

Белки плазмы крови, их биологическая
роль. Методы разделения белков плазмы
крови. Диспротеинемии.

Выполнила студентка
6 курса МБФ
Баёва Елена

-
- В плазме крови содержится 7% всех белков организма при концентрации 60 - 80 г/л.
 - Из 9–10% сухого остатка плазмы крови на долю белков приходится 6,5–8,5%.
 - Белки плазмы крови можно разделить на три группы:
 - ✓ альбумины
 - ✓ глобулины
 - ✓ фибриноген
 - Нормальное содержание альбуминов в плазме крови составляет 40–50 г/л, глобулинов – 20–30 г/л, фибриногена – 2-4 г/л.
 - Синтез белков плазмы крови осуществляется преимущественно в клетках печени и ретикулоэндотелиальной системы

Физиологическая роль белков плазмы крови многогранна:

1. Белки *поддерживают коллоидно-осмотическое давление* и тем самым постоянный объем крови (белки, являясь коллоидами, связывают воду и задерживают ее, не позволяя выходить из кровяного русла)
2. Белки плазмы принимают активное участие в *свёртывании крови*
3. Белки плазмы определяют *вязкость крови*, которая играет важную роль в поддержании гемодинамических отношений в кровеносной системе.
4. Принимают участие в *поддержании постоянного рН* крови, так как составляют одну из важнейших буферных систем.
5. *транспортная функция* - альбумин, транстиретин, транскортин, трансферрин (перенос веществ, лекарственных средств)
6. играют *важную роль в процессах иммунитета* (Иммуноглобулины)
7. В результате образования с белками недиализируемых комплексов *поддерживается уровень катионов* в крови. Например, 40–50% кальция сыворотки связано с белками, значительная часть железа, магния, меди и других элементов также связана с белками сыворотки.
8. Белки плазмы могут служить *резервом аминокислот*

Главные белки плазмы крови (курсивом набраны α_2 -глобулины, жирным шрифтом — β -глобулины)

Белок	Синонимы	Количество в норме мг/дл	М.в., кД	Функции, значение при патологии
Транстретин	Преальбумин	10–40	55	Связывание и перенос Т4 и ретинолсвязывающего белка. Понижается при белковом голодании. Мутантная форма входит в состав амилоида при семейных амилоидных полинейропатиях и старческом амилоидозе
Альбумин		3500–4500	66,2	Основной вклад в онкотическое давление, транспортёр билирубина, анионных лекарств, жирных кислот, альдостерона, триптофана, гема, кальция. Источник аминокислот, утилизируется энтероцитами, почками. Отсутствует при наследственной анальбуминемии. Фракция раздвоена при бисальбуминемии
α_1 -глико-протеид кислый	Орозомукоид	55–140	40	Ингибитор протеаз и антиоксидант, уменьшен при воспалении, повышается при дезорганизации основного в-ва соединительной ткани, стрессе, опухолях
α_1 -антитрипсин		200–400	54	Ингибитор протеаз, противовоспалительный регулятор, понижен при генуинной эмфиземе и первичном билиарном циррозе
α_1 -липопротеиды	ЛПВП + ЛПОВП	340–530	150–380	Транспортёры холестерина, его эфиров и фосфолипидов. Дренажная функция в отношении холестерина тканей. Понижаются при курении, гиподинамии, холестазах, отсутствуют при болезни о-ва Тэнжир, повышены у долгожителей, при умеренном употреблении этанола
α_1 -фетоглобулин	Альфа-фетопротейн	0,001	64	Эмбриональный белок, повышен при гепатомах, тератомах, беременности, гепатите и циррозе. Стимулятор тромбоцитарного фагоцитоза
Ретинолсвязывающий белок	Транстретин	3–6	21	Транспорт ретинола, комплексируется с преальбумином, понижен при белковом голодании
Тироксинсвязывающий белок	ТВГ, тироксин-связывающий глобулин	1–2	58	Связывание и перенос Т4
Транскортин		3–3,5	52	Транспортёр кортизола и кортикостерона
<i>Церулоплазмин</i>		15–60	151	<i>Транспортёр меди и цинка, регулятор обмена меди в печени, антиоксидант, полиаминоксидаза. Понижен при болезнях Коновалова–Вильсона и Менкеса, положительный глобулин острой фазы. Ферроксидаза, блокатор NO-вазодилатации, окислитель ЛПНП, регуля-</i>

