



Міністерство Охорони Здоров'я України
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

Кафедра біоорганічної та біологічної хімії

Методичні рекомендації до вивчення теми

«Біохімія сполучної тканини»

з дисципліни «Біологічна та біоорганічна хімія»

для студентів 2 курсу медичних факультетів, медико-психологічного, стоматологічного факультетів та факультету підготовки збройних сил України

Розробники:

Оберніхіна Н. В., к. хім. н., доцент кафедри біоорганічної та біологічної хімії
Національного медичного університету імені
О. О. Богомольця;

Михайлова А. Г., асистент кафедри біоорганічної та біологічної хімії
Національного медичного університету імені
О. О. Богомольця;

Прадій Т. П., асистент кафедри біоорганічної та біологічної хімії Національного
медичного університету імені О. О. Богомольця.

Санжур Т. С., асистент кафедри біоорганічної та біологічної хімії
Національного медичного університету імені
О. О. Богомольця;

Під редакцією *Гайової Л. В.*, д.мед.н., професора, завідувача кафедри
біоорганічної та біологічної хімії Національного медичного
університету імені О. О. Богомольця.

Затверджено:

На засіданні циклової методичної комісії з медико-біологічних дисциплін
Національного медичного університету імені О. О. Богомольця як Методичні
рекомендації до вивчення теми «Біохімія сполучної тканини» з дисципліни
«Біологічна та біоорганічна хімія» для студентів 2 курсу медичних факультетів,
медико-психологічного факультету та факультету підготовки лікарів збройних сил
України, протокол № 4 від 11 лютого 2019 року.

На засіданні кафедри біоорганічної та біологічної хімії Національного
медичного університету імені О.О. Богомольця як Методичні рекомендації до
вивчення теми «Біохімія сполучної тканини» з дисципліни «Біологічна та
біоорганічна хімія» для студентів 2 курсу медичних факультетів, медико-
психологічного факультету та факультету підготовки лікарів збройних сил
України, протокол № 10 від 19 грудня 2018 року.

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені О.О.БОГОМОЛЬЦЯ

Кафедра біоорганічної та біологічної хімії

БІОХІМІЯ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ.

**МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДЛЯ
ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ
З БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ**

Методичні рекомендації складено для студентів 2-го курсу медичних,
медико-психологічного, стоматологічного факультетів та ФПЛЗСУ.

Київ - 2020

ОСОБЛИВОСТІ БІОХІМІЧНОГО СКЛАДУ ТА ОБМІНУ РЕЧОВИН У СПОЛУЧНІЙ ТКАНИНІ.

Актуальність теми.

Сполучна тканина складає близько 50% всієї маси тіла, знаходиться в усіх органах і слугує основою для їх утворення та виправлення пошкоджень. Всі різновиди сполучної тканини побудовані за єдиним принципом, незважаючи на морфологічні розбіжності. Відсутність чи недостатня активність ферментів синтезу або гідролізу компонентів сполучної тканини лежить в основі розвитку спадкових і набутих захворювань. Розуміння біохімічних механізмів, патологій сполучної тканини є основою для розробки нових методів лікування і діагностики захворювань.

Теоретичні питання:

1. Види сполучних тканин та їх значення. Загальна характеристика біохімічного складу сполучної тканини. Білки волокон сполучної тканини: колаген, еластин. Біосинтез колагену та утворення фібрилярних структур.
2. Протеоглікани. Будова і значення. Складні вуглеводи сполучної тканини: глікозаміноглікани. Механізм участі молекул глікозаміногліканів у побудові основного речовини пухкої волокнистої сполучної тканини.
3. Глікопротеїни. Будова та значення.
4. Синтез і розпад протеогліканів та їх регуляція.
5. Характеристика та біохімічний склад кісткової тканини.
6. Специфічні ферменти кісткової тканини.
7. Регуляція метаболізму кісткової тканини.
8. Характеристика та біохімічний склад хрящової тканини.
9. Патобіохімія сполучної тканини. Біохімічні механізми виникнення мукополісахаридозів і колагенозів, їх клініко-біохімічна діагностика.
10. Патобіохімія кісткової та хрящової тканин.

РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНИЙ ОГЛЯД.

1.1. Види сполучних тканин і їх значення. Загальна характеристика біохімічного складу сполучної тканини. Білки волокон сполучної тканини: колаген, еластин. Біосинтез колагену й утворення фібрилярних структур.

Сполучна тканина – головна і захисна тканина організму, що складається з клітин і великої кількості міжклітинної речовини (волокнистих структур і аморфної речовини) (Рис. 1).

До сполучних тканин належать такі види: власне сполучна тканина, хрящова тканина, кісткова тканина і сполучні тканини зі спеціальними властивостями.

Власне сполучна тканина поділяється на пухку й щільну, а остання на оформлену і неформлену.

Пухка сполучна тканина складається з клітин і міжклітинної речовини. Остання, в свою чергу, включає волокнисті структури (колагенові, еластичні та ретикулярні волокна) і основну міжклітинну речовину.

В той же час всі вони, незважаючи на значні морфологічні різновиди сполучної тканини, відрізняються певними особливостями будови, що зумовлено їх функціями. Всі сполучні тканини побудовані за **загальним принципом**:

- Мала кількість клітинних елементів, які оточені міжклітинною речовиною.
- Високий вміст міжклітинної речовини.
- Наявність у міжклітинній речовині своєрідних фібрилярних структур: колагенових, еластичних і ретикулярних волокон.

Синтез міжклітинної речовини здійснюється клітинами сполучної тканини фібробластами і гепариноцитами (тучними клітинами). В середньому частка основного міжклітинної речовини в організмі складає 20% маси тіла. Її основу складають глікопротеїни та протеоглікани. Вуглеводними

компонентами протеогліканів являються гетерополісахариди - глікозаміноглікани (мукополісахариди).

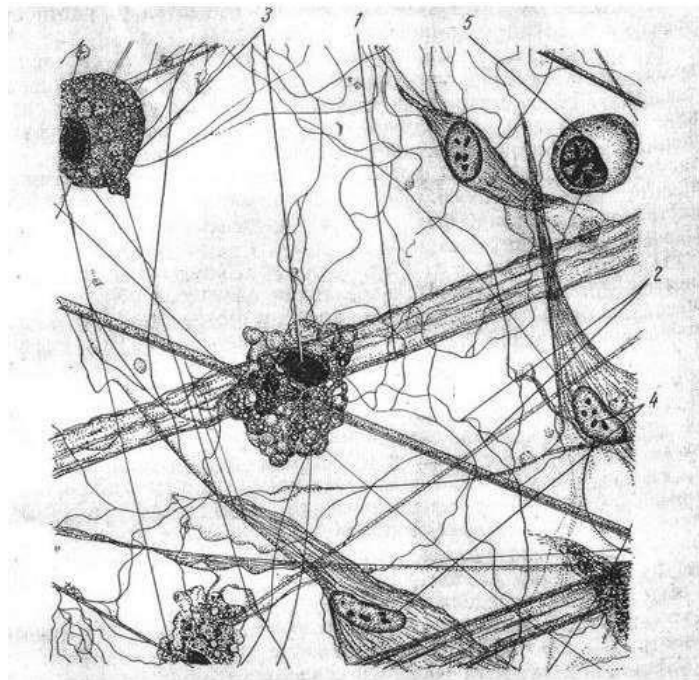


Рис. 1. Пухка волокниста неоформлена сполучна тканина:

1 - колагенові волокна, 2 - еластичні волокна, 3 - макрофаги, 4 - фібробласти, 5 - плазматичні клітини.

Волокна сполучної тканини утворені фібрилярними білками - колагеном і еластином. Колагенові волокна є основою сухожилків. Вони міцні й нездатні до розтягування. Еластинові ж волокна забезпечують пружність.

Сполучна тканина може виконувати як самостійні функції, так і входити в якості прошарків до інших тканин.

Міжклітинна речовина сполучної тканини.

Волокна сполучної тканини.

У міжклітинному матриксі знаходяться 2 типи волокнистих структур: ***колагенові й еластинові волокна.*** Основним компонентом колагенових волокон є нерозчинний білок колаген.

Колаген - складний білок, належить до групи глікопротеїнів, має четвертинну структуру, його молекулярна маса складає 300 kDa. Частка колагену – 30% від загальної кількості білку в організмі людини й відрізняється великою мікрогетерогенністю.

У теперішній час відомо близько 20 відмінних типів колагену (ізоколагени), що різняться за первинною й просторовою структурам, за функціям, локалізацією в організмі та біологічною роллю.

Розрізняють два основних типи ланцюгів колагену: $\alpha 1$ і $\alpha 2$, а також чотири різновиди ланцюга $\alpha 1$: $\alpha 1(I)$, $\alpha 1(II)$, $\alpha 1(III)$, $\alpha 1(IV)$.

Для позначення кожного виду колагену користуються формулою. Наприклад: колаген I типу - $[\alpha 1(I)]_2 \alpha 2$.

В табл. 1 наведені дані про структуру колагенів різних тканин. З них найважливіше значення мають наступні типи:

Таблиця 1.

Найбільш поширені типи колагенів

Тип	Тканина	Поліпептидні ланцюги	Характерні особливості
I	Шкіра, сухожилки, кістки, дентин, фасції	$[\alpha 1 (I)]_2 \alpha 2$	1% - гідроксилізіну, 33% - гліцину, 13% - проліну, мало глікозильований, широкі фібрили
II	Хрящі	$[\alpha 1 (II)]_3$	>1% гідроксилізіну, сильно глікозильований, фібрили тонші, ніж у колагену I типу
III	Шкіра, матка, кровоносні судини, ясна	$[\alpha 1 (III)]_3$	багато гідроксипроліну, мало гідроксилізіну, мало глікозильований, містить S-S-зв'язки на C-кінці
IV	Базальні мембрани	$[\alpha 1 (IV)]_2 \alpha 2(IV)$	дуже багато гідроксилізіну, багато гідроксипроліну, мало аланіну, майже повністю глікозильований

Будова колагену.

Фібрилярний білок колаген - це суперспіраль, що складається з 3-х - ланцюгів. Нерозчинний у воді, сольових розчинах, в слабких розчинах кислот і лугів. Це пов'язано з особливостями первинної структури колагену. У складі колагену 70% амінокислот є гідрофобними. Амінокислоти по довжині поліпептидного ланцюга розташовані групами (тріадами), подібними одна до одної за будовою, що утворені з трьох амінокислот. Кожна третя амінокислота в первинній структурі колагену – це гліцин ~33%, 21% складає пролін, 11% – аланін. Білок відрізняється також наявністю оксипроліну і оксилізіну, низьким вмістом тирозину і сірковмісних амінокислот, відсутністю триптофану.

Незвична й вторинна структура колагену: кожен поліпептидний ланцюг закручений у вигляді лівої спіралі. Водневі зв'язки для її стабілізації не використовуються. Крок одного витка спіралі складають тільки 3 амінокислоти (навіть трохи менше, ніж 3) на 1 виток. Така щільна упаковка спіралі пояснюється присутністю гліцину, який не має радикалу. Ця особливість визначає більш високі структури колагену.

Молекула колагену побудована з 3-х ланцюгів і являє собою потрійну спіраль, що утримується водневими зв'язками між C=O і N-H-групами сусідніх ланцюгів. Така молекула називається **тропоколагеном**.

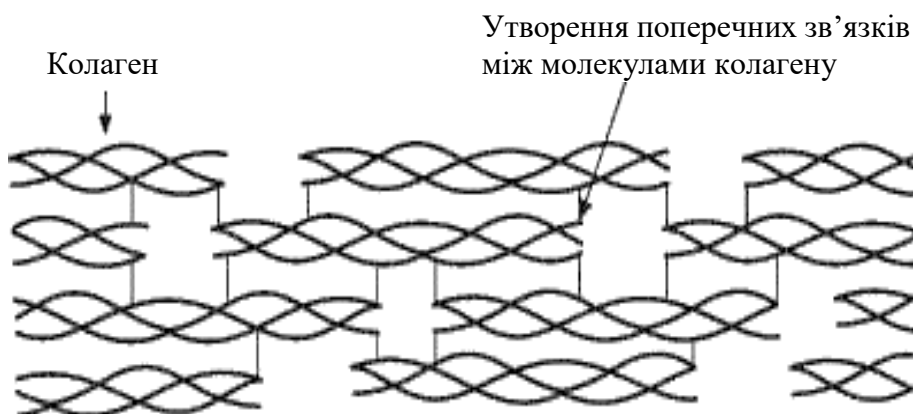


Рис. 2. Будова колагенової фібрили.

Тропоколаген (рис. 2) – це основна структурна одиниця колагену. В кожному ланцюзі 1000 амінокислотних залишків. Ланцюги паралельні й мають незвичайну укладку в просторі: ззовні розташовані всі радикали гідрофобних амінокислот.

Молекули тропоколагену з'єднуються кінець до кінця, утворюючи мікрофібрилу.

Мікрофібрили розміщуються паралельно, утворюючи фібрилу (рис. 2). Ланцюги з молекул тропоколагену розташовані у фібрилах так, що початок молекул у сусідніх ланцюгах зміщено на чверть довжини молекули (~75 нм), що обумовлює міцність. Під електронним мікроскопом фіксовані й забарвлені фібрили колагену виглядають поперечно посмугованими з періодом 75 нм. Таке розміщення, очевидно, максимально підвищує міцність на розтягання й утворює борозенки, які в кістковій тканині грають роль центрів мінералізації. Фібрили укладаються паралельно, утворюючи колагенове волокно. Стабілізація фібрил і колагенових волокон здійснюється поперечними ковалентними зв'язками між сусідніми мікрофібрилами, які забезпечуються лізиновими й гідроксилізиновими залишками.



Молекулярна маса тропоколагену близько 285000.

Таким чином, основна структурна одиниця колагену має дуже великі розміри.

Синтез і дозрівання (процесинг) колагену.

Колаген синтезується всередині різних клітин сполучної тканини: фібробластів, хондробластів, остеобластів, одонтобластів та ін. на прикріплених до мембран ендоплазматичного ретикулума (ЕПР) рибосомах у вигляді ***препроколагену***, який містить на N-кінці сигнальну послідовність, що складається приблизно з 100 амінокислотних залишків.

Синтез колагену включає стадії трансляції, внутрішньоклітинної посттрансляційної модифікації та позаклітинної модифікації, яка завершується утворенням колагенових волокон.

