблеми з серцем, як у випадку інфаркту міокарда, але й на комплексніші стани. Спектр ЛДГ може відзеркалювати ускладнення, що виникли на фоні серцевої недостатності, включаючи застій крові в печінці та нирках. Також, ізоферменти, характерні для інфаркту міокарда, можуть бути виявлені при ішемічних змінах в інших органах, спричинених різким спадом серцевого викиду.

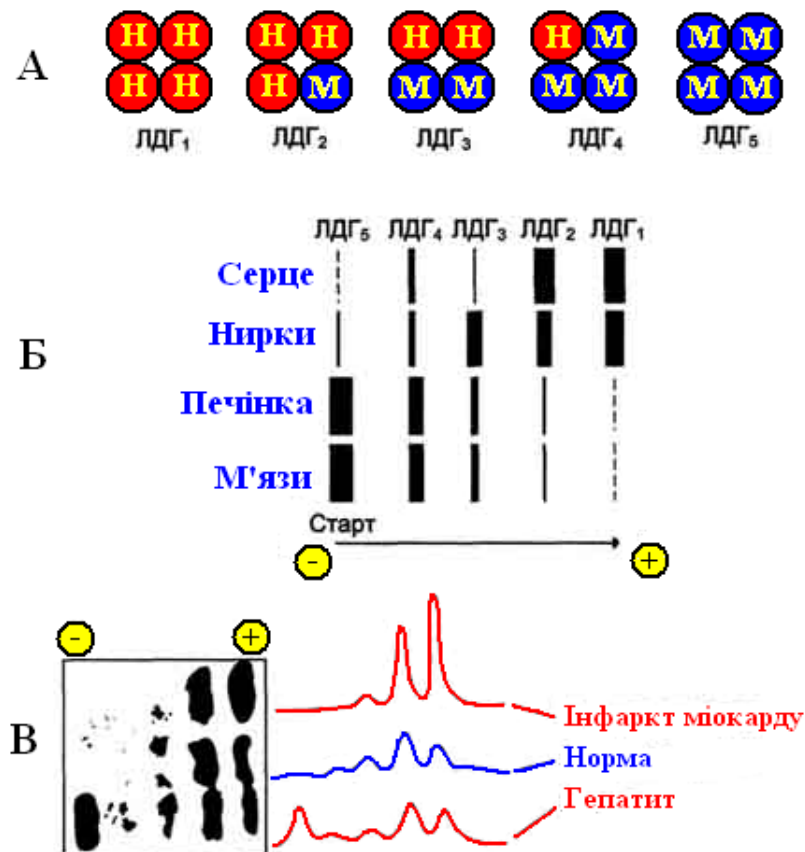


Рис. 28. Ізоформи лактатдегідрогенази. А - будова різних ізоформ ЛДГ; Б – розподіл на електрофореграми і відносні кількості ізоформ ЛДГ в різних органах; В – вміст ізоформ ЛДГ в плазмі крові в нормі і при патології. Електрофореграми – ліворуч і фотометричне сканування – праворуч.

(модифіковано із Остапченко [14]).

5.2.6. Лужна (ЛФ) та кисла фосфатаза (КФ)

Лужна фосфатаза (ЛФ, ALP, ALKP, ALPase) (КФ 3.1.3.1) являє собою гідролазу (активний центр ферменту містить атом цинку), яка відповідає за видалення фосфатних груп з багатьох типів молекул, в тому числі нуклеотидів, білків і алкалоїдів. Молекулярна маса ЛФ становить 130-220 кДа. Процес видалення фосфатної групи називається дефосфорилування. Як впливає з назви, лужні фосфатази є найбільш ефективними в лужному середовищі. Іноді використовується як синонім в якості основної фосфатази.

В організмі людини, ЛФ присутня у всіх тканинах по всьому тілу, але особливо концентрується в печінці, жовчних протоках, нирках, кістках, слизовій кишечника і плаценти. Люди і більшість інших ссавців містять такі ізоферменти лужної фосфатази:

ALP I – кишкова (молекулярна маса 150 кДа);

ALP L – тканино-неспецифічна (печінка / кістки / нирки);

ALP P – плацентарна.

Клінічне значення визначення активності ЛФ. Нормальна активність ЛФ у плазмі крові дорослих людей приблизно становить 20-140 МО/л, хоча вона значно вища у дітей і вагітних жінок. Висока активність ЛФ може спостерігатись при непрохідності жовчних проток, ростом кісток (ЛФ є побічним продуктом активності остеобластів, при хворобі Педжета), захворювання печінки або гепатити, лейкемія, лімфома, гіпертиреоз. Зменшена активність ЛФ менш поширена, ніж підвищена. Вона може спостерігатись при наступних захворюваннях і станах: гіпофосфатазія, у жінок, які отримують терапію естрогену через остеопороз, недостатнє харчування, дефіцит магнію, гіпотиреоз, злоякісна анемія, хвороба Вільсона-Коновалова. У недоношених дітей рекомендовано визначати активність ЛФ з метою ранньої *діагностики рахіту*.

Кисла фосфатаза (КФ 3.1.3.2, кисла фосфомоноестераза, фосфомоноестераза, кисла фосфогідролаза, кисла

нуклеозиддифосфатфосфатаза) являє собою фосфатазу, яка використовується для відщеплення фосфорильних груп з інших молекул в процесі травлення.

Кисла фосфатаза каталізує наступну реакцію за кислих значеннях рН:



Серед органів, у яких виявлена нацвища активність цього ферменту є передміхурова залоза, еритроцити, тромбоцити, печінка, селезінка та кістки.

Клінічне значення визначення активності ЛФ. Нормальна активність її активність в плазмі крові людини становить 0,1-0,8 МОд/л. Різні форми кислої фосфатази виявлені в різних органах, і їх рівні в сироватці крові використовуються для оцінки успіху хірургічного лікування раку передміхурової залози. У минулому вони також були використані для діагностики цього типу раку. З огляду на те, що червоні кров'яні клітини містять значні кількості каталази, зразки крові, які пройшли гемоліз, не є придатними для діагностики рівня простатичного ферменту.

Діагностично зміна активності КФ використовується для виявлення карциноми простати, захворювань кісток, гіперпаратиреозу, лімфобластного лейкозу. Зниження її активності може спостерігатися після лікування естрогенами карциноми простати та у хворих з синдромом Дауна.

5.2.7. Холінестераза

Холінестераза – це фермент класу гідролаз. В організмі людини визначаються 2 види холінестераз: "справжня" холінестераза (холінестераза І, АСНЕ, ацетилхолінестераза, КФ 3.1.1.7) виявлена в печінці, еритроцитах і нервовій тканині і псевдохолінестераза (холінестераза ІІ, бутирилхолінестераза, ВСНЕ, КФ 3.1.1.8) – знаходиться в сироватці крові, печінці, підшлунковій залозі, слизовій оболонці кишечника. Ацетилхолінестераза розщеплює ацетилхолін, а псевдохолінестераза гідролізує як холін, так і нехолінові ефіри.

Клінічне значення визначення активності холінестераз. Активність сироваткової псевдохолінестерази знижується при захворюваннях печінки.

Особливо низька її активність при злоякісних новоутворах у печінці. Відсутність або мутація псевдохолінестерази призводить до медичного стану, відомого як дефіцит псевдохолінестерази. Цей стан проявляється тільки тоді, коли люди, які мають цей дефіцит отримують міорелаксанти сукцинілхоліну під час операції. Збільшена її активність у плазмі спостерігається в 90,5% випадків гострого інфаркту міокарда. ВСНЕ може бути використана як профілактичний засіб проти нервово-паралітичного газу та інших фосфорорганічних отруень.