Белок	Синонимы	Количество в норме мг/дл	М.в., кД	Функции, значение при патологии
<i>Гаптоглобины</i> 1-1, 2-1, 2-2		100–220 160–300 120–260	100 200 400	<i>Связывают гемоглобин, способствуют его реутилизации, препятствуют потере с мочой, антиоксиданты, повышены при ответе острой фазы, снижены при усиленном внутрисосудистом гемолизе, наследственной гипо(а)гаптоглобинемии</i>
<i>α₂-макроглобулин</i>	Серомукоид	150–420	725	<i>Антиоксидант, ингибитор эндопептидаз и фибринолиза, повышен при ответе острой фазы и у детей, при нефротическом синдроме. Связывает инсулин</i>
<i>Интер-α-трипсиновый ингибитор</i>		20–70	160	<i>Антипротеаза, понижает фибринолиз</i>
Трансферрин	Сидерофилин	200–320	76,5	Транспортёр железа в макрофаги, легкодоступное депо железа, прооксидант, отрицательный глобулин острой фазы. Понижен при атрансферринемии, печёночной недостаточности. Повышен при железодефиците и беременности
Гемопексин	Цитохромо-филин	50–100	57	Связывает гем, способствует его реутилизации. Антиоксидант. Положительный глобулин острой фазы, понижен при усиленном гемолизе
β₂-микроглобулин		0,2	11,8	Компонент белков ГКГС I класса, антиоксидант
C-реактивный белок		< 1	118	Положительный глобулин острой фазы, антиоксидант, прямая бактерицидная активность в отношении <i>S. pneumoniae</i>. Опсонин, хемоаттрактант
β₁Е-глобулин	C4 компонент комплемента	20–50	206	См. т. I стр. 341–348. Медиатор воспаления, эффектор иммунного ответа
Фибриноген	Фактор I	200–400	340	I фактор свёртывания (см. т. I, с. 258–265). Понижен при афибриногенемии, коагулопатии потребления (ДВС-синдром), печёночной недостаточности
Плазминоген	Профибринолизин		143	Предшественник плазмина. (т. I, с. 264–265)
β-липопротеиды	ЛПОНП ЛПНП	130–200 210–400	5000–13000, 2700–4800	Транспорт триглицеридов и холестерина. Повышены при гиперлипопротеинемиях II, III, IV, V типов. Снижены при наследственной абеталипопротеинемии, печёночной недостаточности
γ-глобулин	Иммуноглобулины	700–1500 см. т. I, стр. 402	Разный по классам	Продукты плазматических клеток. Антитела. Повышены при инфекциях, иммунопатологических заболеваниях, снижены при В-клеточной иммунодефиции

