#### Военно-медицинская академия Кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики

#### Биохимия соединительной ткани

#### План

- 1. Основные функции соединительной ткани. Морфологическая и биохимическая характеристика компонентов ткани. Особенности аминокислотного состава, и физико-химических свойств основных структурных белков.
- 2. Биосинтез коллагена, образование фибриллярных структур.
- **3**. Гликозаминогликаны основного вещества, строение, биосинтез, биологическая роль, продукты распада..
- **4.** Специфические черты метаболизма соединительной ткани, гормональная регуляция.
- 5. Понятие о коллагенозах и мукополисахаридозах.
  Химический состав костей.
- 6. Биохимические тесты в диагностике заболеваний соединительной ткани.

#### Введение

Соединительная ткань составляет примерно 50% от массы тела. В состав соединительной ткани входит: компактная кость и хрящ, сухожилия, фасции, кожа, строма паренхиматозных органов, нейроглия, стенка сосудов и др. . Особенностью морфологического состава соединительной ткани является сравнительно небольшое количество клеточных элементов в ней (фибробласты, макрофаги, «тучные» клетки, и др.). Однако, для соединительной ткани характерно наличие своеобразных волокнистых структур (коллагеновые, эластиновые, ретикулиновые волокна). В то же время соединительная ткань богата обилием межклеточного вещества, основу которого составляют протеогликаны. С возможностью нарушений обмена соединительной ткани врачам-клиницистам приходится считаться при дифференциальной диагностике патологии этой ткани, особое место среди которых занимают коллагенозы. Среди многочисленных теорий механизма развития коллагенозов наибольшее признание получила теория инфекционно-аллергического происхождения, а нозологические формы были названы иммунокомплексными болезнями.

### 1.Химический состав соединительной ткани

 В состав соединительной ткани входит вода (63%.) и плотные вещества (37%). Главным компонентом плотного вещества является белок коллаген (85%), а также эластин (4,4%) и ретикулин (0,5%). Альбумины и глобулины составляют 0,6%. Другими компонентами плотного вещества являются гликозоаминогликаны (ГАГ -3,5) и липиды (2,8%). Экстрактивные вещества составляют 3,2%, а неорганические - 0,5% от общего количества.

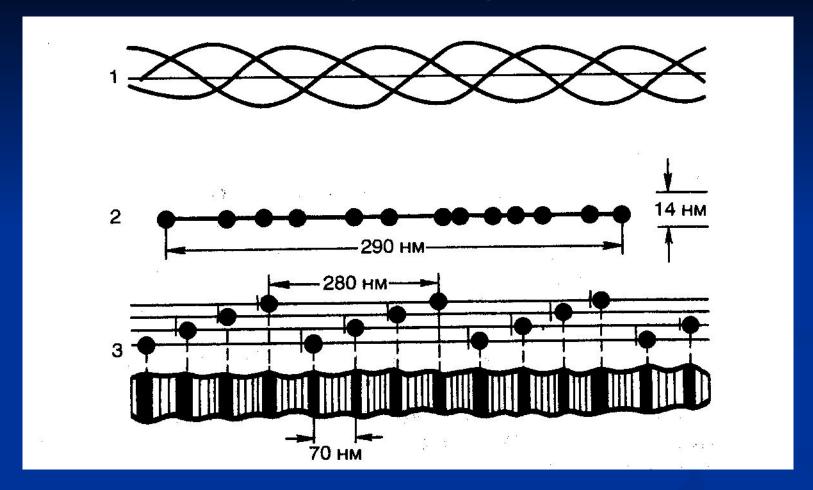
#### Химический состав соединительной ткани (в % на свежий вес).