Внутрішньоклітинні етапи дозрівання колагену

- ***Синтез проколагену***

Проникнення до ендоплазматичного ретикулула сигнальної послідовності та її відщеплення під дією специфічної протеїнази, вкорочена молекула білка, що синтезується, отримує назву проколагену.

- ***Гідроксилювання проліну й лізину.***

Амінокислотні залишки лізину й проліну в складі молекули проколагену піддаються гідроксилюванню під дією ферментів ***пролілгідроксилази і лізилгідроксилази*** (ці мікросомальні ферменти належать до підкласу монооксигеназ). Гідроксилювання проліну й лізину відбувається після того, як ці амінокислоти включаються до поліпептидних ланцюгів.

Гідроксилювання починається після того, як поліпептидний ланцюг набуває мінімальної довжини, але все ще зв'язаний із рибосомами. Джерелом атому Оксигену в реакції гідроксилювання є молекула кисню, при чому один атом Оксигену включається до складу гідроксигрупи амінокислотного залишку, а другий атом – до складу сукцинату, що утворюється внаслідок окислювального декарбоксілювання α -кетоглутарату.

Гідроксилази містять у активному центрі атом Феруму зі ступенем окислення +2. Для запобігання окислення Феруму необхідна наявність відновника, у ролі якого виступає *аскорбінова кислота*. Окислюючись, вона трансформується у *дегідроаскорбінову кислоту*. Для регенерації аскорбінової кислоти до вихідного стану в тканинах організму відбувається специфічна ферментативна реакція, у якій бере участь відновлений глутатіон.

Гідроксилювання проліну має важливе значення для підтримки структури потрійної спіралі колагену, оскільки ОН-групи беруть участь в утворенні водневих зв'язків.

В свою чергу, *гідроксилювання лізину* також відіграє суттєву біологічну роль, оскільки синтезований гідроксилізін є учасником наступного *глікозилювання проколагену*.

Крім того, амінокислотні залишки гідроксилізіну, як і амінокислотні залишки лізину, беруть участь у реакції окислювального дезамінування за ϵ -аміногрупами і перетворюються на *гідроксиалізін*, який безпосередньо бере участь в утворенні ковалентних зв'язків між молекулами білку після збірки волокон незрілого колагену.

Нестача вітаміну С призводить до порушення гідроксилювання залишків проліну й лізину. Оскільки колаген постійно оновлюється, наслідком нестачі вітаміну С є дефектний процесинг колагену, який призводить до синтезу менш міцних і менш стабільних колагенових волокон.

Колаген відіграє важливу роль у формуванні всіх типів сполучної тканини, тому при С-авітамінозі в організмі проявляються різноманітні морфологічні й структурні порушення: хрупкість і ламкість кровоносних судин, порушення білкового складу міжклітинного матриксу мінералізованих тканин, слабкість тканин пародонту. Клінічною картиною сильно розвинутого гіповітамінозу С є цинга, що супроводжується множинними точковими крововиливами під шкіру й слизові оболонки, кровоточивістю ясен і стінок кишечника, множинним карієсом, випадінням зубів, анемією. У

дітей із нестачею вітаміну С пов'язана затримка росту кісткової тканини, а також зубів.

- **Глікозилювання проколагену.**

Глікозилювання відбувається під дією ферменту *глікозилтрансферази* аж до формування потрібної спіралі з трьох ланцюгів проколагену.

Вуглеводні залишки зв'язуються із 5-ОН-групами гідроксилізіну О-глікозидними зв'язками. Найчастіше вуглеводними компонентами виступають глюкоза або дисахарид галактозилглюкоза.

Кількість зв'язаних із молекулами колагену вуглеводних ланок залежить від виду тканини і може коливатися в широких межах – від декількох залишків до 110 в колагені IV типу капсули кришталіку ока.

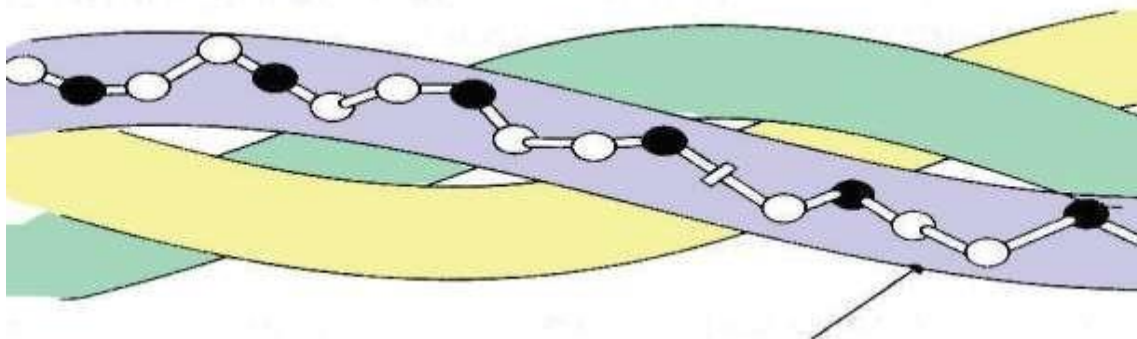
- **Формування потрібної спіралі проколагену.**

Цей етап включає одночасний перебіг декількох процесів:

- ОН-групи гідроксипроліну сусідніх ланцюгів тропоколагену утворюють водневі зв'язки, що зміцнюють структуру фібрил.

Утворюються внутрішньо-ланцюгові дисульфідні зв'язки між амінокислотними залишками цистеїну на С- і N-кінцях молекул проколагену.

На N- і С-кінцях є додаткові послідовності (домени), що містять цистеїн. Домени утворюють глобулярні структури.



α-ланцюг колагену

Рис. 3. На рисунку амінокислотні залишки гліцину позначені чорним кольором, а інших амінокислот – білим.

N-кінцевий домен сприяє укладці поліпептидних ланцюгів і утворенню потрійної спіралі у клітині, в той же час домени гальмують утворення фібрил у клітині,

- Між C-кінцевими послідовностями поліпептидних ланцюгів формуються міжланцюгові дисульфідні зв'язки.

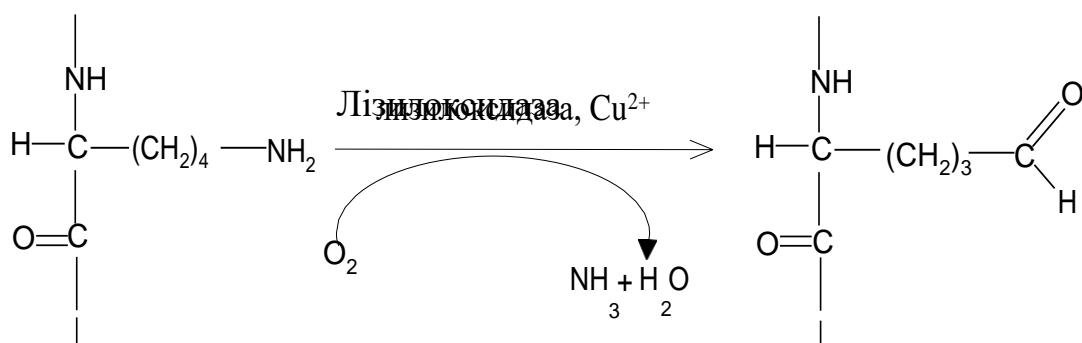
Позаклітинні етапи дозрівання колагену.

- Проколагенові молекули секретуються шляхом екзоцитозу до міжклітинної речовини, де відбувається ферментативне відщеплення доменів.

Розчинність молекул колагену майже у 1000 разів менша, ніж молекул проколагену. Це забезпечує їх тенденцію до самоагрегації.

- Ковалентне "зшивання" молекули тропоколагену за принципом "кінець-до-кінця" із утворенням нерозчинного колагену.

Для створення укріплюючих зв'язків фермент лізілоксидаза (флавометалопротейн, містить ФАД і Cu) каталізує реакцію перетворення у молекулі тропоколагену аміногруп окремих лізильних і гідроксилізильних залишків на альдегідні групи й утворення алізину.



Альдегідні групи, що утворились, беруть участь в утворенні ковалентних зв'язків, які стабілізують фібрили колагену.

Альдольна зшивка – алізін + алізін

Альдимінна зшивка – лізін + алізін (шифові основи).

Тільки після багатократного зшивання фібрил колаген набуває своєї унікальної міцності, стає волокном, що не піддається розтягуванню.

Близько 25% молекул тропоколагену розпадається, не утворюючи фібрил. Фрагменти, що залишаються, виконують сигнальні функції й стимулюють колагеногенез.

Просторова організація фібрил завершується за участі фібронектину, протеогліканів і колагенів, що асоційовані з фібрилами.

Катаболізм колагену відбувається повільно під дією колагеназ. Основний фермент - Ca^{2+} , Zn^{2+} - залежна колагеназа (металопротеїназа) розщеплює пептидні зв'язки у певних ділянках колагену. Фрагменти, що утворилися, спонтанно денатурують і стають доступними для дії інших протеолітичних ферментів.

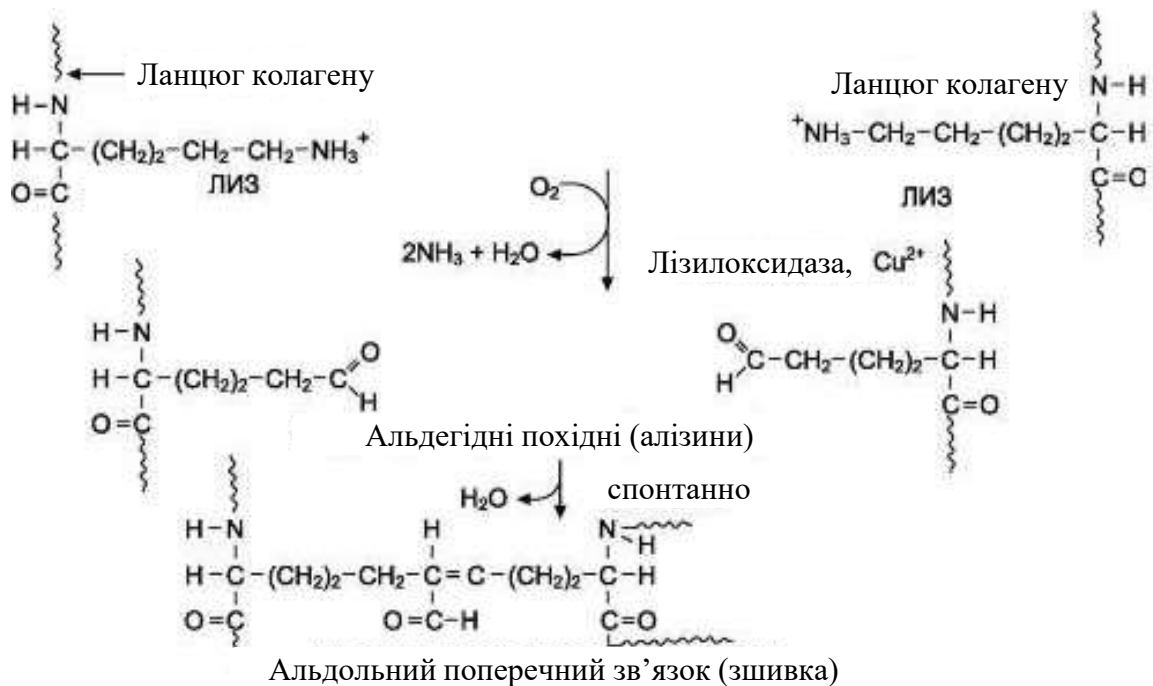


Рис. 4. Утворення поперечних зв'язків у колагені: утворення альдольної поперечної зшивки з двох бічних ланцюгів лізину.

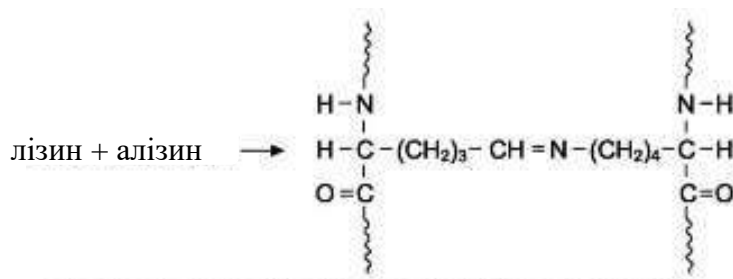


Рис. 5. Утворення поперечних зв'язків у колагені: утворення шифових основ з бічних ланцюгів лізину й алізину.

Основним маркером розпаду колагену (тобто найважливішим метаболітом, що характеризує швидкість розпаду колагену) є *гідроксипролін* – амінокислота, яка синтезується шляхом посттрансляційного гідроксилювання пролінових залишків у складі колагену. 85-90% гідроксипроліну, що звільняється у результаті гідролітичного розщеплення колагену, метаболізується в печінці під дією гідроксипроліноксидази. На частку гідроксипроліну, який виводиться у незмінному вигляді з сечею, припадає тільки 10-15%.

У молодих людей обмін колагену відбувається швидко, а вміст гідроксипроліну в сечі може досягати 200 мг/добу.

З віком збільшується кількість поперечних зшивок між молекулами, ланцюги стають недосяжними для тканинних протеїназ, і обмін колагену сповільнюється, що призводить до зниження добової екскреції гідроксипроліну до 15-20 мг/добу.

Підвищення кількості гідроксипроліну в плазмі крові та в сечі (до 1 г/добу) може спостерігатися при тяжких формах пародонтиту, гіперпаратиреозі, дифузних хворобах сполучної тканини та недостатньому синтезі ферменту катаболізму гудроксипроліну – гідроксипроліноксидази. Збільшення відношення концентрації проліну до концентрації гідроксипроліну в плазмі крові свідчить про порушення гідроксилювання і дозрівання колагену.

Неколагенові білки міжклітинного матриксу.

Поряд з колагеном, сполучна тканина містить регуляторні білки, ферменти, а також адгезивні білки, які забезпечують зв'язування різних компонентів міжклітинного матриксу сполучної тканини як між собою, так і з клітинними мембранами.

Еластин

Еластин – це основний білковий компонент, з якого складаються еластичні волокна. Він відрізняється від колагену за хімічним складом і молекулярною структурою.

Еластин широко представлений у тих типах сполучної тканини, які разом із міцністю на розрив можуть піддаватися значному розтягуванню, а потім приймають вихідні розміри: у шкірі, кровоносних судинах, зв'язках, легенях.