Методы разделения белков плазмы

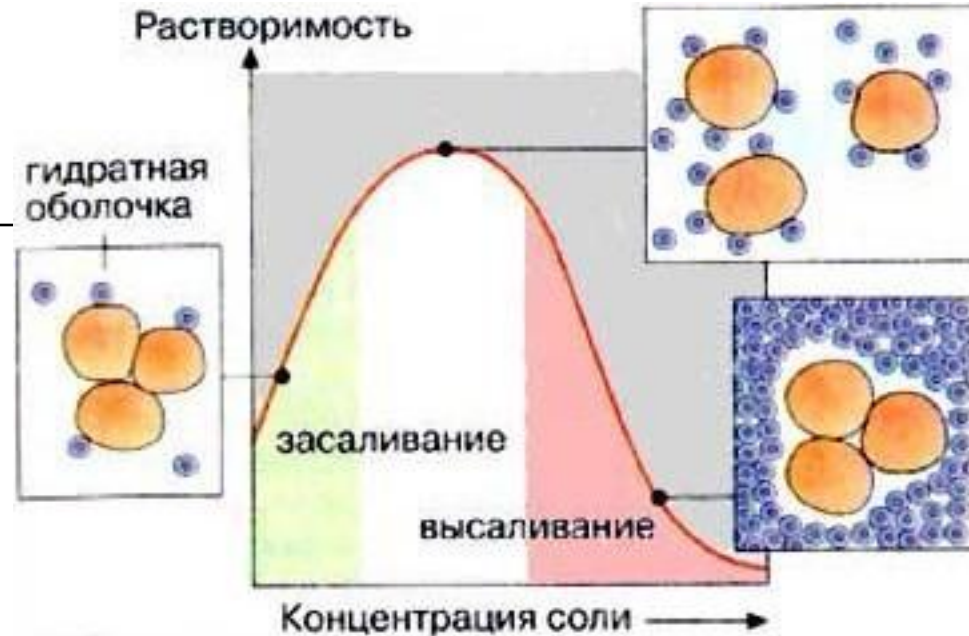
Используя метод *высаливания нейтральными солями*, обнаруживается три фракции : альбумины, глобулины и фибриноген В сыворотке крови здорового человека при *электрофорезе на бумаге* можно обнаружить 5 фракций: альбумины, α_1 -, α_2 -, β -, γ -глобулины. Методом *электрофореза в агаровом геле* в сыворотке выделяют 7– 8 фракций, а при *электрофорезе в крахмальном или полиакриламидном геле* – до 16–17 фракций.

Еще большее число белковых фракций (свыше 30) можно получить методом *иммуноэлектрофореза*. Этот метод подразумевает проведение электрофореза и реакции преципитации в одной среде, т.е. непосредственно на гелевом блоке. При данном методе с помощью серологической реакции преципитации достигается значительное повышение аналитической чувствительности электрофоретического метода.

ВЫСАЛИВАНИЕ

Растворимость белков сильно зависит от концентрации солей (от ионной силы).

В дистиллированной воде белки чаще всего растворяются плохо, однако их растворимость возрастает по мере увеличения ионной силы. При этом все большее количество гидратированных неорганических ионов (светло-синие кружочки) связывается с поверхностью белка и тем самым уменьшается степень его агрегации (засаливание).

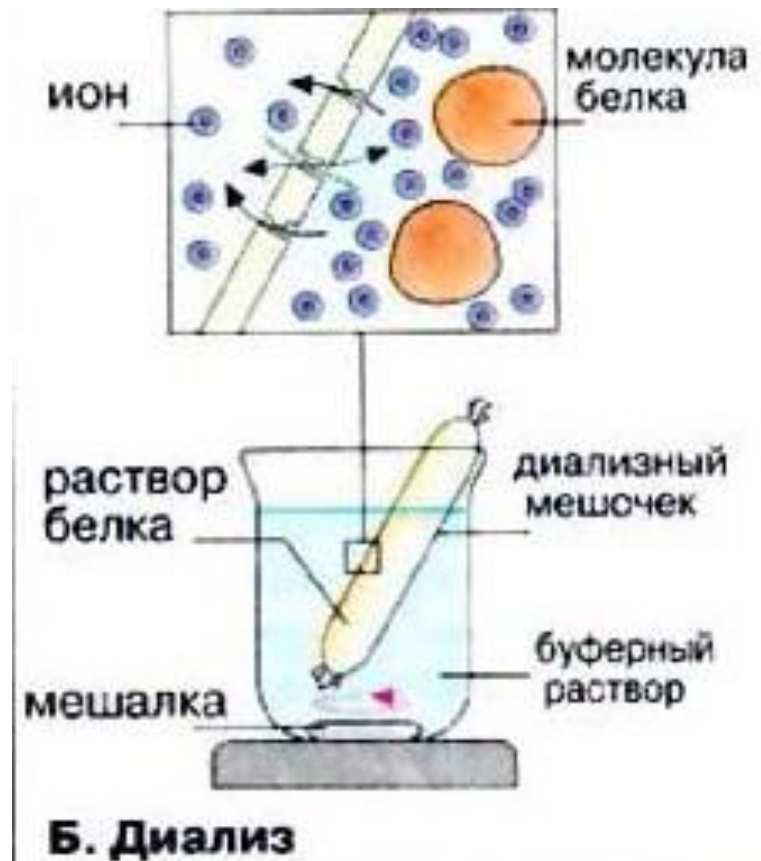


А. Высаливание

При высокой ионной силе молекулы белков лишаются гидратирующих оболочек, что приводит к агрегации и выпадению белка в осадок (высаливание). Используя различие в растворимости, можно с помощью обычных солей, например $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, разделить (фракционировать) смесь белков.

