

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра биологической химии

**БИОХИМИЯ**

Под редакцией профессора В. В. Лелевича

*Допущено Министерством образования Республики Беларусь  
в качестве учебного пособия  
для студентов учреждений высшего образования,  
обучающихся по специальностям 1-79 01 01 Лечебное дело, 1-79  
01 02 Педиатрия, 1-79 01 04 Медико-диагностическое дело, 1-79  
01 05 Медико-психологическое дело, 1-79 01 06 Сестринское дело.*

Гродно  
ГрГМУ  
2022

УДК 577.1(075.8)

ББК 52.57я73

Б63

Авторы: зав. каф. биологической химии, проф. В. В. Лелевич;  
доц. И. О. Леднева;  
доц. Н. Э. Петушок;  
доц. А. Г. Веницкая.

Рецензенты:

Б63 Биохимия : учебное пособие для студентов учреждений высшего образования, обучающихся по специальностям 1-79 01 01 Лечебное дело, 1-79 01 02 Педиатрия, 1-79 01 04 Медико-диагностическое дело, 1-79 01 05 Медико-психологическое дело, 1-79 01 06 Сестринское дело / В. В. Лелевич [и др.] ; под ред. проф. В. В. Лелевича. – Гродно : ГрГМУ

В учебном пособии представлены и систематизированы современные сведения по всем разделам биохимии. Рассматриваются основные положения статической, динамической и функциональной биохимии. Описан метаболизм белков, аминокислот, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот в норме и при некоторых патологических состояниях, а также вопросы интеграции и регуляции метаболических процессов. Охарактеризованы особенности метаболизма в органах и тканях. Изложены современные представления о молекулярных основах патологических состояний и болезней.

Предназначено для студентов медицинских вузов, биологов, врачей.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДГ – антидиуретический гормон (вазопрессин)  
АДФ – аденозиндифосфорная кислота  
АКТГ – адренокортикотропный гормон  
АЛТ – аланинаминотрансфераза  
АМФ – аденозинмонофосфат  
цАМФ – циклический аденозин-3', 5'-монофосфат  
АСТ – аспартатаминотрансфераза  
АТФ – аденозинтрифосфорная кислота  
АТФ-аза – аденозинтрифосфатаза  
АХАТ – ацил-КоА-холестеролацилтрансфераза  
ГАМК –  $\gamma$ -аминомасляная кислота  
ГГТП –  $\gamma$ -глутамилтранспептидаза  
ГДФ – гуанозиндифосфат  
цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат  
ГТФ – гуанозинтрифосфат  
ГЭБ – гематоэнцефалический барьер  
ДАГ – диацилглицерол  
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота  
ДОФА – диоксифенилаланин  
ДФФ – диизопропилфторфосфат  
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт  
ИМФ – инозинмонофосфат  
ИФ<sub>3</sub> – инозитолтрифосфат  
КоА – кофермент (коэнзим) А  
КоQ – кофермент (коэнзим) Q  
КОР – кислотно-основное равновесие  
ЛДГ – лактатдегидрогеназа  
ЛП – липопротеины  
ЛПВП – липопротеины высокой плотности  
ЛПЛ – липопротеинлипаза  
ЛПНП – липопротеины низкой плотности  
ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности  
ЛППП – липопротеины промежуточной плотности  
ЛХАТ – лецитин-холестеролацилтрансфераза  
МАО – моноаминооксидаза  
НАД<sup>+</sup> – никотинамидадениндинуклеотид  
НАДФ<sup>+</sup> – никотинамидадениндинуклеотидфосфат  
ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПЦР – полимеразная цепная реакция  
РНК – рибонуклеиновая кислота  
мРНК – матричная РНК  
рРНК – рибосомальная РНК  
тРНК – транспортная РНК  
РЭС – ретикулоэндотелиальная система  
СТГ – соматотропный гормон  
ТАГ – триацилглицеролы  
ТДФ – тиаминдифосфат  
ТТГ – тиреотропный гормон  
УДФ – уридиндифосфат  
УТФ – уридинтрифосфат  
ФАД – флавинадениндинуклеотид  
ФАФС – 3-фосфоаденозин-5-фосфосульфат  
ФМН – флавинмононуклеотид  
ХМ – хиломикроны  
ХС – холестерол  
ЦНС – центральная нервная система  
ЦПЭ – цепь переноса электронов  
ЦТК – цикл трикарбоновых кислот, цикл Кребса  
ЩУК – щавелевоуксусная кислота

# ГЛАВА 1

## ВВЕДЕНИЕ В БИОЛОГИЧЕСКУЮ ХИМИЮ

**Биологическая химия** – наука, изучающая химическую природу веществ, входящих в состав живых организмов, превращения этих веществ (метаболизм), а также связь данных превращений с деятельностью отдельных тканей и всего организма в целом. Это наука о молекулярных основах жизни. Существует несколько причин тому, что в наши дни биохимия привлекает большое внимание и быстро развивается.

Во-первых, биохимикам удалось выяснить химические основы ряда важнейших биохимических процессов.

Во-вторых, обнаружены общие пути превращения молекул и общие принципы, лежащие в основе разнообразных проявлений жизни.

В-третьих, биологическая химия оказывает все более глубокое воздействие на медицину.

В-четвертых, быстрое развитие биологической химии в последние годы позволило исследователям приступить к изучению самых острых, коренных проблем биологии и медицины.

### История развития биологической химии

В истории развития биохимических знаний и биологической химии как науки можно выделить 4 периода.

**I период** – с древних времен до эпохи Возрождения (XV век). Это период практического использования биохимических процессов без знаний их теоретических основ и первых, порой очень примитивных, биохимических исследований. В самые отдаленные времена люди уже знали технологию таких производств, основанных на биохимических процессах, как хлебопечение, сыроварение, виноделие, дубление кож. Использование растений в пищевых целях, для приготовления красок, тканей наталкивало на попытки понять свойства отдельных веществ растительного происхождения.

**II период** – от начала эпохи Возрождения до второй половины XIX века, когда биологическая химия становится самостоя-

тельной наукой. Великий исследователь того времени, автор многих шедевров искусства, архитектор, инженер, анатом Леонардо да Винчи провел опыты и на основании их результатов сделал важный для тех лет вывод, что живой организм способен существовать только в такой атмосфере, в которой может гореть пламя. В этот период следует выделить работы таких ученых, как Парацельс, М. Ломоносов, Ю. Либих, А. Бутлеров, А. Лавуазье.

**III период** – со второй половины XIX века до 50-х годов XX века. Ознаменован резким увеличением интенсивности и глубины биохимических исследований, объема получаемой информации, возросшим прикладным значением – использованием достижений биологической химии в промышленности, медицине, сельском хозяйстве. К этому времени относятся работы одного из основоположников отечественной биологической химии А. Данилевского (1838-1923), М. Ненцкого (1847-1901). На рубеже XIX и XX веков работал крупнейший немецкий химик-органик и биохимик Э. Фишер (1862-1919). Им были сформулированы основные положения полипептидной теории белков, начало которой дали исследования А. Данилевского. К этому времени относятся работы великого русского ученого К. Тимирязева (1843-1920), основателя советской биохимической школы А. Баха, немецкого биохимика О. Варбурга. В 1933 г. Г. Кребс подробно изучил орнитинный цикл образования мочевины, а 1937 г. датируется открытие им же цикла трикарбоновых кислот. В 1933 г. Д. Кейлин (Англия) выделил цитохром с и воспроизвел процесс переноса электронов по дыхательной цепи в препаратах из сердечной мышцы. В 1938 г. А. Браунштейн и М. Крицман впервые описали реакции трансаминирования, являющиеся ключевыми в азотистом обмене.

**IV период** – с начала 50-х годов XX века по настоящее время. Характеризуется широким использованием в биохимических исследованиях физических, физико-химических, математических методов, активным и успешным изучением основных биологических процессов (биосинтез белков и нуклеиновых кислот) на молекулярном и надмолекулярном уровнях. Вот краткая хронология основных открытий в биологической химии этого периода:

1953 г. – Дж. Уотсон и Ф. Крик предложили модель двойной спирали строения ДНК.

1953 г. – Ф. Сенгер впервые расшифровал аминокислотную последовательность белка инсулина.

1961 г. – Ф. Жакоб и Ж. Моно сформулировали гипотезу оперона, которая объясняет механизм контроля синтеза белка у прокариот.

1961 г. – М. Ниренберг расшифровал первую «букву» кода белкового синтеза – триплет ДНК, соответствующий фенилаланину.

1966 г. – П. Митчелл сформулировал хемиосмотическую теорию сопряжения дыхания и окислительного фосфорилирования.

1969 г. – Р. Мерифильд химическим путем синтезировал фермент рибонуклеазу.

1971 г. – в совместной работе двух лабораторий, руководимых Ю. А. Овчинниковым и А. Е. Браунштейном, установлена первичная структура аспаратаминотрансферазы – белка из 412 аминокислот.

1977 г. – Ф. Сенгер впервые полностью расшифровал первичную структуру молекулы ДНК (фаг φ X 174).

1983 г. – К. Муллис предложил метод полимеразной цепной реакции, что явилось эпохальным открытием в области молекулярной биологии.

2000 г. – расшифрован геном человека.

XXI век – развитие биоинформатики, включающей геномику и протеомику. **Биоинформатика** – это наука, которая занимается анализом молекулярно-биологических данных. **Геномика** – направление в молекулярной биологии, занимающееся исследованием структуры и функций всей совокупности генов организма. Геномика подразделяется на несколько направлений: структурную, функциональную, сравнительную, эволюционную, медицинскую геномику.

**Структурная геномика** изучает последовательность нуклеотидов в геномах, определяет границы и строение генов, межгенных участков и других структурных генетических элементов (промоторов, энхансеров и т. д.).

**Функциональная геномика** идентифицирует функции каждого гена и участка генома, их взаимодействие в клеточной системе. Это осуществляется путём изучения белковых ансамблей в разных клетках. Эту область исследований называют **протеоми-**

кой.

**Сравнительная геномика** изучает сходства и различия в организации геномов разных организмов с целью выяснения общих закономерностей их строения и функционирования.

**Эволюционная геномика** объясняет пути эволюции геномов, происхождение генетического полиморфизма и биоразнообразия.

### **Развитие медицинской биохимии в Беларуси**

С момента создания в 1923 г. в Белорусском государственном университете кафедры биологической химии началась профессиональная подготовка национальных биохимических кадров. В 1934 г. организована кафедра биологической химии в Витебском медицинском институте, в 1959 г. – в Гродненском медицинском институте, в 1992 г. – в Гомельском медицинском институте. На заведование кафедрами приглашались и избирались известные ученые, крупные специалисты в области биохимии: А. П. Бестужев, Г. В. Дервиз, Л. Е. Таранович, Н. Е. Глушакова, В. К. Кухта, В. С. Шапот, Л. Г. Орлова, А. А. Чиркин, Ю. М. Островский, Н. К. Лукашик. На формирование научных школ в области медицинской биохимии огромное влияние оказала деятельность таких выдающихся ученых, как М. Ф. Мережинский (1906-1970), В. А. Бандарин (1909-1985), Л. С. Черкасова (1909-1998), В. С. Шапот (1909-1989), Ю. М. Островский (1925-1991), А. Т. Пикулев (1931-1993).