5.2.8. Ліпаза

Ліпази являють собою ферменти, які каталізують гідроліз жирів (ліпідів). Вони виконують істотну роль в травленні, транспортуванні і переробці харчових ліпідів (наприклад, тригліцеридів, жирів, масла) в більшості, якщо не у всіх живих організмах. Гени, що кодують ліпази навіть присутні в деяких вірусів.

Клінічне значення визначення активності ліпази. Нормальна активність: 14-26 МОд/л. Аналізи крові на ліпазу, можуть бути використані, щоб допомогти досліджувати і діагностувати гострий панкреатит і інші розлади підшлункової залози. Виміряні значення ліпази в сироватці крові можуть змінюватися в залежності від методу аналізу.

ГЛАВА 6. КАЛІКРЕЇН-КІНІНОВА СИСТЕМА ПЛАЗМИ КРОВІ

6.1. Поняття та значення калікреїн-кінінової системи

Калікреїн-кінінова система (ККС) – група білків крові, що відіграють роль у регуляції судинного тону, діурезу, запалення, коагуляції і рецепції болю. ККС була відкрита у 1949 р., коли на Міжнародному конгресі фізіологів у Копенгагені Бразильські вчені Роха і Сільва повідомили про нову високоактивну гіпотензивну речовину, яку назвали брадикінін. Біологічно активними її компонентами є поліпептидні гормони – брадикінін і калідин:

Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg

Брадикінін

Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg

Калідин (лізилбрадикінін)

Це одна з основних каскадних протеолітичних систем у плазмі крові, яка разом із системами, такими як ренін-ангіотензинова система, комплементна система та система згортання крові, відіграє ключову роль у регуляції різних важливих функцій організму. Серед цих функцій важливе місце займають підтримка артеріального тиску, антигенна сумісність та гемостаз.

Система контактної коагуляції (ККС) складається з ряду високомолекулярних білків-попередників, включаючи кініногени, активні поліпептиди (кініни), а також різні ферменти, які активують (калікреїни, амінопептидази, кініназа I) та інгібують (кініназа II) цю систему.

У функціональному відношенні, можна виділити два види ККС, які включають різні калікреїни, кініногени і кініни: плазматичну ККС, яка включає високомолекулярний кініноген та плазматичний прекалікреїн, і органну ККС, яка складається з низькомолекулярного кініногену і тканинного калікреїну. Обидві ці системи взаємодіють за однією і тією ж схемою.

Плазматична ККС включає високомолекулярний кініноген і плазматичний прекалікреїн, які синтезуються в печінці і виділяються, як і інші білки плазми крові. Плазматичний прекалікреїн активується фактором

The diagram illustrates the biochemical pathways of the renin-angiotensin system and kinins.

Angiotensin Pathway:

- Ангіотензиноген** (Angiotensinogen) is converted to **Ангіотензин І** (Angiotensin I) by the enzyme **Ренін** (Renin).
- Ангіотензин І** is converted to **Ангіотензин ІІ** (Angiotensin II) by the enzyme **Кініназа ІІ (АПФ)** (Aminopeptidase II / ACE).

Kinin Pathway:

- Прекалікреїн** (Prokininogen) is converted to **Калікреїн** (Kallikrein) by the enzyme **(b)ХПа**.
- Калікреїн** converts **Кініногени (НМК, ВМК)** (Kininogens - HMKG, BMKG) into **Met-Lys-брадикінін** (Met-Lys-bradykinin).
- Met-Lys-брадикінін** is converted to **Lys-брадикінін (Калідин)** (Lys-bradykinin / Calidin) by **Амінопептидази** (Aminopeptidases).
- Lys-брадикінін (Калідин)** is converted to **Брадикінін** (Bradykinin) by **Амінопептидази**.
- Брадикінін** is converted to **des-Arg⁹-брадикінін** (des-Arg⁹-bradykinin) by **Кініназа І** (Kininase I).
- des-Arg⁹-брадикінін** is converted to **Неактивні пептиди** (Inactive peptides) by **Кініназа ІІ (АПФ)**.

Chemical Structure of Met-Lys-Bradykinin:

Polypeptide chain of Met-Lys-bradykinin: **Met - Lys - Arg - Pro - Pro - Gly - Phe - Ser - Pro - Phe - Arg**

Enzymatic cleavage sites are indicated by arrows pointing to specific residues:

- Амінопептидази** (Aminopeptidases) act on the N-terminal **Met** and **Lys** residues.
- Кініназа ІІ** (Kininase II / AПФ) acts on the **Arg** residue between the two proline residues.
- Кініназа І** (Kininase I) acts on the **Phe** residue at the C-terminus.

Зв'язки, що розщеплюються відповідними пептидазами

У відміну від плазматичної ККС, місцеві системи можуть постійно продукувати калікреїн, і, відповідно, калідин, з системного або місцевого кініногену. Деякі локальні системи синтезують «свій» низькомолекулярний кініноген. У нирках, наприклад, велика кількість калікреїну і кініногену синтезується епітелієм каналців і виділяється з сечею.

прекалікреїни, і активуються за участю фактора XII системи згортання крові. Кініни мають короткочасну активність, період напіврозпаду цих молекул становить приблизно 20-30 секунд. Це пояснюється високою активністю кініназ – ферментів, які розщеплюють їх.

6.2. Біологічні ефекти кінінів та зв'язок ККС з іншими ферментними системами плазми крові

Системні ефекти. Поряд з вазодилатацією, що викликає місцеву гіперемію і зниження артеріального тиску, кініни стимулюють больові і викликають утворення набряку завдяки збільшенню проникності судин. Завдяки своїм особливостям, кініни вважаються класичними медіаторами запалення, і вони відіграють важливу роль у багатьох фізіологічних процесах. Наприклад, вони приймають участь у розвитку шоку при панкреатиті, сепсисі і внутрішньосудинній коагуляції. Також є дані, що калікреїн має потужну хемотактичну активність, а кініни сприяють вивільненню цитокінів з моноцитів.

Крім того, кініни виробляються безперервно в різних органах у нормальних фізіологічних умовах. Вони впливають на регуляцію різних фізіологічних функцій, таких як перфузія, секреція і скоротливість гладкої мускулатури в різних органах, таких як слинні залози, потові залози, підшлункова залоза, простата та нирки. Кініни також можуть підвищувати місцевий кровообіг і діурез, а також сприяють продукції оксиду азоту і простацикліну в ендотеліоцитах.

Кініни мають зв'язок з системою згортання крові. Активованний фактор зсідання крові XII, крім участі у коагуляційному процесі, також розщеплює прекалікреїн до активного калікреїну. Калікреїн, в свою чергу, активує фактор зсідання крові XII. Ця взаємодія вказує на можливість активації контактної коагуляції, що може відбуватися при різних станах, таких як артрит, алергічний риніт, діаліз, сепсис, панкреатит та інші.

Зв'язок з системою коагуляції. Відомо, що активований XII фактор зсідання крові не лише забезпечує подальший ферментативний ланцюг в системі коагуляції, а і розщеплює прекалікреї до активного калікреїну. Калікреїн, у свою чергу, як серинова протеаза, поряд з розщепленням кініногенів до кінінів, здатен активувати XII фактор. Зв'язок ККС з системою зсідання крові вказує, що перша може бути активована в процесі контактної коагуляції (як відбувається при артриті, алергічному риніті, діалізі) а також в результаті взаємодії з бактеріальними чи ендогенними протеазами (як при сепсисі, панкреатиті чи операціях на передміхуровій залозі).

