

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 гликозаминогликаны (ГАГ -3,5) и липиды (2,8%). Экстрактивные вещества составляют 3,2%, а неорганические - 0,5% от общего количества.

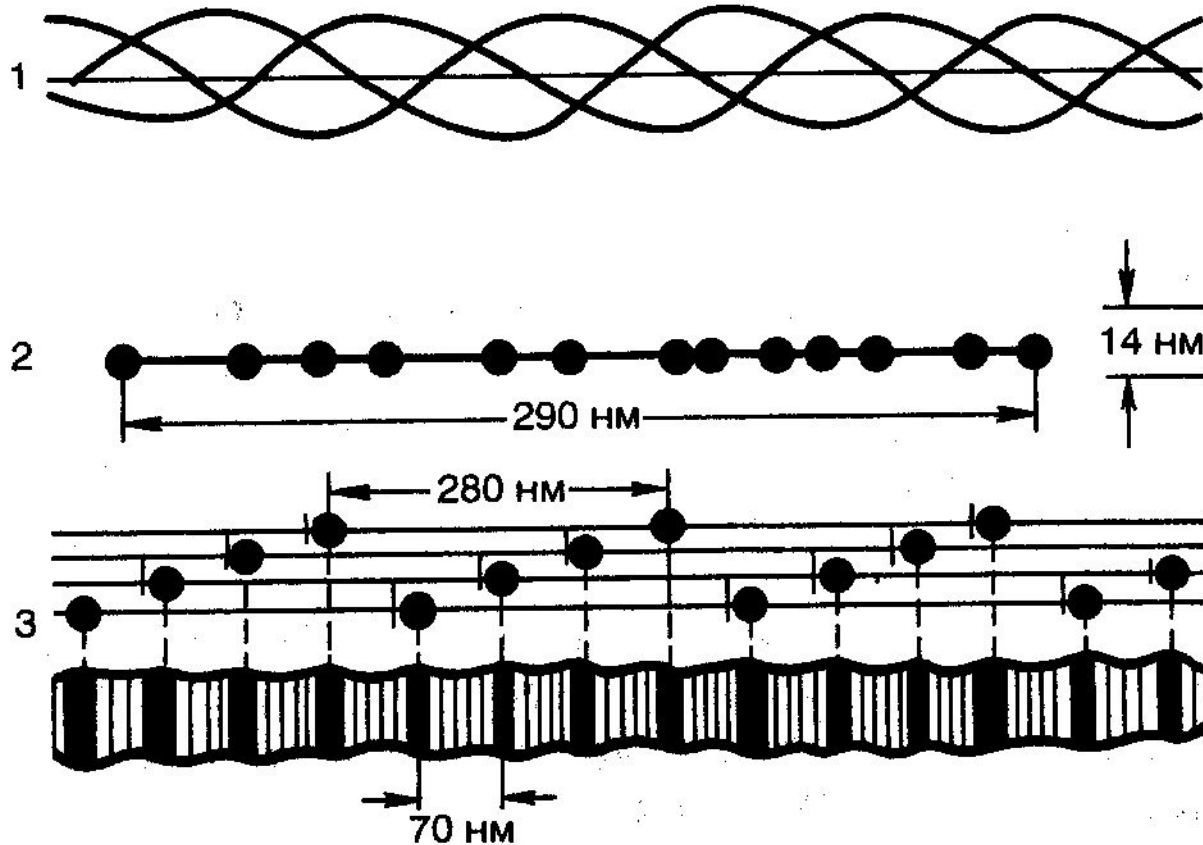
Химический состав соединительной ткани (в % на свежий вес).

Состав	% (ахилово сухожилие)
H ₂ O	63
Плотные в-ва	37
Коллаген	85,1
Эластин	4,4
Ретикулин	0,5
ГАГ	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 мало 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 1000 аминокислот на каждую цепь).

