

# 蛋白质以及非蛋白含氮化合物 检验

# 本章教学内容

## β 蛋白质与非蛋白含氮化合物

血浆蛋白质

体液氨基酸

嘌呤核苷酸

## β 常用蛋白质与非蛋白含氮化合物检测项目

体液总蛋白

体液白蛋白

血清蛋白电泳

蛋白质免疫固定电泳

体液个别蛋白质

体液尿酸

## β 蛋白质和氨基酸检测

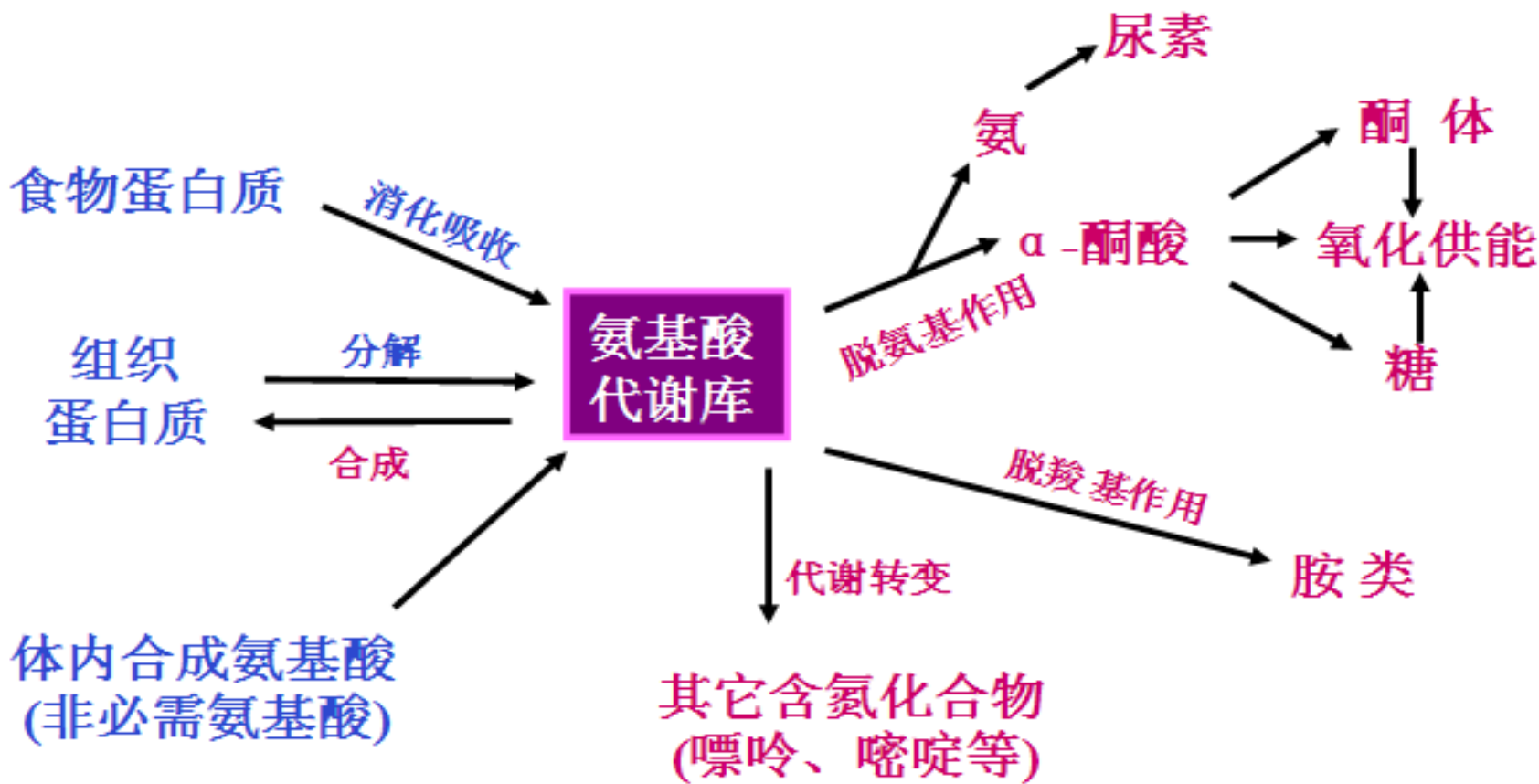
蛋白质代谢紊乱的生物化学诊断

氨基酸代谢紊乱的生物化学诊断

高尿酸血症与痛风的生物化学诊断

# 体液氨基酸

## 氨基酸的一般代谢概况



# 氨基酸代谢紊乱

遗传性疾病

继发性疾病

与氨基酸代谢有关的器官病变

载体蛋白缺乏

酶缺陷

中性氨基酸载体  
酸性氨基酸载体  
碱性氨基酸载体  
亚氨基酸和甘氨酸载体

起点酶缺陷

中间酶缺陷


中间代谢产物堆积

替代途径代谢产物出现

吸收下降排出增加

氨基酸血症

氨基酸尿症

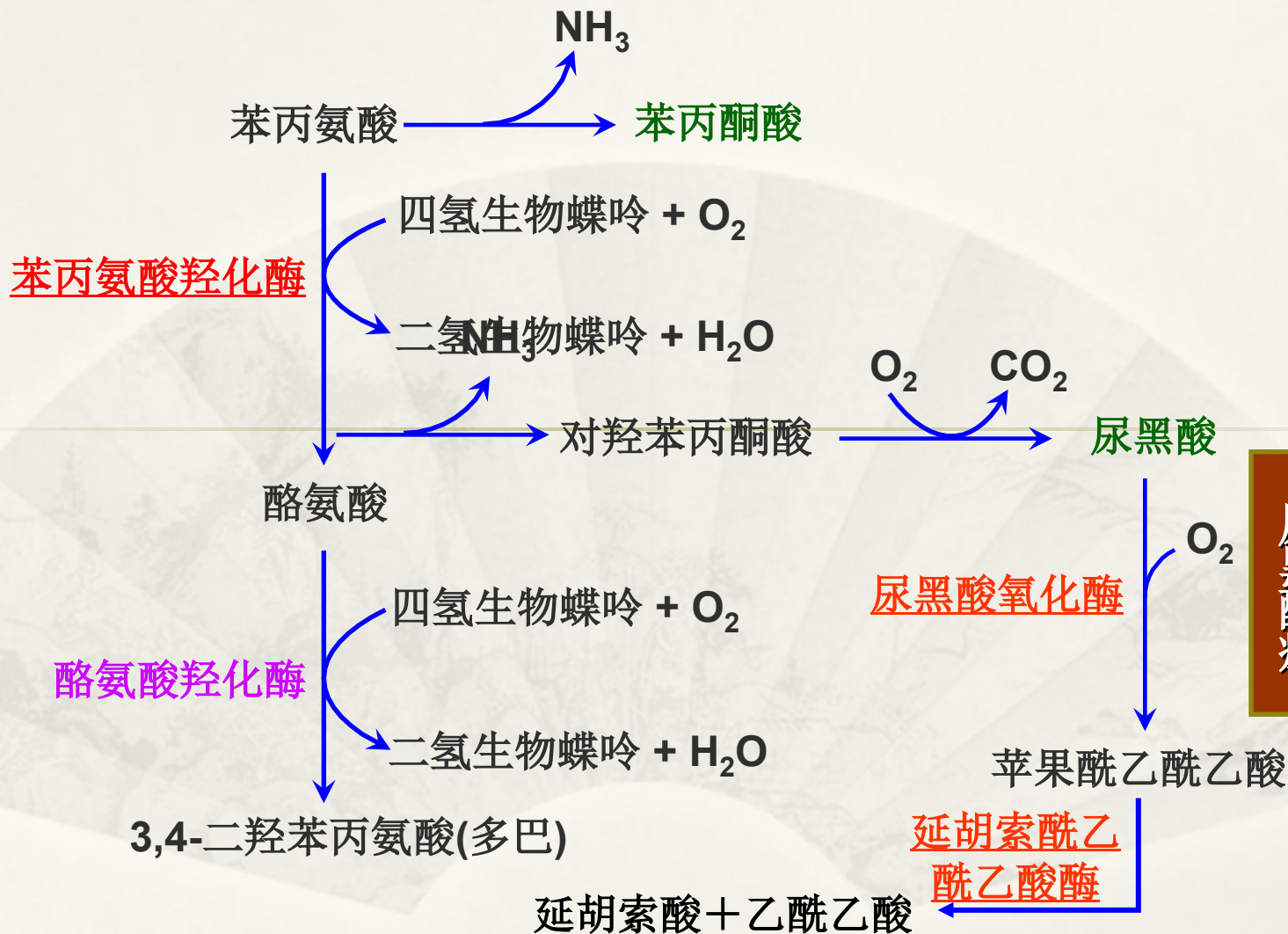


# (一) 遗传性氨基酸代谢紊乱

---

# 苯丙氨酸和酪氨酸的代谢

苯丙酮酸尿症  
PKU



尿黑酸症