Зв'язок ККС з ренін-ангіотензиною системою. Циркулююча ККС має тісний зв'язок з ренін-ангіотензиною системою (РАС) завдяки спільним для них ферментам – плазматичному калікреїну та кініназі II (рис. 30).

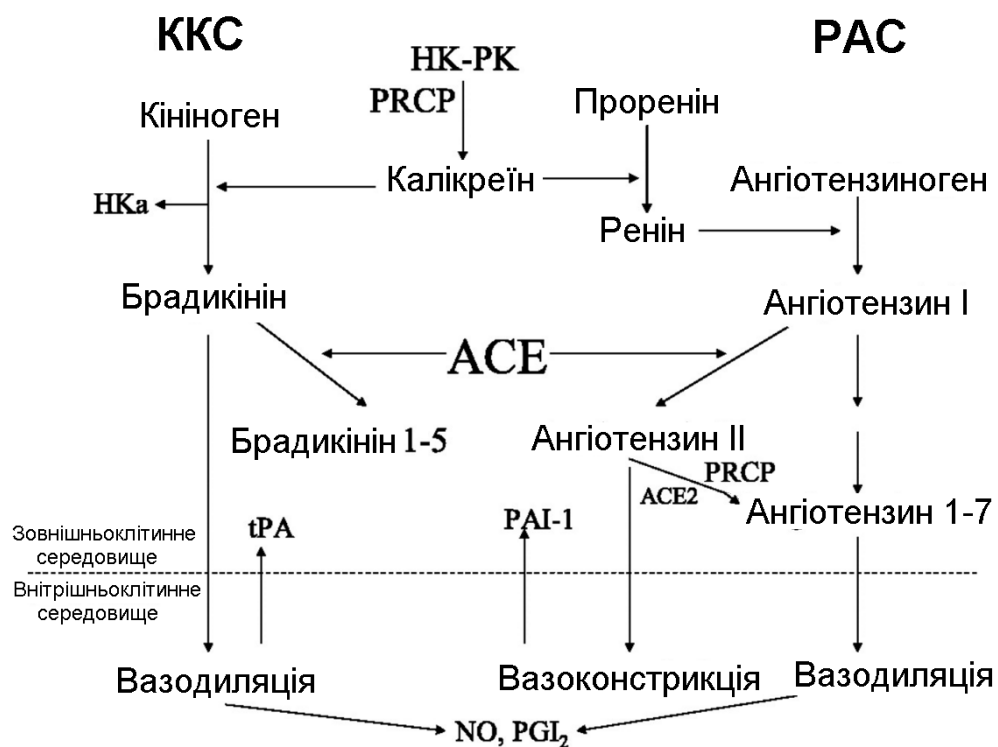


Рис. 30. Взаємозв'язок між ККС і РАС. НК – високомолекулярний кініноген; РК – прекалікреїн; PRCP – пролілкарбоксипептидаза; НКа – кініноген вільний від брадикініну; ACE – ангіотензинперетворюючий фермент або кініназа II; ACE2 – інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту; tPA – тканинний активатор плазміногену; PAI-1 – інгібітор активатора плазміногену 1; PGI₂ – простаглілін.

Калікреїн розщеплює проренін до реніну і цим самим запускає каскад протеолітичних реакцій, кінцевим активним продуктом яких є ангіотензин II – потужний вазоконстриктор (рис. 30). Кініназа II, яка також називається ангіотензинперетворюючим ферментом (АСЕ), забезпечує безпосереднє перетворення неактивного ангіотензину I на ангіотензин II. Таким чином, АСЕ з однієї сторони активує РАС і, тим самим, сприяє підвищенню АТ, а з іншої – деградує кініни до неактивних метаболітів, нівелюючи їх гіпотензивний ефект.

Дослідження кінін-потенціюючого ефекту змійних отрут дозволило відкрити перші інгібітори АСЕ. Вони знайшли широке застосування в лікуванні артеріальної гіпертензії. Значна роль кінінів у широкому спектрі активності інгібіторів АСЕ була пояснена, коли стало відомо, що вазодилатуючий ефект брадикініну опосередковується виділенням ендотеліальних медіаторів оксиду азоту (NO) і простагліцину. Зараз це чи не найчисельніша група антигіпертензивних препаратів (близько 15 різновидів інгібіторів АСЕ). Найчастіше їх застосовують у комбінації з тiazидними діуретиками. Поширеною побічною дією інгібіторів АСЕ є сухий кашель, зумовлений накопиченням нерозщеплених кінінів у тканинах легень.

6.3. Стан калікреїн-кінінової системи при різних патологічних процесах

Відомо, що ККС крові є центральною ланкою в комплексі гуморальних систем, що регулює гомеостаз і здійснює адаптивно-захисні реакції організму. ККС активно бере участь у постачанні органів і тканин киснем при гіпоксичних станах. Одним з найважливіших факторів її активації є ішемія тканин. У хворих на залізодефіцитну анемію (ЗДА) має місце активація ККС із залученням інгібіторної ланки. При цьому тип реагування ККС залежить від тривалості захворювання. При незначному терміні ЗДА відзначається активація ККС, що характеризується збереженням зв'язків усередині системи. Тривалий перебіг хвороби сприяє появі патологічного типу

реагування ККС, що свідчить про її гальмування і порушення в системі «протеїназ - інгібітори протеїназ». Лікування, проведене хворим з тривалістю захворювання менше 2 років, веде до нормалізації стану ККС (зі збереженням високої активності α 1-ІІІ у хворих з важким перебігом хвороби).

Зміни ККС у тривало хворих мають більш стабільний характер і зберігаються після проведеного лікування.

Одним із провідних напрямків у дослідженні патології артеріального тиску (АТ) як у дорослих, так і у дітей є вивчення ролі пресорних і депресорних механізмів його регуляції. Серед останніх великий інтерес представляє ККС крові, що обумовлено потужним впливом кінінів на системний артеріальний тиск, діяльність серця, нирок і судин, тісним зв'язком цієї системи з вегетативною нервовою системою (ВНС), простагландинами (ПГ), катехоламінами (КА), системою ренін-ангіотензин та іншими гуморальними факторами регуляції артеріального тиску. Одночасна участь КА, серотоніну, гістаміну і кінінів у регуляції тону судин і роботі серця, наявність взаємозв'язку між компонентами кінінової системи і ангіотензином, ПГ і кортикостероїдами дозволяють навіть говорити про «баланс медіаторів», що визначає регуляцію гомеостазу в організмі. Вплив кінінів на тонус судин залежить і від реологічних властивостей крові, оскільки кініни відіграють важливу роль у здійсненні корекції між факторами, що регулюють рідинний склад крові й тонус судин. Інакше кажучи, фізіологічна сутність кінінів полягає у приведенні тону судин у відповідність з реологічним станом крові. Найважливішим фізіологічним регулятором ККС є рівень функціональної активності ВНС. У фізіологічних умовах превалюють гіпотензивні ефекти кінінів. У системі центральної гемодинаміки фізіологічна роль брадикініну полягає в обмеженні гіпертензивної дії ангіотензину і КА. Підвищений інтерес до проблеми судинних дистоній зумовив збільшення публікацій, присвячених етіології і патогенезу патологічних відхилень АТ.

Більш ніж у 80% дітей з артеріальною гіпотензією виявлено активацію ККС крові, у той час як для дітей із артеріальною гіпертензією активація ККС

не характерна. Результати роботи дозволяють здійснювати адекватну терапію судинних дистоній у дітей. Подібна інформація представляє безперечний інтерес, оскільки дозволяє охарактеризувати з патогенетичних позицій порушення системного та регіонального кровотоку у витоків їх виникнення – в дитячому і підлітковому віці, надаючи можливість раннього впровадження заходів первинної та вторинної профілактики виявленої патології та проведення адекватної терапії.

