

## Раздел X. «МЕТАБОЛИЗМ ГЕМА И ОБМЕН ЖЕЛЕЗА»

### Тема: ОБМЕН ХРОМОПРОТЕИНОВ. БИОСИНТЕЗ И РАСПАД ГЕМОГЛОБИНА В ТКАНЯХ. ОБМЕН ЖЕЛЕЗА

#### I. Научно-методическое обоснование темы:

Хромопротеиды — класс белков, простетическая группа которых представлена пигментом. Важным подклассом его являются гемопротеиды -небелковая группа гем. К гемопротеидам относятся: гемоглобины, миоглобины, транспортирующие кислород и углекислый газ, цитохромы, обеспечивающие движение электронов в дыхательной цепи, делая кислород реакционноспособным; каталаза и пероксидаза, защищающие клеточные мембраны от перекисного окисления.

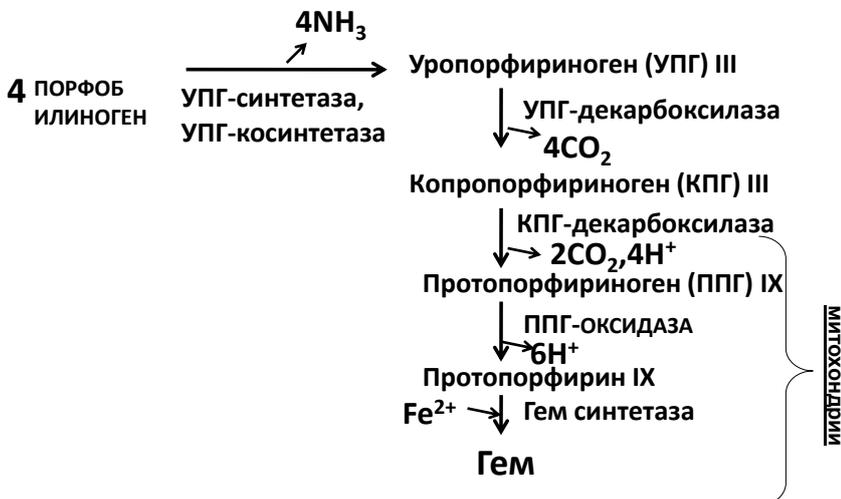
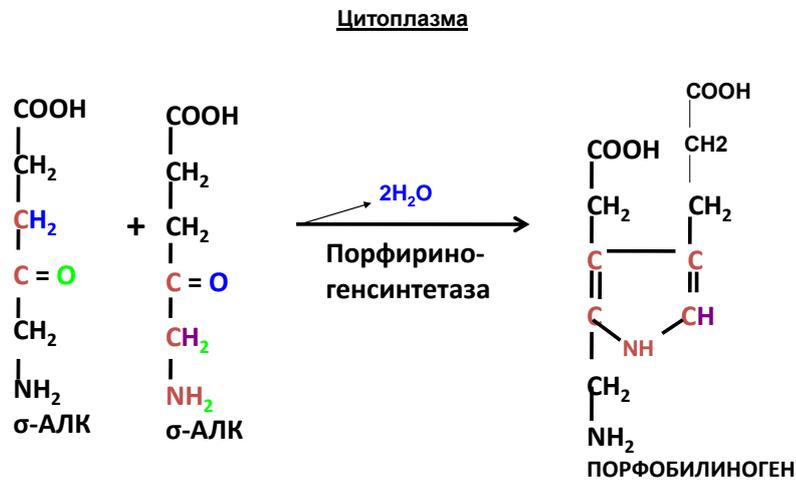
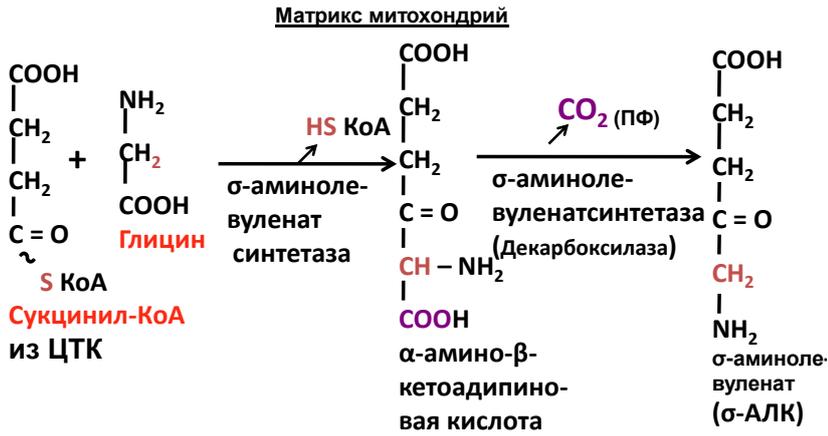
Сложный белок — гемоглобин наиболее активно синтезируется в печени и красном костном мозге. Для этого клетка должна иметь полный набор аминокислот для синтеза белковой и небелковой части (глобина, гема), весь комплекс ферментов, ионизированное железо. Лимитируют реакции образования гемоглобина ферменты процесса и  $Fe^{2+}$ . В организме человека содержится 4,5-5,0 г железа. Оно поступает экзогенно (пищевой) и эндогенно. Содержание железа в организме регулируется главным образом интенсивностью всасывания в кишечнике пищевого железа. Всасывается из вне более 10% железа пищи. Усвоение  $Fe^{2+}$  в кишечнике сложный процесс и начинается прежде всего с освобождения  $Fe^{2+}$ го органических веществ, затем в присутствии аскорбиновой кислоты (оксидазы) превращается  $Fe^{3+}$ . В энтероците железо связывается с апоферритином, образуя ферритин — депо железа в организме. По мере необходимости с помощью редуктаз энтероцита, железо становится двухвалентным, способствуя диссоциации ферритина. Поступая в кровь, железо вновь окисляется фероксидазой и связывается с транспортным (Рj-глобулином) трансферрином и поступает в печень. В клетках печени связывается железо с апоферритином и депонируется в виде ферритина. По мере необходимости железо используется органами кроветворения.