В настоящее время кафедры биологической химии в медицинских университетах республики возглавляют: в Гродненском – профессор В. В. Лелевич, в Белорусском (Минском) – профессор А. Д. Таганович, в Гомельском – к.б.н. И.А. Никитина, в Витебском – доцент Г. Н. Фомченко.

В 1970 г. в г. Гродно создан Отдел регуляции обмена веществ АН БССР, преобразованный в 1985 г. в Институт биохимии Национальной академии наук Беларуси. Первым заведующим отделом и директором института был академик АН БССР Ю. М. Островский. Под его руководством было начато всестороннее изучение витаминов, в частности, тиамина. Работы Ю. М. Островского дополнены и продолжены в исследованиях его учеников: Н. К. Лукашика, А. И. Балаклеевского, А. Н. Разу-



мовича, Р. В. Требухиной, Ф. С. Ларина, А. Г. Мойсеенка. Активно в лабораториях Института биохимии изучались биохимические аспекты алкоголизма. Ю. М. Островский – основатель Гродненской биохимической школы, в которую входят два десятка докторов наук и около 80 кандидатов наук.

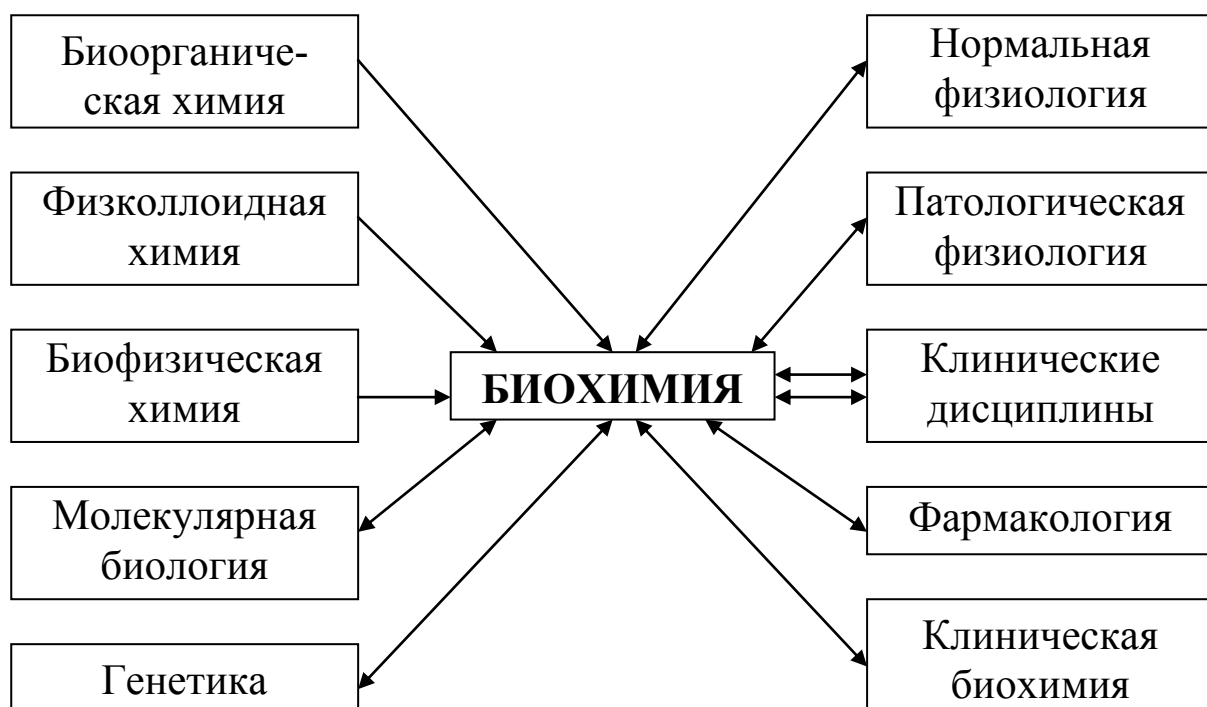
Наиболее важными практическими результатами деятельности научных биохимических школ явилась организация государственной лабораторной службы республики (профессор В. Г. Колб), открытие в Витебском медицинском институте Республиканского липидного лечебно-диагностического центра метаболической терапии (профессор А. А. Чиркин), создание в Гродненском медицинском институте лаборатории медико-биологических проблем наркологии (профессор В. В. Лелевич).

### **Содержание предмета биологическая химия**

- Состав и строение химических веществ живого организма – статическая биохимия.
- Вся совокупность превращения веществ в организме (метаболизм) – динамическая биохимия.
- Биохимические процессы, лежащие в основе различных проявлений жизнедеятельности – функциональная биохимия.
- Структура и механизм действия ферментов – энзимология.
- Биоэнергетика.
- Молекулярные основы наследственности – передача генетической информации.
- Регуляция метаболизма.
- Особенности метаболизма в органах и тканях.

### **Разделы и направления биологической химии**

1. Биохимия человека и животных.
2. Биохимия растений.
3. Биохимия микроорганизмов.
4. Медицинская биохимия.
5. Техническая биохимия.
6. Эволюционная биохимия.
7. Квантовая биохимия. (рис. 1.1).



*Рисунок 1.1. – Связь биохимии с другими дисциплинами*

### **Объекты биохимических исследований**

1. Организмы.
2. Отдельные органы и ткани.
3. Срезы органов и тканей.
4. Гомогенаты органов и тканей.
5. Биологические жидкости.
6. Клетки.
7. Дрожжи, бактерии.
8. Субклеточные компоненты и органоиды.
9. Ферменты.
10. Химические вещества (метаболиты).

### **Методы биологической химии**

1. Гомогенизация тканей.
2. Центрифугирование:
  - а) простое
  - б) ультрацентрифугирование
  - в) центрифугирование в градиенте плотности.
3. Диализ.
4. Электрофорез.

5. Хроматография.
6. Изотопный метод.
7. Колориметрия.
8. Спектрофотометрия.
9. Определение ферментативной активности.

### **Биохимия и медицина**

Цель изучения биохимии в медицинском вузе – научить применять при изучении клинических дисциплин и в профессиональной врачебной деятельности сведения о химическом составе и биохимических процессах организма как о характеристиках нормы и признаках патологии. На основе биохимических знаний формируются представления о молекулярных основах патогенеза, диагностики, лечения и прогноза заболеваний. С биохимических позиций состояние здоровья человека обеспечивают многие сотни внутри- и внеклеточных реакций организма, определяя его максимальную жизнеспособность в физиологических условиях, а также при воздействии самых разных экстремальных факторов. Все заболевания могут вызываться 8 группами причин, которые реализуются через конкретные биохимические механизмы:

1. Физические агенты (температура, давление, радиация, электричество, травмы).
2. Химические агенты и лекарства (токсины, ксенобиотики).
3. Биологические агенты (бактерии, вирусы, риккетсии, грибы, гельминты).
4. Гипоксия (нарушения кровоснабжения, нарушения транспорта кислорода, дыхательные яды).
5. Генетические факторы (врожденные или приобретенные).
6. Иммунологические реакции (анафилаксия, аутоиммунные заболевания).
7. Дисбаланс питания (недостаточное, избыточное, гиповитаминозы).
8. Эндокринный дисбаланс (гипо- и гиперфункция эндокринных желез).

## ГЛАВА 2

### СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

Белки – высокомолекулярные азотсодержащие органические соединения, состоящие из аминокислот, соединенных в полипептидные цепи с помощью пептидных связей, и имеющие сложную структурную организацию.

#### История изучения белков

В 1728 г. Беккари выделил первое вещество из пшеничной муки, названное «клейковиной». Он же показал его сходство с белком куриного яйца.

В 1820 г. Браконно открыл в продуктах гидролиза белков аминокислоту глицин.

В 1838 г. после систематического изучения элементного состава разных белков Мульдер предложил теорию протеина (универсальный принцип построения белковых веществ).

В 1888 г. А. Я. Данилевский выдвинул гипотезу строения белков, получившую название «теории элементарных рядов». Он первым предположил существование в белках связей (-NH-CO-), как в биурете.

В 1890 г. Гофмейстер впервые получил кристаллический белок – яичный альбумин.

В 1902 г. Фишер и Гофмейстер предложили пептидную теорию строения белка. В то же время Фишер с сотрудниками синтезировал в лаборатории первые пептиды.

В 1925-1930 гг. Сведберг сконструировал ультрацентрифугу и использовал ее для определения молекулярной массы белков.

В 1951 г. Полинг и Кори разработали модель вторичной структуры белка, названной  $\alpha$ -спиралью.

В 1952 г. Линдерстрём-Ланг предположил существование трех уровней организации белковой молекулы: первичной, вторичной и третичной.

В 1953 г. Сенгер впервые расшифровал аминокислотную последовательность белка – инсулина.

В 1958 г. Кендрью и в 1959 г. Перутц расшифровали третичную структуру белков – миоглобина и гемоглобина.

## **Аминокислоты и их роль в организме**

Аминокислоты – органические карбоновые кислоты, у которых как минимум один из атомов водорода углеводородной цепи замещен на аминогруппу.

В природе встречается примерно 300 аминокислот. Многие из них найдены только в определенных организмах, а некоторые – только в одном каком-либо организме. В организме человека содержится около 60 различных аминокислот и их производных.

Аминокислоты делятся на две группы: протеиногенные (входящие в состав белков – их 20) и непротеиногенные (не участвующие в образовании белков).

Приняты три классификации аминокислот:

1. Структурная – по строению бокового радикала.
2. Электрохимическая – по кислотно-основным свойствам.
3. Биологическая – по степени незаменимости аминокислот для организма.

Незаменимые аминокислоты не могут синтезироваться организмом из других соединений, поэтому они обязательно должны поступать с пищей. Абсолютно незаменимых аминокислот для человека восемь: валин, лейцин, изолейцин, треонин, лизин, метионин, фенилаланин, триптофан.

Частично заменимыми аминокислотами являются – аргинин и гистидин.

## **Пептиды**

Пептид состоит из двух и более аминокислотных остатков, связанных пептидными связями. Пептиды, содержащие до 10 аминокислот, называются олигопептидами. Часто в названии таких молекул указывают количество входящих в состав олигопептида аминокислот: трипептид, пентапептид, октапептид и т. д. Пептиды, состоящие из более чем 10 аминокислотных остатков, называются полипептидами, полипептиды, состоящие из более чем 50 аминокислотных остатков, – белками. Однако эти названия условны, так как в литературе термин «белок» нередко употребляют для обозначения полипептида, содержащего менее 50

аминокислотных остатков.