Диализ

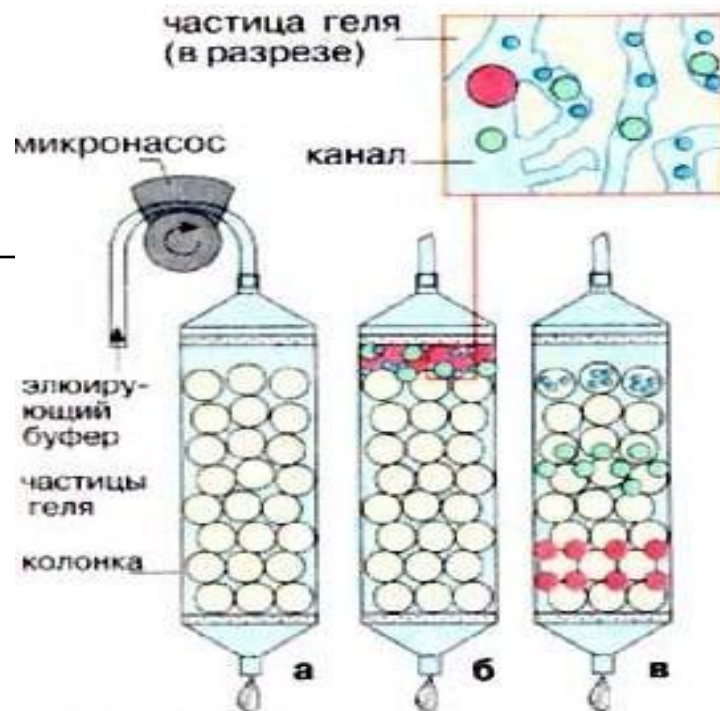
Для отделения низкомолекулярных примесей или замены состава среды используют диализ. Метод основан на том, что молекулы белка из-за своих размеров не могут проходить через полупроницаемые мембраны, в то время как низкомолекулярные вещества равномерно распределяются между объемом, ограниченным мембраной, и окружающим раствором. После многократной замены внешнего раствора состав среды в диализном мешочке (концентрация солей, величина рН и др.) будет тот же, что и в окружающем растворе.



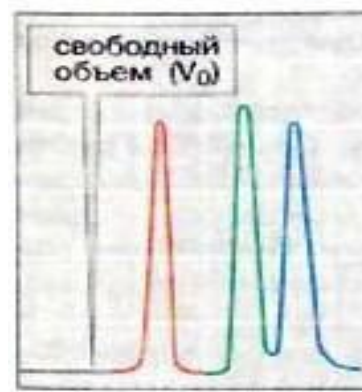
Гель-фильтрация

позволяет разделять **белки** по величине и **форме молекул**. Разделение проводят в хроматографических колонках, заполненных сферическими частицами набухшего **геля** (размером 10-500 мкм) из **полимерных материалов** (1а).

Частицы **геля** проницаемы благодаря внутренним каналам, которые характеризуются определенным средним диаметром. Смесь **белков** (1б) вносят в колонку с **гелем** и элюируют **буферным раствором**. Белковые **молекулы**, не способные проникать в гранулы **геля** (помечены красным цветом), будут перемещаться с высокой скоростью. Средние (зеленого цвета) и небольшие **белки** (синего цвета) будут в той или иной степени удерживаться гранулами **геля** (1в). На выходе колонки элюат собирают в виде отдельных фракций (2). Объем выхода того или иного **белка** зависит в основном от его **молекулярной массы** (3)