Источниками эндогенного железа являются эритроциты, подвергающиеся постоянному разрушению (25 мг в сутки). Освобождающееся железо включается в процессы реутилизации.

Синтез гема начинается в аэробных условиях (в митохондриях). Происходит конденсация сукцинил-Ко А и глицина с образованием 5-аминолевулиновой кислоты. Катализирует фермент синтетаза 5 -аминолевулиновой кислоты, коферментом является витамин В<sub>6</sub>, активная форма — фосфопиридоксаль. Фермент имеет аллостерическую регуляцию: ингибирует гем, активируют стероиды и препараты барбитуровой кислоты.

5-аминолевулиновая кислота поступает в цитоплазму, где происходит конденсация 2-х молекул с образованием порфобилино- гена. Катализирует фермент — порфобилиноген-синтетаза.

# Синтез гема

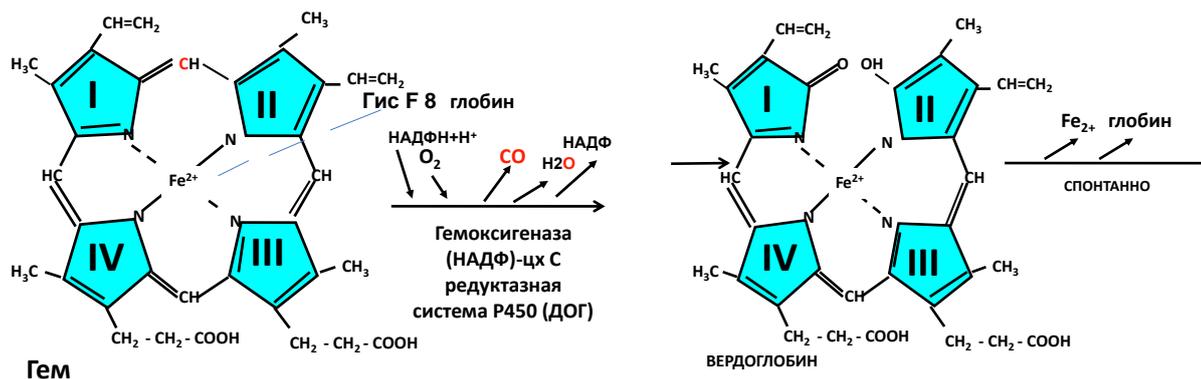


В процессе жизнедеятельности гемоглобин подвергается многократным обратимым конформационным изменениям, которые позволяют выполнять основную функцию клетки