Більшість дослідників визнають обов'язковим реагування ККС при вірусному гепатиті, при цьому найбільш стабільною ознакою служить зниження вмісту в крові попередника калікреїну. Зниження рівня прекалікреїну може бути як результатом активації системи з його витрачанням при утворенні калікреїну, так із порушенням його синтезу ураженої печінкою. Основним інгібітором трипсину і трипсиноподібних протеїназ, що забезпечує 90% антитрипсичної активності сироватки крові, є $\alpha 1$ -антитрипсин ($\alpha 1$ -АТ або $\alpha 1$ -інгібітор протеїназ), синтез якого здійснюється печінкою в ендоплазматичному ретикулумі гепатоцитів. Спадковий дефіцит $\alpha 1$ -АТ призводить до розвитку хронічних захворювань печінки.

Найбільш прийнятною гіпотезою механізму ураження печінки при недостатності $\alpha 1$ -АТ є нездатність органу запобігти цитолітичній дії протеаз різного походження (вірусних, бактеріальних, що утворюються з елементів запального інфільтрату). Під дією цих протеаз із уражених гепатоцитів звільняються нові ферменти, що підсилюють ураження печінки, таким чином виникає ланцюгова реакція. При вірусних гепатитах виявлено істотне підвищення в крові рівня $\alpha 1$ -АТ, посилення функціональної активності $\alpha 1$ -МГ і С-1 інактиваторів, що має важливе значення в розвитку адаптаційних реакцій. При кількісній або функціональній недостатності інгібіторів протеїназ виявлено прогресуючий перебіг гепатиту, розвиток гострої печінкової недостатності.

Активация ККС є універсальною реакцією на пошкодження, в тому числі й структурної дезорганізації клітинних мембран внаслідок активації перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). Продукт активації ККС, вазоактивний пептид брадикінін, є патогенетичним фактором розвитку багатьох захворювань, що викликають вазодилатацію, набряк, біль, порушення мікроциркуляції. Активність ККС регулюється інгібіторами протейназ, тому зниження активності основних інгібіторів призводить до неконтрольованої активації цієї системи. Активация ККС може вказувати на несприятливий перебіг менінгококової інфекції та менінгококкового менінгіту у дітей, інших бактеріальних і вірусних інфекцій, а також бронхіальної астми, алергічних реакцій. У роботах з вивчення ККС у новонароджених здорових дітей, хворих із енцефалопатією, хронічним пієлонефритом, ожирінням, метаболічним синдромом, цукровим діабетом 1 типу також зазначено, що підвищення активності ККС може бути маркером зниження адаптивних властивостей організму.

ГЛАВА 7. ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ ЕРИТРОЦИТІВ

7.1. Особливості будови і диференціювання еритроцитів

В 1658 році молодий голландський біолог Сваммердам першим описав еритроцити крові жаб. Левенгук в 1674 році дав більш точний мікроскопічний опис еритроцитам, вказавши навіть їх розмір «в 25000 разів менші, ніж найдрібніше зерно піску». У 1901 році Карл Ландштейнер опублікував своє відкриття трьох основних груп крові: А, В і С (які він пізніше перейменував в О). Він описав візерунки, які проявляються при змішуванні сироватки з еритроцитами, що дало змогу ідентифікувати сумісні і суперечливі поєднання між цими групами крові. Через рік Альфред фон Декастело і Адріано Стюрлі виявили четверту групу крові – АВ. У 1959 році з використанням рентгенівської кристалографії, доктор Макс Перутц зміг розгадати структуру гемоглобіну, який переносить кисень.

Будова еритроцитів. Тривалість життя еритроцитів людини становить у середньому 120 діб; руйнування їх відбувається в клітинах ретикуло-ендотеліальної системи. На відміну від більшості клітин організму, у еритроцитів відсутні клітинне ядро, рибосоми і мітохондрії.

Дисковидна форма еритроцитів має велику площу поверхні в порівнянні з клітинами сферичної форми такого ж розміру. Це полегшує газообмін між клітиною і позаклітинним середовищем. Крім того, така форма, а також особливості будови мембрани і цитоскелету забезпечують більшу пластичність еритроцитів при проходженні ними дрібних капілярів. Важливу роль у збереженні форми і здатності до оборотної деформації еритроцитів відіграють ліпіди і білки плазматичної мембрани.

Ліпіди бішару плазматичної мембрани еритроцитів, так само, як і плазматичні мембрани інших клітин, містять гліцерофосфоліпіди, сфінгофосфоліпіди, гліколіпіди і холестерол. Підвищення вмісту холестеролу у складі клітинних мембран при деяких захворюваннях призводить до зменшення їх плинності, а, відповідно, ускладнює можливість їхньої

оборотної деформації. Це може утруднити прохід еритроцитів через судини і може сприяти розвитку гемостазу, тобто процесу зупинки кровотечі.

Методом електрофорезу в мембрані еритроцитів виявляють близько 15 основних мембранних білків з молекулярною масою від 15 до 250 кД. Близько 60% маси мембранних білків припадає на спектрин, глікофорин і білок смуги 3 (називається так по розташуванню цієї білкової фракції на електрофореграмі щодо інших білків). Інтегральний глікопротеїн глікофорин присутній тільки в плазматичній мембрані еритроцитів. До N-кінцевої частини білка, розташованої на зовнішній поверхні мембрани, приєднано близько 20 олігосахаридних ланцюгів.

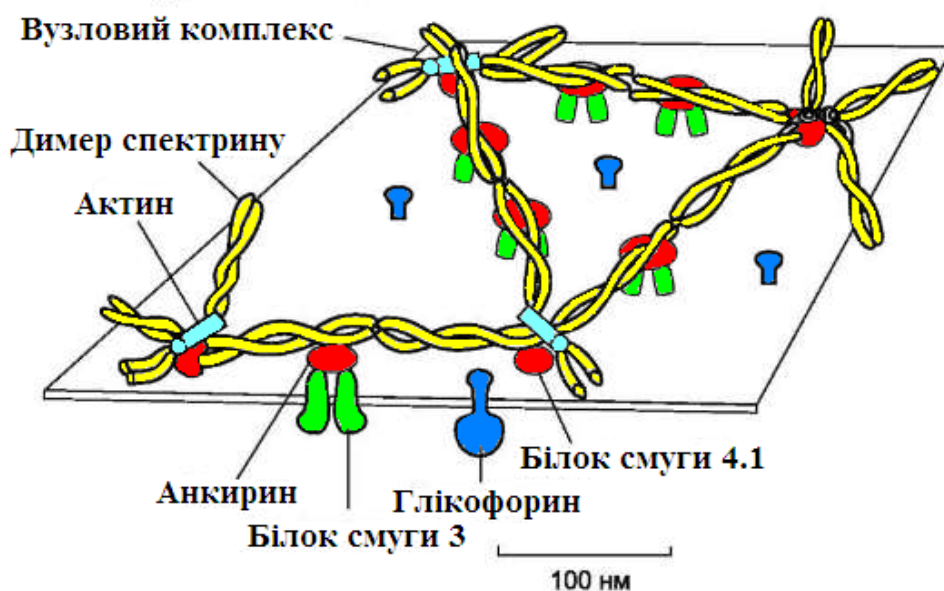


Рис. 31. Будова цитоскелету еритроцитів

Кожен димер спектрину представляє собою два α - і β -поліпептидних ланцюги, які розташовані паралельно один до одного, але не утворюють ковалентних зв'язків між собою. Білок смуги 4.1 взаємодіє зі спектрином і актином, створюючи так званий «вузловий комплекс». Цей комплекс, за допомогою білка смуги 4.1, спільно зв'язується з цитоплазматичним доменом глікофорину, виконуючи важливу роль у клітинних процесах. Анкирин з'єднує спектрин з основним інтегральним білком плазматичної мембрани – білком

смуги 3. Олігосахариди глікофору – антигенні детермінанти системи груп крові ABO (рис. 32).