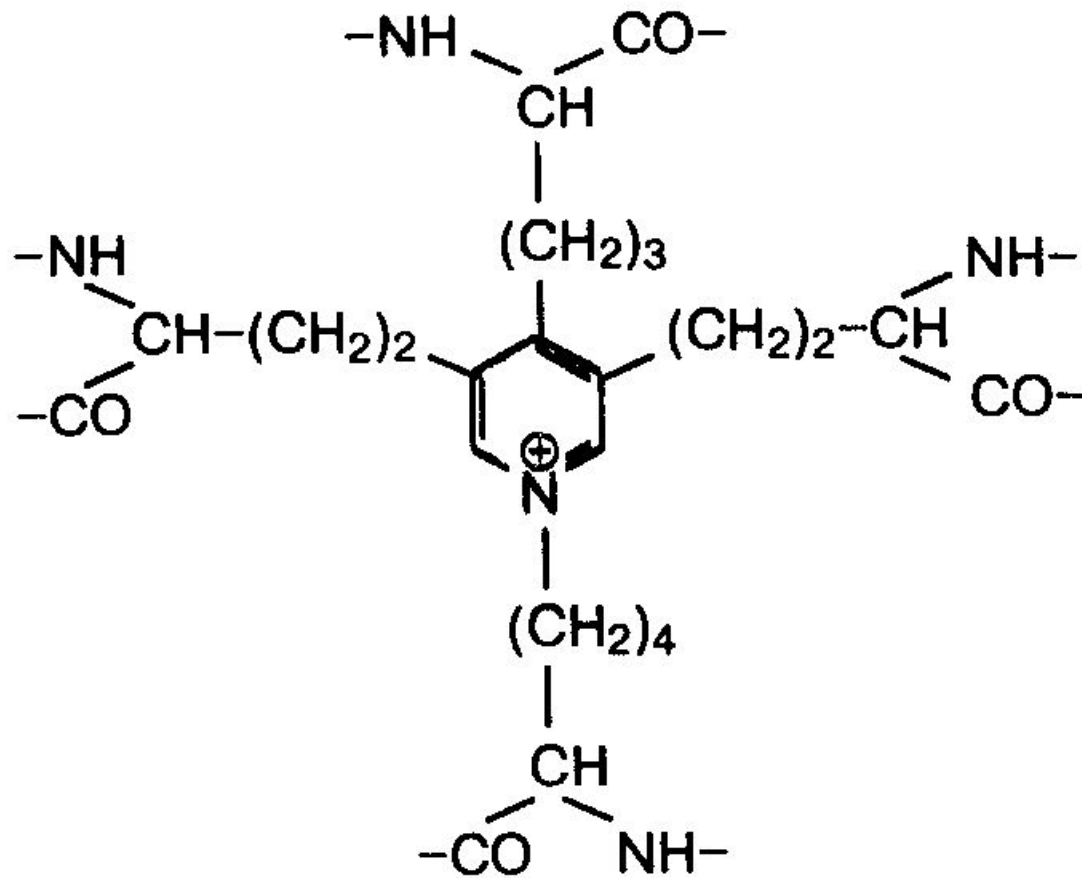
Коллаген



- 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, низкая антигенность, а также биологическая неполноценность этих белков из-за особого аминокислотного состава.

Десмозин



- г). **Синтез и распад коллагена.** Синтез тропоколлагена (проколлагена) осуществляется из протоколлагена с участием лизина и пролингидроксилаз, а также при высоком pO_2 , 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 ($T_{1/2}$) – недели – месяцы.
- Скорость биосинтеза и дегградации сбалансированы.
- Распад – специальный фермент коллагеназа («разрезает» сразу 3 пептидные цепи тропоколлагена на $\frac{1}{4}$ 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: I тип - коллаген сухожилий, связок, II тип - хрящей, III тип - кровеносных сосудов, кожи, кишечника и IV тип - коллаген базальных мембран.
- д) **Протеогликаны.** Белки промежуточного вещества. В их состав входят гликозаминогликаны (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⁺⁺ и Mg⁺⁺), 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

ГАГ	Дисахаридные	
	Гексауроновые	Гексааминовые
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-а.-глюк. Сульфат
Гепаран-сульфаты	Глюкуроновая	N-а.-глюк. Сульфат
Гепарин	Глюкуроновая	N-а.-глюк. Сульфат

*- не уроновая кислота

Синтез гликозамингликанов (фибробласты эритроцитов)



Распад ГАГ

ГАГ → Почки (моча)

Гиалуронидаза
(микробов)

β-глюкоурамидаза
(лизосом)

Уроновые кислоты
(глюкуроновые и
идуроновые кислоты)

Ацетилглюкозамин
(АГА)