Еластин – це білок із молекулярною масою одного поліпептидного ланцюга 70 кДа, який містить мало полярних амінокислот; натомість багатий на гліцин (27%), аланін (19%), валін (10%) і лейцин (4,7%). В еластині практично відсутні цистеїн і триптофан, також дуже мало міститься метіоніну. Вміст гідроксипроліну в еластині приблизно в 10 раз нижче, ніж у колагені.

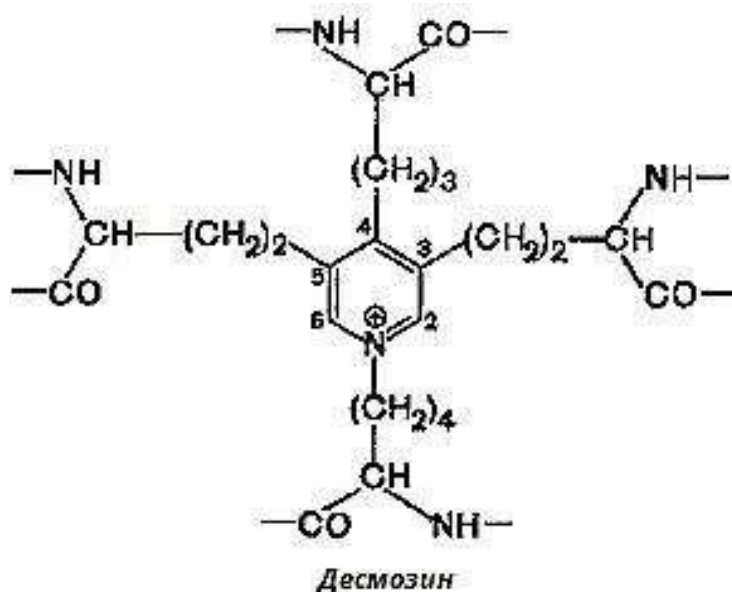
В цілому характерною особливістю первинної структури еластину є надто малий вміст полярних амінокислотних залишків.

Унікальні властивості еластину пов'язані з наявністю в його структурі поперечних зшивок, в утворенні яких беруть участь залишки лізину двох, трьох або чотирьох окремих поліпептидних ланцюгів.

При ферментативному гідролізі еластину в гідролізаті виявляються десмозин та ізодесмозин.

Ці сполуки містяться тільки у еластині. Структура їх доволі незвична: чотири залишки лізину, які з'єднуються своїми R-групами, утворюють заміщене піридинове кільце. Є підстави вважати, що при утворенні

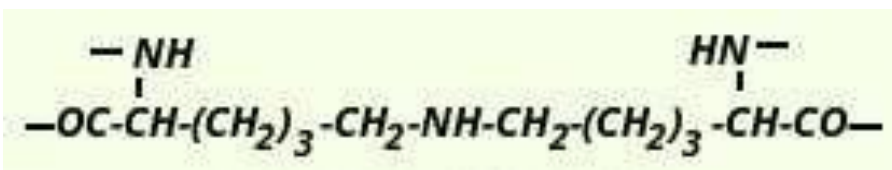
десмозину спочатку три залишки лізину окислюються до відповідних ϵ -альдегідів, а потім відбувається їх сполучення з четвертим залишком лізину.



Вважається, що саме завдяки своїй структурі десмозин та іодесмозин можуть одночасно входити до складу чотирьох пептидних ланцюгів.

Певно, цим можна пояснити те, що еластин на відміну від інших фібрилярних білків здатен розтягуватися у двох напрямках.

У гідролізатах еластину виявлена ще одна незвичайна "амінокислота" - лізиннорлейцин, яка забезпечує разом із десмозином та іодесмозином поперечні зв'язки у молекулі еластину.



Залишок лізиннорлейцину

Еластин разом із колагеном, протеогліканами і низкою гліко- та мукопротеїнів є продуктом біосинтетичної діяльності фібробластів.

Безпосереднім продуктом клітинного біосинтезу вважається не еластин, а його попередник – *тропоеластин* (як для колагену – проколаген).

Тропоеластин не містить поперечних зв'язків, розчиняється у воді. В подальшому тропоеластин перетворюється на нерозчинний зрілий еластин, що містить велику кількість поперечних зв'язків.

Порушення посттрансляційної модифікації еластину можуть призводити до різноманітних захворювань, пов'язаних із в'ялістю та потоншенням еластичних тканин. Причинами цих порушень можуть бути зниження активності *лізілоксидази*, що викликається спадковими причинами або дефіцитом міді, а також порушення всмоктування міді в кишечнику.

Основним ферментом катаболізму еластину є *еластаза* нейтрофілів, яка крім еластину здатна розщеплювати й інші білки, зокрема, колаген, протеоглікани, гемоглобін.

У нормі еластаза не руйнує тканини через наявність у крові синтезованого у печінці інгібітора протеїнази, який називається α 1-*антитрипсином*.

До неколагенових структурних білків міжклітинного матриксу належать такі білки, як *фібронектин*, *ламінін*. Ці поліфункціональні білки характеризуються властивістю зв'язувати інші компоненти матриксу.

1.2. Протеоглікани. Будова і значення. Складні вуглеводи сполучної тканини: глікозаміноглікани. Механізм участі молекул глікозаміногліканів у побудові основної речовини пухкої волокнистої сполучної тканини.

Протеоглікани - високомолекулярні сполуки, що складаються із білку з високим ступенем глікозилювання.

Будова протеогліканів

Протеоглікани є основою міжклітинної речовини сполучної тканини, вони складаються із білку (5-10%) та полісахаридних ланцюгів – *глікозаміногліканів* (93-97%), які утворені залишками гексозаміну та уронової кислоти чи галактози, що чергуються.

Протеоглікани пов'язані з колагеном, еластином, фібронектином і ламініном, а також іншими білками міжклітинного матриксу.

Білкова частина у протеогліканах представлена одним поліпептидним ланцюгом, який називають *коровим (серцевинним) білком*. У різних протеогліканах корові білки відрізняються як за молярною масою, так і за амінокислотним складом.

До корового білку прикріплюються негативно заряджені полісахариди, утворені з дисахаридних фрагментів, що повторюються – глікозаміногліканів. Раніше глікозаміноглікани називали мукополісахаридами, оскільки їх знаходили у слизових секретах (мукоза).

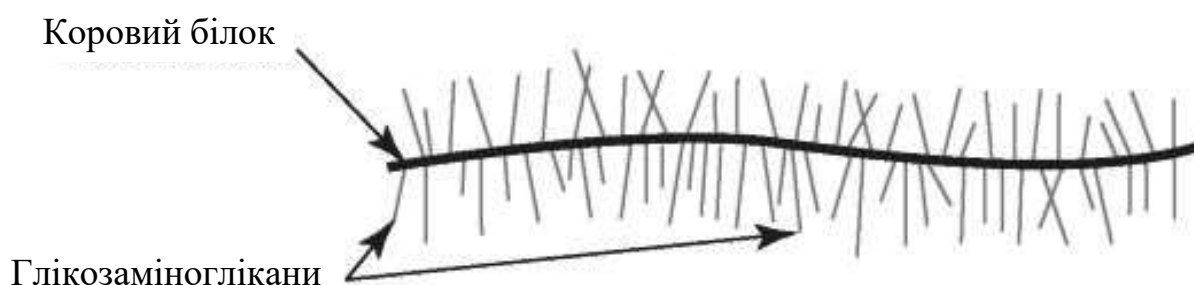


Рис. 6. Будова протеоглікану.

Глікозаміноглікани заряджені негативно, вони добре зв'язують позитивно заряджені іони, велику кількість води і сильно набухають, перетворюючись на гель та надаючи міжклітинному матриксу сполучної тканини високу в'язкість (желеподібні властивості). Це дозволяє глікозаміногліканам, які складають всього 10% від маси сухого позаклітинного матриксу, займати до 90% його об'єму.

Тому глікозаміноглікани забезпечують стійкість сполучної тканини до стискання і виконання ними ресорних функцій.

Найбільш відомим протеогліканом є *агрекан*, коровий білок якого зв'язаний О-глікозидними зв'язками через амінокислотні залишки серину зі ста ланцюгами хондроїтинсульфату і тридцятьма ланцюгами кератансульфату.

Протеоглікани відрізняються високо впорядкованим способом просторового розташування, здатністю зв'язуватися із сигнальними білковими молекулами та виконувати у сполучній тканині структурну, адгезивну, ресорну, рецепторну та інші функції.

Протеоглікани можуть утворювати гелі з різною величиною пор і різною густиною зарядів та слугувати фільтрами, що регулюють рух молекул і клітин у відповідності до їх розмірів та заряду. Є дані про те, що вони виконують подібну функцію і у базальній мембрані ниркових клубочків.

Глікозаміноглікани належать до гетерополісахаридів. Це лінійні структури, побудовані з дисахаридних одиниць, що повторюються.

Молекула дисахариду складається з уронової кислоти і аміноцукру, аміногрупа якого зазвичай ацетильована. Наявність сульфатних і карбоксильних груп у глікозаміногліканах надає їм значного негативного заряду та здатність зв'язувати воду. Завдяки високій густині негативного заряду на своїй поверхні вони зв'язують катіони Ca^{2+} , Na^+ , K^+ і таким чином приймають участь у мінеральному обміні.

Всі глікозаміноглікани поділяють на 2 групи: сульфатовані й нессульфатовані.

До нессульфатованих глікозаміногліканів належить *гіалуронова кислота*.

Сульфатовані глікозаміноглікани у вільному стані не зустрічаються; св'язані з невеликою кількістю білку, вони утворюють протеоглікани.

В наш час відома структура семи основних класів глікозаміногліканів:

- Гіалуронова кислота.
- Хондроїтин-4-сульфат і Хондроїтин-6-сульфат.
- Кератансульфат.
- Дерматансульфат.
- Гепарин.
- Гепарансульфат.

Гіалуронова кислота – знаходиться у багатьох органах і тканинах. У хрящі вона зв'язана із білком і бере участь в утворенні протеогліканових агрегатів, в деяких тканинах (скловидне тіло, пупковий канатик, суглобова рідина) зустрічається у вільному стані.

Дисахаридна одиниця, що повторюється в гіалуроновій кислоті складається із D-глюкуронової кислоти і N-ацетилглюкозаміну. Всередині мономеру – β -1,3-глікозидний зв'язок, між мономерами – β -1,4-глікозидний зв'язок (рис.7).

Основною функцією гіалуронової кислоти у сполучній тканині є зв'язування води, внаслідок чого міжклітинна речовина набуває характер желеподібного матриксу. Зв'язування води і зумовлене їм набухання визначає біологічну роль гіалуронової кислоти у регуляції проникності тканин.

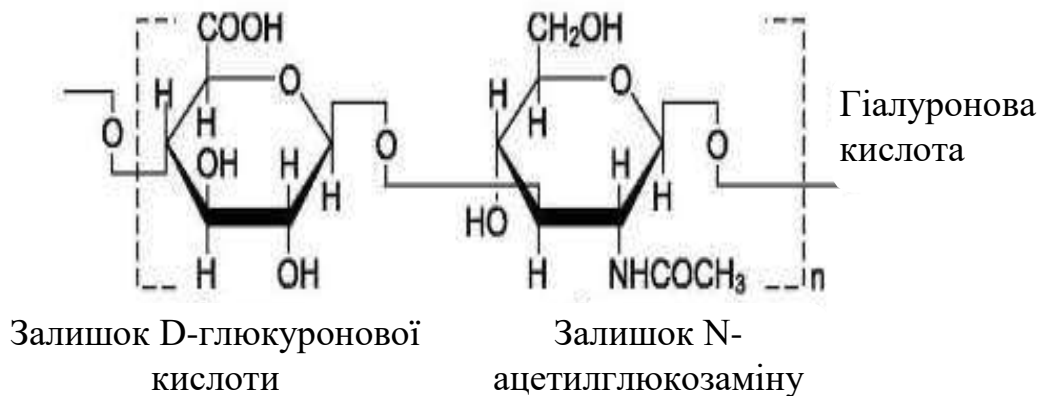


Рис.7. Структурна формула гіалуронової кислоти.

Хондроїтинсульфати – найбільш розповсюджені глікозаміноглікани в організмі людини. Вони містяться у хрящі, сухожилках, зв'язках, артеріях, рогівці ока.

Хондроїтинсульфати є важливим складовим компонентом агрекану – основного протеоглікану хрящового матриксу.

В організмі людини зустрічаються 2 види хондроїтинсульфатів: хондроїтин-4-сульфат і хондроїтин-6-сульфат. Вони побудовані однаковим

способом: із β -D-глюкуронової кислоти і N-ацетил- β -D-галактозамін-4-сульфату або N-ацетил- β -D-галактозамін-6-сульфату відповідно. Дисахаридні залишки сполучені β -(1 \rightarrow 4)-глікозидними зв'язками (рис.8).

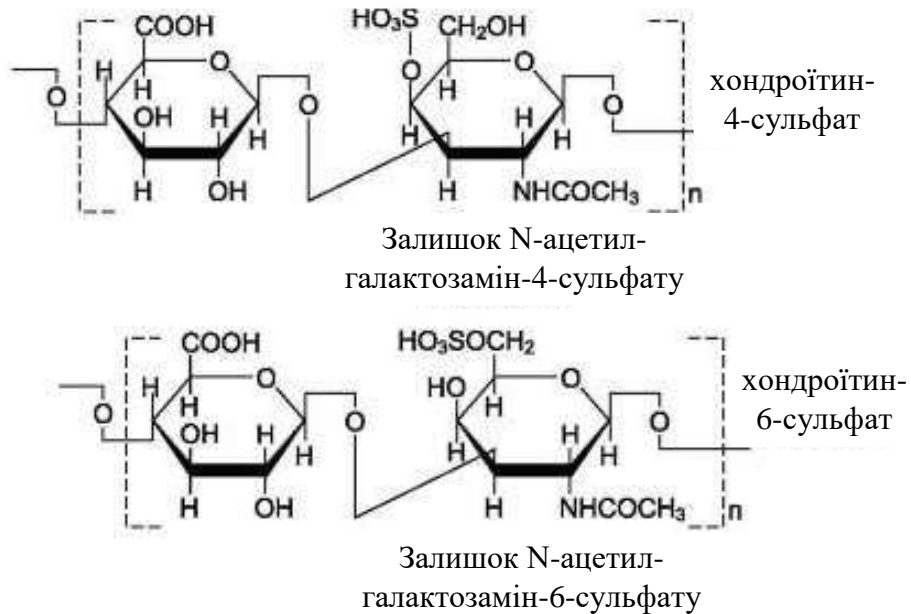


Рис. 8. Структурна формула хондроїтинсульфатів.