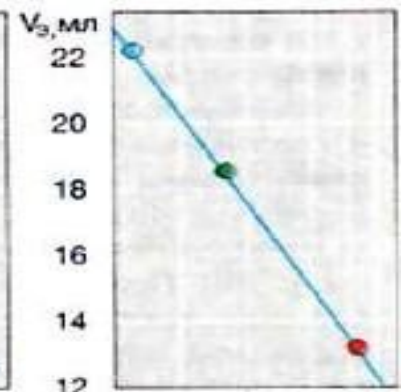


1. Основы метода



2. График элюирования

В. Гель-фильтрация

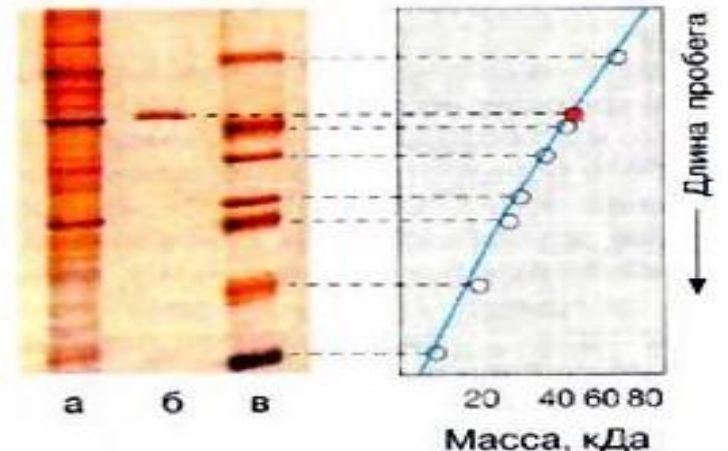
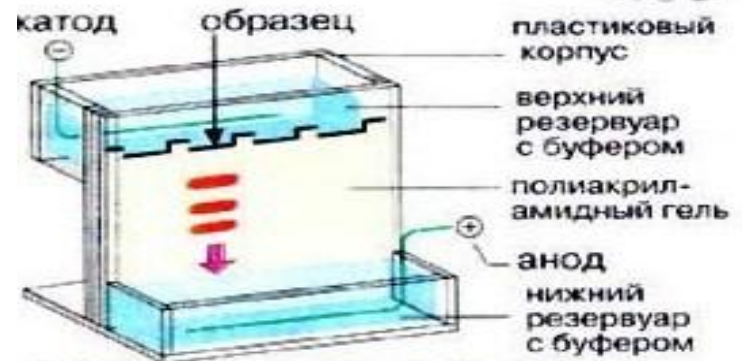
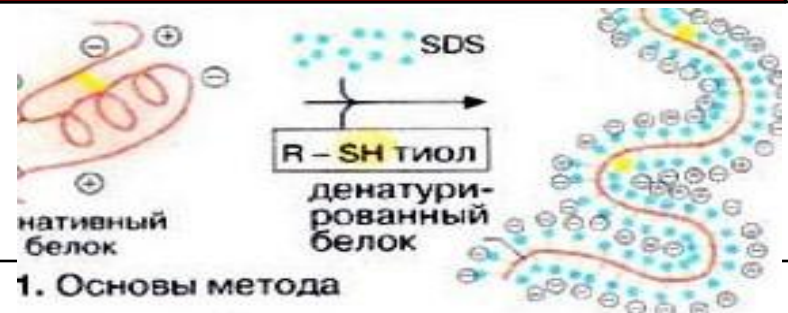


3. Определение мол. массы

Электрофорез в ПАГ в присутствии додецилсульфата Na

Метод основан на свойстве заряженных частиц перемещаться под действием электрического поля. Обычно скорость миграции зависит от величины молекул, формы молекул и суммарного заряда. Поэтому предварительно белки денатурируют с тем, чтобы скорость миграции зависела только от молекулярной массы. Для этого анализируемую смесь обрабатывают додецилсульфатом натрия [ДСН (SDS)] ($C_{12}H_{25}OSO_3Na$), который представляет собой детергент с сильно выраженными амфифильными свойствами. Под действием ДСН олигомерные белки диссоциируют на субъединицы и денатурируют. Развернутые полипептидные цепи связывают ДСН (примерно 0,4 г/г белка) и приобретают отрицательный заряд. Для полной денатурации в среду добавляют тиолы, которые расщепляют дисульфидные мостики (1).