Имеется несколько классификаций пептидов. В частности, их можно подразделять на следующие классы:

1. **Регуляторные пептиды:** глутатион, ангиотензин, брадикинин.
2. **Пептиды-гормоны:** окситоцитонин, вазопрессин, гастрин и др.
3. **Нейропептиды,** их разделяют на 18 групп. К ним относятся энкефалины, эндорфины, гипоталамические либерины и статины.
4. **Алкалоиды:** эрготамин, пандамин.
5. **Пептиды-антибиотики:** грамицидины А, В, С; актиномицин Д; полимиксины.
6. **Токсины и антитоксины:** фаллоидин, аманитин, антаманид, меллитин.

### **Методы разделения пептидов**

1. Хроматография – ее разновидности:
  - жидкостная хроматография при высоком давлении на колонках с обращенной фазой;
  - гель-фильтрация.
2. Электрофорез – его разновидности:
  - высоковольтный электрофорез на молекулярных ситах;
  - изоэлектрическое фокусирование.

### **Биологические функции белков**

1. Структурная (коллаген, кератин, эластин, протеогликианы, структурные белки биомембран, белки цитоплазматического скелета – актин, тубулин, спектрин).
2. Каталитическая (белки-ферменты).
3. Гормональная (гормоны гипофиза, гипоталамуса, поджелудочной железы, паращитовидных желез).
4. Рецепторная (белки, взаимодействующий с молекулами-биорегуляторами, например, с гормонами).
5. Транспортная (альбумины, гемоглобин, трансферрин, церулоплазмин, транскортин, белки мембран, осуществляющие активный перенос веществ – транслоказы).
6. Сократительная (актин и миозин, белки цитоскелета, моторные белки – кинезины).
7. Электроосмотическая ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза).

8. Энерготрансформирующая (белки-ферменты ЦПЭ).
9. Иммунологическая (иммуноглобулины, белки системы комплемента).
10. Резервная или трофическая (овальбумин, казеин).
11. Гемостатическая (фибриноген).
12. Обезвреживающая.
13. Токсигенная (дифтерийный и холерный токсины, ботулотоксин, змеиные яды, токсичные белки растений – рицин и др.).

### **Физико-химические свойства белков**

**Высокая молекулярная масса.** Белки - высокомолекулярные соединения. Они могут отличаться по молекулярной массе, которая варьирует от 6000 до 1 000 000 Дальтон и выше. Молекулярная масса белка зависит от количества аминокислотных остатков в полипептидной цепи, а для олигомерных белков - и от количества входящих в него протомеров (субъединиц).

**Форма белковой молекулы.** Молекула белка имеет более или менее асимметричную форму. В зависимости от степени асимметрии, т. е. соотношения между длинной и короткой осями белковой молекулы различают **глобулярные** (шаровидные) и **фибриллярные** (нитевидные) белки. Глобулярные белки имеют более компактную структуру, их гидрофобные радикалы в большинстве своём спрятаны в гидрофобное ядро, и они значительно лучше растворимы в жидкостях организма, чем фибриллярные белки. Фибриллярные белки образуют длинные высокоасимметричные нити. Многие из них выполняют структурную или механическую функцию (коллаген, кератины, фиброин). Глобулярные белки, как правило, обладают хорошей биологической ценностью – усваиваются в процессе пищеварения, в то время как многие фибриллярные белки – нет. Между глобулярными и фибриллярными белками отсутствует четкая граница. Ряд белков занимает промежуточное положение и сочетает в себе признаки как глобулярных, так и фибриллярных (миозин, фибриноген).

**Способность к набуханию в водных растворах.**

**Растворимость белков.** Белки различаются по степени растворимости в воде. Растворимость белков в воде зависит от свойств белков: формы, молекулярной массы, величины заряда,

соотношения полярных и неполярных функциональных групп на поверхности белка. Кроме этого, растворимость белка определяется составом растворителя, т.е. наличием в растворе других растворённых веществ. Белки обладают большим сродством к воде, т. е. они гидрофильны. Молекулы белка, как заряженные частицы, притягивают к себе диполи воды, которые располагаются вокруг белковой молекулы и образуют водную или гидратную оболочку (рис. 2.1).



**Рисунок 2.1. – Гидратная оболочка молекулы белка.**

Эта оболочка предохраняет молекулы белка от склеивания и выпадения в осадок. Величина гидратной оболочки зависит от структуры белка. Многие глобулярные белки растворимы в воде и разбавленных солевых растворах. Растворимым фибриллярным белкам свойственны очень вязкие растворы. К нерастворимым относятся, например, кератин (белок, из которого состоят волосы, шерсть млекопитающих, перья птиц и т. п.) и фиброин, входящий в состав шёлка и паутины.

**Высокая вязкость белковых растворов.** Для растворов белков характерна высокая вязкость. С увеличением концентрации белка вязкость раствора повышается, поскольку повышаются силы сцепления между поверхностями белковых молекул. Растворы фибриллярных белков всегда более вязкие, чем растворы глобулярных белков. На вязкость растворов белков оказывают влияние изменения температуры и присутствие электролитов. С повышением температуры вязкость растворов белков снижается, а присутствие некоторых солей, в частности солей кальция, приводит к повышению вязкости растворов за счет сцепления молекул белков посредством ионных (кальциевых) мостиков.

**Оптическая активность белковых растворов.** Белки обладают оптической активностью, т. е. способны вращать плоскость поляризации света. Растворы белков поглощают ультра-



фиолетовые лучи при длине волны 280 нм, что обусловлено наличием остатков ароматических аминокислот в составе белка. С коллоидным состоянием белков связан ряд характерных свойств, в частности, явление светорассеяния, лежащее в основе количественного определения белков методом нефелометрии.

**Низкое осмотическое и высокое онкотическое давление.**

**Амфотерность.** Белки, как и аминокислоты, амфотерны благодаря наличию свободных  $\text{NH}_2$ - и  $\text{COOH}$ -групп. Для них характерны все свойства кислот и оснований. В зависимости от реакции среды и соотношения кислых и основных аминокислот белки в растворе несут или отрицательный, или положительный заряд, перемещаясь к аноду или катоду. Это свойство используется при очистке белков методом электрофореза.

**Заряд молекулы.** Белки имеют в своём составе радикалы лизина, аргинина, гистидина, глутаминовой и аспарагиновой кислот, содержащие функциональные группы, способные к ионизации (ионогенные группы). Суммарный заряд белковой молекулы зависит от соотношения ионизированных анионных радикалов Глу и Асп и катионных радикалов Лиз, Арг и Гис. Степень ионизации функциональных групп этих радикалов зависит от рН среды. Значение рН, при котором белок приобретает суммарный нулевой заряд, называют «изоэлектрическая точка» и обозначают как  $pI$ . В изоэлектрической точке количество положительно и отрицательно заряженных групп белка одинаково, белки обладают минимальной растворимостью и могут легко выпасть в осадок.

**Электрофоретическая подвижность.** Заряженные белки могут двигаться в электрическом поле: анионные белки, имеющие отрицательный заряд, будут двигаться к положительно заряженному аноду (+), а катионные белки – к отрицательно заряженному катоду (-). Белки, находящиеся в изоэлектрическом состоянии, не перемещаются в электрическом поле.

**Неспособность белковых частиц проникать через полупроницаемые мембраны,** поры которых меньше диаметра белков. Это используется в диализе. Очистка белковых препаратов от посторонних примесей лежит в основе работы "искусственной почки" при лечении острой почечной недостаточности.

**Способность к денатурации.** Под влиянием различных физических факторов (высокая температура, давление, ультрафиолетовое и рентгеновское излучение, механическое воздействие) и химических факторов (сильные кислоты, щелочи, мочевины, органические растворители, ионы тяжелых металлов) белки подвергаются денатурации и выпадают в осадок, теряя нативные свойства. Таким образом, под денатурацией следует понимать нарушение общего плана уникальной структуры нативной молекулы белка, преимущественно ее третичной структуры, приводящее к потере характерных для нее свойств (растворимость, электрофоретическая подвижность, биологическая активность и т.д.). Большинство белков денатурирует при нагревании их растворов выше 50–60°C.

Денатурация приводит к потере растворимости, повышению вязкости белковых растворов, увеличению количества свободных SH-групп и изменению характера рассеивания рентгеновских лучей. Характерным признаком денатурации является снижение или полная потеря белком биологической активности.

Для практических целей процесс денатурации используют в «мягких» условиях при получении ферментов и других биологически активных белковых препаратов в условиях низких температур в присутствии солей при соответствующем значении pH.

### **Методы количественного определения белка в биологических жидкостях и тканях**

1. Азотометрический метод. Количество белка определяется по количеству содержащегося в нем азота.

2. Колориметрический метод. Он основан на колориметрическом определении концентрации белка (цветные реакции – биуретовая реакция, метод Лоури).

3. Спектрофотометрический метод. Метод основан на измерении УФ-поглощения белковыми растворами при 280 нм.

4. Рефрактометрический метод. Метод основан на измерении концентрации белка в растворах по величине показателя преломления.

5. Метод турбидиметрии и нефелометрии. Метод основан на измерении дисперсии (светорассеяние) раствором, исходя из то-

го, что раствор белка является коллоидным.

6. Иммуноферментный анализ (ИФА).

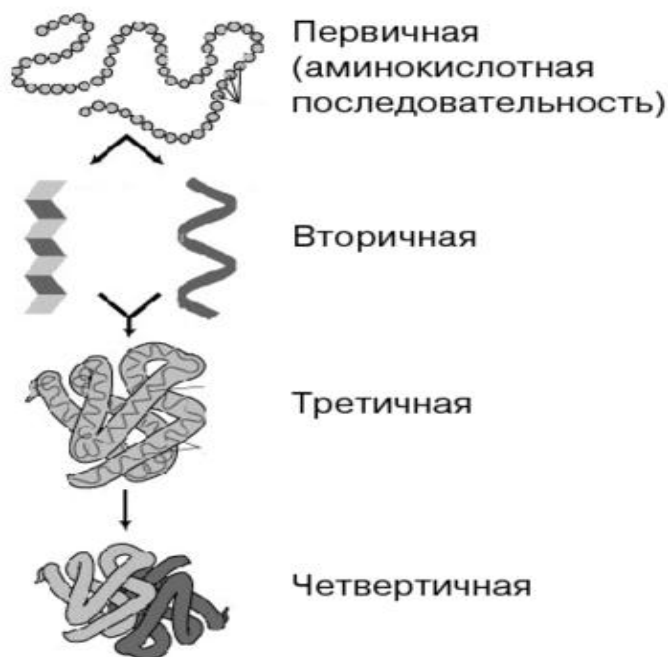
7. Вестерн-блоттинг. Основной метод оценки экспрессии генов по количеству белка.

8. Масс-спектрометрия. Основной метод для анализа протеома (совокупности белков) клетки.

Вестерн-блоттинг и масс-спектрометрию используют для количественного определения индивидуального белка в присутствии других белков.

### Уровни структурной организации белков

Различают следующие уровни структурной организации белков (рис.2.2).