Кератансульфати – найбільш гетерогенні глікозаміноглікани. Існують два види кератансульфатів – кератансульфат I та кератансульфат II, які відрізняються амінокислотним складом білку, з яким вони сполучені, сумарним вмістом вуглеводів і локалізацією у тканинах.

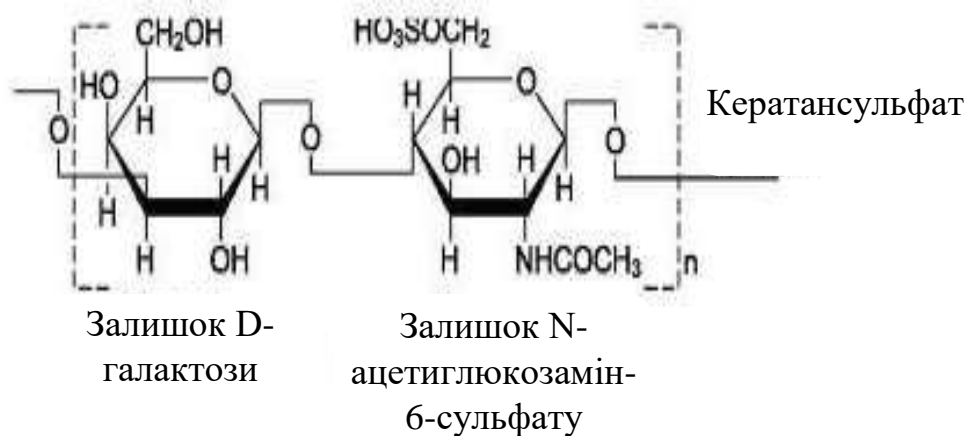


Рис. 9. Структурна формула кератансульфату.

На відміну від інших глікозаміногліканів кератансульфати не містять ані глюкуронової, ані ідурунової кислот.

Дисахаридна одиниця складається з ланок залишків β -D-галактопіранози і N-ацетил-D-глюкозамін-6-сульфата, сполучених β -(1 \rightarrow 4)-глікозидними зв'язками. Дисахаридні фрагменти сполучені β -(1 \rightarrow 3)-глікозидними зв'язками (рис. 9). Кератансульфати входять до складу рогівки ока, хрящів, міжхребцевих дисків.

Дерматансульфат – є характерним для шкіри, кровоносних судин, серцевих клапанів, менісків, міжхребцевих дисків. Дисахаридна одиниця, що повторюється – L-ідурунова кислота і N-ацетил- β -D-галактозамін-4-сульфат, сполучені β -(1 \rightarrow 3)-глікозидними зв'язками. Дисахаридні фрагменти зв'язані один з одним β -(1 \rightarrow 4)-глікозидними зв'язками (рис. 9).

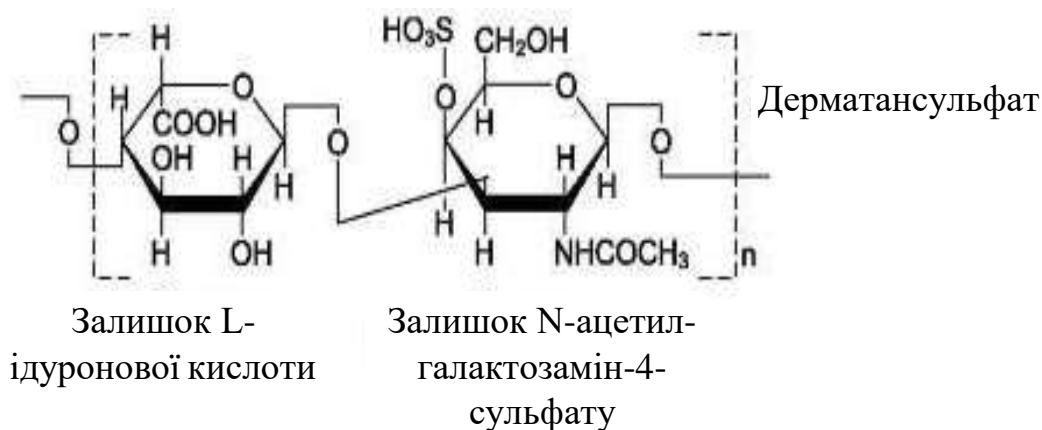


Рис. 9. Структурна формула дерматансульфату.

Гепарин – важливий компонент антикоагуляційної системи крові. Синтезується тучними клітинами. Найбільша кількість гепарину виявляється у легенях, печінці та шкірі.

Дисахаридна одиниця складається з D-глюкуронат-2-сульфату і N-ацетилглюкозамін-6-сульфату.



Рис. 10. Структурна формула гепарину.

Гепарансульфат – входить до складу протеогліканів базальних мембран. Структура дисахаридної одиниці така ж як і у гепарину, але містить більше N-ацетильних груп.

1.3. Глікопротеїни. Будова і значення

Глікопротеїни.

Ці білки також містять олігосахаридні ланцюги різної довжини, що ковалентно прикріплені до поліпептидної основи. Вуглеводний компонент глікопротеїнів значно менший за масою, ніж у протеогліканів, і складає не більше 40% від загальної маси.

Функції глікопротеїнів:

- структурні молекули;
- захисні (муцини, імуноглобуліни, антигени гістосумісності, білки системи комплементу, інтерферон);
- транспортні молекули для вітамінів, ліпідів, мікроелементів;
- гормони: тиротропін, хоріонічний гонадотропін;
- ферменти (нуклеази, фактори згортання крові);
- здійснення міжклітинних контактів.

Метаболізм протеогліканів і глікопротеїнів залежать від швидкості їх синтезу і розпаду. Їх поліпептидні ланцюги синтезуються на мембранозв'язаних полірибосомах за матричним механізмом синтезу.

Полісахаридні ланцюги приєднуються до білку через з'єднувальну ділянку, до складу якої частіше за все входить трисахарид галактоза-галактоза-ксилоза, що сполучається із залишком серину корового білку.

1.4. Синтез і деградація протеогліканів та їх регуляція.

Коровий білок протеогліканів синтезується на рибосомах і переноситься до шорсткого ендоплазматичного ретикулуму, де за допомогою ізопреноїдного спирту доліхолдифосфату на нього переносяться та приєднуються трисахаридні фрагменти.

Більшість глікозаміногліканів зв'язуються із коровим білком *O*-глікозидним зв'язком із амінокислотними залишками *серину* або *треоніну*.

Кератансульфат приєднується до амінокислотного залишку *аргініну N*-глікозидним зв'язком.

В подальшому коровий білок із приєднаним трисахаридом каналами ЕПР надходить до апарату Гольджі, де відбувається нарощування полісахаридних ланцюгів шляхом послідовного приєднання моносахаридів, перенесення моносахаридів здійснюється від їх *УДФ-похідних*. Джерелом аміногрупи у аміноцукрах, що приєднуються є *амідний азот глутаміну*.

Далі відбувається сульфатування вуглеводної частини за залишками *N*-ацетилгалактозаміну або *N* ацетилглюкозаміну, постачальником сульфатної групи виступає *ФАФС (3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат)* (див. підручник: Березов Т.Т., Коровкин Б.Н. Биологическая химия. – М: изд-во «Медицина», 2007, с.428).

Інгібуючий вплив на синтез глікозаміногліканів і глюкуронової кислоти справляють глюкокортикоїди.

Статеві гормони також гальмують синтез сульфатованих глікозаміногліканів, тоді як вітамін *A* підсилює сульфатування глікозаміногліканів.

В тканинах організму протеоглікани постійно оновлюються.

Катаболізм відбувається у лізосомах, куди протеоглікани надходять шляхом ендоцитозу.

Білкова частина розщеплюється катепсинами, а вуглеводна – специфічними глікозидазами. Однією з важливих глікозидаз є *гіалуронідаза*, яка гідролізує 1,4-глікозидні зв'язки між дисахаридними одиницями, що повторюються в гіалуронової кислоті та хондроїтинсульфаті, при цьому кінцевими продуктами реакції є тетрасахариди.

Після часткового розщеплення фрагменти протеогліканів і тетрасахариди переносяться з міжклітинного простору до клітини шляхом ендоцитозу у ендоцитозних пухирцях, які потім зливаються із лізосомами, де і відбувається остаточне розщеплення проміжних фрагментів лізосомальними ферментами до мономерів.

Введення тваринам гормону росту в будь-якому віці призводить до того, що швидкість синтезу протеогліканів і їх склад стають такими ж, як у молодих особин.

Введення тестостерону збільшує швидкість синтезу гіалуронової кислоти в ряді тканин, наприклад, у клапанах серця, шкірі. В синовіальній рідині уражених ревматизмом чи артритом суглобів пацієнтів, вміст гіалуронової кислоти вище, ніж у нормі, крім того, її молекули у значній мірі деполімеризовані.

При цукровому діабеті спостерігається уповільнення загоєння ран, прискорення дегенерації судин, що може бути (у крайньому разі, частково) наслідком зменшення здатності організму синтезувати глікозаміноглікани при недостатній секреції інсуліну. Проте необхідно відмітити, що гормональний контроль синтезу протеогліканів вивчений ще недостатньо.

1.5. Характеристика і біохімічний склад кісткової тканини.

Кісткова тканина – високоспеціалізований вид сполучної тканини, яка відрізняється особливою твердістю, механічною міцністю, наявністю

великої кількості міжклітинної речовини при відносно невеликому вмісті кісткових клітин. Найбільш характерною особливістю кісткової тканини є її здатність до мінералізації, в результаті якої вона набуває унікальних механічних властивостей.

Кісткова тканина - головна складова частина кістки. Вона утворює кісткові пластинки. В залежності від густини і розташування пластинок розрізняють компактну і губчасту кісткову речовину. У тілах (діафізах) довгих (трубчастих) кісток в основному міститься компактна кісткова речовина. В епіфізах довгих кісток, а також у коротких и пласких кістках переважає губчаста кісткова речовина.

Клітинними елементами кісткової тканини є *остеобласти, остеоцити і остеокласти*.

Остеобласти - клітини кісткової тканини, беруть участь в утворенні міжклітинної речовини. Відзначною рисою остеобластів є наявність сильно розвинутого ендоплазматичного ретикулуму і потужного апарату білкового синтезу. В остеобластах синтезується проколаген, а також глікозаміноглікани, білкові компоненти протеогліканів, ферменти та інші сполуки, більшість з яких потім швидко переходять до міжклітинної речовини.

Остеоцити – за структурою подібні до остеобластів, із котрих вони утворюються під час розвитку кісткової тканини, але відрізняються неспроможністю розмножуватися. Остеоцити беруть участь в обміні мінеральних компонентів між кістковим матриксом і тканинною рідиною. При функціональній перебудові кістки вони здатні самостійно резорбувати (розсмоктувати) навколо себе кісткову тканину подібно до резорбції остеокластів.

Остеокласти – гігантські багатоядерні клітини зі слабо розвинутим ендоплазматичним ретикулумом, які містять мало рибосом, але велику кількість лізосом і мітохондрій. У зв'язку з цим здатність синтезувати РНК і

білки у них обмежена, а основною функцією є *розсмоктування (резорбція)* кісткової тканини (органічного матриксу і міжклітинної речовини).

Міжклітинна і основна речовина кісткової тканини.

Міжклітинна речовина представлена органічним міжклітинним матриксом, який складається на 90% з колагену, і основною мінералізованою речовиною (5-10%).

Колагенові волокна в основному розміщені паралельно напрямку рівня найбільш імовірних механічних навантажень на кістку і забезпечують пружність та еластичність кістки.

Основна речовина міжклітинного матриксу складається головним чином із глікопротеїнів і протеогліканів, що беруть участь у переміщенні та розподілі неорганічних іонів.

Мінеральні речовини, що розміщені у складі основної речовини в органічному матриксі кістки представлені кристалами, головним чином гідроксиапатитом $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

Співвідношення кальцій/фосфор у нормі складає 1,3-2,0. Крім того, у кістці виявлені іони Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , SO_4^{2-} , HCO_3^- , гідроксильні та інші іони, які можуть брати участь в утворенні кристалів.

Мінералізація кістки пов'язана із особливостями глікопротеїнів кісткової тканини і активністю остеобластів.

Білки матриксу кісткової тканини.

Основними білками позаклітинного матриксу кісткової тканини є ***колагенові білки I типу***, котрі складають біля 90% органічного матриксу кістки. Колаген кісткової тканини містить багато гідроксипроліну. Він відрізняється наявністю дуже міцних міжмолекулярних зв'язків – як ковалентної, так і нековалентної природи. На відміну від колагену сухожилків і хрящів, і, на відміну від м'яких тканин – у ньому більше гідроксилізіну і менше лізіну, для нього характерний високий вміст

лабільних альдимінових зв'язків, у колагені кістки переважають стабільні поперечні зв'язки. Ці зв'язки створюють особливий тип укладки молекулярних агрегатів кісткового колагену, який забезпечує умови для мінералізації. Ще однією можливою відмінністю є те, що N-кінцевий пропептид колагену I типу фосфорильований й цей пептид частково зберігається у мінералізованому матриксі.

Разом із колагеном, органічний матрикс кісткової тканини містить, як і всі інші види сполучної тканини, *адгезивні неколагенові білки*, специфічні для кісткової тканини (приблизно 17%).



Рис. 11. Вміст неколагенових білків у міжклітинному матриксі кісткової тканини [за Gehron R. P., 1992].

До них належать глікопротеїни, протеоглікани, сіалопротеїн, альбумін. Як правило, глікопротеїни синтезуються остеобластами і здатні зв'язувати фосфати або кальцій, таким чином, вони приймають участь у формуванні мінералізованого матриксу. З'єднуючись із клітинами, колагенами і

протеогліканами, вони забезпечують утворення надмолекулярних комплексів матриксу кісткової тканини.

Головними неколагеновими білками кістки є анкорин та фібронектин.