I型酪氨酸血症

白化病

脑细胞和肾上腺髓质细胞

黑色素细胞

3,4-二羟苯丙氨酸(多巴)

多巴醌

酪氨酸酶

多巴脱羧酶

CO<sub>2</sub>

3,4-二羟苯乙胺(多巴胺)

吲哚醌

$\beta$ -羟化酶

O<sub>2</sub>

VitC

H<sub>2</sub>O

去甲肾上腺素

黑色素

儿茶酚胺

转甲基酶

SAM

S-腺苷同型半胱氨酸

肾上腺素



# 遗传性氨基酸代谢紊乱的缺陷酶

- β 苯丙氨酸羟化酶缺陷引起苯丙酮酸尿症。
- β 延胡索酰乙酰乙酸酶缺陷可导致I型酪氨酸血症
- β 酪氨酸代谢中间物尿黑酸氧化酶缺陷引起尿黑酸症。



## (二) 继发性氨基酸代谢紊乱

继发性氨基酸血症或尿症主要发生于肝脏、肾脏疾患以及烧伤等，其氨基酸代谢异常是该类患者机体物质代谢异常的一部分。

代谢部位：

- 1、芳香族氨基酸（AAA）、丙氨酸：肝脏降解
- 2、支链氨基酸（BCAA）：肌肉、肾脏、脑中降解

## 肝功能衰竭：

- 1、芳香族氨基酸血浆浓度增高
- 2、胰岛素浓度升高，导致血浆支链氨基酸进入肌肉，使其浓度降低
- 3、支/芳比值（正常：3.0-3.5）降至1及1以下时，常发生肝性脑病和肝昏迷