**Рисунок 2.2. – Уровни структурной организации белков**

Первичная структура – строго определенная линейная последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепочке, связанных между собой **пептидными связями**.

Первичная структура **уникальна** для каждого белка и детерминирована генетически, что определяет специфичность белка. Замена даже одной аминокислоты может приводить к изменениям физико-химических свойств и биологических функций белка (серповидно-клеточная анемия). Первичная структура опреде-

ляет формирование последующих структур белка (вторичной, третичной и четвертичной) за счет взаимодействия радикалов аминокислотных остатков полипептидной цепи.

Стратегические принципы изучения первичной структуры белка претерпевали значительные изменения по мере развития и усовершенствования применяемых методов. Следует отметить три основных этапа в их развитии. Первый этап начинается с классической работы Ф. Сенгера (1953) по установлению аминокислотной последовательности инсулина, второй – с широкого введения в структурный анализ белка автоматического секвенатора (начало 70-х годов XX века), третий – с разработки скоростных методов анализа нуклеотидной последовательности ДНК (начало 80-х годов XX века).

Первичная структура белка определяется:

1. Природой входящих в молекулу аминокислот.
2. Относительным количеством каждой аминокислоты.
3. Строго определенной последовательностью аминокислот в полипептидной цепи.

### **Предварительные исследования перед определением первичной структуры белка**

1. Очистка белка.
2. Определение молекулярной массы.
3. Определение типа и числа протетических групп (если белок конъюгированный).
4. Определение наличия внутри- или межмолекулярных дисульфидных связей. Обычно одновременно определяют наличие в нативном белке сульфгидрильных групп.
5. Предварительная обработка белков, обладающих четвертичной структурой, с целью диссоциации субъединиц, их выделения и последующего изучения.

### **Стадии определения первичной структуры белков и полипептидов**

1. Определение аминокислотного состава (гидролиз, аминокислотный анализатор).

2. Идентификация N- и C-концевых аминокислот.
3. Расщепление полипептидной цепи на фрагменты (трипсин, химотрипсин, бромциан, гидроксилламин и др.).
4. Определение аминокислотной последовательности пептидных фрагментов (секвенатор).
5. Расщепление исходной полипептидной цепи другими способами и установление их аминокислотной последовательности.
6. Установление порядка расположения пептидных фрагментов по перекрывающимся участкам (получение пептидных карт).

### Методы определения N-концевых аминокислот

1. **Метод Сенгера**, основанный на реакции полипептида с 2,4-динитрофторбензолом, что приводит к образованию окрашенного в желтый цвет 2,4-динитрофенольного производного N-концевой аминокислоты, который идентифицируют методом хроматографии.

2. **Метод Эдмана** основан на взаимодействии фенилизотиоционата с N-концевой аминогруппой белков с образованием фенилтиокарбамоилпептида. Обработка продукта реакции кислотой приводит к отщеплению тиазолинового производного N-концевой аминокислоты, природу которого устанавливают хроматографически. Остальные пептидные связи гидролизу не подвергаются, что позволит подвергать полипептид дальнейшему анализу. Метод Эдмана реализован в **секвенаторе**, позволяющем определять последовательность аминокислот пептида, содержащего 50-60 аминокислотных остатков.

3. Реакция с **дансилхлоридом**.

4. Метод с применением **аминопептидазы** – фермента, катализирующего отщепление от пептида N-концевой аминокислоты.

### Методы определения C-концевых аминокислот

1. **Метод Акабори**, который основан на гидразиолизе полипептида. При этом образуется смесь аминоацилгидразинов и свободная C-концевая аминокислота, которую отделяют и идентифицируют хроматографически.

2. Метод с применением **карбоксипептидазы**, которая катализирует отщепление от пептида С-концевой аминокислоты.

3. Метод с применением восстанавливающего **агента боргидрида натрия**. При этом образуется смесь свободных аминокислот, а С-концевая аминокислота превращается в  $\alpha$ -аминоспирт, идентифицируемый методом хроматографии.

### **Метод пептидных карт**

Его первый этап состоит в разрыве дисульфидных связей, далее белок денатурируют и расщепляют ферментами, например трипсином или пепсином. В результате получается набор пептидов, размер и аминокислотный состав которых характерен для каждого отдельного белка. Смесь пептидов наносят на лист хроматографической бумаги и проводят в одном направлении распределительную хроматографию, а в другом — электрофорез. Пептиды локализуются в виде отдельных пятен, образуя характерную картину. Метод пептидных карт позволяет устанавливать незначительные различия в первичной структуре родственных белков. При сравнении полученных пептидных карт различных белков оказывается, что все идентичные пептиды располагаются в определенных (одних и тех же) местах, за исключением пептидов, по которым белки отличаются друг от друга. Этим методом впервые обнаружено, что при замене одного остатка глутаминовой кислоты в молекуле гемоглобина на остаток валина образуется аномальный гемоглобин, встречающийся при серповидноклеточной анемии. Методом пептидных карт изучают генетические аспекты эволюционных изменений белков и выявляют изменения белков при различных заболеваниях.

### **Исследование последовательности нуклеотидов ДНК**

Современный метод определения первичной структуры основан на определении последовательности аминокислот в белковой молекуле с использованием данных о нуклеотидной последовательности гена, кодирующего структуру белка.

## **Общие закономерности, касающиеся аминокислотной последовательности белков**

1. Не существует одной уникальной последовательности или группы частичных последовательностей, общих для всех белков.

2. Белки, выполняющие разные функции, имеют разные последовательности.

3. Белки со схожими функциями имеют похожие последовательности, однако совпадение последовательности проявляется обычно лишь в малой степени.

4. Одинаковые белки, выполняющие одинаковые функции, но выделенные из разных организмов, обычно имеют значительное сходство в последовательности.

5. Одинаковые белки, выполняющие одинаковые функции и выделенные из организмов одного вида, почти всегда обладают совершенно одинаковой последовательностью.

Высшие уровни структуры белков, их биологическая активность тесно связаны и фактически определяются аминокислотной последовательностью. То есть, первичная структура генетически детерминирована и определяет индивидуальные свойства белков, их видовую специфичность, на ее основе формируются все последующие структуры.

**Вторичная структура белка** – это локальная конформация полипептидной цепи, обусловленная вращением отдельных участков этой цепи вокруг одинарных ковалентных связей.

Разновидности вторичной структуры: 1.  $\alpha$ -спираль. 2. Складчатый лист ( $\beta$ -структура). 3. Статистический клубок. Первые две разновидности представляют собой упорядоченное расположение, третья – неупорядоченное.

**$\alpha$ -Спираль:** полипептидная цепь закручивается в виде спирали за счёт образования водородных связей между первым и пятым аминокислотными остатками. Пептидные связи расположены внутри спирали. В протяженных спиральных участках каждый аминокислотный остаток принимает участие в образовании двух водородных связей. Радиалы аминокислотных остатков находятся на наружной стороне  $\alpha$ -спирали. На один виток спирали приходится 3,6 аминокислотных остатков, шаг спирали 0,54 нм,

на один аминокислотный остаток приходится 0,15 нм. Угол подъема спирали 26°. Степень спирализации в белках варьирует от 5 до 80%. В миоглобине и гемоглобине степень спирализации составляет 75%, в лизоциме – 42%, в пепсине – 30%.

**β-Структура:** формируется за счет образования водородных связей между атомами пептидных групп линейных областей одной полипептидной цепи, делающей изгибы, или между разными полипептидными цепями. β-структура образует фигуру, подобную листу, сложенному «гармошкой», – β-складчатый слой.

В составе одних белков вторичная структура может быть представлена только α-спиралью, в других – только β-структурами, в третьих наряду с α-спирализованными участками могут присутствовать и β-структуры.

Содержание типов вторичных структур в разных белках неодинаково. По наличию α-спиралей и β-структур глобулярные белки можно разделить на 4 категории:

– к первой относятся белки, в структуре которых обнаружена только α-спираль. Это миоглобин, гемоглобин;

– ко второй относят белки с α-спиралями и β-структурами. Характерные сочетания α-спиралей и β-структур обнаружены во многих ферментах: лактатдегидрогеназа, фосфолицераткиназа;

– в третью включены белки, имеющие только β-структуру. Сюда относятся: иммуноглобулины, фермент супероксиддисмутазы;

– в четвертую включены белки, имеющие в своем составе лишь незначительное количество регулярных вторичных структур.

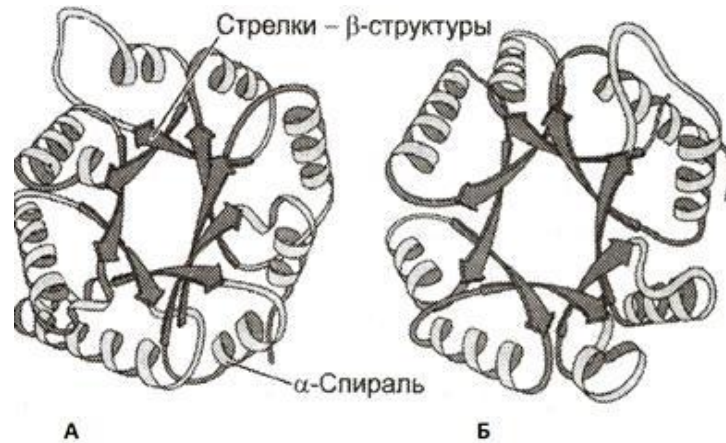
**Супервторичная структура белков.** Сравнение конформаций разных по структуре и функциям белков выявило наличие у них похожих сочетаний элементов вторичной структуры. Такой специфический порядок формирования вторичных структур называют супервторичной структурой. Супервторичная структура формируется за счет межрадикальных взаимодействий.

Разновидности супервторичной структуры белков:

1. Супервторичная структура типа **β-бочонка** (рис.2.3). Она напоминает бочонок, где каждая β-структура расположена внутри и связана с α-спиральным участком цепи, находящимся на

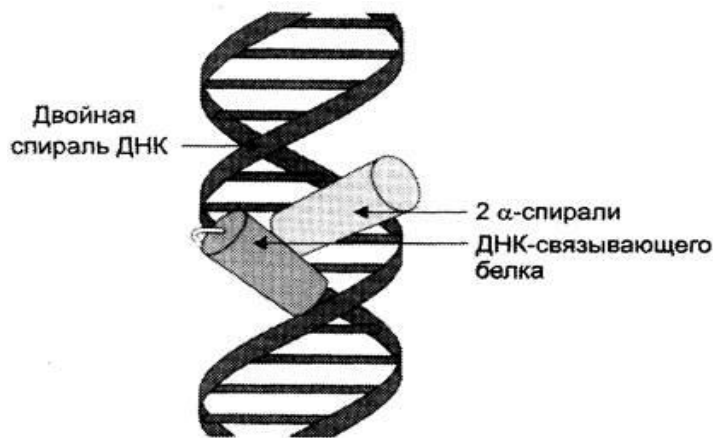


поверхности. Характерна для некоторых ферментов – триозофосфатизомеразы, пируваткиназы.