Включение в
биосинтез

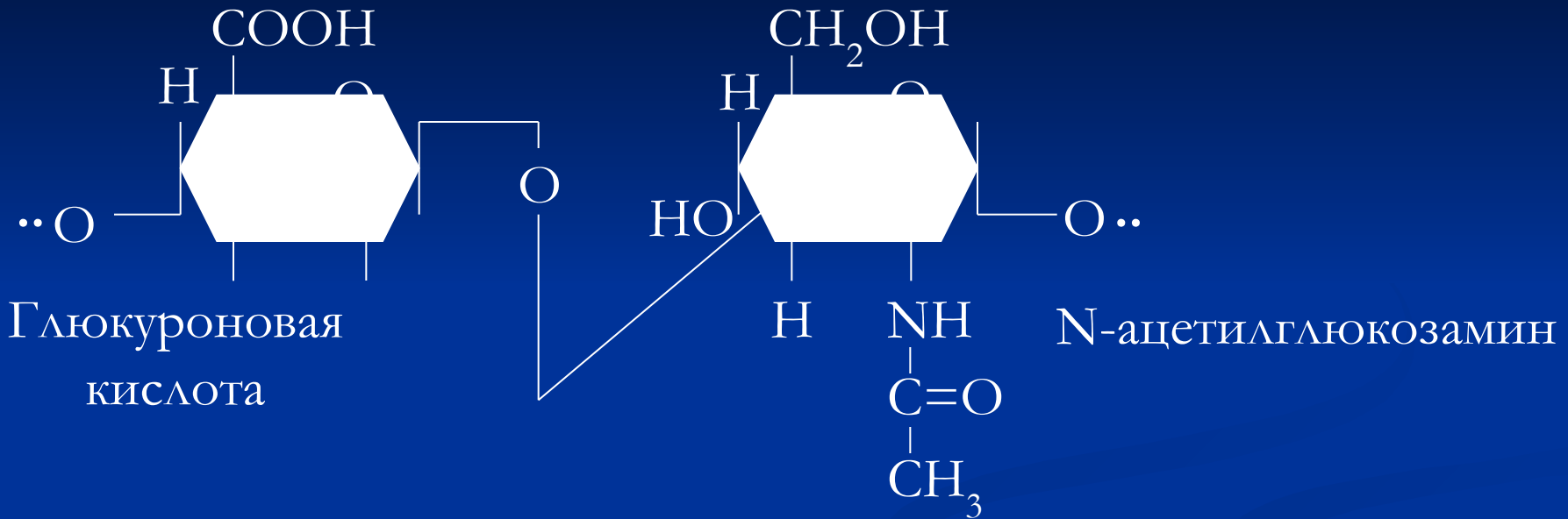
Окисление до
 CO_2 и H_2O

Включение
в
биосинтез

Окисление до
 CO_2 , H_2O ,
 NH_3 ,
 HSO_4^-

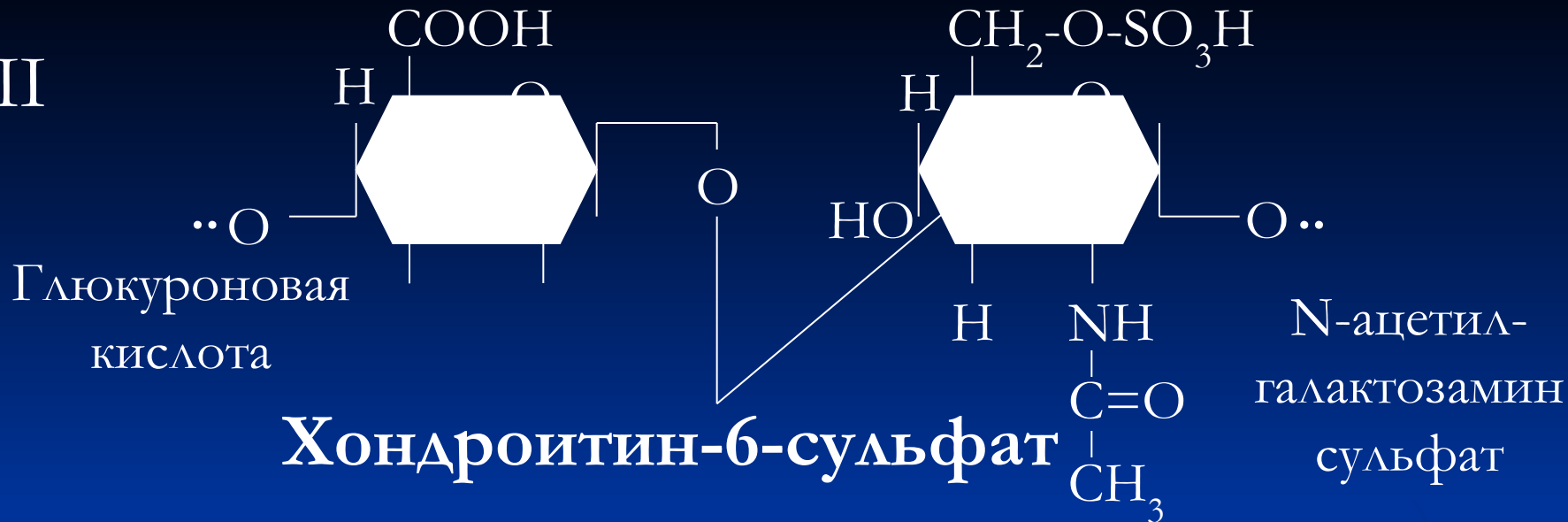
Глюкозамингликаны

I

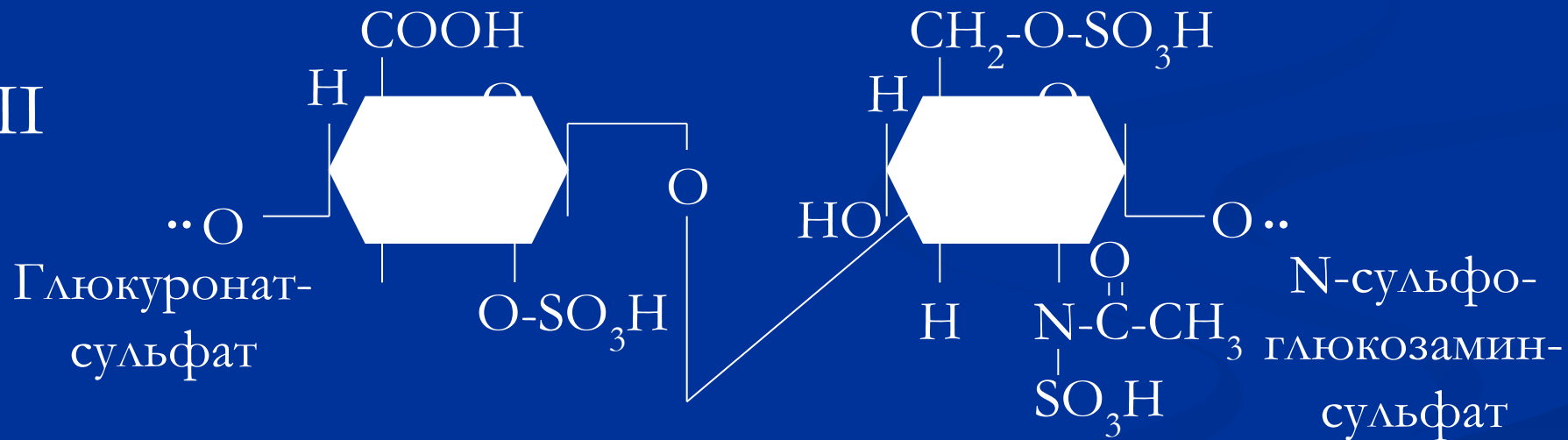


Гликуроновая кислота

II



III



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.
- Состав $Y \times 10^6$ (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 H1 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. В качестве активаторов этих процессов выступают, прежде всего, минералокортикоиды, андрогены (тестостерон) и соматомедин.

Регуляция обмена соединительной

ткани

И

Глюкокортикоиды
Старение организма

Синтез коллагена и ГАГ
протеогликанов

А

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 за биохимическими и серологическими исследованиями, проводимые в клинико-лабораторных отделениях.

5) Коллагенозы.

- Причиной нарушения обмена соединительной ткани может быть врожденный (наследственный) или приобретенный тип патологии. Среди врожденных заболеваний обмена соединительной ткани клиницисты чаще встречают различные виды мукополисахаридов и коллагенозов. Приобретенный тип патологии, иначе диффузные болезни соединительной ткани, характеризуются общим признаком: развитием диффузного воспалительного поражения соединительной ткани и 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 ткани иначе называют «лизосомными болезнями». Это название связано с энзимопатиями лизосомных ферментов, ответственных за своевременный распад гликозоамингликанов (ГАГ) межклеточного вещества соединительной ткани. Различают основные четыре типа мукополисахаридозов. 1 тип - синдром Гурлера.