## 肾功能衰竭：

肾小管或近曲小管的功能障碍，氨基酸重吸收减少，导致血清中必需氨基酸浓度降低，出现肾性氨基酸尿，见于肾中毒、急性肾小管坏死。

# 嘌呤核苷酸

---

# 一、嘌呤核苷酸代谢

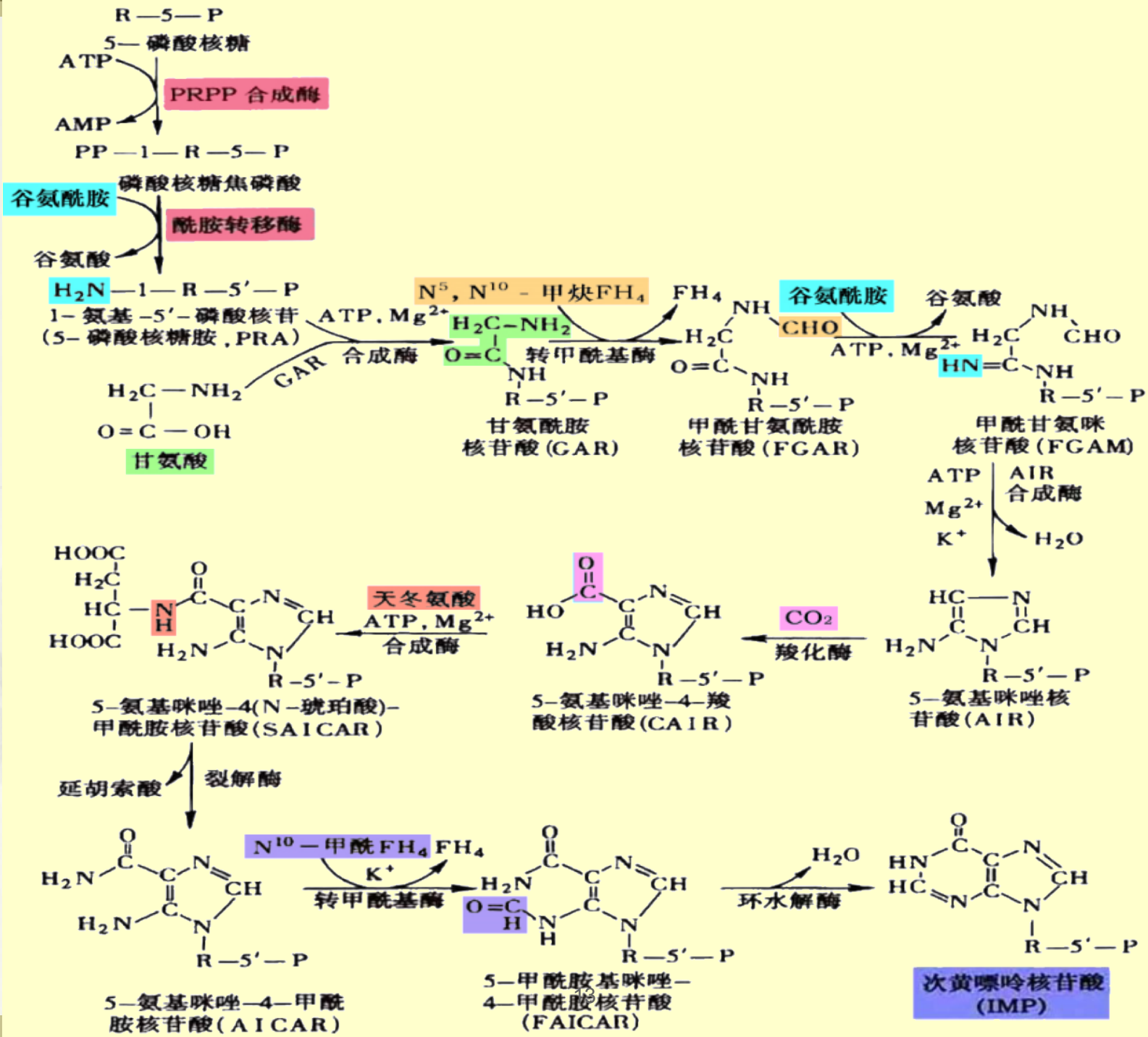
1、合成代谢：

从头合成途径（主要）