Электрофорез проводят в тонком слое полиакриламида (2). После завершения электрофореза, зоны белков выявляют с помощью красителя. В качестве примера на схеме 3 приведена электрофореграмма трех препаратов: клеточного экстракта, содержащего сотни белков (а); выделенного из экстракта гомогенного белка (б); контрольной смеси белков с известными молекулярными массами (в).



Г. Электрофорез в ДСН-ПААГ

Иммуноэлектрофорез

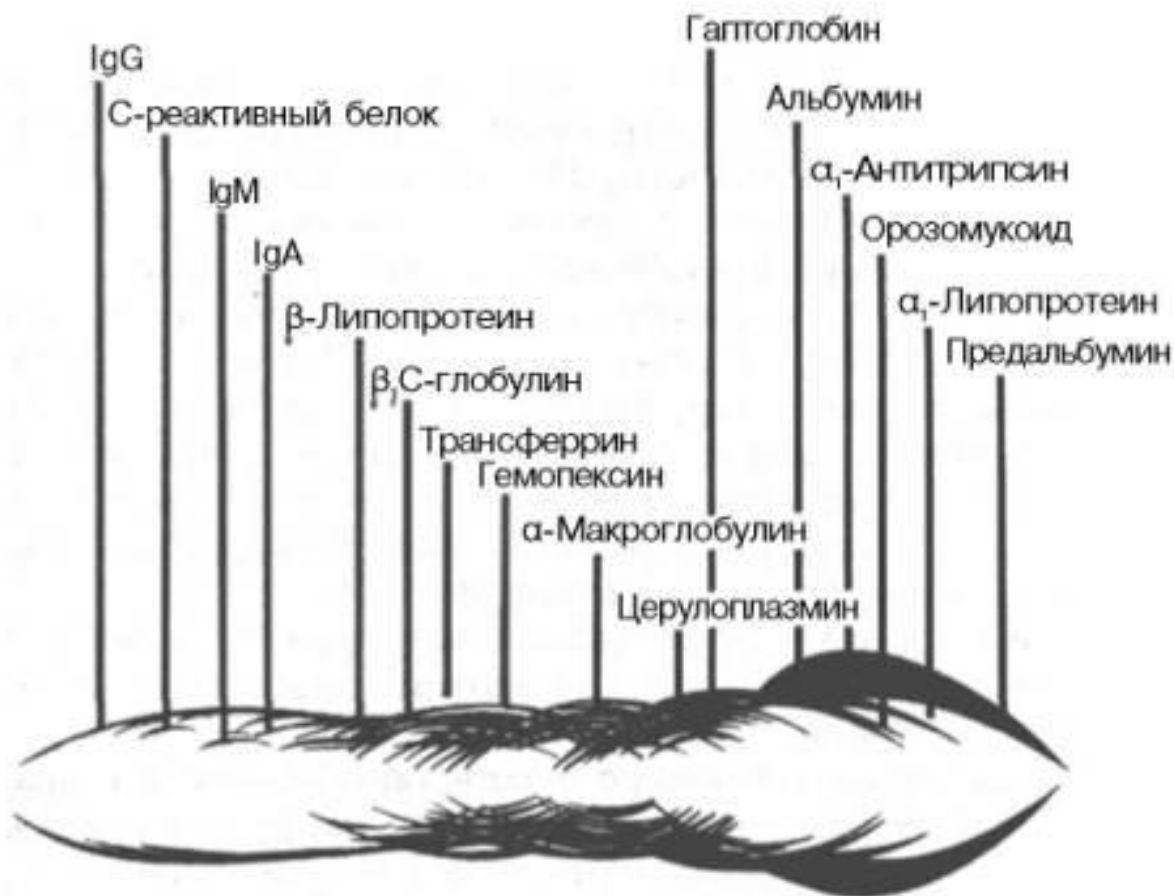


Рис. 17.1. Иммуноэлектрофореграмма белков сыворотки крови человека (по Генри).

Диспротеинемии

Нарушения протеинограммы плазмы известны как *диспротеинемии*. К диспротеинемиям относятся увеличение концентрации белков плазмы (*гиперпротеинемией*), уменьшение этих концентраций (*гипопротеинемии*) и появление в плазме необычных белков, в норме не присутствующих там (*парапротеинемии*). Если изменения относятся только к глобулиновым фракциям, говорят о *дисглобулинемиях*.