Анкорин – це глікопротеїн, який міститься також у матриксі хряща, де він зв'язаний із цитоплазматичною мембраною хондроцитів і міцно з'єднує ці клітини із колагеном II типу.

Специфічним неколагеновим білком для кісткової тканини і дентину є *остеокальцин* – кістковий глютаміновий білок (gla-білок), глікопротеїн, білок з невеликою молекулярною масою (49 амінокислотних залишків). Він міцно з'єднаний із кристалами гідроксиапатиту і регулює зв'язування Ca^{2+} у кістках і зубах. Він синтезується в основному остеобластами і формує позаклітинний матрикс кістки, фракція новосинтезованого остеокальцину потрапляє у кровоток. *Він є маркером для оцінки співвідношення процесів утворення ф резорбції кісткової тканини.*

Для його синтезу остеобластам потрібен вітамін К, котрий сприяє приєднанню додаткової карбоксильної групи до глютамінової кислоти (у радикальній частині амінокислоти утворюється $-CH_2-CH(COO-)_2$). Набуваючи додаткового “ – “ заряду, залишок глютамінової амінокислоти стає здатним міцно зв'язувати Ca^{2+} . Остеокальцин після синтезу включається до позаклітинного простору кістки. Активність остеобластів, що продукують остеокальцин, інгібується високим рівнем паратгормону (ПТГ), в результаті знижується вміст цього білку в кістках і крові.

Специфічним глікопротеїном кістки є *сіалопротеїн*, який відрізняється високим вмістом сілової кислоти (17,1%), а також містить галактозамін і фосфат. Присутність сіалопротеїну в кістковій тканині обумовлює її спроможність зв'язувати катіони.

Кістковий сіалопротейн, остеопонтін, остеонектин та інші кісткові білки мають кислу природу (містять ГЛУ, АСП, фосфорильовані амінокислоти), що допомагає їх участі у мінералізації.

Протеоглікани кісткової тканини відіграють роль пластифікаторів для колагенової сітки, підвищують її розтягнення і збільшують ступінь набухання. Головним глікозаміногліканом кісткової тканини є хондроїтин-4-сульфат. У ній присутня також гіалуронова кислота, кератансульфат і невелика кількість хондроїтин-6-сульфату. Наявність у кістковій тканині глікозаміногліканів, в особливості хондроїтин-4-сульфату, має безпосереднє відношення до процесу мінералізації. Хондроїтинсульфат за рахунок своїх сульфатних груп є поліаніоном і зв'язує Ca^{2+} , тобто здатний до активного іонного обміну. При його руйнуванні порушується зв'язування Ca^{2+} .

До найбільш важливих компонентів кісткової тканини належить глікоген, який постачає енергію, необхідну для перебігу біосинтетичних процесів. Присутність глікогену – необхідна умова для перебігу процесу мінералізації. Зрілі остеобласти, які оточені мінеральним кістковим матриксом, позбавлені глікогену.

В цілому мінералізація кістки характеризується взаємодією трьох факторів:

- Місцеве підвищення концентрації іонів фосфату;
- Адсорбція іонів Ca^{2+}
- Зсув рН.

Значення рН відіграє важливу роль у процесі мінералізації. При підвищенні рН фосфат кальцію відкладається у кістковій тканині швидше.

Матрикс вирізняється високим вмістом *лимонної кислоти* (близько 1%), який впливає на підтримку рН і утворює комплексні сполуки із солями кальцію і фосфору, що забезпечує підвищення концентрації до такого рівня, при якому можуть початися кристалізація і мінералізація.

Важливу роль у процесах мінералізації кістки відіграють ліпіди (0,1-0,7%). Вміст ліпідів у кістковій тканині значно нижче, ніж у хрящі. Якісний і кількісний склад ліпідів змінюється в залежності від ступеню мінералізації хряща. Вміст ефірів холестерину прогресивно підвищується зі зростанням ступені мінералізації, а кількість ацилгліцеролів зменшується. Рівень вільних жирних кислот залишається постійним, але він вище у хрящі, що проліферує, де міститься близько 40% неполярних ліпідів.

1.6. Специфічні ферменти кісткової тканини.

Структура і функції кісткової тканини підтримуються специфічними ферментами: лужною фосфатазою, дегідрогеназами, кислою фосфатазою, амінопептидазою, аденілатциклазою, піруваткіназою, фосфотранферазою, цитохромоксидазою, каталазою.

Лужна фосфатаза – мембранний фермент, відіграє велику роль у процесі окостеніння:

- При відновленні кісткової тканини після переломів вміст лужної фосфатази у кістковій мозолі різко зростає.
- При порушенні утворення кісткової тканини спостерігається зменшення вмісту і активності лужної фосфатази у кістках, плазмі та у інших тканинах.
- При рахіті, котрий характеризується збільшенням кількості остеобластів з недостатнім звапнуванням основної речовини, вміст і активність лужної фосфатази у плазмі крові зростають.

Лужна фосфатаза міститься як у остеобластах, так і у остеокластах. Вона приймає участь в утворенні основної органічної речовини кістки і у мінералізації. Одним із механізмів її дії є локальне збільшення концентрації іонів фосфату до точки насичення, після чого починаються процеси фіксації кальцій-фосфатних солей на органічній матриці кістки.

Кисла фосфатаза зосереджена у остеокластах. Вона безпосередньо бере участь у резорбції кістки, здійснюючи розщеплення органічних ефірів фосфатної кислоти з вивільненням фосфатних іонів. Таким чином, кисла фосфатаза – лізосомальний фермент і її головна функція полягає у катаболізмі, тоді як лужна фосфатаза приймає участь у процесах мінералізації.

1.7. Регуляція метаболізму кісткової тканини.

Метаболізм кісткової тканини, як і інших тканин організму, регулюють гормони і вітаміни. Серед гормонів, що регулюють метаболічні процеси у кістці, найбільш повно вивчена дія гормонів щитовидної та прищитовидних залоз, соматотропіну і стероїдних гормонів.

Паратгормон підвищує вміст сироваткового Ca^{2+} , викликає різке підсилення процесів резорбції, що проявляються у руйнуванні мінеральної та органічної основи кісткової тканини. Він активує проліферацію клітин-попередників остеобластів, подовжує час їх півжиття та інгібує апоптоз остеобластів.

У кістковій тканині рецептори для паратгормону присутні у мембранах остеобластів і остеоцитів. Остеокласти позбавлені рецепторів для даного гормону. Зв'язуючись із остеобластами, паратгормон викликає синтез остеокласт-активуючого фактору - RANKL, який здатен зв'язуватися із преостеокластами, що збільшує їх метаболічну активність – це доводить ріст Ca^{2+} у крові, виділення із сечею оксипроліну.

Рецептори до паратгормону розміщуються і у ниркових каналцях. У проксимальних відділах ниркових каналців гормон інгібує реабсорбцію фосфату і стимулює утворення $1,25(OH)_2D_3$. В дистальних відділах ниркових каналців він підсилює реабсорбцію Ca^{2+} .

Таким чином, паратгормон забезпечує підвищення рівня кальцію і зниження фосфатів у плазмі крові.

Синтез паратгормону стимулює адреналін, тому в умовах гострого і хронічного стресу кількість цього гормону зростає.

Тиреокальцитонін – навпаки, інгібує резорбцію кістки остеокластами. Секреція тиреокальцитоніну зростає при збільшенні концентрації іонів Ca^{2+} і зменшується при зниженні концентрації іонів Ca^{2+} у крові.

Вона також залежить від рівня естрогенів. При нестачі естрогенів секреція кальцитоніну знижується. Це викликає підсилення мобілізації кальцію у кістковій тканині та сприяє розвитку остеопорозу.

Кальцитонін впливає на транспорт іонів Ca^{2+} крізь клітинні мембрани. Він стимулює поглинання іонів Ca^{2+} мітохондріями і у такий спосіб затримує відтік іонів Ca^{2+} з клітини. Цей процес залежить від кількості АТФ і співвідношення іонів Na^+ і K^+ в клітині.

Кальцитонін пригнічує розпад колагену, що проявляється зменшенням екскреції з сечею гідроксипроліну.

В клітинах ниркових каналців кальцитонін інгібує гідроксилування $25(\text{OH})\text{D}_3$.

Таким чином, кальцитонін пригнічує активність остеокластів та інгібує вивільнення іонів Ca^{2+} із кісткової тканини, а також зменшує реабсорбцію іонів Ca^{2+} у нирках.

В результаті гальмується резорбція кісткової тканини, стимулюються процеси мінералізації, що проявляється зниженням рівню кальцію і фосфору в плазмі крові.

Тиреоїдні гормони здатні стимулювати секрецію гормонів росту. Соматотропін (гормон росту), естрогени, $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ стимулюють поділ остеобластів і перетворення преостеобластів на остеобласти.

При гіпертиреозі пригнічується диференціація остеогенних клітин і синтез білку в цих клітинах, знижується активність лужної фосфатази. За рахунок посиленої секреції тиреокальціну активується хемотаксис остеокластів, що веде до резорбції кісткової тканини.

Статеві стероїдні гормони беруть участь у процесах ремоделювання кісткової тканини. Вплив естрогенів на кісткову тканину проявляється у активації остеобластів та пригніченні остеокластів. Вони також сприяють всмоктуванню іонів Ca^{2+} у шлунково-кишковому тракті та його відкладанню у кістковій тканині.

Жіночі статеві гормони стимулюють продукцію кальцитоніну щитовидної залозою і знижують чутливість кісткової тканини до паратгормону. Вони також витісняють на конкурентній основі кортикостероїди з їх рецепторів у кістковій тканині. Андрогени, що справляють анаболічну дію на кісткову тканину, стимулюють біосинтез білку в остеобластах, а також ароматизуються в жировій тканині на естрогени.

В умовах дефіциту статевих стероїдів, котрий має місце під час менопаузи, процеси кісткової резорбції починають переважати над процесами ремоделювання кісткової тканини, що і призводить до розвитку остеопенії та остеопорозу.

Глюкокортикоїди (кортизол) у кістковій тканині гальмує синтез колагену I типу, деяких неколагенових білків, протеогліканів і остеопонтіну. Глюкокортикоїди також зменшують кількість тучних клітин, які є місцем утворення гіалуронової кислоти. Під впливом глюкокортикоїдів прискорюється розпад білків. Глюкокортикоїди пригнічують всмоктування іонів Ca^{2+} у кишечнику, що супроводжується зниженням його у сироватці крові. Це зниження призводить до викиду паратгормону, який стимулює утворення остеокластів і резорбцію кістки.

Крім того, кортизол у м'язах і кістках стимулює розпад білків, що також порушує формування кісткової тканини. У підсумку дія глюкокортикоїдів призводить до зменшення кісткової тканини.

В регуляції обміну кісткової тканини бере участь також велика група вітамінів:

Вітамін D₃ (холекальциферол) справляє на кістку багатоплановий вплив. Метаболіти вітаміну D₃ регулюють хондрогенез і остеогенез вже у процесі ембріонального розвитку.

Вони підвищують пронкність епітелію кишечника для кальцію і фосфору, стимулюють всмоктування Ca²⁺, підвищують реабсорбцію кальцію, фосфору, натрію, цитратів, амінокислот у проксимальних канальцях нирок, тому нестача вітаміну D проявляється у зниженні надходження Ca²⁺ у кров. Звідси недостатнє звапнування кістки і розвиток рахіту при дефіциті вітаміну D. Він також знижує синтез паратгормону, посилює синтез лужної фосфатази (мініралізація у епіфізах), колагену.

Кальцидіол, кальцитріол знижують проліферацію, посилюють диференціювання клітин. Навпаки, при надлишку вітаміну D спостерігається посилене розсмоктування кісток і зростання концентрації Ca²⁺ в сироватці крові. Підвищення Ca²⁺ і P у крові призводить до значного їх зростання у сечі та утворення каменів у нирках. При отруєнні вітаміном D активність гідроксилази у нирках інгібується надлишком субстрату, що перешкоджає синтезу активних форм вітаміну. Далі починається розсмоктування кісткової тканини.

Вітамін А. Біологічно активні форми (ретиноєві кислоти) спроможні регулювати ріст і диференціювання клітин різних тканин організму. Дія ретиноєвих кислот спрямована і на остеобласти, і на остеокласти. Вітамін А знижує продукцію остеобластами колагену і збільшує секрецію колагенази. Одночасно він стимулює утворення остеокластів і активує остеокластичну резорбцію.

При нестачі вітаміну А порушується ріст скелету (остеосклероз), оскільки вітамін бере участь у синтезі гепарину, кислих мукополісахаридів хрящової і кісткової тканин (зв'язування Са). При надлишку вітаміну А – у дітей спостерігається деформація кісток і затримка росту кісток у довжину.

Вітамін С. При нестачі аскорбінової кислоти у мезенхемальних клітинах не відбувається гідроксилювання залишків лізину і проліну, що

призводить до порушення утворення зрілого колагену. Незрілий колаген, що утворюється не здатний зв'язувати іони Ca^{2+} і таким чином порушуються процеси мінералізації.

Вітамін Е. При дефіциті вітаміну Е в печінці не утворюється $25(\text{OH})\text{D}_3$ – попередник активних форм вітаміну D_3 . Дефіцит вітаміну Е також може привести до зниження рівня магнію в кістковій тканині.

Маркери кісткової тканини.

Метаболізм кісткової тканини характеризується двома протилежними процесами: утворенням нової кісткової тканини остеобластами і резорбцією (деградацією) старої остеокластами.

До біохімічних *маркерів формування* нової кісткової тканини належать кістково-специфічна лужна фосфатаза, остеокальцин плазми, проколаген I, пептиди плазми.

До біохімічних *маркерів резорбції* кістки належать кальцій, гідроксипролін, піридинолін і дезоксипіридинолін сечі, що є похідними поперечних волокон колагену, специфічних для хрящів і кісток.

Ці маркери, імовірно, набудуть ще більшого значення в майбутньому, оскільки вони є високочутливими.

Іншими маркерами резорбції кістки є кисла тартрат-резистентна фосфатаза плазми.

Мабуть, особливо важливим може бути визначення дефекту карбоксилювання остеокальцину плазми, оскільки таким чином можна виявити дефекти у кістковому матриксі, і, відповідно, дефекти якості кістки з урахуванням дефіциту вітамінів D і K. Виявлення цих дефектів є прогностичною ознакою підвищеного ризику перелому кістки через підвищення її крихкості.