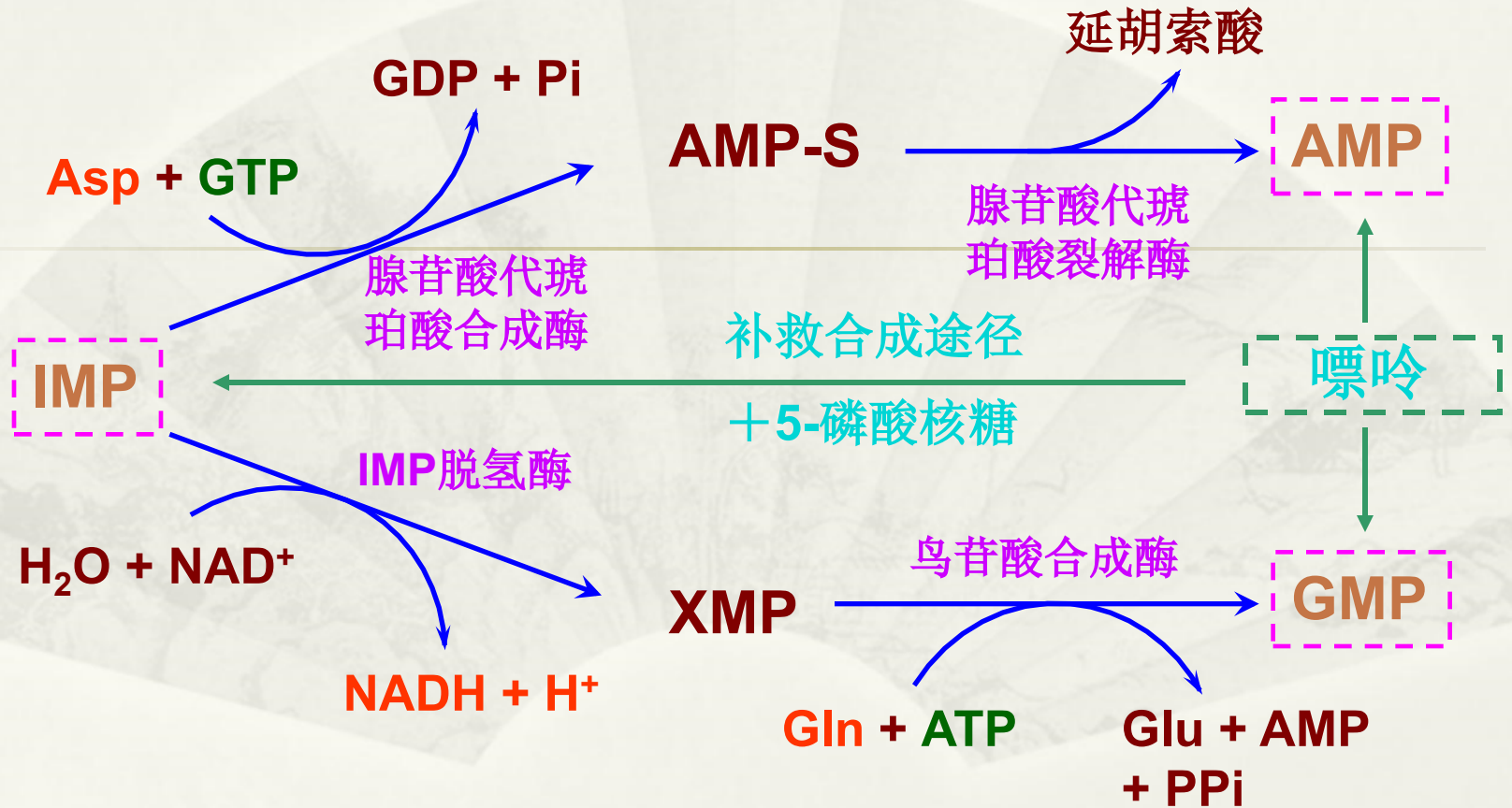
补救途径

2、分解代谢：

尿酸为嘌呤代谢终产物

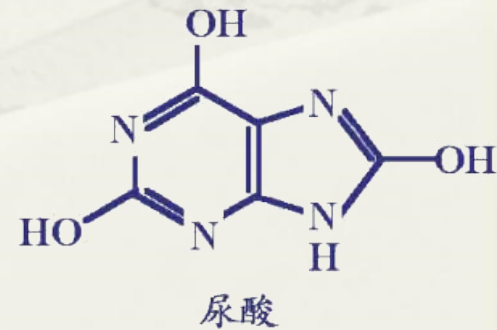
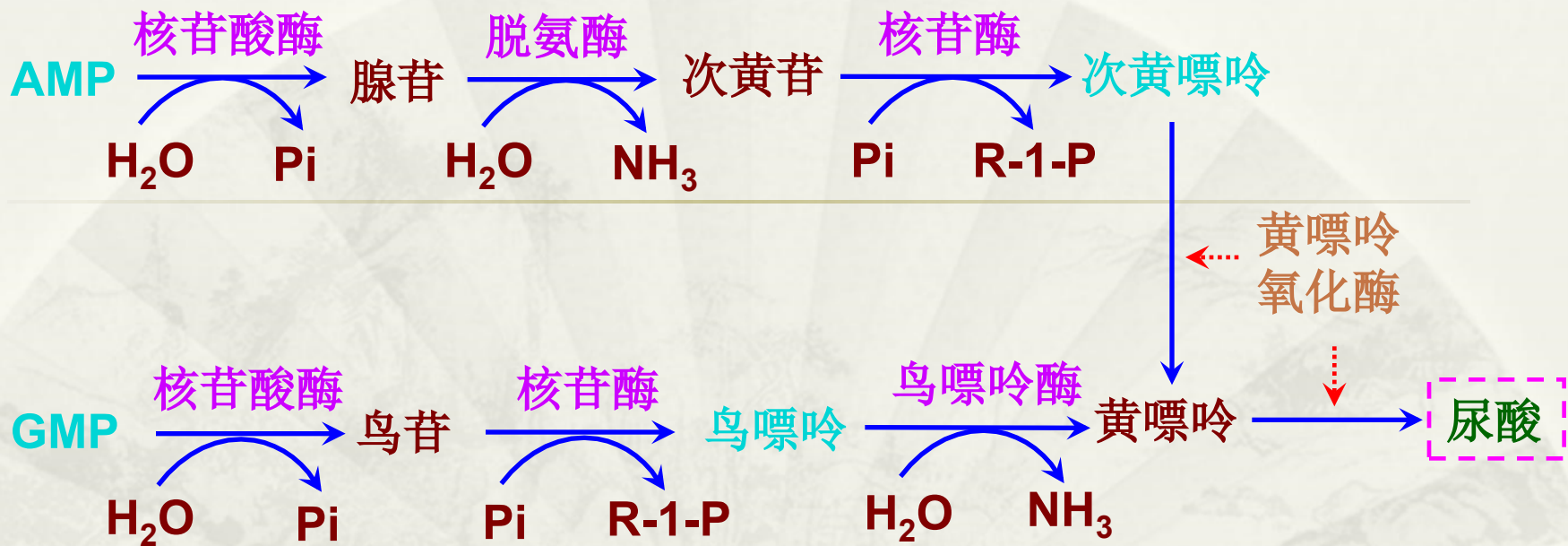