Состав	% (ахилово сухожилие)
H <sub>2</sub> O	63
Плотные в-ва	37
Коллаген	85,1
Эластин	4,4
Ретикулин	0,5
ΓΑΓ	3,5
Липиды	2,8
Альбумины	0,6
Глобулины	0,5
Неорганические в-ва	0,5
Экстрактные в-ва	3,2

#### 2. Белки соединительной ткани

• а) Коллаген. Характеристика первичной структуры тропоколлагена, т.е. аминокислотного состава. На долю глицина приходится 33%, аланина 11%, пролина и оксипролина 21%, лизина и оксилизина 1-3%. В составе первичной структуры коллагена метионина, отсутствуют цистеин и триптофан. Вторичную и третичную структуру тропоколлагена составляет трехцепочная молекула, в которой 2 цепи одинакового аминокислотного состава, а 3-я с небольшим отклонением (немного более аминокислот на каждую цепь).

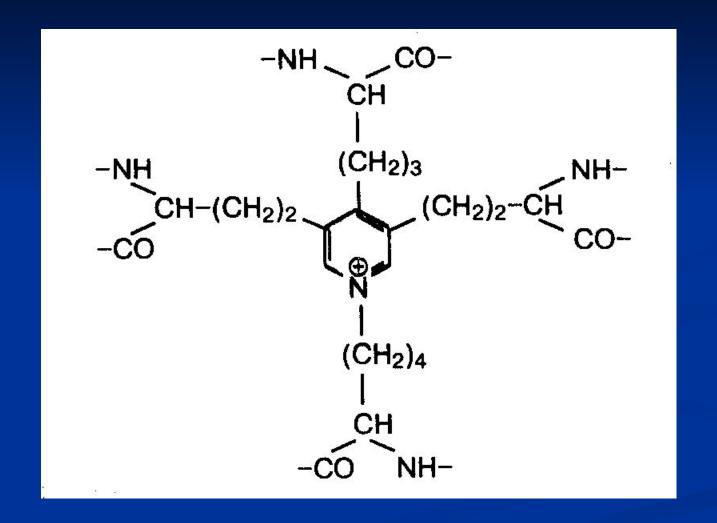
#### Коллаген



- 1 -третичная структура;
- 2 -молекула тропоколлагена;
- 3 -коллагеновое волокно.

- б) Эластин. В состав первичной структуры проэластина входят необычные аминокислоты (десмозин, лизиннорлейцин).
- в)Свойства белков соединительной ткани. Существенными свойствами являются эластичность, прочность, волокнистость, плохая растворимость в воде, устойчивость к денатурации, плохая перевариваемость в желудочно-кишечном тракте, антигенность, а также биологическая неполноценность этих белков из-за особого аминокислотного состава.

#### Десмозин



<u>г).</u> Синтез и распад коллагена. Синтез тропоколлагена (проколлагена) осуществляется из протоколлагена с участием лизина пролингидрокилаз, а также при высоком р02, высокой концентрации ионов Fe+2, витамина С и альфа-кетоглутарата в среде. Происходит гидроксилирование лизина и пролина, а затем их гликозилирование. После этого происходит «сборка» 3-х цепочной молекулы тропоколлагена, а затем суперспирализация, с участием ГАГ, в фибриллы коллагена. Распад коллагена осуществляется специфическим ферментом коллагеназой, которая «разрушает» сразу три пептидные цепи на 1/4 расстояния от С-конца между глицином и лейцином

#### Обмен и распад коллагена.

- Время полужизни (Т1/2) недели месяцы.
- Скорость биосинтеза и деградации сбалансированы.
- Распад специальный фермент коллагеназа («разрезает» сразу 3 пептидные цепи тропоколлагена па <sup>1</sup>/<sub>4</sub> расстояния от С-конца между глицином и лейцином).