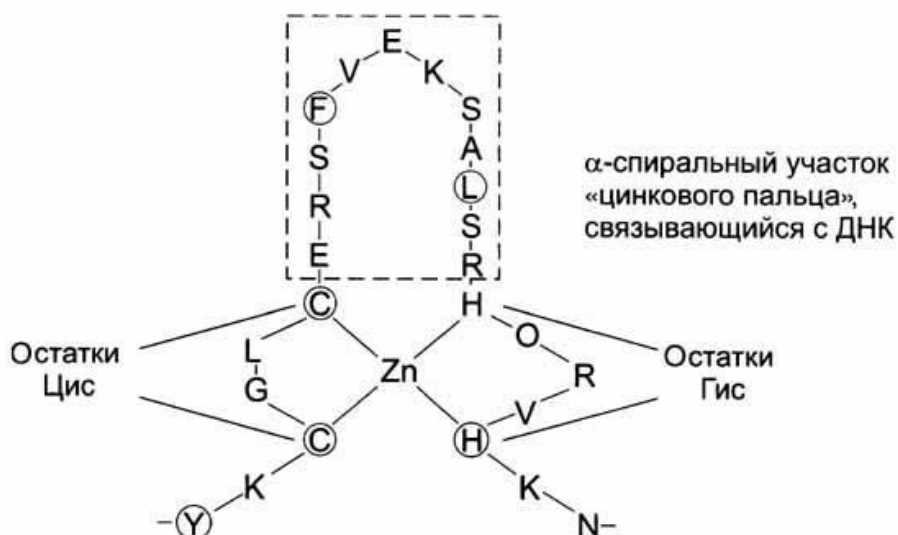
**Рисунок 2.3. – Супервторичная структура в виде  $\beta$ -бочонка**  
*А – триозофосфатизомераза; Б – домен пируваткиназы*  
(Е.С. Северин)

2. Структурный мотив « $\alpha$ -спираль – поворот –  $\alpha$ -спираль». Обнаружен во многих ДНК-связывающих белках (рис.2.4).



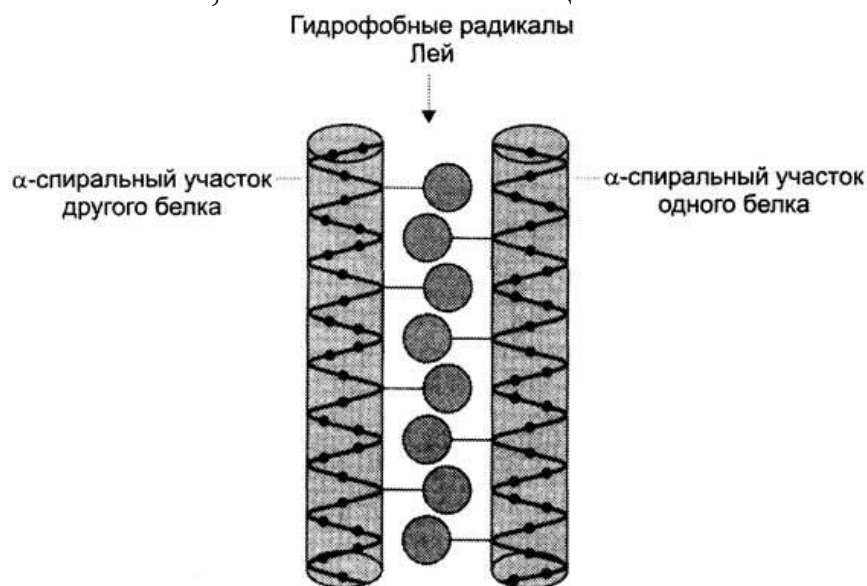
**Рисунок 2.4. – Супервторичная структура  $\alpha$ -спираль – поворот –  $\alpha$ -спираль** (Е.С. Северин)

3. Супервторичная структура в виде «цинкового пальца» (рис.2.5). Характерна также для ДНК-связывающих белков. «Цинковый палец» – фрагмент белка, содержащий около 20 аминокислот, в котором атом цинка связан с радикалами четырех аминокислот: обычно с двумя остатками цистеина и двумя – гистидина.



**Рисунок 2.5. – Фрагмент ДНК-связывающего белка в форме «цинкового пальца» (Е.С. Северин)**

4. Супервторичная структура (рис.2.6) в виде «лейциновой застежки-молнии». Объединение протомеров или отдельных белков в комплексы иногда осуществляется с помощью структурных мотивов, называемых «лейциновая застежка-молния».



**Рисунок 2.6. – Супервторичная структура «лейциновая застежка-молния» (Е.С. Северин)**

Примером такого соединения белков могут служить гистоны. Это ядерные белки, в состав которых входит большое количество положительно заряженных аминокислот – аргинина и лизина. Молекулы гистонов объединяются в комплексы с помощью «лейциновых застежек».

**Третичная структура белка** – пространственная ориентация полипептидной цепи или способ ее укладки в определенном объеме. При укладке полипептидная цепь стремится принять энергетически выгодную конформацию, характеризующуюся минимальной свободной энергией.

В зависимости от формы третичной структуры различают глобулярные и фибриллярные белки. Как  $\alpha$ -спирали, так и  $\beta$ -структуры обнаружены в глобулярных и фибриллярных белках. Например, фибриллярная молекула коллагена представляет собой спираль из трёх  $\alpha$ -цепей. Молекулы коллагена полимеризуются, объединяясь ковалентными связями также в спиралевидные фибриллы, а те, в свою очередь, объединяются в коллагеновые волокна. Фермент рибонуклеаза – глобулярный белок. В молекуле рибонуклеазы имеется очень мало  $\alpha$ -спиральных участков и достаточно большое число сегментов, находящихся в  $\beta$ -конформации.

В стабилизации третичной структуры глобулярного белка могут принимать участие связи между боковыми радикалами аминокислот:

- водородные связи спиральной структуры;
- водородные связи  $\beta$ -структуры;
- водородные связи между радикалами боковых цепей;
- гидрофобные взаимодействия между неполярными группами;
- электростатические взаимодействия между противоположно заряженными группами;
- дисульфидные связи;
- координационные связи ионов металлов.

В процессе формирования третичной структуры белок приобретает биологически активную **нативную** конформацию. Утрата нативной конформации белка сопровождается потерей его биологической функции, например, ферментативной активности.

**Четвертичная структура белка** – способ укладки в пространстве отдельных полипептидных цепей, обладающих одинаковой (или различной) первичной, вторичной или третичной структурой, и формирование единого в структурном и функциональном отношении макромолекулярного образования.

Четвертичная структура характерна для белков, состоящих из нескольких **субъединиц (протомеров)**. Отдельно взятая субъ-

единица, как правило, не обладает биологической активностью. **Олигомер** (мультимер) – структура, состоящая из нескольких протомеров и обладающая биологической активностью. Олигомерные белки, как правило, построены из четного числа протомеров. Основными силами, стабилизирующими четвертичную структуру, являются **нековалентные связи** (водородные и ионные связи, ван-дер-ваальсовы силы, гидрофобные взаимодействия) между **контактными площадками** протомеров, которые взаимодействуют друг с другом по типу **комплементарности** – универсальному принципу, свойственному живой материи. Реже возникают **ковалентные связи**. При разрушении связей, стабилизирующих четвертичную структуру, происходит диссоциация субъединиц и потеря функции белка.

К настоящему времени субъединичная структура обнаружена у нескольких сотен белков. Молекула гемоглобина состоит из двух  $\alpha$ - и двух  $\beta$ -полипептидных цепей, т.е. представляет тетрамер. Многие ферменты обладают четвертичной структурой (фосфоорилаза, лактатдегидрогеназа и др.).

Некоторые исследователи склонны рассматривать существование пятого уровня структурной организации белков. Речь идет о полифункциональных макромолекулярных комплексах, или ассоциатах из разных ферментов, получивших название **метаболических олигомеров**, или **метаболонов**, катализирующих весь путь превращений субстрата (синтазы высших жирных кислот, пируватдегидрогеназный комплекс, цепь переноса электронов).

### **Биологическое значение четвертичной структуры**

Существуют преимущества субъединичного построения белков по сравнению с одной длинной полипептидной цепью. Во-первых, наличие субъединичной структуры позволяет «экономить» генетический материал. Для олигомерных белков, состоящих из идентичных субъединиц, резко уменьшается размер структурного гена и, соответственно, длина матричной РНК. Во-вторых, при сравнительно небольшой величине цепей уменьшается влияние случайных ошибок, которые могут возникнуть в процессе биосинтеза белковых молекул. Кроме того, возможна дополнительная выбраковка «неправильных», ошибочных полипеп-

тидов в процессе ассоциации субъединиц в единый комплекс. В-третьих, наличие субъединичной структуры у многих белков позволяет клетке легко регулировать их активность путем смещения равновесия «ассоциация-диссоциация» в ту или иную сторону.

Наконец, субъединичная структура облегчает и ускоряет процесс молекулярной эволюции. Мутации, приводящие лишь к небольшим конформационным изменениям на уровне третичной структуры за счет многократного усиления этих изменений при переходе к четвертичной структуре, могут способствовать появлению у белка новых свойств.

### **Методы исследования третичной и четвертичной структур белка**

Важная роль в изучении пространственного строения белков принадлежит методу **рентгеноструктурного анализа** кристаллических белков, который впервые был проведен применительно к миоглобину и гемоглобину Дж. Кендрью и М. Перутцем. В этом случае получают белковую молекулу в виде кристалла и затем после рентгеновского облучения анализируют распределение электронных плотностей в молекуле. Такой анализ позволяет представить пространственное строение молекулы белка. В связи с повышением разрешающей способности метода была расшифрована структура более 1000 белков. Вторым по популярности после рентгеноструктурного анализа методом определения структур молекул является метод **ядерного магнитного резонанса** (ЯМР). Спектроскопия ядерного магнитного резонанса позволяет определить структуру белков относительно небольшого размера, причем непосредственно **в растворе**. С этой же целью используют комплекс физических методов: ЯМР, дисперсию оптического вращения, инфракрасную спектроскопию и др.

Для определения структуры больших биологических молекул и белков (рибосомы, вирусы и тому подобные объекты) используют метод просвечивающей **криоэлектронной микроскопии**. Биологические молекулы специальным образом «замораживаются», а затем просвечиваются пучком электронов. Анализ картинок, получаемых на детекторе, позволяет восстановить трехмерную структуру молекул. Все это осуществляется при помощи криоэлектронного микроскопа.

## Фолдинг белков

**Фолдинг** – процесс сворачивания полипептидной цепи в правильную пространственную структуру. При этом происходит сближение удаленных аминокислотных остатков полипептидной цепи, приводящее к формированию нативной структуры. Эта структура обладает уникальной биологической активностью. Поэтому фолдинг является важной стадией преобразования генетической информации в механизмы функционирования клетки.