Гиперпротеинемия

Увеличение общего белка в сыворотке крови может быть относительным и абсолютным.

Относительная гиперпротеинемия связана с уменьшением содержания воды в сосудистом русле, к чему могут приводить следующие состояния:

- тяжелые ожоги;
- генерализованный перитонит;
- непроходимость кишечника;
- неукротимая рвота;
- профузный понос;
- несахарный диабет;
- хронический нефрит;
- усиленное потоотделение;
- диабетический кетоацидоз.

Гиперпротеинемия

Абсолютная гиперпротеинемия встречается редко. При этом увеличение общего белка в сыворотке крови может быть связано с синтезом патологических белков (парапротеинов), повышением синтеза иммуноглобулинов или усиленном синтезе белков острой фазы воспаления. Абсолютная гиперпротеинемия наблюдается при следующих заболеваниях:

- парапротеинемических гемобластозах (миеломная болезнь, болезнь Вальденстрема, болезнь тяжелых цепей) — отмечается значительное — до 120 — 160 г/л - возрастание концентрации общего белка;
- болезни Ходжкина;
- хроническом полиартрите;
- активном хроническом гепатите;
- острых и хронических инфекциях;
- аутоиммунных заболеваниях;
- саркоидозе;
- циррозе печени без выраженной печеночно-клеточной недостаточности

Гипопротеинемия

Гипопротеинемия

Снижение концентрации общего белка в сыворотке крови также может быть относительным и абсолютным.

Относительная гипопротеинемия, как правило, связана с увеличением объема воды в кровеносном русле и наблюдается при следующих состояниях:

- водной нагрузке («водном отравлении»);
- прекращении отделения мочи (анурии);
- уменьшении диуреза (олигурии);
- внутривенном введении больших количеств раствора глюкозы больным с нарушенной выделительной функцией почек;
- сердечной декомпенсации;
- повышенной секреции в кровь антидиуретического гормона гипоталамуса - гормона, способствующего задержке воды в организме.

Гипопротеинемия

Абсолютная гипопротеинемия, как правило, связана с гипоальбуминемией. При этом уменьшение концентрации общего белка в сыворотке крови возникает при:

- недостаточном поступлении белка в организм (голодание, недоедание, сужение пищевода, нарушение функции желудочно-кишечного тракта, например, воспалительного характера — энтериты, энтероколиты и др.);
- подавлении биосинтеза белка, сопровождающем хронические воспалительные процессы в печени (гепатиты, циррозы печени, интоксикации, атрофия печени);
- врожденных нарушениях синтеза отдельных белков крови (анальбуминемия, болезнь Вильсона-Коновалова, другие дефектопротеинемии — значительно более редко);
- повышенном распаде белка в организме (злокачественные новообразования, обширные ожоги, гиперфункция щитовидной железы (тиреотоксикоз), состояния после операции, длительная лихорадка, травмы, длительное лечение кортикостероидами);
- повышенной потере белка (нефротический синдром, гломерулонефрит, сахарный диабет, длительный (хронический) понос, кровотечения);
- перемещении белка в «третьи» пространства (асцит, плеврит).

Другие причины изменения концентрации белков плазмы крови

- Уменьшение концентрации общего белка в сыворотке крови отмечается и при некоторых физиологических состояниях, например, при длительной физической нагрузке, у женщин в последние месяцы беременности и в период лактации.
- На уровень общего белка в сыворотке крови может оказывать влияние прием некоторых лекарственных препаратов. Так, например, кортикотропин, кортикостероиды, мисклерон, бромсульфалеин и клофибрат способствуют повышению концентрации общего белка в сыворотке, а пиразинамид, эстрогены — его снижению.
- На степень концентрации общего белка может оказывать влияние и положение тела: при изменении горизонтального положения тела на вертикальное концентрация общего белка повышается приблизительно на 10% в течение 30 минут.
- Пережатие сосудов во время взятия крови и «работа рукой» также могут привести к возрастанию концентрации общего белка в сыворотке крови.

Спасибо за внимание !