- Образующиеся фрагменты, растворимые в воде, легко гидролизуются пептидами. Различают более 10 типов коллагена, из которых наиболее важны 4 типа коллагена: 1 тип - коллаген сухожилий, связок, II тип хрящей, Ш тип - кровеносных сосудов, кожи, кишечника и IV тип - коллаген базальных мембран.
- д) **Протеогликаны.** Белки промежуточного вещества. В их состав входят гликозоаминогликаны (ГАГ-95%) и белки альбумины и глобулины (5%)

**ГАГ**. Структура ГАГ (димеры, повторяющиеся). Различают ГАГ: гиалуроновая кислота, хондроитинсерная кислота, хондронтин-4-сульфат, хондронтин-6-сульфат, дерматансульфат, кератансульфат, гепарансульфат, гепарин. В состав большинства ГАГ входят уроновые кислоты (глюкуроновая или идуроновая) и другим компонентом димера, являются гексозоамины. Молекулярная масса (104-109). Биологическая роль ГАГ: активное связывание воды, двухвалентных катионов (Ca<sup>++</sup> и Mg<sup>++</sup>), участвуют в образовании фибрилл и, наоборот, в деградации хиломикронов (гликопротеидов), обладают антикоагулянтным свойством (гепарин), являются факторами агрегации клеток. Синтез и распад ГАГ осуществляется в ЭР фибробластов с участием УТФ, ацетил КоА, ФАФС и других метаболитов. Распад ГАГ регулируется ферментами лизосом фибробластов.

#### Строение ГАГ

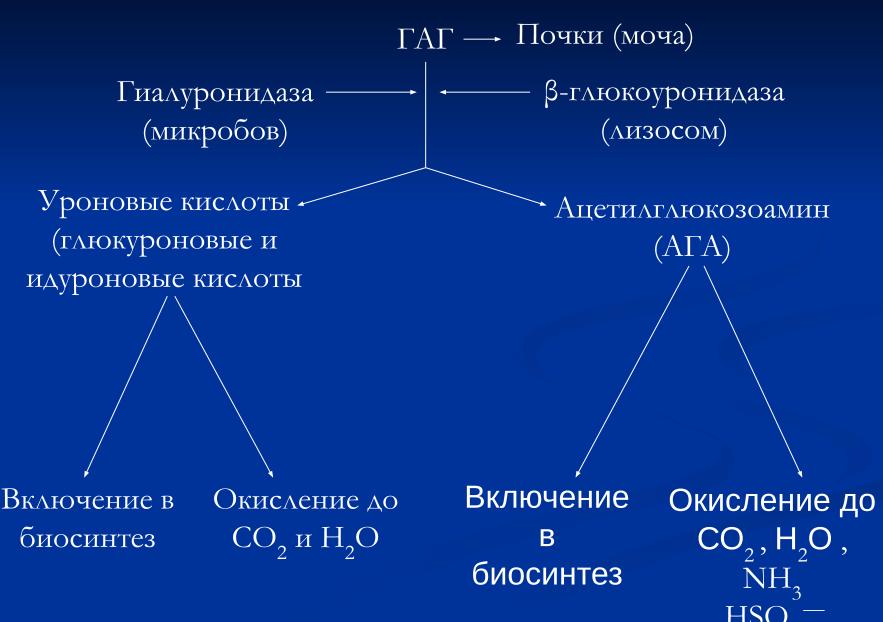
	Дисахаридные	
ГАГ	Гексауроновые	Гексазаминовые
Гиалуроновая к-та	Глюкуроновая	N-ацетил-глюкозамин
Хондроитин-4-;-6-сульфат	Глюкуроновая	N-ацетил-глюкозамин
Дерматан-сульфаты	Идурановая	N-ацетил-глюкозамин
Кератан-сульфаты	*Галактоза	N-аглюк. Сульфат
Гепаран-сульфаты	Глюкуроновая	N-аглюк. Сульфат
Гепарин	Глюкуроновая	N-аглюк. Сульфат