# 腺苷酸（AMP）与鸟苷酸（GMP）的补救合成





# 嘌呤核苷酸的分解





## 二、高尿酸血症

由嘌呤代谢紊乱或尿酸排泄障碍引起

- β 嘌呤的合成、吸收和分解代谢发生紊乱，将出现尿酸生成过多而导致高尿酸血症。人和猿类体内缺乏尿酸酶，不能将尿酸分解成尿囊素，进一步再分解成 $\text{NH}_3$ 、 $\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2\text{O}$ ，人体内尿酸只能通过肾脏排出体外。
- β 若尿酸排泄出现障碍，可导致高尿酸血症

## 高尿酸血症分类：

- 1、原发性高尿酸血症：多见，是由于遗传性嘌呤代谢紊乱和（或）尿酸排泄障碍引起的。多数是由多基因性遗传缺陷所致，与代谢综合征关系密切。
- 2、继发性高尿酸血症：
  - 高嘌呤饮食
  - 肾脏疾病
  - 血液疾病
  - 药物等原因

# 引起高尿酸血症原因：

## 1、嘌呤合成代谢紊乱

体内80%尿酸来源于嘌呤的生物合成，嘌呤合成代谢紊乱可致高尿酸血症，约占原发性高尿酸血症病因的10%。

其中大多数属多基因遗传缺陷机制不明，由酶缺陷引起者仅占少数。

## 酶缺陷原因：

- (1) 次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶缺乏
- (2) PRPP合成酶亢进
- (3) 葡萄糖-6-磷酸酶 (G6pase) 缺乏，引起葡萄糖-6-磷酸增多，并沿磷酸戊糖途径转化成较多的PRPP，使嘌呤合成增多。
- (4) 腺嘌呤磷酸核糖转移酶 (APRT) 缺乏，腺嘌呤不能经补救途径合成腺苷酸而出现堆积，腺嘌呤的代谢产物2, 8-二羟腺嘌呤由尿排出增加，可产生肾结石。

## 2、尿酸排泄障碍

β 原发性高尿酸血症80-90%有排泄障碍

(1) 肾小球——滤过全部尿酸盐 ↓

(2) 近曲小管——大部分重吸收 ↑

(3) 近端小管——分泌尿酸盐 ↓

(4) 髓袢降支——被动重吸收 ↑

→ 高尿酸

尿排出/滤过  $\approx$  6-10%

β 肾脏排泄相关转运蛋白

3种蛋白，任何一个转运蛋白或交换蛋白基因表达或功能障碍 → 排泄减少 → 高尿酸

### 3、代谢综合征与高尿酸血症

β 可以认为高尿酸血症是MS的一部分

β 相关因素：肥胖、高甘油三脂血症

---

β 与高尿酸血症相关的MS基因——

5' , 10' -亚甲基四氢叶酸还原酶基因

载脂蛋白基因

B2-肾上腺素能受体基因

瘦素基因



## 4、高嘌呤饮食

β 体内20%尿酸来源于食物中的嘌呤

β 摄入富含嘌呤食物过多，超过肾脏排泄能力可导致血尿酸升高。

含嘌呤高食物：动物内脏和海鲜

含嘌呤较高食物：蔬菜、咖啡和茶、酒类

含嘌呤低食物：鸡蛋和牛奶、水果



## 5、各种肾脏疾病——肾小球滤过能力下降

- β 肾病：慢性肾小球肾炎、肾盂肾炎、高血压晚期
- β 慢性铅中毒：肾小管损害，排泌抑制
- β 药物：竞争性抑制肾小管排泌，如双氢氯噻嗪
- β 乳酸或酮酸：竞争性抑制肾小管排泌

## 6、细胞破坏增多

- (1) 骨髓增殖性疾病：如白血病、淋巴瘤，有旺盛的细胞合成和分解，从而出现核酸分解代谢亢进，嘌呤和尿酸生成增多。
- (2) 细胞破坏增多疾病：恶性肿瘤放化疗、溶血性贫血、心肌梗死等