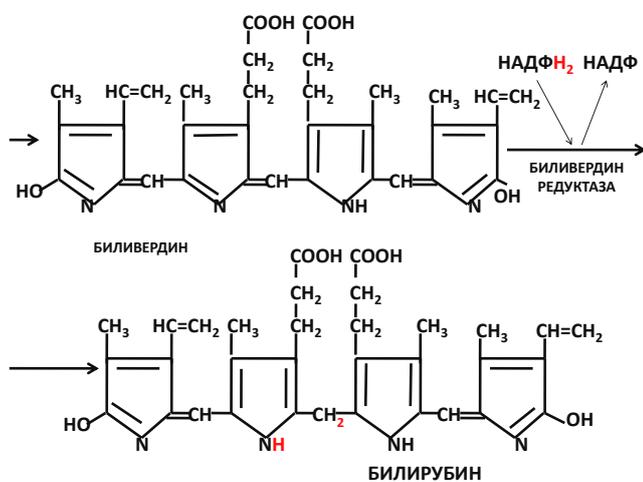
(эритроцита). Однако могут наступить необратимые структурные изменения гемоглобина (80 дней), клетка теряет свои функции и подвергается фагоцитозу.

Эритрофагами являются клетки РЭС, где гемоглобин подвергается катаболизму. В присутствии фермента гемоксигеназы гемоглобин в микросомах, с участием цитохрома P<sub>450</sub> окисляется. В результате реакции происходит разрыв метинового мостика между I и II пиррольными кольцами выделяется CO<sub>2</sub> и образуется вердоглобин- пигмент синего-красного цвета. Вердоглобин спонтанно распадается на белок — глобин, железо и биливердин. Би-ливердин восстанавливается в присутствии НАДФН<sub>2</sub>.

## Распад гемоглобина с образованием непрямого билирубина



1.



2.

Непрямой (динамический, свободный, прегепатический) билирубин поступает в кровь, где связывается с альбумином и транспортируется к гепатоциту. Прегепатический билирубин — гидрофобен, токсичен, непрямой — дает непрямую реакцию с диазореактивом Эрлиха. Он хорошо растворяется в липидах, поэтому может проникать через гематоэнцефалический барьер и клеточные мембраны. В гепатоцитах этот билирубин подвергается обезвреживанию. Обезвреживание осуществляется следующими реакциями

1. Захват билирубина гепатоцитом специфическим рецептором-ферментом.
2. Транспорт билирубина в микросомы специальным белком лигандином.
3. Конъюгация с УДФ — глюкуроновой кислотой ферментом УДФ-глюкуронилтрансферазой с образованием моно- и диглюкуронидов.
4. Экскреция в желчные капилляры, используя энергию АТФ.

Конъюгированный билирубин — диглюкуронид — прямой билирубин (дает прямую реакцию с диазореактивом Эрлиха), гепатический, связанный, он гидрофилен, менее токсичен, пороговое вещество. Прямой билирубин вместе с желчью выводится в верхний

отдел тонкого кишечника, где ферментом глюкурони- дазой отщепляется глюкуроновая кислота, а сам билирубин восстанавливается до мезобилиногена (уробилиногена). Незначительная часть мезобилиногена всасывается в кровь и по системе воротной вены с током крови относится к печени, где окисляется до моно-дипириолов.

Основная же часть уробилиногена поступает в толстый кишечник, где восстанавливается до стеркобилиногена. С калом выделяется за сутки около 250-300 мг, малая часть стеркобилиногена всасывается в большой круг кровообращения в нижнем отделе прямой кишки и по системе гемморoidalных вен попадает в почки и выделяется с мочой (1-4 мг/сутки). В норме в крови содержится общий билирубин 1,7-20,5 мкмоль/л, на долю непрямого билирубина приходится 75% — 1,7 — 17,1 мкмоль/л; а 25% — на долю прямого 0,86 — 4,3 мкмоль/л.

В условиях патологии (заболевания печени, селезенки, костного мозга, заболевания крови, усиленный гемолиз) количество и соотношение между «прямым» и «непрямым» билирубином резко меняется, поэтому определение обеих форм билирубина в крови имеет огромное значение в клинике при дифференциальной диагностике различных форм желтух.

Желтуха — это синдром, характеризующийся высоким содержанием в крови общего билирубина (гипербилирубинемия), желтой окраской кожных покровов и слизистых. По этиопатогенезу различают:

Надпеченочную желтуху (гемолитическую);

Печеночную (паренхиматозную);

Подпеченочную (обтурационную) желтуху.