<sup>\*-</sup> не уроновая кислота

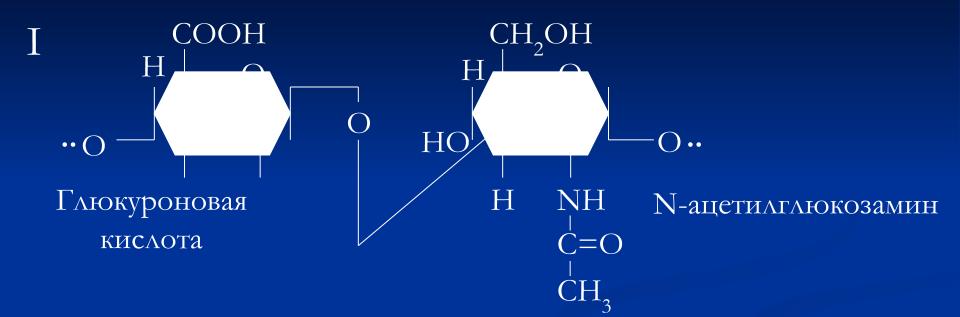
# Синтез гликозамингликанов (фибробласты эритроцитов)



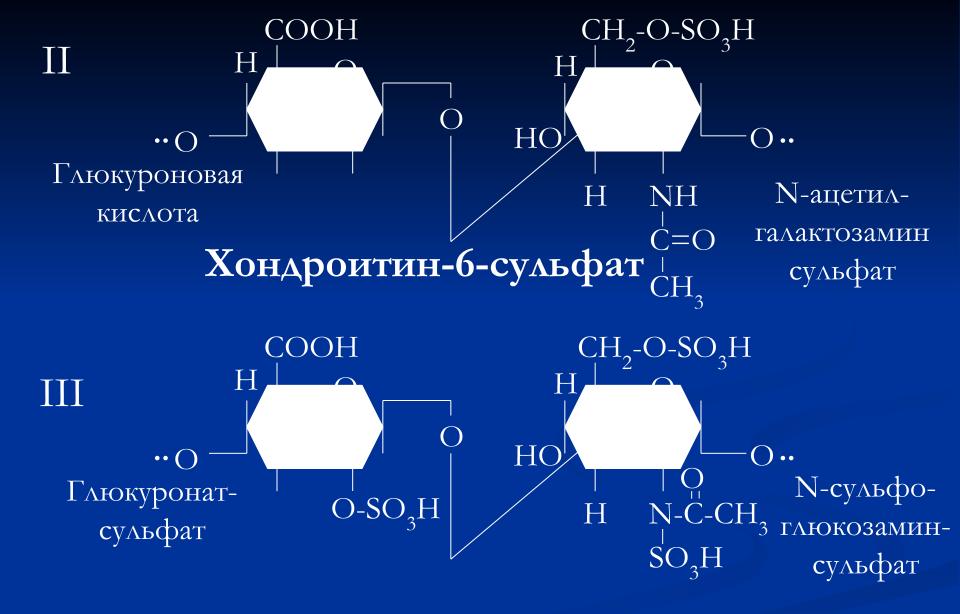
#### Распад ГАГ



#### Глюкозамингликаны



Гиалуроновая кислота



Гепарин

#### 3. Клетки соединительной ткани.

- Биологическая роль в обмене.
- Фибробласты. В ЭР фибробластов происходит синтез коллагена и протеогликанов. Важную роль играют фибробласты в клеточном иммунитете. Вырабатывают фибронектин, стимулирующий фагоцитарную активность «Тучных» клеток. Синтезируют гепарин, гистамин, серотонин, ДОФамин. Участвует в аллергических реакциях. Связывают IgE.
- Плазматические клетки. Осуществляют синтез иммуноглобулинов (Ig G, A, M, E, D), участвуют в защитных реакциях организма.

#### Клетки соединительной ткани.

#### Фибробласты

- Синтез коллагена и протеингликанов в ЭР.
- Много митохондрий.
- В зоне репарации появляются через 1-2 суток.
- Синтез фибронектина и выброс в среду, в кровь − 330мкг/л.
- Функции фибронектина «наведение» фагоцита на «объект» фагоцитоза.
- Обеспечивает фагоцитарную активность клеточных элементов (не специфическая защита).