Міжнародне товариство переливання крові в даний час визнає 29 основних систем груп крові. Дві найважливіші класифікації груп крові людини – це система ABO (рис. 32) і резус-система. Однак, у мембрані червоних кров'яних клітин людини знаходиться більше ніж 300 різноманітних антигенних детермінантів. Молекулярна структура цих детермінантів задована у відповідних генах, розташованих на певних ділянках хромосоми. Хоча точна кількість цих генетичних алелей і локацій наразі не повністю відома. Отже, на додаток до відомих антигенів системи ABO і Rh-фактору, існує значна кількість інших антигенів, які розташовані на поверхні еритроцитів.

Група крові	Антигени на мембрані еритроцитів (RBC)	Антитіла в плазмі
O (I)	 RBC немає ні A ні B антигенів	 "анти-A" і "анти-B"
A (II)	 A антигени	 "анти-B"
B (III)	 B антигени	 "анти-A"
AB (IV)	 A і B антигени	немає ні "анти-A" ні "анти-B" антитіл

Рис. 32. Групи крові людини

Наприклад, у однієї людини може бути комбінація різних характеристик крові. Наприклад, вона може мати групу AB, бути RhD-позитивною, одночасно бути M- і N-негативною в системі MNS, K-позитивною за системою

Kell і бути Lea- або Leb-негативною в системі Lewis. Ця комбінація різних антигенних систем у людей може призвести до різних груп крові.

Ці системи отримали свої назви від пацієнтів, у яких спочатку виявили відповідні антитіла. Ці антитіла є розчинними глікопротеїнами, що містяться в сироватці крові, і вони використовуються імунною системою для розпізнавання та видалення чужорідних об'єктів.

Спектрин – периферичний мембранний білок, нековалентно пов'язаний з цитоплазматичною поверхнею ліпідного бішару мембрани. Він являє собою довгу, тонку, гнучку фібрилу і є основним білком цитоскелету еритроцитів. Спектрин складається з α - і β -поліпептидних ланцюгів, що мають доменну будову; α - і β -ланцюги димеру розташовані антипаралельно, перекручені один з одним і нековалентно взаємодіють у багатьох точках. Спектрин може прикріплюватися до мембрани і за допомогою білка анкирину. Цей великий білок з'єднується з β -ланцюгом спектрину і цитоплазматичним доменом інтегрального білка мембрани – білка смуги 3 анкирином не тільки фіксує спектрин на мембрані, а й зменшує швидкість дифузії білка смуги 3 в ліпідному шарі. Таким чином, на цитоплазматичній поверхні еритроцитів утворюється гнучка сітковидна структура, яка забезпечує збереження їх форми при проходженні через вузькі капіляри судин.

Інтегральний білок смуги 3 – білок-переносник іонів Cl^- і HCO_3^- через плазматичну мембрану еритроцитів за механізмом пасивного антипорту.

Мембранний фермент Na^+, K^+ -АТФ-аза забезпечує підтримку градієнту концентрацій Na^+ і K^+ по обидві сторони мембрани. При зниженні активності Na^+, K^+ -АТФ-ази концентрація Na^+ в клітині підвищується, так як невеликі іони можуть проходити через мембрану простою дифузією. Це призводить до збільшення осмотичного тиску, збільшенню надходження води в еритроцит і до його загибелі в результаті руйнування клітинної мембрани - гемолізу.

Ca^{2+} -АТФ-аза – ще один мембранний фермент, який здійснює виведення з еритроцитів іонів кальцію і підтримуючий градієнт концентрації цього іона по обидві сторони мембрани.

Диференціювання еритроцитів. Еритроцити, так само як і інші клітини крові, утворюються з поліпотентних стовбурових клітин кісткового мозку.

Розмноження і перетворення початкової клітини еритроїдного ряду в уніпотентну стимулює ростовий фактор інтерлейкін-3. Інтерлейкін-3 синтезується Т-лімфоцитами, а також клітинами кісткового мозку. Це низькомолекулярний білок групи цитокінів – регуляторів росту і диференціювання клітин.

Подальшу проліферацію і диференціювання уніпотентної клітини еритроїдного ряду регулює гормон еритропоетин, що синтезується в нирках. Швидкість утворення еритропоетину в нирках залежить від парціального тиску кисню. При нестачі кисню швидкість утворення гормону підвищується і, відповідно, кількість еритроцитів теж збільшується. Хронічна ниркова недостатність супроводжується зниженням утворення еритропоетину в нирках, що призводить до розвитку анемії.

В процесі диференціювання на стадії еритробластів відбуваються інтенсивний синтез гемоглобіну, конденсація хроматину, зменшення розміру ядра і його видалення. Утворений ретикулоцит ще містить глобінові мРНК і активно синтезує гемоглобін. Циркулюючи в крові ретикулоцити позбавляються рибосом, ЕР, мітохондрій і протягом двох діб перетворюються на еритроцити. Стовбурова клітина перетворюється в еритроцит за два тижні. Еритроцити не містять ядра і тому не здатні до самовідтворення і репарації виникаючих в них пошкоджень. Ці клітини циркулюють в крові близько 120 днів і потім руйнуються макрофагами в печінці, селезінці і кістковому мозку (рис. 33).

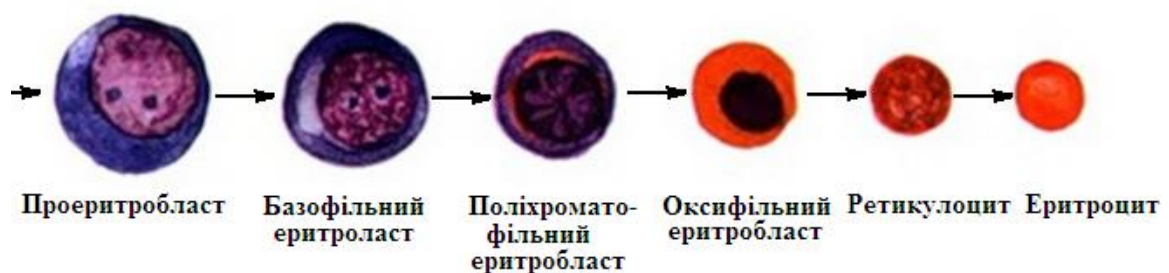


Рис. 33. Диференціювання еритроцитарного ряду

7.2. Енергетичний обмін

Особливістю метаболізму еритроцитів в порівнянні з іншими клітинами є те, що в них провідним механізмом отримання енергії є гліколіз і пентозофосфатний шунт. Крім традиційного ПФШ і гліколізу у еритроцитів багатьох ссавців є свій специфічний шунт – 2,3-дифосфогліцератний. В еритроцитах присутня дифосфогліцератмутаза, яка активується дефіцитом кисню і каталізує перетворення 1,3-дифосфогліцерату в 2,3-дифосфогліцерат в обхід фосфогліцераткіназної реакції гліколізу. В умовах гіпоксії до 20% глюкози йде цим шляхом. Утворюється 2,3-дифосфогліцерат зменшує спорідненість гемоглобіну до кисню, що сприяє переходу кисню з гемоглобіну в тканини. Далі 2,3-дифосфогліцерат під дією 2,3-дифосфогліцератфосфатази (прийнято вважати, що цією активністю володіє фосфогліцератмутаза) перетворюється в 3-фосфогліцерат, яка повертається в гліколіз. При 2,3-дифосфогліцератному шунті в гліколізі не синтезується АТФ, а вільна енергія 1,3-дифосфогліцерат, розсіюється у формі теплоти. Це може мати свої позитивні моменти, адже гліколіз може продовжуватися, навіть якщо потреба в АТФ дуже невелика.