- Причиной развития этого вида патологии является дефект лизосомных ферментов, ответственных за распад дерматан- и кератансульфатов. II тип-синдром Гутрена, обусловленный дефектом (энзимопатия) лизосомного фермента, разрушающего только дерматансульфата. III тип - синдром Санфилиппо (типы А и В), в основе патологии дефект фермента, разрушающего гепарансульфата. IV тип - синдром Моркио, связанный с энзимопатией фермента, разрушающего только кератансульфата.

Наследственные коллагенозы

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

- б. Коллагеновые болезни. Современное название этого приобретенного типа патологии «иммунокомплексные болезни». К ним относят ряд заболеваний, общим признаком которых является диффузное воспалительное поражение соединительной ткани и, суставов, в частности, системную красную волчанку, системную 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-гемолитическим стрептококком 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 межучточное вещество соединительной ткани.

- в. Клинические особенности заболеваний соединительной ткани. Главной клинической особенностью диффузных воспалительных болезней соединительной ткани является полисиндромность, т.е. 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.

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

- СРБ (альфа- глобулин)↑;
- Fe ↓ ;
- Cu↑ ;
- КОМПЛЕМЕНТ (в большинстве случаев)↑;
- LE - клетки↑;
- Ig(J,A,M,E)↑;
- белок в моче (протеинурия)↑;
- α1-антитрипсин↑;
- α2 -макроглобулин.↑;
- фибриноген, серомедиоид↑;
- ревматоидный фактор ↑;

- В суставной жидкости определяют:
- белок ↑ ;
- ревматоидный фактор ↑;
- лейкоциты ↑;
- 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°C и выше).

- Эритроциты ↓;
- Лейкоциты ↑ (сдвиг влево);
- СОЭ ↑;
- α_2 глобулин (СРБ, церуллоплазмин, гаптоглобин) ↑;
- α_1 серомукоид ↑;
- глобулин (IgJ, IgA, IgM) ↑;
- фибриноген ↑;
- гиалуроновая кислота ↑;
- дифениламиновая проба ↑;

- антистрептолизин-О ↑;
- антистрептогиалуронидаза ↑;
- антистрептокиназа ↑;
- оксипролин крови и мочи ↑;
- трансаминазы (АСТ, АЛТ) ↑;
- КФК ↑;
- ЛДГ4 ЛДГ5 при ревматическом полиартрите ↑;
- Гидроксибутиратдегидрогеназа ↑;
- Холинэстераза ↓;

- К малым критериям ревматизма обязательно относят увеличение СОЭ и содержание в крови СРБ, а так же замедление предсердно-желудочковой 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. А).
- 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 HLA и РБ).
- HLA-антигены – поверхностные структуры клеток – кодированы генами в 6ой хромосоме
- Воспаление и нарушение иммунитета в патогенезе РБ.
- Медиаторы воспаления – гистамин, кинины, Пг, ПгУ2, , АТ, С.

- б. Дифференциальная диагностика ревматизма(Р) и системной красной волчанки (СКВ).
- Для СКВ имеются следующие 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 \uparrow ;
- комплемент (C3) в сыворотке крови
(коррелирует с активностью волчаночного
нефрита) \downarrow ;
- СОЭ;
- Лейкопения со сдвигом влево, лимфопения;
- Тромбоцитопения ;
- $\text{Cu}^{++} \uparrow$ (плазма), $\text{Fe} \downarrow$.

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

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

- СОЭ ↑;
- гиперпротеинемия;
- γ-глобулин ↑;
- фибриноген ↑;
- СРБ ↑;
- 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. Дифференциальная диагностика ревматизма и дерматомиозита.
- Для дерматомиозита характерны как общие, так и отличительные методы оценки выраженности воспалительной реакции:
- лейкоцитоз (или N), эозинофилия, иногда гипохромная анемия;
- СОЭ ↑;
- γ-глобулин ↑;
- трансаминазы (АСТ, АЛТ) ↑;
- КФК ↑;
- 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