#### «Тучные» клетки.

- Синтез гепарина, гистамина, серотонина, ДОФамина.
- Участвует в аллергии, связывают IgE.
- СоставУ х 106(клеток)
- Гепарин 5 ммоль
- Гистамин 300 ммоль
- Серотонин 6 ммоль
- ДОФамин 1 ммоль
- Медл. Реагирующий фактор следы
- Хемотаксический Фактор
  следы
- Антигистаминовые в-ва(тавегил) блокирующие Н1 рецепторы клеток мишеней, препятствуют действию гистамина.

### 4.Регуляция обмена соединительной ткани.

В регуляции синтеза коллагена и ГАГ (протеогликанов) принимают участие гормоны и биологически активные вещества. Ингибиторами синтеза этих белков являются глюкокортикоиды надпочечников. качестве активаторов этих процессов выступают, прежде всего, минералокортикоиды, андрогены (тестостерон) и соматомедин.

### Регуляция обмена соединительной ткани

 $\left(\mathbb{N}\right)$ 

Глюкокортикоиды<br/>Старение организма

### Синтез коллагена и ГАГ протеогликанов

Минералокортикоиды

Андрогены (тестостерон)

Соматомедин – включение Сульфатов в ГАГ (ФАФС)

#### Заключение.

Теоретические представления об обмене соединительной 5 ткани необходимы врачам-клиницистам и лаборантам для дифференциальной диагностики различных нозологических форм коллагенозов, т.е. диффузных воспалительных процессов соединительной ткани (СКВ, дерматомиозит, болезнь Шегрена, болезнь Бехтерева, синдром Рейтера, ревматизм). В практической медицине в лечебных цепях приходится использовать ряд препаратов, способствующих снижению воспалительных реакций соединительной ткани. Необходим контроль биохимическими и серологическими исследованиями, проводимые в клинико-лабораторных отделениях.

#### 5)Коллагенозы.

■ Причиной нарушения обмена соединительной ткани быть врожденный (наследственный) приобретенный тип патологии. Среди врожденных заболеваний обмена соединительной ткани клиницисты чаще встречают различные виды мукополисахаридов и коллагенозов. Приобретенный тип патологии, иначе диффузные болезни соединительной характеризуются общим признаком: развитием диффузного воспалительного поражения соединительной ткани суставов. Употребляемые ранее для обозначения диффузных болезней термины " коллагенозы» Коллагенозные болезни» имеют лишь историческое значение.

## Заболевания соединительной ткани. (Коллагенозы).

#### Включают:

- Системная красная волчанка (СКВ).
- Системная склеродермия.
- Дерматомиозиты (вирус Коксаки).
- Болезнь Шегрена.
- Синдром Рейтера (цитомегаловирус).
- Ревматизм.

Общее название ревматические болезни (РБ).

а. Наследственные болезни соединительной иначе называют «лизосомными ТКАНИ болезнями». Это название связано энзимопатиями лизосомных ферментов, ответственных за своевременный распад гликозоамингликанов (ГАГ) межуточного вещества соединительной ткани. Различают основные четыре типа мукополисахаридозов. 1 тип -синдром Гурлера.

 Причиной развития этого вида патологии является дефект лизосомных ферментов, ответственных за распад дерматанкератансульфатов. П тип-синдром Гутрена, обусловленный дефектом (энзимопатия) лизосомного фермента, разрешающего только дерматансульфанта. Ш тип - синдром Санфилиппо (типы А и В), в основе патологии дефект фермента, разрушающего гепарансульфата. IV тип - синдром Моркио, энзимопатией фермента, разрушающего только кератансульфата.