У еритроцитах спостерігається активний метаболізм глюкози, в них присутні близько 100 ферментів. Основним феноменом, пов'язаним із старінням еритроцитів *in vivo*, є зниження активності важливих ферментів. Стан ферментативної активності еритроцитів має велике клінічне значення.

Основним енергетичним субстратом еритроцитів є глюкоза, яка надходить з плазми крові шляхом полегшеної дифузії. Гліколіз в зрілих еритроцитах виконує наступні функції:

- 1) в реакціях гліколізу утворюється АТФ шляхом субстратного фосфорилування. Основний напрямок використання АТФ в еритроцитах – забезпечення роботи Na^+ , K^+ -АТФази. Цей фермент здійснює транспорт іонів Na^+ з еритроцитів в плазму крові, перешкоджає накопиченню Na^+ в еритроцитах і сприяє збереженню геометричної форми цих клітин крові (двовгнутий диск).

2) в реакції дегідрування гліцеральдегід-3-фосфату в гліколізі утворюється НАДН. Даний кофермент виступає в ролі коферменту для ферменту метгемоглобінредуктази, який активно долучається до процесу перетворення метгемоглобіну назад у гемоглобін згідно реакції:



Ця реакція перешкоджає накопиченню метгемоглобіну в еритроцитах.

3) метаболіт гліколізу 1,3-дифосфогліцерат здатний за участі ферменту дифосфогліцератмутази в присутності 3-фосфогліцерату перетворюватися на 2,3-дифосфогліцерат, який бере участь в регуляції спорідненості гемоглобіну до кисню. Його вміст у еритроцитах підвищується при гіпоксії. Гідроліз 2,3-дифосфогліцерату каталізує фермент дифосфогліцератфосфатаза.

Приблизно 10% глюкози, споживаної еритроцитом, використовується в пентозофосфатному шляху окислення. Реакції цього шляху служать основним джерелом НАДФН для еритроцитів. Даний кофермент необхідний для перетворення окисленого глутатіону у відновлену форму. Дефіцит ключового ферменту пентозофосфатного шляху – глюкозо-6-фосфатдегідрогенази – супроводжується зменшенням в еритроцитах відношення НАДФН/НАДФ⁺, збільшенням вмісту окисленої форми глутатіону і зниженням резистентності клітин (гемолітична анемія).

В еритроцитах існує два пула АТР: пов'язаний з мембраною і цитозольний. Показано, що внутрішньоклітинний АТР викликає структурні перебудови мембран еритроцитів, які, зокрема, проявляються в захисті деяких фосфоліпідів і їх бішару від дії фосфоліпаз. Вважають, що натрій чутливий компонент Na⁺,K⁺-АТФази активується всередині мембранним пулом, а магній чутливий – цитозольним.

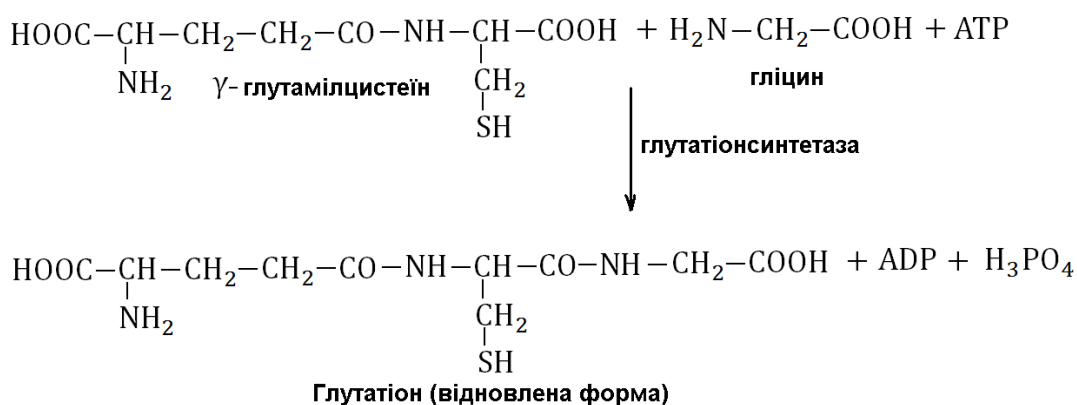
Контроль за станом цитоскелета мембран і функціональним станом еритроцита реалізується через процеси фосфорилування білків, що, в свою чергу, визначає форму клітин і їх здатність до деформації. Цю реакцію каталізує фермент спектриназа, її активність залежить від іонів магнію. Гнучка рухливість мембран еритроцитів заснована на зв'язуванні кальцію (в мкМ

концентраціях) і магнію (в мМ) зі спектрином. Залежність морфології еритроцитів від фосфорилування мембранних білків проявляється і при патологічних процесах. Значну роль може відігравати не тільки гальмування активності Na^+, K^+ -АТФази, але і АТР-залежні зміни метаболізму ліпідів в клітинах.

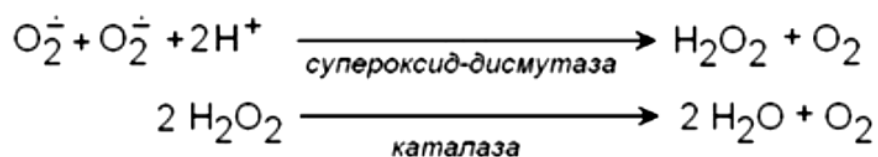
7.3. Механізми знешкодження активних форм кисню в еритроцитах

Молекулярний кисень в певних умовах може перетворюватися на активні форми, до яких відносяться супероксидний аніон O_2^- , пероксид водню H_2O_2 , гідроксильний радикал $\text{OH}^\bullet$ і синглетний кисень $^1\text{O}_2$. Ці форми кисню володіють високою реакційною здатністю, можуть чинити шкідливу дію на білки і ліпіди біологічних мембран, викликати руйнування клітин. Чим вищий вміст O_2 , тим більше утворюється його активних форм. У еритроцитах наявні ефективні антиоксидантні системи, які здатні знешкоджувати активні форми кисню.

Важливим компонентом антиоксидантних систем еритроцитів є трипептид глутатіон, що утворюється в результаті взаємодії γ -глутамілцистеїну і гліцину:



Еритроцитарні супероксиддисмутаза і каталаза здійснюють наступні перетворення:



Антиоксидантні системи мають для еритроцитів особливе значення, так як в еритроцитах не відбувається поновлення білків шляхом синтезу.

Крім того в еритроцитах присутня велика кількість фосфоліпідів, що легко окислюються. При активації пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) внаслідок збільшення пасивної проникності для іонів калію і натрію, і порушення осмотичного балансу знижується тривалість життя цих клітин. ПОЛ порушують вибірккову проникність клітин. При гіпоксії еритроцитарна мембрана стає більш щільнішою і крихкою. У мембрані еритроцитів присутній токоферол, який обмінюється з вітаміном Е плазми, однак, при накопиченні в біологічній системі ПОЛ рівень токоферолу знижується аж до повного зникнення. Неензиматичне руйнування пероксидів в еритроцитах здійснюється за участю гему, який при цьому переходить в метгемоглобін. В результаті неповного окислення поліненасичених жирних кислот збільшується концентрація малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів, що є характерним для еритроцитів.