1) Надпеченочная желтуха:

Причиной этого вида желтух является усиленный гемолиз эритроцитов, который приводит к интенсивному образованию в клетках РЭС (ретикуло-эндотелиальной системы) непрямого билирубина. Печень не в состоянии связать весь этот билирубин с глюкуроновой кислотой. В результате в крови и тканях накапливается не прямой билирубин. Так как через печень идет повышенный поток непрямого билирубина, то прямого билирубина образуется значительно больше. Формируется так называемая «плейхромная» желчь (насыщенная пигментами). Такая желчь поступает в тонкий и толстый кишечник, где продуктов деградации билирубина (уробилиногена, стеркобилиногена) образуется значительно больше. Кал приобретает более интенсивное окрашивание. В крови повышается концентрация общего билирубина за счет повышения непрямого билирубина (гипербилирубинемия). Кал: повышение стеркобилиногена (темная окраска).

В моче повышается содержание стеркобилиногена (стеркобилинурия!), уробилиногена.

2) Печеночная (паренхиматозная) желтуха.

Этот вид желтухи связан с повреждением печеночной клетки, ведущей к нарушению функции ее. Прежде всего нарушается экскреция прямого билирубина в желчные капилляры. Частично последний поступает в кровь, повышая концентрацию общего билирубина. Прямой билирубин способен проходить через почечный фильтр, поэтому в моче определяется билирубин. Снижение содержания прямого билирубина в желчи приводит к уменьшению образования стеркобилиногена. Поскольку в больной клетке нарушается процесс конъюгации свободного билирубина, увеличивается содержание и непрямого билирубина в крови.

Повреждение гепатоцитов ведет к печеночной недостаточности, что проявляется нарушением процессов деградации уробилиногена и он поступает в большой круг кровообращения и через почки выводится с мочой. В моче содержится два патологических компонента — прямой билирубин и уробилиноген.

Биохимические показатели:

Кровь: повышается содержание общего билирубина за счет повышения концентрации

прямого билирубина и относительного повышения непрямого билирубина.

В моче появляются желчные пигменты — билирубин и уро- билиноген. В кале содержание стеркобилиногена понижается (ахоличный).

3) Подпеченочная (обтурационная) желтуха.

При частичной или полной обтурации желчных протоков нарушается желчевыделение и компоненты желчи попадают в кровь, то есть увеличивается в крови содержание прямого билирубина, а значит, он появляется в моче. Так как желчь в меньшем количестве поступает в кишечник или совсем не поступает, резко уменьшается количество стеркобилиногена. При полной обтурации кал обесцвечивается.

В крови: медленно повышается концентрация общего билирубина за счет прямого билирубина (холестаз). Повышается концентрация желчных кислот.

Кал: резкое снижение уровня стеркобилиногена вплоть до полного отсутствия (ахоличный стул).

В моче определяются желчные пигменты, желчные кислоты.

Проявления обтурационной и паренхиматозной желтухи очень сходны. Критерием для дифференциального диагноза является наличие уробилиногена в моче при печеночной желтухе и отсутствие при обтурационной.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

### Определение связанного билирубина в сыворотке крови

*Принцип метода:* При взаимодействии сульфатной кислоты с азотисто-кислым натрием образуется диазофенилсульфоновая кислота, которая реагируя со связанным билирубином сыворотки даёт розово-фиолетовое окрашивание. По интенсивности его судят о концентрации билирубина, вступающего в прямую реакцию.

*Методика выполнения:* В две пробирки опытную и контрольную добавляют по 0,5 мл исследуемой сыворотки. В опытную добавляют 1,75 мл физраствора и 0,25 мл диализа. В контрольную — 2,0 мл физраствора. Пробы колориметрируют и расчёт ведут по калибровочной кривой.

*Предполагаемые результаты:*

Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2

### Определение желчных пигментов в исследуемой моче

*Принцип метода;* Желчный пигмент билирубин, окисляясь даёт соединения зеленого, синего и желтого цвета.

*Методика выполнения:* 1. Проба Гмелина. В пробирку вносят 10-15 капель азотной кислоты и по стенке — 5 капель мочи. В пробирке образуется два слоя. На границе слоев возникает осадок белка и желчных кислот и цветные кольца — зелёное, синее, фиолетовое, красное и желтое.

1. Проба Розенбаха. Исследуемую мочу — 5 капель, вносят в пробирку, добавляют уксусную кислоту — 1 каплю и 5 капель раствора Люголя. Возникает зелёное окрашивание.

Результаты оформляют в виде вывода.

*Предполагаемые результаты:*

определить типы желтух (1, 2, 3).