#### Наследственные коллагенозы

Болезнь	Дефект	Последствия
Несовершенный	проколлаген-а-1	сниж. Колл. Типа I
остеогенез	проколлаген	
I тип	a-2(I)	аномалия фибрил
II тип	a-1(I)	нестаб. Зя спираль
III тип	a-2(I) и a-1(I)	сниж.раств. Прок.І
Синдром Марфана	проколлаген a-2(I)	нар.обр.попер.сшивок
С. Элерса-Данлоса	проколлаген a-1(I)	сниж. Колл. Типа III
Типы с I по IX	лизингидроксила зы	нар.обр.попер.сшивок
		деффицит
Синдром Мекке	проколлаген a-2(I)	лизиноксидазы и наруш. Обр. попер.связей

**б.** <u>Коллагеновые болезни</u>. Современное название этого приобретенного типа патологии «иммунокомплексные болезни». К относят ряд заболеваний, общим признаком которых является диффузное воспалительное поражение соединительной ткани и, суставов, в частности, системную волчанку, системную красную склеродермию, дерматомиозит, болезнь Шегрена.

• Ревматизм также системное воспалительное заболевание соединительной ткани, характеризующееся преимущественной локализацией процесса в сердечно-сосудистой системе, в связи с инфекцией, вызванной бета-гемалитическим стрептокок-ком группы А.

 Ревматизм развивается у предрасположенных к нему лиц, главным образом молодого возраста, у которых предшествуют такие заболевания как ангина, фарингит, ринит, скарлатина. Установлено, что при перечисленных заболеваниях поражается не только коллаген, но и другие компоненты соединительной ткани, в частности, протеогликаны - основное межуточное вещество соединительной ткани.

в. Клинические особенности заболеваний соединительной ткани. Главной клинической особенностью диффузных воспалительных болезней соединительной полисиндромность, т.е. ЯВЛЯСТСЯ ТКАНИ наличие изменений во многих органах и системах: в коже, суставах, мышцах, внутренних органах. Однако, какие из диффузных болезней соединительной ткани характеризуется своеобразной клинической картиной и тестами лабораторной диагностики

# 6.Тесты лабораторной диагностики при заболеваниях соединительной ткани.

- **■** COЭ ↑;
- эритроциты (гиперхромная анемия), ↑,↓;
- ∧ейкоциты (N,↑,↓);
- антитела к стрептококковым антигенам (антистрептолизин-О;
- антигиалуронидаза, антистрептокиназа и др.);
   антинуклеарные факторы (в сыворотке пожилых людей в 15% случаях);

- СРБ (альфа- глобулин )↑;
- <u> Fe↓;</u>
- Cu<sup>†</sup> ;
- комплемент (в большинстве случаев)↑;
- LE клетки<sup>†</sup>;
- $Ig(J,A,M,E)\uparrow;$
- белок в моче (протеинурия) †;
- α1-антитрипсин↑;
- $\alpha 2$  -макроглобулин.  $\uparrow$ ;
- фибриноген, серомедиоид ;
- ревматоидный фактор ↑;

- В суставной жидкости определяют:
- белок ↑;
- ревматоидный фактор<sup>†</sup>;
- лейкоциты<sup>†</sup>;
- фагоциты ↑;
- коллагеназа суставной жидкости и крови ↑;

- а . Клинико-биохимическая диагностика ревматизма ( Р). Для диагностики Р используют понятие о больших и малых критериях болезни.
- К большим критериям относят: кардит, полиартрит, малую хорею, кольцевидную эритему и ревматические узелки.
- К малым критериям: наличие в анамнезе типичной ревматической атаки, ревматического порока сердца, артралгии, лихорадки (повышение температуры тела до 38°С и выше).