ТЛУМАЧНИЙ СЛОВНИК ТЕРМІНІВ

Аланінамінотрансфераза – фермент, який каталізує перенесення аміногрупи від L-аланіну до α -кетоглутарату.

Алкалоз – порушення кислотно-основного стану організму, характеризується підвищенням вмісту лугів у крові і підвищенням рН ($\text{pH} > 7,43$).

α -Амілаза – фермент, що гідролізує внутрішні 1,4- α -глікозидні зв'язки крохмалю, глікогену та інших полімерів глюкози.

Амінотрансферази (трансамінази) – ферменти з групи трансфераз, що переносять групи атомів, які містять азот.

Анемія – захворювання, що характеризуються низьким транспортним потенціалом кисню крові, через низьку кількість еритроцитів або ненормальні червоні кров'яні тілця або гемоглобін.

Аспартатамінотрансфераза – фермент, який каталізує зворотнє перенесення альфа-аміногрупи між аспартатом та глутаматом.

Ацидоз – порушення кислотно-основного стану організму, в крові з'являється відносний або абсолютний надлишок кислот, при цьому спостерігається зниження рН крові ($\text{pH} < 7,37$).

α_1 -Антитрипсин – це глікопротеїн, головною функцією якого є пригнічення еластази – ферменту, що гідролізує еластин (один з основних білків сполучної тканини).

Ванабінс – металопротеїн, зв'язаний з йонами ванадію і здатний переносити кисень. Ванабінс зустрічається в деяких асцидій і покривників.

ВЖК – вільні жирні кислоти, які використовуються тканинами та органами в якості енергетичного матеріалу. Вміст СЖК в крові підвищується при голодуванні, цукровому діабеті, після введення адреналіну і глюкокортикоїдів; знижується при гіпотиреозі, після введення інсуліну.

Гаптоглобіни (Hr) – глікопротеїни, біологічною функцією яких є зв'язування вільного гемоглобіну, що вивільняється при внутрішньосудинному гемолізі.

Гемоглобін (Hb, від *haima* – кров і *globus* – куля) – складний залізовмісний білок еритроцитів тварин і людини, здатний зворотно зв'язуватися з киснем, забезпечуючи його перенесення до тканин.

Гемоліз – надмірний розпад червоних кров'яних клітин.

Гемоеритрин – це залізовмісний негемовий білок крові деяких морських безхребетних і кількох видів кільчастих червів, який здатний переносити кисень в крові. Має рожеве або фіолетове забарвлення, коли є окисленим.

Гемопексин (Р-глобулін) – білок, який зв'язує вільний гем гемопротейнів (гемоглобіну, міоглобіну, каталази) та транспортує його в клітини РЕС печінки для реутилізації.

Гемоціанін – це кисеньзв'язуючий білок крові багатьох членистоногих і молюсків, в структурі гему якого замість йонів заліза містяться йони міді, в результаті чого він має синій колір.

γ-Глутамілтрансфераза – фермент, який передає гамма-глутамілфункціональні групи.

Гіпопротеїнемія – зменшення загального білка плазми та окремих білкових фракцій.

Гіперпротеїнемія – збільшення загального білка плазми та окремих білкових фракцій.

Диспротеїнемії – це зміни співвідношення окремих білкових фракцій при нормальному вмісті загального білка плазми крові, носять як набутий, так і спадковий характер.

Екскреторні ферменти – це ферменти, які синтезуються в печінці, підшлунковій залозі, слизовій оболонці кишечника. Поява цих ферментів у крові пов'язана з природною руйнацією клітинних структур, у яких вони утворюються (лужна фосфатаза, лейцинамінопептидаза, ентерокіназа, ГГТП, трипсин, ліпаза та ін.).

Еритрокруорин – гігантський вільно плаваючий білок крові багатьох кільчастих, що містить багато десятки субодиниць, пов'язаних між

собою в єдиний комплекс білка з молекулярною масою понад 3,5 мільйона Дальтон.

Еритропоез – утворення і розвиток еритроцитів.

Еритроцити – високоспеціалізовані клітини, основною функцією яких є транспорт кисню.

Імуноглобуліни (антитіла) – група білків, що виробляються у відповідь на потрапляння в організм чужорідних структур (антигенів).

Індикан (калієва або натрієва сіль індоксилсірчаної кислоти) – це речовина, яка утворюється в печінці як результат знешкодження одного з продуктів гниття білків у кишечнику – індолу.

Індикаторні (клітинні, маркерні) ферменти – це ферменти, які локалізовані в клітинах тканин, потрапляють у кров у результаті фізіологічного старіння та руйнації клітин або в результаті підвищення проникливості клітинних мембран. У нормі клітинні ферменти у крові мають невелику активність та не виконують специфічних функцій. Активність цих ферментів зростає при ураженні органів, коли спостерігається потужна руйнація клітинних мембран.

Інтерферони – це глікопротеїни, молекулярною масою близько 26 кДа, які володіють видовою специфічністю і виробляються в клітинах у відповідь на проникнення в них вірусів.

Калікреїн-кінінова система (ККС) – група білків крові, що відіграють роль у регуляції судинного тону, діурезу, запалення, коагуляції і рецепції болю.

Кисла фосфатаза – фосфатаза, яка використовується для відщеплення фосфорильних груп з інших молекул в процесі травлення.

α_1 -Кислий глікопротеїн (орозомукоїд, AGP – α_1 -acid glycoprotein) – високомолекулярний білок, фізіологічна роль якого до кінця ще не встановлена, але існує точка зору про наявність у нього імуномодуляторних властивостей.

Кобоглобін – синтетичний білок на основі кобальту, хімічно подібний до гемоглобіну або міоглобіну. Так само, як і гемоглобін і міоглобін, кобоглобін здатний зворотньо зв'язувати молекулярний кисень (O_2) при атомі металу.

Креатинін – кінцевий продукт азотистого обміну, утворюється в результаті дефосфорилювання креатинфосфату в м'язах, виводиться з організму нирками.

Креатинкіназа – фермент, який каталізує перетворення креатину і використовує аденозинтрифосфат, щоб утворити фосфокреатин і аденозиндифосфат.

Кров – рідка сполучна тканина, яка забезпечує безперервний взаємозв'язок між органами та системами організму.

Лактатдегідрогеназа – цинквмісний фермент, який каталізує зворотнє перетворення лактату в піровиноградну кислоту.

Легоглобін – гемопротеїн азотфіксуючих бульбичкових бактерій бобових рослин, який є азот- або кисень-носієм. Його функція полягає у забезпеченні киснем дихаючих симбіотичних бактеріальних клітин способом, аналогічним до того, як гемоглобін транспортує кисень до дихаючих тканин у тварин.

Лейкопоез – утворення і розвиток лейкоцитів.

Ліпази – ферменти, які каталізують гідроліз жирів (ліпідів).

ЛПВЩ – ліпопротеїни високої щільності або α -ліпопротеїни (0,2-0,25 г/л) – містять значну кількість фосфоліпідів, а також холестерин та триацилгліцероли.

ЛПДНЩ – ліпопротеїни дуже низької щільності або пре- β -ліпопротеїни (1,3-2,0 г/л), які містять значну кількість триацилгліцеролів, а також фосфоліпіди та холестерин.

ЛПНЩ – ліпопротеїни низької щільності або β -ліпопротеїни (2,1-4,0 г/л) – основна транспортна форма холестерину.

Лужна фосфатаза – гідролаза, яка відповідає за видалення фосфатних груп з багатьох типів молекул, в тому числі нуклеотидів, білків і алкалоїдів.