### Структура и функциональная роль шаперонов в фолдинге белков

В процессе синтеза полипептидных цепей, транспорта их через мембраны, при сборке олигомерных белков возникают промежуточные нестабильные конформации, склонные к агрегации. На вновь синтезированном полипептиде имеется множество гидрофобных радикалов, которые в трёхмерной структуре спрятаны внутри молекулы. Поэтому на время формирования нативной конформации реакционноспособные аминокислотные остатки одних белков должны быть отделены от таких же групп других белков.

Во всех известных организмах, от прокариотов до высших эукариотов, обнаружены белки, способные связываться с белками, находящимися в неустойчивом, склонном к агрегации состоянии. Они способны стабилизировать их конформацию, обеспечивая фолдинг белков. Эти белки получили название **шаперонов**.

Фолдинг многих высокомолекулярных белков, имеющих сложную конформацию (например, доменное строение), осуществляется в специальном пространстве, сформированном шаперонами.

Шапероновый комплекс имеет высокое сродство к белкам, на поверхности которых есть элементы, характерные для несвёрнутых молекул (прежде всего участки, обогащённые гидрофобными радикалами). Попадая в полость шаперонового комплекса, белок связывается с гидрофобными радикалами апикальных участков шаперона. В специфической среде этой полости, в изоляции от других молекул клетки происходит выбор возмож-

ных конформаций белка, пока не будет найдена единственная, энергетически наиболее выгодная конформация. Если белок не приобрёл нативной конформации, то он вступает в повторную связь с шапероновым комплексом. Такой шаперонзависимый фолдинг белков требует затрат большего количества энергии.

Таким образом, синтез и фолдинг белков протекает при участии разных групп шаперонов, препятствующих нежелательным взаимодействиям белков с другими молекулами клетки и сопровождающих их до окончательного формирования нативной структуры.

***Роль шаперонов в защите белков клеток от денатурирующих стрессовых воздействий.*** Шапероны, участвующие в защите клеточных белков от денатурирующих воздействий, относят к белкам теплового шока (БТШ) и в литературе часто обозначают как HSP (англ. heat shock protein).

При действии различных стрессовых факторов (высокая температура, гипоксия, инфекция, УФО, изменение рН среды, изменение молярности среды, действие токсичных химических веществ, тяжёлых металлов и т. д.) в клетках усиливается синтез БТШ. Имея высокое сродство к гидрофобным участкам частично денатурированных белков, они могут препятствовать их полной денатурации и восстанавливать нативную конформацию белков.

Установлено, что кратковременные стрессовые воздействия увеличивают выработку БТШ и повышают устойчивость организма к длительным стрессовым воздействиям. Так, кратковременная ишемия сердечной мышцы в период бега при умеренных тренировках значительно повышает устойчивость миокарда к длительной ишемии. В настоящее время перспективными исследованиями в медицине считают поиски фармакологических и молекулярно-биологических способов активации синтеза БТШ в клетках.

## **Функционирование белков**

Каждый индивидуальный белок, имеющий уникальную первичную структуру и конформацию, обладает и уникальной функцией, отличающей его от всех остальных белков. Набор индивидуальных белков выполняет в клетке множество

разнообразных и сложных функций.

Необходимое условие для функционирования белков – присоединение к нему другого вещества, которое называют **лигандом**. Лигандами могут быть как низкомолекулярные вещества, так и макромолекулы. Взаимодействие белка с лигандом высокоспецифично, что определяется строением участка белка, называемого центром связывания белка с лигандом или **активным центром**.

### **Активный центр белков и избирательность связывания его с лигандом**

Активный центр белков – определённый участок белковой молекулы, как правило, находящийся в её углублении, сформированный радикалами аминокислотных остатков, собранных на определённом пространственном участке при формировании третичной структуры, и способный комплементарно связываться с лигандом. В линейной последовательности полипептидной цепи радикалы, формирующие активный центр, могут находиться на значительном расстоянии друг от друга.

Высокая специфичность связывания белка с лигандом обеспечивается комплементарностью структуры активного центра белка и структуры лиганда.

Под комплементарностью понимают пространственное и химическое соответствие взаимодействующих молекул. Лиганд должен обладать способностью входить и пространственно совпадать с конформацией активного центра. Это совпадение может быть неполным, но благодаря конформационной лабильности белка, активный центр способен к небольшим изменениям и «подгоняется» под лиганд. Кроме того, между функциональными группами лиганда и радикалами аминокислот, образующих активный центр, должны возникать связи, удерживающие лиганд в активном центре. Связи между лигандом и активным центром белка могут быть как нековалентными (ионными, водородными, гидрофобными), так и ковалентными.

### **Характеристика активного центра**

Активный центр белка – относительно изолированный от окружающей белок среды участок, сформированный аминокислотными остатками. В этом участке каждый остаток,



благодаря своему индивидуальному размеру и функциональным группам, формирует «рельеф» активного центра.

Уникальные свойства активного центра зависят не только от химических свойств формирующих его аминокислот, но и от их точной взаимной ориентации в пространстве. Поэтому даже незначительные нарушения общей конформации белка в результате точечных изменений его первичной структуры или условий окружающей среды могут привести к изменению химических и функциональных свойств радикалов, формирующих активный центр, нарушать связывание белка с лигандом и его функцию. При денатурации активный центр белков разрушается, и происходит утрата их биологической активности.

Часто активный центр формируется таким образом, что доступ воды к функциональным группам его радикалов ограничен, т. е. создаются условия для связывания лиганда с радикалами аминокислот.

#### **Многообразие лигандов:**

– лигандами могут быть неорганические (часто ионы металлов) и органические вещества, низкомолекулярные и высокомолекулярные вещества;

– существуют лиганды, которые изменяют свою химическую структуру при присоединении к активному центру белка (изменения субстрата в активном центре фермента);

– существуют лиганды, присоединяющиеся к белку только в момент функционирования (например,  $O_2$ , транспортируемый гемоглобином), и лиганды, постоянно связанные с белком, выполняющие вспомогательную роль при функционировании белков (например, железо, входящее в состав гемоглобина).

### **Различие белкового состава органов и тканей**

Органы и ткани организма человека различаются по белковому составу. Эти различия носят как качественный, так и количественный характер.

- Различия по количественному содержанию белка: в мышцах, легких, селезенке, почках на долю белков приходится более 70-80% от сухой массы; в костях – 20%; в жировой ткани – 14%.
- Различия по качественному составу обусловлены функциональ-

ной дифференцировкой органов и тканей (табл. 2.1).

Таблица 2.1. – Специфические белки органов и тканей

Белок	Ткань или орган
актин, миозин	мышцы
коллаген	соединительная ткань
кератин	кожа, волосы, ногти
гемоглобин, иммуноглобулины церулоплазмин	кровь
белок S-100, белок 14-3-2	нервная ткань
родопсин	сетчатка глаза

## ГЛАВА 3

### ФЕРМЕНТЫ. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

Ферментами, или энзимами, называют специфические белки, входящие в состав всех клеток и тканей живых организмов и выполняющие роль биологических катализаторов.

#### **Общие свойства ферментов и неорганических катализаторов:**

1. Не расходуются в процессе реакции.
2. Оказывают свое действие при малых концентрациях.
3. Не оказывают влияния на величину константы равновесия реакции.
4. Их действие подчиняется закону действующих масс.
5. Не ускоряют термодинамически невозможных реакций.

#### **Отличия ферментов от неорганических катализаторов**

1. Термолабильность ферментов.
2. Зависимость активности ферментов от pH среды.
3. Специфичность действия ферментов.
4. Скорость ферментативных реакций подчиняется определенным кинетическим закономерностям.
5. Активность ферментов зависит от действия регуляторов – активаторов и ингибиторов.
6. Ряд ферментов при формировании третичной и четвертичной структуры подвергаются постсинтетической модификации.
7. Размеры молекулы ферментов обычно намного превышают размеры их субстратов.

#### **Структура молекулы ферментов**

По строению ферменты могут быть простыми и сложными белками. Фермент, являющийся сложным белком, называют **холоферментом**. Белковую часть фермента называют апоферментом, небелковую часть – кофактором. Различают **два типа кофакторов**:

1. Простетическая группа – прочно связана с апоферментом, часто ковалентными связями.

2. Кофермент – небелковая часть, легко отделяемая от апофермента. Часто коферментами служат производные витаминов.

**К коферментам** относятся следующие соединения:

- производные витаминов (табл. 3.1);
- геммы, входящие в состав цитохромов, каталазы, пероксидазы, гуанилатциклазы, NO-синтазы и являющиеся простетической группой ферментов;
- нуклеотиды;
- доноры и акцепторы остатка фосфорной кислоты;
- убихинон (кофермент Q), участвующий в переносе электронов и протонов в цепи переноса электронов;
- фосфоаденозилфосфосульфат, участвующий в переносе сульфата;
- глутатион, участвующий в окислительно-восстановительных реакциях.

Таблица 3.1. – Коферментные функции витаминов

Витамин	Коферментная форма	Фермент
В <sub>1</sub> -тиамин	тиаминдифосфат	транскетолаза, пируватдегидрогеназа
В <sub>2</sub> -рибофлавин	ФМН, ФАД	флаavinзависимые дегидрогеназы
В <sub>5</sub> -пантотеновая кислота	кофермент А (КоА)	пируватдегидрогеназа ацил-КоА-синтетаза
В <sub>6</sub> -пиридоксин	пиридоксаль-фосфат	аминотрансферазы
РР-никотинамид	НАД <sup>+</sup> , НАДФ <sup>+</sup>	НАД <sup>+</sup> (НАДФ) <sup>+</sup> -зависимые дегидрогеназы
Фолиевая кислота	ТГФК (тетрагидрофолиевая кислота)	перенос одноуглеродных групп

### **Кофакторы – ионы металлов**

Более 25% всех ферментов для проявления полной каталитической активности нуждаются в ионах металлов. Рассмотрим их роль в ферментативном катализе.

**Роль металлов в присоединении субстрата в активном центре фермента.** Ионы металла выполняют функцию стабили-

заторов молекулы субстрата, активного центра фермента и конформации белковой молекулы фермента, а именно, третичной и четвертичной структур.

**Ионы металлов – стабилизаторы молекулы субстрата.** Для некоторых ферментов субстратом служит комплекс превращаемого вещества с ионом металла. Например, для большинства киназ в качестве одного из субстратов выступает не молекула АТФ, а комплекс  $Mg^{2+}$ -АТФ. В этом случае ион  $Mg^{2+}$  не взаимодействует непосредственно с ферментом, а участвует в стабилизации молекулы АТФ и нейтрализации отрицательного заряда субстрата, что облегчает его присоединение к активному центру фермента.

Схематично роль кофактора при взаимодействии фермента и субстрата можно представить как комплекс E-S-Me, где E – фермент, S – субстрат, Me – ион металла.