# 高尿酸血症和痛风的病因分类

类型	病因或遗传特征
原发性高尿酸血症	
尿酸排泄减少, 占80%-90%	多基因性常染色体显性遗传
尿酸产生过多	
从头合成嘌呤过多(占原发性10%-20%)	多基因性常染色体显性遗传
特异性酶缺陷(占原发性1%)	
青春性原发性痛风	HGPRT部分缺乏, X-连锁
青春期尿酸结石症	(突变型) PRS活性增强
Lesch-Nyhan综合征	HGPRT完全缺乏, X-连锁
Con gierke病	葡萄糖-6-磷酸酶缺乏或不足
继发性高尿酸血症	
尿酸排泄减少	
肾功能减退	慢性肾疾患
肾小球滤过减少	糖尿病肾病
肾小管排泌尿酸减少	高血压、内分泌疾病、 有机酸增加、铅中毒肾病
尿酸产生过多	
骨髓增殖性疾病: 白血病、多发性骨髓瘤、红细胞增多症	
慢性溶血性贫血	
全身扩散的癌症, 恶性肿瘤化疗或放疗	
严重的剥脱性牛皮癣	

# 体液氨基酸检测

检测氨基酸的方法主要有：

## （一）过筛试验检测氨基酸

1、薄层层析：分单向、双向

（1）将体液中的氨基酸分离，并用茚三酮显色，大多数氨基酸呈紫色。

（2）对照混合氨基酸标准液



## 2、尿氨基酸颜色试验：分光光度定性试验

试验和颜色	被检测的代谢物	被检测疾病
三氯化铁		
暗蓝绿（持久）	苯丙酮酸	苯丙酮酸尿症
绿（短暂）	对-羟苯丙酮酸	酪氨酸血症
蓝（短暂）	尿黑酸	尿黑酸尿症
灰绿	咪唑、丙酮酸	组氨酸血症
灰蓝	支链酮酸	支链酮酸尿症
蓝绿	5-羟吲哚乙酸	类癌
紫色	水杨酸盐	（干扰物）
紫褐	吩噻嗪	（干扰物）
氰化物/硝基氰酸盐		
樱桃红	胱氨酸	胱氨酸尿症
	同型胱氨酸	同型胱氨酸尿症
	胱氨酸-同型胱氨酸二硫化物	同型胱氨酸尿症
	青霉素-胱氨酸二硫化物	（治疗）
2,4-二硝基苯肼		
黄白色	支链酮酸，苯丙酮酸	支链酮酸尿症，苯丙酮酸尿症
亚硝基萘酚：橙红色	酪氨酸及其代谢物	酪氨酸代谢紊乱，酪氨酸血症

### 3、Guthrie微生物试验

- β 琼脂糖培养基中含有能特异针对某种待检氨基酸的竞争性抑制剂，结构与待检氨基酸相似。
- β 将枯草芽孢杆菌芽孢加入，样品点到纸片上并放到琼脂表面，琼脂板孵育后观察细菌生长。
- β 若有高浓度待检氨基酸，氨基酸抑制剂的作用减弱或被克服，能观察到菌株的生长。
- β 将细菌设计成待检氨基酸超过其参考上限时，显示细菌生长，来检测疾病。

## (二) 氨基酸定量

- 将各氨基酸组分分离
- 定量测定：
  - 毛细管电泳法 (CE)
  - 气相色谱法 (GC)
  - 高效液相色谱法 (HPLC)
  - 离子交换色谱法



## 1、色谱法

(1) GC法：在临床实验室应用少

优点：样品用量少、灵敏和快速

缺点：仪器所具有温度下其可挥发性低

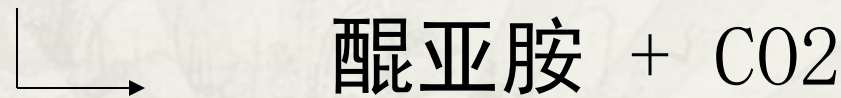
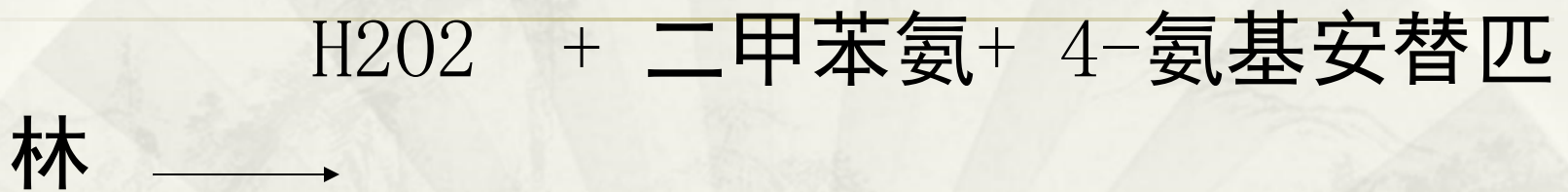
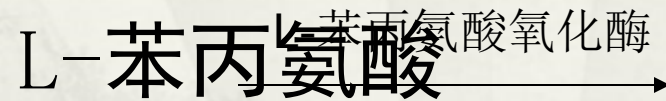
(2) HPLC法：在临床实验室广泛应用