Показатель	Норма	Билирубин Типы желтух		
		1	2	3
Кровь: непрямой билирубин	20	21	ПО	320

мкмоль/л) прямой билирубин (мкмоль/л)	5	205	27	9
Моча: прямой билирубин уробилин (мг/сут)	30	245	78	102
Уробилиноген (мг/сут)	5	следы	29	31
Уробилиноген (мг/сут)	180	следы	48	350

Какие дополнительные исследования могут потребоваться для уточнения диагноза?  
Выполняется обсуждение результатов и делаются выводы.

## II. Перечень вопросов для проверки исходного уровня знаний

1. Что такое хромопротеиды, представители, подклассы.
2. Функции хромопротеидов.
3. Где синтезируется гемоглобин, условия?
4. Как усваивается железо в желудочно-кишечном тракте?
5. Изобразить схему синтеза.
6. Как и где расщепляется гемоглобин? Отобразить таблицу.
7. Что такое вердоглобин?
8. Понятие «прямого» и «непрямого» билирубина.
9. Как определить прямой билирубин в крови?
10. Судьба непрямого билирубина, пути обезвреживания его в гепатоците.
11. Образование уробилирубина, стеркобилиногена, его судьба.
12. Сколько в норме содержание общего билирубина в крови?

## III. Перечень вопросов для проверки конечного уровня знаний

1. Как и где идёт синтез гема?
2. Особенности усвоения  $Fe^{2+}$  в желудочно-кишечном тракте.
3. Где разрушается в организме гемоглобин?
4. Написать схему распада гемоглобина.
5. Как образуется непрямой билирубин?
6. Обезвреживание билирубина в печени.
7. Судьба глюкуронидов (моно — ди).
8. Как определить концентрацию билирубина в крови?
9. Что такое уробилин, где образуется?
10. Сколько в норме за сутки выделяется стеркобилиногена?
11. Каковы причины гипербилирубинемии?
12. Желтухи, их классификация.
13. Биохимические нарушения при надпеченочной желтухе.

14. Как изменяются биохимические показатели при печеночной желтухе?
15. Указать основные причины развития подпеченочной желтухи.
16. Назвать основные биохимические нарушения при обтурационной желтухе.

#### **Дополнительные вопросы для педиатрического факультета.**

Особенности синтеза и распада гемоглобина в детском возрасте.  
Гемолитические желтухи новорожденных.

#### **IV. Хронокарта учебного занятия**

1. Общий бюджет времени: 3 часа (135).
2. Переключки 5 минут.
3. Разбор основных вопросов темы 60 минут.
4. Тестовый опрос 20 минут.
5. Проведение лабораторной работы.
6. Оформление протоколов 10 минут.

#### **V. Самостоятельная работа студентов**

1. Обмен железа в процессе метаболизма гемоглобина.
2. Основные этапы синтеза гема.

#### **VI. Список используемой литературы**

##### ***Основная:***

1. Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин «Биологическая химия», Москва, 2007
2. Е.С. Северин «Биохимия», Москва 2003
3. Е.С. Северин «Биохимия с упражнениями и задачами», Москва 2010, «ГЭОТАР - медия»
4. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, С.Г.Дзугкоев «Биохимия основных процессов обмена веществ и гормональная регуляция» тестовые задания по курсу биологической химии, Владикавказ 2007
5. Ф.С. Дзугкоева, Э.А. Каряева, А.Е. Гурина, Н.М. Амбарцумянц, И.В. Можяева, С.Г. Дзугкоев, Е.А.Такоева «Руководство к практическим занятиям по биологической химии», в 4 т., Владикавказ 2008

##### ***Дополнительная:***

1. Е.А.Строев. Биологическая химия, Москва 1986
2. Ленинджер Л. «Биохимия» Москва, 1976
3. Ленинджер Л. «Биохимия».1986
4. Е.С. Северин, Т.Л. Алейникова, Е.В. Осипов «Биохимия», Москва 2000
5. Гринштейн Б., Гринштейн А. Наглядная биохимия, Москва 2000
6. Элиот В., Элиот Д., Биохимия и молекулярная биология, Москва 2000, стр. 23-36
7. под ред. Д.М. Зубаирова, «Биохимия» тестовые вопросы, «ГЭОТАР - медия», 2008
8. У. Мак-Мюррей «Основы учения о взаимодействии биохимии с физиологией и патологией», 1980
9. Страйер Л. Биохимия. В 3-х томах. 1984 год
10. Досон и др. Справочник биохимика, 1991
11. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах, 2-е изд. 1984 год
12. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека
13. Николаев А. Я. Биологическая химия