**Ионы металлов – стабилизаторы активного центра фермента.** В некоторых случаях ионы металлов служат «мостиком» между ферментом и субстратом. Они выполняют функцию стабилизаторов активного центра, облегчая присоединение к нему субстрата и протекание химической реакции. В ряде случаев ион металла может способствовать присоединению кофермента. Перечисленные выше функции выполняют такие металлы, как  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Mo^{2+}$ . В отсутствие металла эти ферменты активностью не обладают. Такие ферменты получили название «металлоэнзимы». К металлоэнзимам относят, например, фермент пируваткиназу.

**Роль металлов в стабилизации структуры фермента.** Ионы металлов обеспечивают сохранение вторичной, третичной, четвертичной структуры молекулы фермента. Такие ферменты в отсутствие ионов металлов способны к химическому катализу, однако они нестабильны. Их активность снижается и даже полностью исчезает при небольших изменениях pH, температуры и других незначительных изменениях внешнего окружения. Таким образом, ионы металлов выполняют функцию стабилизаторов оптимальной конформации белковой молекулы.

Иногда в стабилизации вторичной и третичной структуры принимают участие ионы щёлочноземельных металлов. Так, для поддержания третичной конформации пируваткиназы необходи-

мы ионы калия. Для стабилизации четвертичной структуры алкогольдегидрогеназы, катализирующей реакцию окисления этанола, необходимы ионы цинка.

### **Роль металлов в ферментативном катализе**

Не менее важную роль отводят ионам металлов в осуществлении ферментативного катализа.

**Участие металлов в электрофильном катализе.** Наиболее часто эту функцию выполняют ионы металлов с переменной валентностью, имеющие свободную d-орбиталь и выступающие в качестве электрофилов. Это, в первую очередь, такие металлы, как  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ . Ионы щелочных металлов, такие как  $Na^+$  и  $K^+$ , не обладают этим свойством. В ходе электрофильного катализа ионы металлов часто участвуют в стабилизации промежуточных соединений.

**Участие металлов в окислительно-восстановительных реакциях.** Ионы металлов с переменной валентностью могут также участвовать в переносе электронов. Например, в цитохромах (гемсодержащих белках) ион железа способен присоединять и отдавать один электрон. Благодаря этому свойству цитохромы участвуют в окислительно-восстановительных реакциях.

### **Активный центр фермента**

Участок молекулы фермента, который специфически взаимодействует с субстратом, называется активным центром. Активный центр – это уникальная комбинация аминокислотных остатков в молекуле фермента, обеспечивающая непосредственное взаимодействие её с молекулой субстрата и принимающая прямое участие в акте катализа. У сложных ферментов в состав активного центра входит также кофактор. В активном центре условно различают **каталитический участок**, непосредственно вступающий в химическое взаимодействие с субстратом и **участок связывания**, который обеспечивает специфическое средство к субстрату и формирование его комплекса с ферментом.

Свойства активных центров ферментов:

1. На активный центр приходится относительно малая часть общего объема фермента.
2. Активный центр имеет форму узкого углубления или ще-

ли в глобуле фермента.

3. Активный центр – это трехмерное образование, в формировании которого участвуют функциональные группы линейно удаленных друг от друга аминокислот.

4. Субстраты относительно слабо связываются с функциональными группами в активном центре фермента.

5. Специфичность связывания субстрата зависит от строго определенного расположения атомов и функциональных групп в активном центре.

У некоторых регуляторных ферментов имеется еще один центр, называемый аллостерическим или регуляторным. Он пространственно разделен с активным центром.

Аллостерический центр – это участок молекулы фермента, с которым связываются определенные обычно низкомолекулярные вещества (аллостерические регуляторы), молекулы которых не сходны по строению с субстратом. Присоединение регулятора к аллостерическому центру приводит к изменению третичной и четвертичной структуры молекулы фермента и, соответственно, конформации активного центра, вызывая снижение или повышение ферментативной активности.

### **Механизм действия ферментов**

В любой ферментативной реакции выделяют следующую стадийность:



где E – фермент,

S – субстрат,

[ES] – фермент-субстратный комплекс,

P – продукт.

Механизм действия ферментов может быть рассмотрен с двух позиций: с точки зрения изменения энергетики химических реакций и с точки зрения событий в активном центре.

### **Энергетические изменения при химических реакциях**

Любые химические реакции протекают, подчиняясь двум основным законам термодинамики: закону сохранения энергии и закону энтропии. Согласно этим законам, общая энергия химической системы и её окружения остаётся постоянной, при этом хи-

мическая система стремится к снижению упорядоченности (увеличению энтропии). Для понимания энергетики химической реакции недостаточно знать энергетический баланс входящих и выходящих из реакции веществ. Необходимо учитывать изменения энергии в процессе данной химической реакции и роль ферментов в динамике этого процесса.

Чем больше молекул обладает энергией, превышающей уровень  $E_a$  (энергия активации), тем выше скорость химической реакции. Повысить скорость химической реакции можно нагреванием. При этом увеличивается энергия реагирующих молекул. Однако для живых организмов высокие температуры губительны, поэтому в клетке для ускорения химических реакций используются ферменты. Ферменты обеспечивают высокую скорость реакций при оптимальных условиях, существующих в клетке, **путём понижения уровня  $E_a$** . Таким образом, ферменты снижают высоту энергетического барьера, в результате чего возрастает количество реакционноспособных молекул, и, следовательно, увеличивается скорость реакции.

### **Роль активного центра в ферментативном катализе**

В результате исследований было показано, что молекула фермента, как правило, во много раз больше молекулы субстрата, подвергающегося химическому превращению этим ферментом. В контакт с субстратом вступает лишь небольшая часть молекулы фермента, обычно от 5 до 10 аминокислотных остатков, формирующих активный центр фермента. Роль остальных аминокислотных остатков состоит в обеспечении правильной конформации молекулы фермента для оптимального протекания химической реакции.

Активный центр на всех этапах ферментативного катализа нельзя рассматривать как пассивный участок для связывания субстрата. Это комплексная молекулярная «машина», использующая разнообразные химические механизмы, способствующие превращению субстрата в продукт.

В активном центре фермента субстраты располагаются таким образом, чтобы участвующие в реакции функциональные группы субстратов находились в непосредственной близости друг к другу. Это свойство активного центра называют эффектом



сближения и ориентации реагентов. Такое упорядоченное расположение субстратов вызывает уменьшение энтропии и, как следствие, снижение энергии активации ( $E_a$ ), что определяет каталитическую эффективность ферментов.

Активный центр фермента также способствует дестабилизации межатомных связей в молекуле субстрата, что облегчает протекание химической реакции и образование продуктов. Это свойство активного центра называют эффектом деформации субстрата.

## **Молекулярные механизмы ферментативного катализа**

Механизмы ферментативного катализа определяются ролью функциональных групп активного центра фермента в химической реакции превращения субстрата в продукт. Выделяют два основных механизма ферментативного катализа: кислотно-основной катализ и ковалентный катализ.

### ***Кислотно-основный катализ***

Концепция кислотно-основного катализа объясняет ферментативную активность участием в химической реакции кислотных групп (доноры протонов) и/или основных групп (акцепторы протонов). Кислотно-основной катализ – часто встречающееся явление. Аминокислотные остатки, входящие в состав активного центра, имеют функциональные группы, проявляющие свойства как кислот, так и оснований.

К аминокислотам, участвующим в кислотно-основном катализе, в первую очередь относят Цис, Тир, Сер, Лиз, Глу, Асп и Гис. Радикалы этих аминокислот в протонированной форме – кислоты (доноры протона), в депротонированной – основания (акцепторы протона). Благодаря этому свойству функциональных групп активного центра, ферменты становятся уникальными биологическими катализаторами, в отличие от небиологических катализаторов, способных проявлять либо кислотные, либо основные свойства.

### ***Ковалентный катализ***

Ковалентный катализ основан на атаке нуклеофильных (отрицательно заряженных) или электрофильных (положительно заряженных) групп активного центра фермента молекулами суб-

страта с формированием ковалентной связи между субстратом и коферментом или функциональной группой аминокислотного остатка (как правило, одной) активного центра фермента.

Действие сериновых протеаз, таких как трипсин, химотрипсин и тромбин, – пример механизма ковалентного катализа, когда ковалентная связь образуется между субстратом и аминокислотным остатком серина активного центра фермента. Термин «сериновые протеазы» связан с тем, что аминокислотный остаток серина входит в состав активного центра всех этих ферментов и участвует непосредственно в катализе. Рассмотрим механизм ковалентного катализа на примере химотрипсина, осуществляющего гидролиз пептидных связей при переваривании белков в двенадцатиперстной кишке. Субстратами химотрипсина служат пептиды, содержащие аминокислоты с ароматическими и гидрофобными радикалами (Фен, Тир, Трп), что указывает на участие гидрофобных сил в формировании фермент-субстратного комплекса.

### **Специфичность действия ферментов**

Ферменты обладают более высокой специфичностью действия по сравнению с неорганическими катализаторами. Различают специфичность по отношению к типу химической реакции, катализируемой ферментом, и специфичность по отношению к субстрату. Эти два вида специфичности характерны для каждого фермента.

Специфичность по отношению к субстрату – это предпочтительность фермента к субстрату определенной структуры в сравнении с другими субстратами. Различают 4 вида субстратной специфичности ферментов:

1. Абсолютная специфичность – способность фермента катализировать превращение только одного субстрата. Например, глюкокиназа фосфорилирует только глюкозу, аргиназа расщепляет только аргинин, уреазы – мочевины.

2. Относительная специфичность – фермент катализирует превращение нескольких субстратов, имеющих один тип связи. Например, липаза расщепляет сложноэфирную связь в триацилглицеролах.

3. Относительная групповая специфичность – фермент ка-

тализирует превращение нескольких субстратов, имеющих один тип связи, но требуется наличие определенных функциональных групп, входящих в состав субстратов. Например, все протеолитические ферменты расщепляют пептидную связь, но пепсин – образованную аминокеттами ароматических аминокислот, химотрипсин – образованную карбоксильными группами этих же аминокислот, трипсин – пептидную связь, образованную карбоксильной группой лизина, аргинина.

4. Стереохимическая специфичность – фермент катализирует превращение только одного стереоизомера. Например, бактериальная аспартатдекарбоксилаза катализирует декарбоксилирование только L-аспартата и не действует на D-аспарагиновую кислоту.

### **Специфичность по отношению к реакции**

Каждый фермент катализирует одну реакцию или группу реакций одного типа. Часто одно и то же химическое соединение выступает как субстрат для разных ферментов, причем каждый из них катализирует специфическую для него реакцию, приводящую к образованию разных продуктов. Специфичность по типу реакции лежит в основе единой классификации ферментов.

## ГЛАВА 4

# РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ. МЕДИЦИНСКАЯ ЭНЗИМОЛОГИЯ

### **Способы регуляции активности ферментов:**

1. Изменение количества ферментов.
2. Изменение каталитической эффективности фермента.
3. Изменение условий протекания реакции.

### **Регуляция количества ферментов**

Количество молекул фермента в клетке определяется соотношением двух процессов – скоростями синтеза и распада белковой молекулы фермента.

### **В клетках существуют два типа ферментов:**

1. Конститутивные ферменты – являются обязательными компонентами клетки, синтезируются с постоянной скоростью в постоянных количествах.