优点：分辨率和灵敏度均高，分析时间相对较短

## 2、酶法：个别氨基酸测定方法

### 苯丙氨酸测定

#### 方法1：L-苯丙氨酸氧化酶法



550nm测

定吸光度  $\xrightarrow{\text{L-苯丙氨酸脱氢酶}}$

#### 方法2：L-苯丙氨酸脱氢酶法

L-苯丙氨酸

苯丙酮酸 + NAD<sup>+</sup>

## 谷氨酰胺测定：



340nm吸光度变化

## 支链氨基酸测定：

包括：亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸



340nm吸光度变化

# 氨基酸代谢紊乱的生物化学诊断

- 遗传性氨基酸代谢紊乱可从三个水平上诊断：
  - 1、异常的DNA检测
  - 2、产前筛查和产后检测酶缺陷
  - 3、血清和尿液氨基酸检测（定性和/或定量）
- BCAA/AAA：支芳比
  - 1、评估肝病严重程度。肝损伤严重者，其值降低。  
正常：3.0-3.5；慢性肝病：2左右；肝性脑病：1左右，可降至0.77-0.71。
  - 2、肾脏疾病：肾小管重吸收氨基酸障碍

# 体液尿酸

## β 检测方法

- 1、早期常采用氧化还原法，以磷钨酸法较常用，特异性差，临床实验室已不再应用。
- 2、尿酸酶紫外吸收法是测定尿酸的参考方法。
- 3、尿酸酶-过氧化物酶法：目前常采用  
原理：尿酸酶氧化尿酸生成尿囊素和 $H_2O_2$ ，后者在过氧化物酶催化下，使2,4-二氯酚和4-氨基安替比林缩合生成醌类有色化合物。

## β 参考区间

### 1、血清尿酸

男性210-420  $\mu\text{mol/L}$ ，女性150-350  $\mu\text{mol/L}$

### 2、尿液尿酸

膳食嘌呤含量对尿酸排出量影响很大

无嘌呤膳食：男 $<2480 \mu\text{mol/d}$ ，女性稍低

低嘌呤膳食：男 $<2830 \mu\text{mol/d}$ ，女性 $<2360 \mu\text{mol/d}$

高嘌呤膳食：  $<5900 \mu\text{mol/d}$

均衡膳食： 1480-4430  $\mu\text{mol/d}$



## β 临床意义

### 1、血清尿酸

为发现高尿酸血症，后者的主要危害是引起痛风

---

### 2、尿尿酸排出量

可判断肾脏排泄尿酸的能力

分析高尿酸血症是否由肾脏排泄障碍所引起



## β 方法评价：尿酸酶-过氧化物酶法

- 1、过氧化物酶催化反应特异性较差，维生素C、胆红素等还原性物质有负干扰。
- 2、血清尿酸浓度在几百 $\mu\text{mol/L}$ 水平，远低于血糖、总胆固醇等，胆红素等负干扰容易被观察到。试剂中加入胆红素氧化酶能消除胆红素干扰。
- 3、可用于血清和尿液尿酸测定  
检测上限约为 $700\mu\text{mol/L}$ ，尿液尿酸应稀释测定

# 高尿酸血症与痛风的生物化学诊断

- β 痛风症：由于遗传性和（或）尿酸排泄减少和（或）嘌呤核苷酸分解异常，可致血中尿酸水平升高，当出现尿酸盐晶体形成或沉积，并引起特征性急性关节炎、痛风石、间质性肾炎、尿酸性尿路结石时，即为痛风。严重者有关节畸形及功能障碍。
- β 痛风是一组疾病，高尿酸血症只有10%—20%发生痛风。

# 高尿酸血症与痛风的生物化学诊断

- β 血清尿酸浓度超过参考值上限称为高尿酸血症，即男性和绝经后女性大于 $420\mu\text{mol/L}$ ，绝经前女性大于 $350\mu\text{mol/L}$
-

# 痛风的发生机制（一）

- β 血浆中尿酸盐以单钠尿酸盐形式存在，水溶性较差，溶解度很低。达到饱和状态将出现结晶沉淀。
- β 当体温 $37^{\circ}\text{C}$ 、血液pH为7.4时，尿酸钠的溶解度约为 $420\mu\text{mol/L}$ ，而在 $30^{\circ}\text{C}$ 时为 $268\mu\text{mol/L}$ 。
- β 饱和状态的尿酸钠，与血浆特异性 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 球蛋白结合后，仍具有一定的稳定性。
- β 当浓度大于 $480\mu\text{mol/L}$ 持久不降，如遇下列情况即可使尿酸钠呈微小结晶析出：
  - (1) 血清白蛋白及 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 球蛋白减少
  - (2) 局部pH降低
  - (3) 局部温度降低

## 痛风的发生机制（二）

- β 结晶易沉淀在血管较少，粘多糖含量较丰富的结缔组织、软骨和关节腔内。
- β 运动、饮酒、应激、局部损伤等可诱发这些部位的炎症发作。如运动时这些组织容易发生缺氧，于是出现糖酵解加速，乳酸产生增多，引起pH降低，导致局部尿酸钠结晶析出
- β 微小的尿酸钠结晶表面可吸附IgG，并在补体参与下诱发多型核白细胞的吞噬作用。结晶被吞噬后可促使白细胞膜破裂释放出各种炎症介质，如趋化因子，溶酶体和胞浆内的各种酶，导致组织发生炎症反应-痛风。