α_2 -Макроглобулін (АМГ, α_2 -сіромукоїд) – білок α_2 -глобулінової фракції, універсальний сироватковий інгібітор протеїназ, вміст якого в крові найвищий, порівняно з іншими протеїназними інгібіторами, складаючи в середньому 2,5 г/л.

β_2 -Мікроглобулін (β_2 -МГ) – низькомолекулярний білок поверхневих антигенів клітинних ядер.

Міоглобін – мономерний білок м'язів тварин, який подібний до гемоглобіну, але не виявляє кооперативні взаємодії і використовується для зберігання кисню, а не транспортування.

Парапротеїнемії – стан, коли наявні паталогічні гамма-глобуліни РІg в плазмі крові, які секретуються пухлинними клітинами системи В-лімфоцитів та в нормі не виявляються.

Плазма крові – однорідна каламутна (іноді майже прозора) жовтувата рідина, яка збирається у верхній частині посудини з кров'ю після осадження формених елементів.

Піноглобін – порфіриновий білок, в основі якого містяться йони марганцю, здатний переносити кисень. Виявлений в молюска *Pinna squamosa*.

Поліцитемія – захворювання, що характеризуються надлишком червоних кров'яних тілець.

С-Реактивний білок (CRP) – це глікопротеїд, який отримав назву завдяки здатності вступати в реакцію преципітації з С-полісахаридом пневмококів.

Секреторні (плазмоспецифічні) ферменти – це ферменти, які синтезуються в печінці, виділяються у кров, де виконують певні фізіологічні функції (ферменти системи згортання крові, фібринолізу, холінестераза, церулоплазмін, протеази ренін-ангіотензинової та калікреїнової систем тощо).

Середньомолекулярні пептиди – це речовини з молекулярною молярною масою 0,3-5 кДа, які не осаджуються трихлороцтовою кислотою (ТХО) і входять до фракції залишкового азоту крові.

Трансферин (Tf) – це глікопротеїн плазми, який синтезується в печінці і є основним транспортером іонів заліза.

Тромбоцит – утворення і розвиток тромбоцитів.

Тропонін Т – один із скорочувальних білків м'язів.

α -фетопротейн (АФП, α -Fetoprotein) – глікопротеїн сироватки крові, який починає вироблятися на 5-му тижні розвитку плоду. За будовою АФП подібний до альбумінів і виконує аналогічну функцію в організмі плода.

Фібриноген (фактор I) – гексамерний глікопротеїн, який допомагає у формуванні тромбів.

Хіломікрони – основна транспортна форма триацилгліцеролів.

Хлорокруорин – це кисеньзв'язуючий білок крові багатьох кільчастих. Він дуже подібний на еритрокруорин, але гем істотно відрізняється за своєю структурою. Може мати зелене (дезоксигенована форма) або червоне (окислена форма) забарвлення.

Холестерол – обов'язковий ліпідний компонент біологічних мембран, попередник стероїдних гормонів, вітаміну D₃, жовчних кислот.

Холінестераза – це фермент класу гідролаз. В організмі людини визначаються 2 види холінестераз: ацетилхолінестераза, псевдохолінестераза. Ацетилхолінестераза розщеплює ацетилхолін, а псевдохолінестераза гідролізує як холін, так і нехолінові ефіри.

Церулоплазмін – головний мідьвмісний металопротеїн крові.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Біологічна і біоорганічна хімія : у 2 кн.: підручник. Кн. 2. Біологічна хімія / Ю.І. Губський, І.В. Ніженковська, М.М. Корда та ін.; за ред. Ю.І. Губського, І.В. Ніженковської. – 3-є вид. – К.: ВСВ “Медицина”, 2021. – 544 с.
2. Біохімія людини: підручник / Я. І. Гонський, Т. П. Максимчук ; За ред. Я.І. Гонського. – 3-тє вид., випр. і доп. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2019. – 732 с.
3. Біологічна хімія: навч. посіб. / Л. І. Гребеник, Л. О. Прімова, Н. М. Іншина, І. В. Чорна, С.А. Гончарова; за заг. ред. Л. І. Гребеник. – Суми: СумДУ, 2023. – 380 с.
4. Біологічна хімія / О.Я. Скляров.- Тернопіль: Укрмедкнига, 2020.- 706 с.
5. Біохімічний склад рідин організму та їх клініко-діагностичне значення за ред. професора О.Я. Склярова, вид.К.: “Здоров’я”, 2004.-191 с.
6. Біохімічні показники у нормі і при патології. Навчальний довідник / За ред. Склярова О.Я. – К.: Медицина, 2007. – 320 с.
7. Боєчко Л.Ф., Боєчко Л.О. Основні біохімічні поняття, визначення та терміни: Навч. посібник. – К.: Вища шк., 1993. – 528 с.
8. Гребеник Л.І., Висоцький І.Ю. Біохімія крові. – Суми: СумДУ, 2011.
9. Гонський Я.І., Максимчук Г.П. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001.
10. Клінічна біохімія: Підручник / Д.П. Бойків, Т.І. Бондарчук, О.Л. Іванків та ін.; За ред. О.Я. Склярова. – К.: Медицина, 2006. – 432 с.
11. Клінічна біохімія : підручник / за заг. ред. Г. Г. Луньової.-К. : Атіка, 2013. – 1156 с.
12. Кучеренко М.Є. Сучасні методи біохімічних досліджень. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 424 с.
13. Левчин А.М. Калікреїн-кінінова система – універсальний компонент біохімічного гомеостазу // Перспективи медицини та біології. – Т. 5, №1, 2013. – С. 14-18.
14. Остапченко Л.І. Біохімія: підручник. К.: ВПЦ "Київський університет", 2012. – 796 с.

15. Тарасенко Л. М. Функціональна біохімія : підручник / Л. М. Тарасенко, В. К. Григоренко, К. С. Непорада. – 2-ге вид., доп. – Вінниця: Нова Книга, 2007. – 384 с.
16. Функціональна біохімія: Навч. посіб. / А.Л. Загайко, Л.М.Вороніна, М.В. Волощенко та ін. – НФаУ, 2010. – 220 с
17. Хмелевский Ю.В., Усатенко С.К. Основные биохимические константы человека в норме и при патологии. – К.: Здоров'я, 1987.
18. Agostoni A., Cugno M. The kinin system: biological mechanisms and clinical implications // *Recenti Prog Med.* – 2001. – V. 92. – P.764-773.
19. Berg J.M. et al. *Biochemistry* (5th Ed.) – Frreman, 2002. – 1515 p.
20. Bhoola K.D., Figueroa C.D. and Worthy K. Bioregulation of kinins: Kallikreins, kininogens, and kininases // *Pharmacological Reviews.* – 1992. – V. 44. – P. 1-80.
21. Jensen F.B. Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation-linked phenomena in blood O₂ and CO₂ transport // *Acta Physiol. Scand.* – 2004. – V. 182, N3. – P. 215-227.
22. Suckale J., Solimena M. Pancreas islets in metabolic signaling - focus on the β -cell // *Nature Precedings.* – 2008. DOI: 10.1038/npre.2008.1724.2
23. Rao N.M. *Medical Biochemistry* / N. M. Rao. – 2 nd ed. – New Age International, 2006. – 837 p.
24. Van Kampen E.J, Zijlstra W.G. Standardization of hemoglobinometry. II. The hemoglobincyanide method / E.J. Van Kampen,. *Clin. Chim. Acta.* – 1961. – Vol. 6. – P. 538.
25. Zhang H., Jay Forman H., Choi J. γ -Glutamyl Transpeptidase in Glutathione Biosynthesis. Gluthione Transferases and Gamma-Glutamyl Transpeptidases. – 2005. – P. 468–483. doi:10.1016/s0076-6879(05)01028-1