- Эритроциты ↓;
- Лейкоциты ↑(сдвиг влево);
- **■** COЭ ↑;
- α2 глобулин(СРБ, церуллоплазмин, гаптоглобин) ↑;
- α1 серомукоид ↑;
- глобулин (IgJ, IgA, IgM) ↑;
- фибриноген ↑;
- гиалуроновая кислота ↑;
- дифениламиновая проба ↑;

- атистрептолизин-О ↑;
- антистрептогиалуронидаза ↑;
- антистрептокиназа ↑;
- оксипролин крови и мочи ↑;
- трансаминазы (АСТ, АЛТ) ↑;
- ΚΦΚ ↑;
- АДГ4 АДГ5 при ревматическом полиартрите
  ↑;
- Гидроксибутиратдегидгогеназа ↑;
- Холинэстераза ↓;

- К малым критериям ревматизма обязательно относят увеличение СОЭ и содержание в крови СРБ, а так же замедление предсердножелудочковой проводимости по данным ЭКГ.
- Диагноз ревматизма ставят: при сочетании 2 больших или 1 большого и 2-х малых критериев при обязательном наличии признаков стрептококковой инфекции

## Этиологические патогенетические факторы развития РБ

- Инфекционные ф-ры (связь с β-гемолитическим стрептококком гр. A).
- Наследственность:
- А. Генетический ф-р в развитии РБ (гены локуса D/DR (DR-2,DR-3,DR-4)).
- Б. Иммунологические аспекты (Иммунологические маркеры, и их связь с локусом R главного комплекса <u>HLA и PБ</u>).
- HLA-антигены поверхностные структуры клеток кодированы генами в бой хромосоме
- Воспаление и нарушение иммунитета в патогенезе РБ.
- Медиаторы воспаления гистамин, кинины, Пг, ПгҮ2,
  , ЛТ, С.

- **6.** Дифференциальная диагностика ревматизма(Р) и системной красной волчанки (СКВ).
- Для СКВ имеется следующий отличительные от ревматизма лабораторные тесты оценки выраженности воспалительной реакции:
- LE-клетки(у 70% больных) в крови, костном мозге, моче;
- Антинуклеарный фактор;

- Антитела к ДНК;
- Гиперпротеинемия;
- Протеинурия(3,5 г/сут);
- γ-глобулины, IgG ↑;
- комплемент (С3) в сыворотке крови (корреллирует с активностью волчаночного нефрита) ↓;
- СОЭ;
- Лейкопения со сдвигом влево, лимфопения;
- Тромбоцитопения;
- $Cu^{++} \uparrow (плазма), Fe \downarrow.$

 Диагноз оценивается на характерной полисиндромности поражений, различных органов и тканей в сочетании специфическими изменениями крови, преимущественно при наличии антиядерных антител и специфичных для СКВ LE-клеток. Наличие антител ІІІ типа свидетельствует в пользу СКВ.

- **в.** Дифференциальная диагностика ревматизма и системной склеродермии.
- Для этого заболевания отличительными и общими методами оценки выраженности воспалительной реакции являются:

- COЭ ↑;
- гиперпротеинемия;
- 🕨 γ-глобулин 📬
- фибриноген ↑;
- CPБ ↑;
- LE клетки (единичные, в отличие от СКВ);
- антитела к ДНК;
- антинуклеарный фактор;
- оксипролин в моче ↑.

Диагноз системной склеродермии преимущественно основывается на полисиндромности воспалительного процесса органов и тканей в сочетании с изменениями в крови: отсутствием лейкопении и тромбоцитопении, единичными LE-клетками (в отличии от СКВ).

- г. <u>Дифференциальная диагностика ревматизма и</u> дерматомиозита.
- Для дерматомиозита характерны как общие, так и отличительные методы оценки выраженности воспалительной реакции:
- лейкоцитоз (или N), эозинофилия, иногда гипохромная анемия;
- COЭ ↑;
- γ-глобулин ↑;
- трансаминазы (АСТ, АЛТ) ↑;
- KΦK↑;
- креатинин в моче ↑.

Диагноз основывается на типичной клинической картине .данных электромиографии .характерных лабораторных показателей и биопсии мышц.

## Заключение

- Следует подчеркнуть, что широко применяемые лабораторные исследования (концентрация фибриногена, серомуколиз, гиалуроновая кислота, дифениламиновая проба и др.), нередко ошибочно называемые ревматическими пробами, отражают лишь степень активности ревматического процесса, но для диагностики особого значения не имеют