1.8. Характеристика і біохімічний склад хрящової тканини.

Структура хрящової тканини.

Хрящова тканина – один із різновидів сполучної тканини, належить до групи тканин, які виконують опорну функцію. Ділянку органу, побудованого із хрящової тканини, позначають терміном «хрящ». Неодмінним атрибутом хряща, за виключенням суглобового, є окістя, яке забезпечує живлення і ріст хряща. В суглобах хрящ некритий і безпосередньо контактує із внутрішньою середою суглобу – синовіальною рідиною (синовією).

Клітини хрящової тканини: хондробласт, хондроцит.

Хондробласти знаходяться у внутрішньому шарі охрястя, мають органели загального значення: гранулярну ЕПС, комплекс Гольджі, мітохондрії. Функція хондробластів: 1) секретують міжклітинну речовину (фібрилярні білки); 2) в процесі диференціювання перетворюються на хондроцити; 3) мають здатність до мітотичного поділу.

Хондроцити розміщуються у хрящових лакунах. У лакуні спочатку знаходиться 1 хондроцит, потім у процесі його мітотичного поділу утворюються 2, 4, 6 і т.д. клітин. Всі вони знаходяться в одній лакуні й утворюють ізогенну групу хондроцитів.

Хондроцити ізогенної групи поділяють на 3 типи: I, II, III.

Хондроцити I типу мають здатність до мітотичного поділу, містять комплекс Гольджі, мітохондрії, гранулярну ЕПС і вільні рибосоми, мають велике ядро і невелику кількість цитоплазми (високе ядерно-цитоплазматичне співвідношення). Ці хондроцити розташовуються у молодому хрящі.

Хондроцити II типу розташовуються у зрілому хрящі, вони втрачають здатність до мітозу. В їх цитоплазмі добре розвинута гранулярна ЕПС, вони секретують білки і глікозаміноглікани (хондроїтинсульфати).

Хондроцити III типу знаходяться у старому хрящі, втрачають здатність до синтезу глікозаміногліканів і виробляють тільки білки.

Міжклітинна речовина хрящової тканини. Загальною біохімічною особливістю різних хрящів є високий вміст ліпідів і сульфатованих ГАГ, серед яких переважають хондроїтинсульфати і кератансульфати.

Крім того, у матриці міститься нессульфатована ГАГ – гіалуронова кислота. Вона відіграє важливу роль у формуванні надмолекулярної структури матриксу.

Крім ГАГ, тут присутні й інші гексозаміновмісні компоненти – глікопротеїни. Ці білки створюють подобу стрижнів (звідси назва "стрижневі білки") в більш крупних молекулах протеогліканів.

Протеоглікани у хрящовому матриці складають 10-20% молекулярної маси. Протеоглікани є поліаніонами, оскільки містять багато кислих груп. Це сприяє високій гідратації хрящового матриксу і забезпечує виконання їм ресорних функцій.

Отже, основна функція протеогліканів у хрящовій тканині – це зв'язування води, забезпечення дифузії, стійкості хряща до перевантажень, зв'язок із колагеновими структурами.

Основним протеогліканом у хрящовому матриці є агрекан. Він утворює агрегати, котрі взаємодіють із колагеновими фібрилами за типом «переплетення». Феномен «переплетення» пояснює безліч властивостей хрящової тканини: неможливість екстрагування розчинних компонентів без попередньої дезінтеграції, високу еластичність, завдяки якій забезпечується пружність хрящових прокладок у скелеті.

Тісний зв'язок між колагеном і протеогліканами – одна з характерних рис молекулярної організації матриксу хряща. Співвідношення колагену, протеогліканів і води у хрящі – 2,5:1:6,5. Колагеновий каркас матриксу виконує структурну, опорну, стабілізуючу функцію по відношенню до води і протеогліканам, які знаходяться у стані гелю у петлях волокнистого каркасу. Колагеновий каркас має велику пружність по відношенню до сил розтягування, але, побудований із довгих і тонких фібрил, надає слабкий

спротив на стиснення. Колаген у матриксі суглобового хряща складає 50-70%, з яких 95% припадає на колаген II типу.

Колаген II типу розглядають як *достовірний маркер гіалінового хряща*. Крім колагену II типу, в матриксі суглобового хряща присутні мінорні колагени V, VI, IX, X та XI типів.

Інтерстиціальна вода (тканинна рідина) у хрящі, вміст якої (65-85%), проявляє властивості вільної води і може переміщуватися у хрящі, виходити за межі хрящу й повертатися до нього. Вода, як нестислива рідина, забезпечує міцність хрящу, а її переміщення обумовлюють оборотність деформацій, що виникають при навантаженні.

Крізь основну речовину з боку охрястя шляхом дифузії проникають гази, молекули води, іони солей і мікромолекули. Макромолекули не проникають. Макромолекули мають антигенні властивості. Але оскільки вони не проникають у хрящ, то пересаджений від однієї людини інший хрящ добре приживається (не виникає імунної реакції відторгнення).

Орієнтація колагенових волокон залежить від силових ліній, а напрямок силових ліній залежить від механічної дії на хрящ. У міжклітинній речовині хрящової тканини відсутні кровоносні й лімфатичні судини, тому живлення хрящової тканини здійснюється шляхом дифузного надходження речовин з боку судин охрястя.

Хрящові тканини класифікуються на *гіалінову, еластичну і волокнисту*. В основу класифікації покладені особливості організації міжклітинної речовини.

Колагенових волокон у гіаліновому хрящі відносно мало, у фіброзному, навпаки, багато. У фіброзному хрящі переважає хондроїтин-6-сульфат, а у гіаліновому хрящі більше хондроїтин-4-сульфату.

Еластичний хрящ від гіалінового хряща відрізняється тим, що він, по-перше, еластичний, оскільки в ньому, крім колагенових, містяться еластичні волокна, що йдуть у різних напрямках і вплітаються у охрястя; по-друге, він

містить менше хондріатинсірчаної кислоти, ліпідів і глікогену; по-третє – він ніколи не піддається звапнінню. У той же час загальний план будови еластичної хрящової тканини подібний до будови гіалинового хряща.

Синовіальна рідина.

У діагностиці захворювань суглобів користуються дослідженням складу синовіальної рідини.

Синовіальна рідина (синовія) – селективний діалізат плазми крові, збагачений гіалуроновою кислотою і білками, які надають їй в'язкість, а також продуктами метаболізму суглобового хрящу і синовіальної оболонки. Обмінні процеси між суглобовою порожниною і судинами організму тісно пов'язані зі складом і властивостями синовіальної рідини. Якщо, з одного боку, характер обміну в суглобі визначається станом синовіальної рідини, то у такій же мірі склад самої синовії обумовлений надходженням речовин з крові та інтенсивністю всмоктування із суглобової порожнини до кровоносних і лімфатичних судин.

Синовіальна рідина за своїм хімічним складом дуже схожа на плазму крові тільки за вмістом води і електролітів. В її склад входить *глюкоза*, але у меншій концентрації, ніж у крові. Вміст загального білку в синовії майже у три рази нижче, ніж у плазмі крові. Відношення альбумінів до глобулінів у синовіальній рідині вище, ніж у плазмі, а вміст α_2 -глобуліну – майже втричі нижче. На відміну від плазми синовія не містить фібриногену.

Різниця білкового складу синовії і плазми пояснюється бар'єрними функціями синовіальної оболонки і властивостями самої синовії: вона легше пропускає протеїни із низькою молекулярною масою з крові до суглобу, ніж високомолекулярні білки.

Іншою важливою відмінністю синовії від плазми крові є наявність у ній *гіалуронової кислоти*, молекули якої нековалентно з'єднані з білками (перш за все глікопротеїнами) і утворюють агрегати молекул більшої чи меншої складності.

Наявність гіалуронової кислоти обумовлює в'язкість синовіальної рідини. В'язкість синовії пояснює її особливу роль у забезпеченні нормальної рухомості суглобу.

Фермент, котрий гідролізує гіалуронову кислоту – *гіалуронідаза*, у нормі в суглобовій рідині відсутній.

1.10. Патохімія сполучної тканини. Біохімічні зміни сполучної тканини при старінні, уроджених і набутих захворюваннях. Механізми виникнення і їх клініко-біохімічна діагностика.

10. 1. Біохімічні зміни сполучної тканини при старінні.

Процес старіння супроводжується значними змінами у сполучній тканині. У біохімічному аспекті вони зводяться до наступного:

- Вміст кератансульфатів у сполучній тканині поступово зростає, а хондроїтинсульфатів і гіалуронової кислоти – знижується.
- Кількість основної речовини з віком зменшується, а вміст колагенових волокон – збільшується.
- Знижується кількість поперечних зв'язків у еластині й зменшується еластичність сполучнотканинних утворень.
- Кількість поперечних зв'язків у колагені, навпаки, зростає, внаслідок чого збільшується міцність колагенового волокна і зменшується його доступність для колагенази.
- У процесі старіння загальмовується інтенсивність метаболізму компонентів сполучної тканини.
- Зменшується концентрація гідроксипроліну в сироватці крові і добова екскреція його із сечею.
- У складі колагенових і еластичних волокон збільшується вміст кальцію, що веде до ригідності деяких видів сполучної тканини.

- Кількість зв'язаної води зменшується, що призводить до зниження тургору тканин.

10. 2. Біохімічні зміни сполучної тканини при уроджених і набутих захворюваннях.

Захворювання сполучної тканини можна поділити на уроджені й набуті, які виникають внаслідок порушення регуляції, запалення або дії різних ушкоджуючих факторів.

Уроджені порушення сполучної тканини.

Численні уроджені захворювання сполучної тканини є наслідком порушень *синтезу колагену*.

Недосконалий остеогенез характеризується аномальною ламкістю кісток, наявністю блакитних склер, іноді – глухотою внаслідок витончення барабанної перетинки. Більше 90% хворих на недосконалий остеогенез мають мутації у генах або мутації, що порушують сплайсинг РНК. Ці мутації призводять до зниження експресії гену колагену або до синтезу структурно аномальних ланцюгів тропоколагену, які формують аномальні фібрили.

Синдром Елерса-Данлоса (Ehlers-Danlos syndrome) – загальна назва групи уроджених порушень обміну колагену, які супроводжуються дистрофією шкіри, підвищеною рухливістю суглобів і т.п. Виявлено, щонайменше, 11 типів синдрому Елерса-Данлоса.

Найбільш небезпечним є IV тип через тенденції до розриву артерій або кишечника внаслідок порушень *III типу колагену*. Тип VI пов'язаний із дефіцитом *лізилгідроксилази*. Він характеризується підвищеною рухливістю суглобів і тенденцією до розривів очей. Тип VII пов'язаний із дефіцитом *проколаген-N-протеїнази*. Це призводить до формування атипових нерегулярних фібрил колагену і проявляється підвищеною рухливістю суглобів і дистрофією шкіри.

Підвищена розтяжність і еластичність шкіри, патологічна рухливість суглобів дозволяє хворим із синдромом Елерса-Данлоса виступати у циркових атракціонах у амплуа «гутаперчевих хлопчиків» і «жінок-змій».

Синдром Alport відноситься до групи генетичних порушень структури фібрил IV типу колагену. Цей тип колагену є основним у базальних мембранах ниркових клубочків. Супроводжується гематурією.

Синдром Менке (Menke syndrome) або «синдром кучерявого волосся». Патологія розвивається внаслідок генетично зумовленого порушення метаболізму міді, кофактора *лізілоксидози*. Ензимопатія супроводжується порушенням утворення поперечних міжмолекулярних зв'язків і, відповідно, формування нормальних колагенових фібрил. Захворювання характеризується численними порушеннями, зокрема, патологією ЦНС («нейропатія Менке»).

Синдром Марфана пов'язаний із мутаціями гену білка *фібриліну*. Це відносно часте уроджене захворювання, що вражає сполучну тканину. При цьому вражаються очі (виникає дислокація кришталику), скелетна система. Більшість пацієнтів – високі, з довгими і тонкими кінцівками, що особливо помітно на пальцях рук (арахнодактилія), і підвищеною рухомістю суглобів.

Мукополісахаридози (МПС) – це група спадкових порушень обміну глікозаміногліканів, які зумовлені недостатністю лізосомальних ферментів, що призводить до накопичення мукополісахаридів і виникненню різноманітних клінічних симптомів. Вони проявляються глибокими порушеннями з боку сполучної тканини багатьох внутрішніх органів, патологією кісток і суглобів (деформацією голови, хребта, кінцівок), спотвореними рисами обличчя (так званий «гаргоїлізм»), затримкою розвитку дитини, скороченням тривалості життя. Мукополісахаридози належать до класу лізосомальних хвороб накопичення. Ця група включає 10 нозологічних одиниць. Основні з них:

- **МПС Тип I**, підтипи: синдром *Гурлера* (повна відсутність α -L-ідуронідази) – найбільш важка форма; синдром *Гурлера-Шейс*

(недостатність α -L-ідуронідази), менш важка клініка. Клінічні симптоми: карликовість, гіпертрихоз, скафоцефалія, розумова відсталість, грубі риси обличчя, помутніння рогівки, втрата слуху, великий язик, коротка шия, хвороби клапанів серця і коронарних артерій, кіфоз, викривлення колінних суглобів, когтеподібна кисть. Лабораторні дані: надлишкова екскреція дерматансульфатів і гепарансульфатів.

- **МПС Тип II**, синдром *Гунтера* (недостатність ідураносульфатсульфатази). Від першого типу відрізняється відсутністю помутніння рогівки, дзьобоподібними тілами поперекових хребців. Лабораторні дані: надлишкова екскреція дерматансульфатів і гепарансульфатів.
- **МПС Тип IV**, синдром *Моркіо*, підтипи: А – важка форма (недостатність N-ацетилгалактозамін-6-сульфатази); В – легка форма (недостатність β -галактозидази). Клінічні симптоми: карликовість (ріст у дорослих – від 82 до 115 см), помутніння рогівки, втрата слуху, аномалії грудної клітки, загальна слабкість, Х-подібна деформація ніг, дисплазія стегон, інтелект збережений. Лабораторні дані: надлишкова екскреція кератансульфатів.
- **МПС Тип VII**, синдром *Слая* (недостатність β -глюкуронідази). Клінічні симптоми: грубі риси обличчя, різний ступінь помутніння рогівки, зниження слуху, гепатомегалія, деформація грудної клітки, Х-подібна деформація ніг, інтелект збережений. Лабораторні дані: надлишкова екскреція дерматансульфатів.