# 高尿酸血症和痛风的生物化学诊断及治疗

## 1. 高尿酸血症及其类型的判断

### (1) 尿酸排泄量

普通饮食  $> 4800 \mu\text{mol}/24\text{h}$

低嘌呤饮食  $> 3600 \mu\text{mol}/24\text{h}$

为生成过多型



## 1. 高尿酸血症及其类型的判断

(2) 尿酸清除率： $C_{ua} = (U_{ua} \times V) / S_{ua}$

$U_{ua}$ 为尿尿酸浓度， $V$ 表示尿液mL/min

$S_{ua}$ 为血清尿酸浓度

- ◆ 参考区间：6.6~12.6mL/min
- ◆  $U_{ua}$ 下降属排泄减少型
- ◆  $U_{ua}$ 升高属生成过多型

## 1. 高尿酸血症及其类型的判断

### (3) 尿酸清除率与肌酐清除率比值

$$C_{ua}/C_{cr} = (U_{ua}/S_{ua}) / (U_{cr}/S_{cr}) \times 100\%$$

>10%: 生成过多型

<5%: 排泄减少型

5%~10%: 混合型

### (4) 随意尿的尿酸/肌酐比值

>1: 生成过多型

<0.5: 排泄减少型

## 2. 痛风的诊断和生物化学治疗

诊断：除高尿酸血症外，表现为急性关节炎、痛风石、慢性关节炎、关节畸形、慢性间质性肾炎和尿酸性尿路结石中的一种或多种。

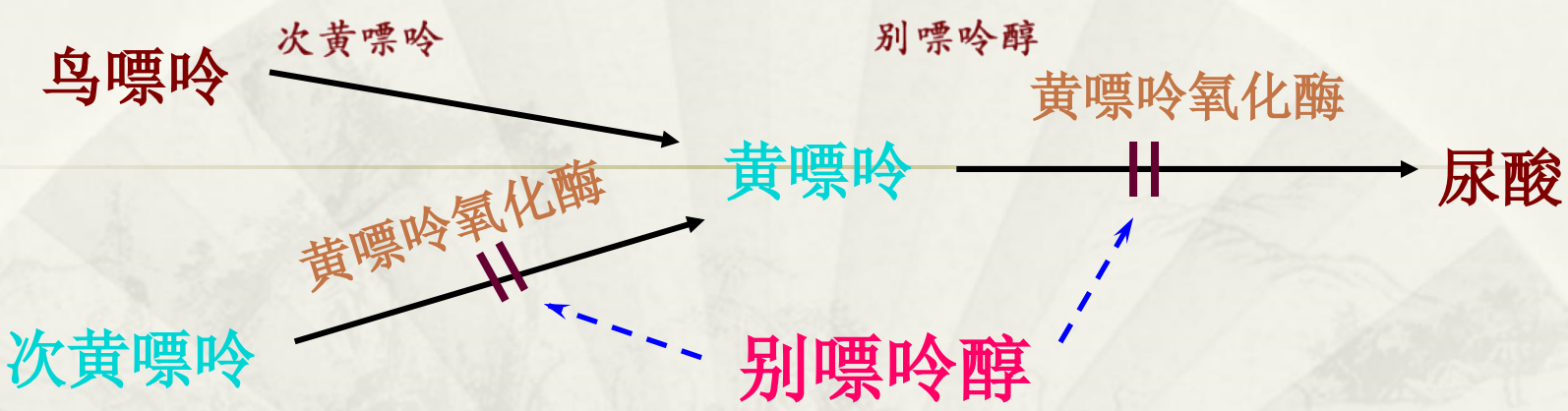
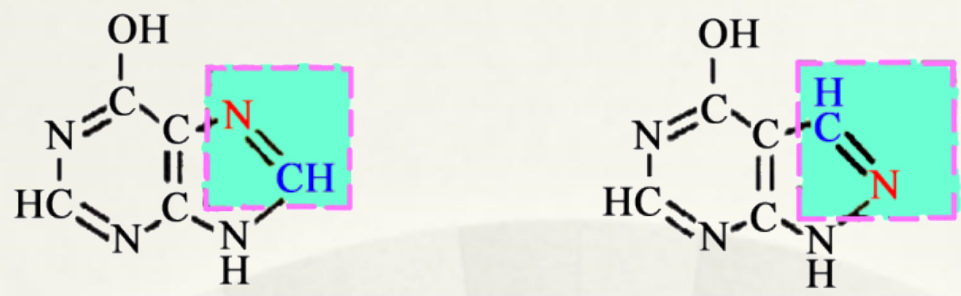
β 急性关节炎：常是痛风的首发症状。

β 痛风石：是痛风的特征性损害。

β 慢性间质性肾炎：

β 尿酸性尿路结石：占肾脏结石的10%左右。

# 2. 痛风的诊断和生物化学治疗



治疗：常用别嘌呤醇

- ◆ 与次黄嘌呤结构相似，被黄嘌呤氧化酶氧化为别黄嘌呤，牢固结合在该酶活性部位，抑制次黄嘌呤和黄嘌呤转变为尿酸。

# 体液总蛋白测定

体液总蛋白测定包括数量众多的蛋白质，进行定量时，我们做出如下假定：

- ① 所有蛋白质是单纯多肽链，糖脂类和金属有机物均不计在内，其含氮量为16%
- ② 各种蛋白质虽然理化性质不同，但与化学试剂反应性一致

相对定量

蛋白质的测定基于以下四种蛋白质的性质：

- 重复的肽链结构
- 酪氨酸和色氨酸残基对酚试剂反应或紫外光吸收
- 与色素的结合能力
- 沉淀后借助浊度或光折射测定



以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/738034064103006074>