Набуті хвороби сполучної тканини.

Для більшості захворювань сполучної тканини характерні порушення у обміні кісткової і хрящової тканини. Захворювання опорно-рухового апарату можна розділити на декілька груп:

Захворювання запального походження. До цієї групи належать захворювання запальної природи, причиною яких є інфекція. Це остеомиєліт, артрити, загострення артрозу, гнійні рани і тому подібне.

Дистрофічні патології кісткової системи. Остеопорози. Остеопороз (остеопенія) – це зменшення об'єму кісткової тканини по зрівнянню з об'ємом анатомічної кістки. Розрізняють наступні види остеопорозу ендокринний, ювенільний, остеопороз середнього віку, алкогольний, іммобілізаційний.

При всіх видах остеопорозів підвищується рівень гідроксипроліну в крові та підсилюється його екскреція із сечею, що є показником руйнування органічного матриксу кістки. Зростає вміст хондройїтинсульфату в крові та екскреція уронових кислот і азоту амінокислот із сечею. Знижується кліренс фосфору. Зміни концентрацій кальцію і фосфору в біологічних рідинах мають неоднозначну спрямованість при різних видах остеопорозу і залежать від механізмів їх виникнення.

Остеоартроз. Серед хронічних захворювань опорно-рухового апарату остеоартроз займає одне з перших місць. Остеоартроз (артроз, остеоартрит, деформуючий артроз) - хронічне прогресуюче захворювання синовіальних суглобів. Воно проявляється морфологічними, біохімічними, молекулярними і біомеханічними змінами у клітинах і матриксі, що призводять до розм'якшення, втраті волокон, ерозії та зменшення товщини суглобового хряща. При остеоартрозі виникають суглобові болі, обмеження рухів, хрускіт у суглобах і запалення.

Біохімічні зміни суглобового хрящу при остеоартрозі. Порушення агрегації протеогліканів є одним із ранніх біохімічних симптомів остеоартрозу. Різде збідніння матриксу суглобового хрящу на протеоглікани відбувається разом із значним підвищенням вмісту води і є головною причиною набухання суглобового хрящу на ранніх стадіях процесу.

При остеоартрозі змінюється фенотип хондроцитів, які синтезують замість колагену II типу колаген I и III типів; збільшується загальний вміст неколагенових білків.

У вогнищах деструкції суглобового хрящу при остеоартрозі значно підвищується активність однієї з лізосомальних протеїназ – катепсину, який розщеплює стрижневий білок протеогліканів і викликає цим виведення з матриксу глікозаміногліканів. Вважається, що саме такий механізм забезпечує характерне для остеоартрозу збіднення хрящової тканини на протеоглікани.

Рахіт. До групи остеодистрофій належить і рахіт. При цій патології порушуються всі фази формування кістки: утворення кісткових клітин і волокнистого субстрату, заплінення органічного матриксу. При рахіті порушується єдність двох протилежних процесів – утворення і руйнування кістки. За хімічним складом кістки хворих на рахіт бідніше на мінеральні речовини. Особливо різко падає вміст кальцію. У хворих на рахіт відбувається значне розм'якшення кісток.

Для виявлення рахіту частіше за все використовують три біохімічні показники – так звану біохімічну тріаду: гіпокальціємію, гіпофосфатемію і підвищення активності лужної фосфатази. Крім того, спостерігається гіперкальциурія. Однак ці біохімічні ознаки є непрямими при вітаміні D-дефіцитному рахіті.

Прямим доказом дефіциту вітаміну D є знижений рівень 25-(ОН)-D₃ у крові. Для цього захворювання характерна наявність аміноацидурії, різке зниження вмісту магнію у крові, а також дефіцит мікроелементів.

Диспластичні захворювання. До цієї групи належить, перш за все, *хвороба Педжета*. Ця хвороба, відома також під назвою "деформуюча остеодистрофія", виникає через прискорений метаболізм кісткової тканини. Біохімічні зміни у крові та сечі при цій хворобі відображають і остеокластичну, і остеобластичну активність кісткової тканини.

Біохімічними маркерами швидкості оновлення кістки є активність лужної фосфатази у сироватці крові та рівень пептидозв'язаного гідроксипроліну в сечі, які зростають. У крові у 2-3 рази підвищується вміст специфічного для кісткової тканини білку – остеокальцину, рівень якого також корелює з активністю лужної фосфатази.

Серед багатьох уражень сполучної тканини особливе місце займають **дифузні хвороби сполучної тканини** (застарілий синонім - **колагенози**). До колагенозів зазвичай відносять *ревматизм, ревматоїдний артрит, системний червоний вовчак, системну склеродермію, дерматоміозит, хворобу Шегрена*. Для всіх хвороб цієї групи характерне запалення різних органів і тканин, перш за все сполучної тканини, розвиток аутоімунних процесів, надмірне утворення фіброзної тканини.

Серед численних теорій *механізму* розвитку колагенозів найбільше визнання отримала теорія *інфекційно-алергічного походження*. Особливістю патогенезу практично всіх дифузних хвороб сполучної тканини є розвиток органонеспецифічного аутоімунітету, що проявляється гіперпродукцією аутоантитіл по відношенню до компонентів ядра і цитоплазми клітин (антитіла до ДНК, РНК, рибонуклеопротейну, антинуклеарний фактор та ін.), імуноглобулінів (ревматоїдні фактори), компонентів згортальної системи крові (вовчаковий антикоагулянт) та ін. Розвиток аутоімунітету пов'язаний із порушенням міжклітинної взаємодії імунокомпетентних клітин, зокрема зі зниженням функції Т-супресорів і підвищенням активності В-лімфоцитів.

Практичним обґрунтуванням об'єднання низки самостійних хвороб у групу дифузних захворювань сполучної тканини є близькість ряду клінічних проявів, особливо на ранній стадії захворювання. До них належать: лихоманка, артрит або поліартрит, міозит або міалгії, різноманітні ураження внутрішніх органів (включно із патологічними змінами нирок), ураження ЦНС. Практично при всіх захворюваннях цієї групи спостерігаються органоспецифічні аутоімунні синдроми, такі як тиреоїдит Хасімото, гемолітична анемія та ін.

Характерні зміни загальних лабораторних показників активності запального процесу (ШЗЕ, С-реактивного білку, рівня α_2 -глобулінів, серомукоїда та ін.). Існують загальні групові й характерні для кожної хвороби імунологічні маркери.

До групових маркерів належать гіпергамаглобулінемія, наявність антинуклеарних і ревматоїдних факторів, виявлення циркулюючих імунних комплексів; до характерних – високий рівень антитіл до нативної ДНК при системному червоному вовчаку, антитіл до рибонуклеопротейну при змішаному захворюванні сполучної тканини, антитіл до цитоплазматичних антигенів при хворобі Шегрена.

Хвороба Шегрена – аутоімунне системне ураження сполучної тканини, що характеризується екзокринними залозистими і позазалозистими проявами. Найбільш частим залозистим проявом хвороби Шегрена слугує зниження секреції слізних і слинних залоз, що супроводжується печінням в очах і сухістю носоглотки. До позазалозистих проявів належать міалгії, м'язова слабкість, артралгії, геморагії, збільшення лімфовузлів, неврити та ін. Хвороба Шегрена лідирує серед колагенозів за частотою зустрічальності та значно частіше розвивається у жінок вікової групи від 20 до 60 років; у чоловіків і у дитячому віці захворювання зустрічається рідше. Найбільш вірогідною причиною хвороби є спадковість і аутоімунна відповідь на вірусну (імовірно ротавірусну) інфекцію.

Ревматоїдний артрит – ревматичний процес, що характеризується ерозивно-деструктивними ураженнями переважно периферичних дрібних суглобів. Суглобові ознаки ревматоїдного артрити включають симетричне залучення суглобів стоп і кистей, їх деформуючі зміни. Причини – спадкова природа порушень імунологічних відповідей і роль інфекційних етіофакторів (вірусу Епштейн-Барра, ретровірусу, цитомегаловірусу, мікоплазми, вірусу герпесу, краснухи та ін.).

Основу патогенезу ревматоїдного артриту складають аутоімунні реакції. Ці реакції проявляються ланцюгом взаємопов'язаних змін – запаленням синовіальної мембрани (синовітом), формуванням грануляційної тканини, її розростанням і проникненням у хрящові структури з руйнуванням останніх.

Рубцовозмінена сполучна тканина (рубець) – особливий вид сполучної тканини, що утворюється у відповідь на пошкодження будь-яких тканин в результаті травми або запального процесу. У рані, що заживає, фібробласти інтенсивно синтезують колаген, неколагенові білки, холестерин, триацилгліцерини, фосфоліпіди, глікозаміноглікани, протеоглікани, глікопротеїни. Потім відбувається формування рубцової тканини, у процесі чого зменшується кількість клітин, майже повністю розщеплюються ліпіди, неколагенові білки, протеоглікани, а також надлишок колагену і формується рубець. Рубець – це щільна сполучна тканина, що повністю відтворює конфігурацію дефекту тканини, яку він заповнює. Сформований рубець складається, головним чином, з колагенових волокон, структура яких не має регулярної будови, а також дуже невеликої кількості нерозщеплених ліпідів, глікозаміногліканів, неколагенових білків. Колаген викликає адгезію і агрегацію тромбоцитів, що сприяє утворенню захисної плівки на поверхні рани і її загоєнню. Іноді можуть формуватися гіпертрофічні спотворюючі рубці келоїдного характеру, які містять у своєму складі багато ліпідів, ГАГ і продуктів їх деградації при зниженому вмісті колагену. Кортикотропний гормон гіпофізу, глюкокортикоїди, паратгормон, іонізуюче випромінювання, стрес, дефіцит повноцінного білка і вітаміну С у дієті загальмовують загоєння ран. До гормонів, що стимулюють синтез колагену і сприяють загоєнню ран, належать соматотропін, тироксин, інсулін, статеві гормони.

Цинга. Нарешті, необхідно відмітити, що порушення процесу гідроксилювання колагену – один з біохімічних дефектів при захворюванні на *цингу*. Колаген, що синтезується при відсутності або при дефіциті аскорбінової кислоти, виявляється недогідроксильованим, отже, має знижену

температуру плавлення. Такий колаген не може утворювати нормальні за структурою волокна, що і призводить до ураження шкіри і ламкості судин, так чітко виражених при цинзі.

РОЗДІЛ 2. ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА.

На занятті ви повинні будете виконати експериментальну частину роботи згідно алгоритму лабораторної роботи і методики її проведення.

Алгоритм лабораторної роботи:

- Сечу обробляють у відповідності до ходу роботи.
- Оптичну густину розчинів, що досліджуються, визначають фотометричним методом.
- Результати досліджень виражають в умовних одиницях.
- У висновках отриманий результат порівнюють з нормою.

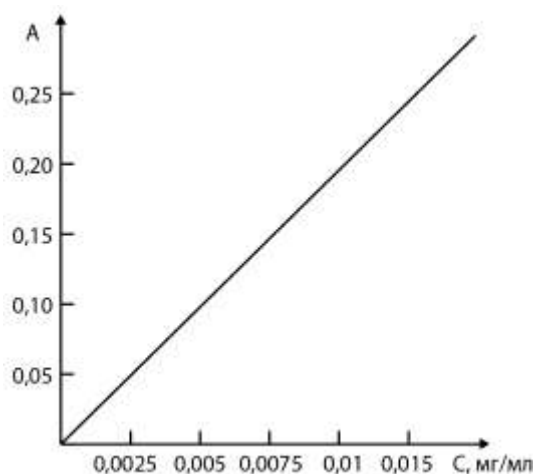
Дослід 1. Визначення вільного оксипроліну в сечі.

Принцип методу: метод базується на окисненні гідроксипроліну до сполуки, близької за будовою до піролу, яка при конденсації з реактивом Ерліха (п-диметиламінобензальдегід) дає рожеве забарвлення. Інтенсивність забарвлення розчину пропорційна концентрації оксипроліну.

Хід роботи. У дві пробірки (контроль и дослід) вносять: у першу пробірку - 1мл профільтрованої сечі, у другу – 1мл дистильованої води (контрольна проба). В обидві пробірки додають по 1 мл 0,01 М розчину міді сульфату, по 1мл 2,5 н розчину натрію гідроксиду, по 1мл 6 % розчину гідрогену пероксиду. Проби перемішують 5 хв, після чого нагрівають 3 хв у киплячій водяній бані, потім пробірки охолоджують водою з-під крану. У пробірки додають по 4 мл 3 н розчину сірчаної кислоти і по 1 мл реактиву Ерліха, ставлять на 1 хв у кип'ячу водяну баню, охолоджують, а потім

вимірюють оптичну густину на ФЕКу проти контролю при довжині хвилі $\lambda = 500 - 560$ нм (зелений світлофільтр) у кюветі завтовшки 10 мм.

З екстинкції досліду відняти екстинкцію контролю і за калібрувальним графіком визначити зміст оксипроліну в 1 мл сечі. Обчислюють кількість оксипроліну в 100 мл або добовій кількості сечі.



Норма. У дорослої людини с сечею за добу виводиться до 8 мг вільного оксипроліну.

Клініко-діагностичне значення. Вміст оксипроліну в крові і сечі характеризує інтенсивність катаболізму колагену та швидкість обміну цієї амінокислоти. Оксипролін може перебувати у зв'язаному вигляді з білками, пептидами, а також у вільному стані в сироватці крові і сечі. Різко збільшується екскреція гідроксипроліну з сечею при колагенозах (ревматизм, ревматоїдний артрит, системна склеродермія, дерматоміозит), при гіперпаратироїдизмі, хвороби Педжета (до 1 г за добу). Ще більше виділяється оксипроліну при спадковій гіпергідроксипролінемії, що обумовлено дефіцитом ферменту гідроксипроліноксидази, в результаті чого і порушується обмін гідроксипроліну.

Дослід 2. Якісна реакція на глікозаміноглікани (проба Беррі-Спінанджера).

Принцип методу. При взаємодії глікозаміногліканів з толуїдиновим синім у кислому середовищі утворюється червоне забарвлення (метахромазія).

Матеріальне забезпечення: толуїдиновий синій (0,04% розчин в ацетоацетатному буфері з рН 2,0), 10% розчин ацетатної кислоти, фільтрувальний папір, мікропіпетки.

Хід роботи: На смужку фільтрувального паперу на віддалі 1 см один від одного наносять мікропіпеткою 0,005, 0,01 і 0,025 мл сечі, висушують папір при кімнатній температурі, а потім занурюють його в 0,04 %-ий розчин толуїдинового синього на 1 хв. Виймають смужку паперу і відмивають реактив 10 % розчином ацетатної кислоти. Якщо концентрація глікозаміногліканів в досліджуваній сечі перевищує 10 мг/100 мл, тоді з'являється червоне забарвлення на одній із нанесених плям.

Зробити висновок.

Клініко-діагностичне значення. У сечі здорової людини міститься 2,7 – 7,5 мг/добу кислих глікозамінгліканів (в основному хондроїтинсульфати А і С). Негативну реакцію спостерігають у здорової дитини вже на 2-ий тиждень життя. При гаргоїлізмі і синдромі Гунтера суттєво підвищується виділення глікозаміногліканів з сечею (мукополісахаридурія) до 30 – 80 мг/добу.

РОЗДІЛ 3. ПОТОЧНИЙ КОНТРОЛЬ ЗА ТЕМОЮ:

3.19. Вивчення особливостей біохімічного складу і обміну речовин у сполучній тканині.

3.1. Ситуаційні задачі:

Задача № 1. У хворого виявлена крихкість стінок кровоносних судин, підвищена кровоточивість, знижена міцність і еластичність шкіри, хитаються

і випадають зуби. Нестача якого вітаміну може призвести до цих порушень? У біосинтезі якого компонента сполучної тканини він бере участь? Як називається такий стан?

Еталон відповіді: Зазначені симптоми обумовлені порушенням біосинтезу колагену. У процесі його післятрансляційної модифікації з проколагену в колаген відбуваються реакції гідроксилування проліну і лізину у гідроксипролін та гідроксилізин з участю вітаміну С. Його нестача призводить також до порушення утворення поперечних зв'язків, внаслідок чого погіршуються щільність та механічні властивості колагенових волокон. Такі ознаки характерні для цинги.

Задача № 2. У дворічної дитини з мукополісахаридозом відмічається затримка фізичного та нервово-психічного розвитку, деформація скелету та інші порушення опорно-рухового апарату. Метаболізм яких речовин сполучної тканини порушений при мукополісахаридозах? Чому ці хвороби називаються лізосомальними? Екскреція яких речовин з сечею значно зростає при мукополісахаридозах?

Еталон відповіді: Мукополісахаридів, глікозаміногліканів, протеогліканів. Саме в лізосомах локалізуються ферменти-глікозидази, активність яких знижена при вказаному захворюванні. При мукополісахаридозах значно зростає екскреція глікозаміногліканів та оксипроліну з сечею.

Задача № 3. Патогенні мікроорганізми здатні руйнувати гіалуронову кислоту, виділяючи ензим гіалуронідазу. У чому полягає їх перевага перед мікробами, які не виявляють гіалуронідазної активності?

Еталон відповіді: Гіалуронідаза дає змогу певним патогенним мікроорганізмам проникати в організм людини через слизові оболонки і шкіру зумовлюючи гідроліз (деполімеризацію) гіалуронової кислоти, і цим самим сприяє їх поширенню в організмі. Про дію таких мікроорганізмів можна судити за наявністю у крові та сечі продуктів розпаду сполучної

тканини -аміноцукрів, глюкуронової, нейрамінової та сілової кислот. Грампозитивні мікроорганізми виробляють захисну капсулу з гіалуронової кислоти, що підвищує їх патогенність.

Задача № 4. Пацієнт з опіковою хворобою перебуває під загрозою утворення тромбів у кровоносних судинах через посилення згортання крові. Який глікозаміноглікан можна використати, щоб запобігти утворенню тромбів?

Еталон відповіді: До антикоагулянта з похідних глікозамінгліканів належить гепарин. Його антикоагуляційна дія зумовлена тим, що він зв'язується з інгібітором факторів коагуляції антитромбіном III, змінює його конформацію і цим самим підвищує його стійкість до дії тромбіну. Збережений у такий спосіб антитромбін протидіє внутрішньосудинному згортанню крові.

Задача № 5. При старінні організму шкіра зморщується, зростає її сухість, послаблюється екскреція гідроксипроліну з сечею. Які основні біохімічні зміни відбуваються при цьому?

Еталон відповіді: Зменшується співвідношення протеоглікани/колаген через зменшення вмісту протеогліканів та підвищення вмісту колагену. Таке спостерігається при зміні активності різних ензимів фібробластів, де вони синтезуються, та лізосом, де відбувається їх розпад. Із протеогліканів істотно знижується вміст гіалуронової кислоти, що призводить до послаблення гідратації протеогліканів у шкірі, втрачається її пружність (тургор), збільшується її сухість тощо. Одночасно змінюються фізико-хімічні властивості колагену (зростає кількість інтра- та інтермолекулярних поперечних зв'язків, підвищується структурна стабільність колагенових волокон, знижується їх еластичність, здатність до набухання тощо) та послаблюється його катаболізм.

Задача 6. При авітамінозі у фібробластах пухкої волокнистої сполучної тканини порушується синтез білка тропоколагену. Які зміни слід очікувати у міжклітинній речовині?

Еталон відповіді: Поарушується процес формування колагенових волокон.

3.2. Тести Крок-1.

1. При остеопорозі зменшується міцність колагену, що зумовлена помітним зменшенням утворення поперечних зшивок у колагенових фібрилах. Причиною цього явища є зниження активності такого ферменту:

A. *Лізілоксидаза.

B. Моноаміноксидаза

C. Пролігидроксилаза

D. Лізілгидроксилаза

E. Колагеназа

2. Під час тренування у спортсмена була травмована нижня кінцівка. Лікар травматолог встановив діагноз: розрив сухожилка. До якого типу сполучної тканини належить тканина, що утворює сухожилок?

A. *Щільна оформлена волокниста

B. Щільна неоформлена волокниста

C. Пухка волокниста.

D. Ретикулярна.

E. Хрящова

3. Найбільше з віком шкіра людини зазнає змін, що можуть проявлятися зменшенням її пружності. Які елементи сполучної тканини забезпечують її пружність?

A. *Колагенові та еластичні волокна

B. Основна речовина

C. Клітини епідермісу

D. Клітини сполучної тканини

E. Ретикулярні волокна

4. Шкіра людини дуже міцна на розрив. Відомо, що шкіра складається з епітеліальної тканини і двох видів сполучної тканини. Яка з нижче перерахованих тканин забезпечує міцність шкіри?

- A. *Щільна неоформлена сполучна.
- B. Багатошаровий плоский епітелій.
- C. Пухка сполучна тканина.
- D. Одношаровий епітелій.
- E. Перехідний епітелій.

5. До косметолога звернувся пацієнт для позбавлення від татуювання на плечі. Яка речовина, що міститься у сполучній тканині, робить можливим такий «живопис»?

- A. *Гіалуронова кислота.
- B. Еластин.
- C. Гама-глобулін.
- D. Фібронектин
- E. Гепарин.

6. Жінка 30 років хворіє близько року, коли вперше з'явилися болі в ділянці суглобів, їх припухлість, почервоніння шкіри над ними. Попередній діагноз ревматоїдний артрит. Однією з причин цього захворювання є зміна в структурі білка сполучної тканини:

- A. Тропоніну
- B. Муцину
- C. Міозину
- D. Овоальбуміну
- E. *Колагену

7. Після загоєння рани утворився рубець. Яка речовина є основним компонентом цього різновиду сполучної тканини?

- A. Еластин
- B. *Колаген**
- C. Гіалуронова кислота
- D. Хондроїтинсульфат
- E. Кератансульфат

8. Як природні антикоагулянти використовуються різноманітні речовини, в тому числі природний полісахарид, а саме:

- A. *Гепарин**
- B. Гіалуронова кислота
- C. Дерматансульфат
- D. Хондроїтинсульфат
- E. Декстран

9. У хворих на колагеноз спостерігається деструкція сполучної тканини. Які дослідження лабораторних показників крові та сечі доцільно призначити хворому з підозрою на наявність колагенозу (хронічна форма)?

- A. Активності трансаміназ крові
- B. Активності ізоензимів ЛДГ крові
- C. Вміст уратів в крові
- D. С-реактивного білка в крові
- E. *Вмісту оксипроліну та оксилізіну в крові та сечі.**

10. У хворого на скорбут виявлено порушення гідроксилювання проліну та лізіну в складі колагену. Гальмування якого біохімічного процесу призводить до цього порушення?

- A. Окиснювального фосфорилування
- B. *Мікросомального окиснення**
- C. Перекисного окиснення ліпідів
- D. Пероксидного окиснення

Е. Тканинного дихання

11. З віком людини у хрящовій тканині знижується швидкість відновлення протеогліканів, що призводить до зменшення ступені їх гідратації та втраті пружності тканиною. Активність яких ензимів лізосом при цьому підвищується?

- А. *Катепсину, глікозидази**
- В. Ізомерази, дегідрогенази**
- С. Дезаміназ, декарбоксилази**
- Д. Карбоксилаз, ліпази**
- Е. Оксидази, трансамінази**

12. У хворого із синдромом Слая спостерігається виділення із сечею гепарансульфату і хондроїтинсульфату. Дефіцитом якого ензиму можна це пояснити?

- А. Катепсину Д**
- В. α -амілази**
- С. Лактатдегідрогенази**
- Д. Арилсульфатази**
- Е. * β -глюкуронідази**

13. Підвищена ламкість судин, руйнування емалі та дентину у хворих на цингу в основному зумовлено порушенням дозрівання колагену. Який етап модифікації проколагену порушений при цьому авітамінозі?

- А. Глікозилювання гідроксилізинових залишків**
- В. Видалення з проколагену С-кінцевого пептиду**
- С. Утворення поліпептидних ланцюгів**
- Д. Відщеплення N-кінцевого пептиду**
- Е. *Гідроксилування проліну**

3.3. Питання, що потребують однозначної відповіді (так, ні) , для поточного контролю знань студентів.

Тема: «Будова колагену»

1. Колаген I типу включає два $\alpha 1(I)$ ланцюги і $\alpha 2$ ланцюг. (так)
2. Найбільш часто у колагенових білках зустрічається амінокислота гліцин. (так)
3. Для колагенових білків характерна наявність ковалентних зв'язків між ланцюгами тропоколагену. (нет)
4. Дисульфідні зв'язки між ланцюгами у тримірній молекулі тропоколагену виникають за рахунок реакції між амінокислотними залишками метіоніну. (ні)
5. Всередині потрійної спіралі закручених навколо себе поліпептидних ланцюгів колагену знаходяться амінокислотні залишки гліцину. (так)
6. У фібрилах трьохспіральної молекули тропоколагену зсунуті один відносно одного на $\frac{1}{4}$ своєї довжини. (так)
7. Для колагену характерна наявність великої кількості амінокислотних залишків фенілаланіну. (ні)

Тема: «Постсинтетична модифікація і розпад колагену»

1. В результаті постсинтетичної модифікації у колагенових білках утворюються гідроксилізин і гідроксипролін. (так)
2. Синтез нових молекул колагену індукують продукти розщеплення колагену колагеназою. (так)
3. Маркером посиленого розпаду колагену є підвищення в крові та сечі вмісту гідроксипроліну. (так)
4. При постсинтетичній модифікації колагену нестача вітаміну К призводить до порушення гідроксилювання залишків проліну і лізину. (ні)

5. Лужна фосфатаза гідролізує колаген. (ні)
6. Нестача вітаміну С призводить до порушення постсинтетичної модифікації колагену. (так)

Тема: «Неколагенові білки міжклітинного матриксу сполучної тканини»

1. Резиноподібні властивості еластину пов'язані з наявністю у його структурі поперечних зшивок. (так)
2. Еластин синтезується як розчинний мономер. (так)
3. Порушення постсинтетичної модифікації еластину призводять до в'ялості та витонченості еластичних тканин. (так)
4. У постсинтетичній модифікації еластину бере участь лізілоксидаза. (так)
5. Основний фермент катаболізму еластину – еластаза нейтрофілів. (так)
6. Фібронектин – це глікопротеїн, що зв'язує клітини сполучної тканини із колагеном і протеогліканами. (так)
7. Ламініни є найбільш розповсюдженими глікопротеїнами базальних мембран. (так)

Тема: «Протеоглікани»

1. Для синтезу глікозаміногліканів використовується енергія УТФ. (так)
2. У протеогліканах кількість глікозаміногліканів значно перевищує кількість білку. (так)
3. Джерелом азоту для синтезу аміноцукрів у глікозаміногліканах слугує аспартат. (ні)
4. Глюкуронідаза, галактозидаза та ідуронідаза руйнують глікозаміноглікани. (так)
5. У протеогліканах полісахаридні ланцюги глікозаміногліканів прикріплюються до корового білку. (так)

6. Полісахаридні ланцюги глікозаміногліканів складаються з дисахаридних фрагментів, що повторюються. (так)
7. Полісахаридні ланцюги глікозаміногліканів розгалужені. (ні)
8. Гіалуронова кислота є полісахаридом. (так)
9. Хондроїтинсульфат заряджений негативно. (так)
10. Гіалуронова кислота є полікатіоном. (ні)

Література:

Основна:

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. – К.: ВСВ «Медицина», 2016. – С. 497 – 506.
2. Губський Ю.І. Біологічна хімія: Підручник. – Київ: Нова книга, 2007. – С. 596 – 619.
3. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ-Вінниця: Новакнига, 2009. – С. 596 – 619 с.
4. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 655 – 666.
5. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія. - Тернопіль: ТДМУ, 2015. - С. 557 –
6. Біологічна хімія.
Тести та ситуаційні задачі. / За ред. О.Я. Склярів. – Львів.: Вид-во ЛНМУ, 2015. – С. 427-

Додаткова:

1. Березов Т.Т., Коровкін Б. Ф. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1998. – С. 661 – 679.
2. Марри Р., Греннер Д., Мейес П. Биохимия человека. – Москва: Мир. – 2004. – С. II, 311 – 318, II. 347с
3. Практикум з біологічної хімії. За ред. О.Я.Склярів. – К. «Здоров'я», 2002, С.288 – 292.
4. Северин Е.С. Биохимия: учебник. – 2-е изд., испр. – М.:ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 784 с.