2. Адаптивные ферменты – их образование зависит от определенных условий. Среди них выделяют индуцируемые и репрессированные ферменты.

Индуцируемыми, как правило, являются ферменты с катаболической функцией. Их образование может быть вызвано или ускорено субстратом данного фермента. Репрессированными обычно бывают ферменты анаболической направленности. Ингибитором (репрессором) синтеза этих ферментов может быть конечный продукт данной ферментативной реакции.

Изменение каталитической эффективности ферментов может осуществляться по нескольким механизмам.

### **Влияние активаторов и ингибиторов на активность ферментов**

**Активаторы** могут повышать ферментативную активность разными путями:

- формируют активный центр фермента;
- облегчают образование фермент-субстратного комплекса;
- стабилизируют нативную структуру фермента;
- защищают функциональные группы активного центра.

Классификация **ингибиторов** ферментов:

1. Неспецифические.

2. Специфические:

а) необратимые

б) обратимые:

- конкурентные

- неконкурентные.

Неспецифические ингибиторы вызывают изменение конформации молекулы фермента – это кислоты, щелочи, соли тяжелых металлов. Их действие не связано с механизмом ферментативного катализа.

### **Необратимое ингибирование**

Необратимое ингибирование наблюдают в случае образования ковалентных стабильных связей между молекулой ингибитора и фермента. Чаще всего модификации подвергается активный центр фермента. В результате фермент не может выполнять каталитическую функцию.

К необратимым ингибиторам относят **ионы тяжёлых металлов**, например ртути ( $\text{Hg}^{2+}$ ), серебра ( $\text{Ag}^+$ ) и мышьяка ( $\text{As}^{3+}$ ), которые в малых концентрациях блокируют сульфгидрильные группы активного центра. Субстрат при этом не может подвергаться химическому превращению.

**ДФФ** относят к специфическим необратимым ингибиторам «сериновых» ферментов, так как он образует ковалентную связь с гидроксильной группой серина, находящегося в активном центре и играющего ключевую роль в процессе катализа.

**Моноiodоксусная кислота** легко вступает в реакции с SH-группами остатков цистеина белков. Этот ингибитор не относят к специфическим, так как он реагирует с любыми свободными SH-группами белков и называется неспецифическим ингибитором.

**Необратимые ингибиторы ферментов как лекарственные препараты.** Пример лекарственного препарата, действие которого основано на необратимом ингибировании ферментов – противовоспалительный нестероидный препарат **аспирин**, который обеспечивает фармакологическое действие за счёт ингибирования фермента **циклооксигеназы**, катализирующего реакцию образования простагландинов из арахидоновой кислоты. В ре-

зультате химической реакции ацетильный остаток аспирина присоединяется к свободной концевой ОН-группе серина циклооксигеназы. Это вызывает снижение образования продуктов реакции – простагландинов, которые обладают широким спектром биологических функций, в том числе являются медиаторами воспаления.

Примером необратимого ингибирования является влияние антибиотика **пенициллина** на фермент **транспептидазу**, сшивающую цепи пептидогликана как последний шаг в синтезе клеточной стенки бактерий.

### **Обратимое ингибирование**

Обратимые ингибиторы связываются с ферментом слабыми нековалентными связями и при определённых условиях легко отделяются от фермента. Обратимые ингибиторы бывают конкурентными и неконкурентными.

### **Конкурентное ингибирование**

К конкурентному ингибированию относят обратимое снижение скорости ферментативной реакции, вызванное ингибитором, связывающимся с активным центром фермента и препятствующим образованию фермент-субстратного комплекса. Такой тип ингибирования наблюдают, когда ингибитор – структурный аналог субстрата, в результате возникает конкуренция молекул субстрата и ингибитора за место в активном центре фермента. В этом случае с ферментом взаимодействует либо субстрат, либо ингибитор, образуя комплексы фермент-субстрат (ES) или фермент-ингибитор (EI). При формировании комплекса фермента и ингибитора (EI) продукт реакции не образуется. Поэтому для достижения половины максимальной скорости реакции необходимы более высокие концентрации субстрата: в присутствии такого ингибитора **константа Михаэлиса  $K_m$  увеличивается. Максимальная скорость  $V_{max}$  при этом типе ингибирования не изменяется.** Субстрат в высоких концентрациях вытесняет ингибитор из активного центра фермента.

Классический пример конкурентного ингибирования – ингибирование сукцинатдегидрогеназной реакции малоновой кислотой. Малоновая кислота – структурный аналог сукцината (наличие двух карбоксильных групп) и может также взаимодейство-

вать с активным центром сукцинатдегидрогеназы. Однако отщепление двух атомов водорода от малоновой кислоты невозможно; следовательно, скорость реакции снижается.

**Конкурентные ингибиторы как лекарственные препараты.** Многие лекарственные препараты оказывают своё терапевтическое действие по механизму конкурентного ингибирования. Например, четвертичные аммониевые основания ингибируют ацетилхолинэстеразу, катализирующую реакцию гидролиза ацетилхолина на холин и уксусную кислоту.

При добавлении ингибиторов активность ацетилхолинэстеразы уменьшается, концентрация ацетилхолина (субстрата) увеличивается, что сопровождается усилением проведения нервного импульса. Ингибиторы холинэстеразы используют при лечении мышечных дистрофий. Эффективные антихолинэстеразные препараты – **прозерин, эндрофоний** и др. Они применяются при миастении, после энцефалита, менингита, травм ЦНС.

В качестве других примеров лекарственных конкурентных ингибиторов можно привести:

- ингибитор синтеза холестерина **ловастатин**, обратимо ингибирующий **ГМГ-КоА-редуктазу**,
- непрямо́й антикоагулянт **дикумарол**, конкурент **витамина К**,
- антигипертензивный препарат **метил-ДОФА**, подавляющий активность **ДОФА-декарбоксилазы**,
- средство для лечения подагры **аллопуринол**, ингибирующий **ксантиноксидазу**.

**Антиметаболиты как лекарственные препараты.** В качестве ингибиторов ферментов по конкурентному механизму в медицинской практике используют вещества, называемые антиметаболитами. Эти соединения, будучи структурными аналогами природных субстратов, вызывают конкурентное ингибирование ферментов, с одной стороны, и с другой – могут использоваться этими же ферментами в качестве псевдосубстратов, что приводит к синтезу аномальных продуктов. Аномальные продукты не обладают функциональной активностью; в результате наблюдают снижение скорости определённых метаболических путей.

В качестве лекарственных препаратов используют следующие

щие антиметаболиты:

– **сульфаниламидные препараты** (аналоги пара-аминобензойной кислоты), применяемые для лечения инфекционных заболеваний. При лечении сульфаниламидами в бактериальной клетке возникает конкуренция между сульфаниламидом и пара-аминобензойной кислотой при синтезе дигидрофолиевой кислоты, что и вызывает лечебный эффект.

– аналоги нуклеотидов для лечения онкологических заболеваний (**6-меркаптопурин, 5-фторурацил**).

### **Неконкурентное ингибирование**

Неконкурентным называют такое ингибирование ферментативной реакции, при котором ингибитор взаимодействует с ферментом в участке, отличном от активного центра. Неконкурентные ингибиторы не являются структурными аналогами субстрата.

Неконкурентный ингибитор может связываться либо с ферментом, либо с фермент-субстратным комплексом, образуя неактивный комплекс. Присоединение неконкурентного ингибитора вызывает такие конформационные изменения, которые не позволяют ферменту превращать субстрат в продукт, но не влияют на сродство фермента к субстрату. При неконкурентном ингибировании **константа Михаэлиса не изменяется, а максимальная скорость реакции уменьшается.**

### **Аллостерическая регуляция**

Аллостерическими ферментами называют ферменты, активность которых регулируется не только количеством молекул субстрата, но и другими веществами, называемыми эффекторами. Участвующие в аллостерической регуляции эффекторы – клеточные метаболиты часто именно того пути, регуляцию которого они осуществляют.

**Роль аллостерических ферментов в метаболизме клетки.** Аллостерические ферменты играют важную роль в метаболизме, так как они чрезвычайно быстро реагируют на малейшие изменения внутреннего состояния клетки. Аллостерическая регуляция имеет большое значение в следующих ситуациях:

- при анаболических процессах. Ингибирование конечным про-



дуктом метаболического пути и активация начальными метаболитами позволяют осуществлять регуляцию синтеза этих соединений.

- при катаболических процессах. В случае накопления АТФ в клетке происходит ингибирование метаболических путей, обеспечивающих синтез энергии. Субстраты при этом расходуются на реакции запасания резервных питательных веществ.
- для координации анаболических и катаболических путей. АТФ и АДФ – аллостерические эффекторы, действующие как антагонисты.
- для координации параллельно протекающих и взаимосвязанных метаболических путей (например, синтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, используемых для синтеза нуклеиновых кислот). Таким образом, конечные продукты одного метаболического пути могут быть аллостерическими эффекторами другого метаболического пути.

#### **Особенности строения и функционирования аллостерических ферментов:**

– обычно это олигомерные белки, состоящие из нескольких протомеров или имеющие доменное строение;

– они имеют аллостерический центр, пространственно удалённый от каталитического активного центра;

– эффекторы присоединяются к ферменту нековалентно в аллостерических (регуляторных) центрах;

– аллостерические центры так же, как и каталитические, могут проявлять различную специфичность по отношению к лигандам: она может быть абсолютной и групповой; некоторые ферменты имеют несколько аллостерических центров, одни из которых специфичны к активаторам, другие – к ингибиторам;

– протомер, на котором находится аллостерический центр, – регуляторный протомер, в отличие от каталитического протомера, содержащего активный центр, в котором проходит химическая реакция;

– аллостерические ферменты обладают свойством кооперативности: взаимодействие аллостерического эффектора с аллостерическим центром вызывает последовательное кооперативное изменение конформации всех субъединиц, приводящее к изменению конформации активного центра и изменению сред-

ства фермента к субстрату, что снижает или увеличивает каталитическую активность фермента;

– регуляция аллостерических ферментов обратима: отсоединение эффектора от регуляторной субъединицы восстанавливает исходную каталитическую активность фермента;

– аллостерические ферменты катализируют ключевые реакции данного метаболического пути.

### **Регуляция каталитической активности ферментов белок-белковыми взаимодействиями**

Некоторые ферменты изменяют свою каталитическую активность в результате белок-белковых взаимодействий. Различают два механизма активации ферментов с помощью белок-белковых взаимодействий:

– активация ферментов в результате присоединения регуляторных белков;

– изменение каталитической активности ферментов вследствие ассоциации или диссоциации протомеров фермента.

### **Регуляция каталитической активности ферментов путём фосфорилирования/дефосфорилирования**

В биологических системах часто встречается механизм регуляции активности ферментов с помощью ковалентной модификации аминокислотных остатков. Быстрый и широко распространённый способ химической модификации ферментов – фосфорилирование/дефосфорилирование. Модификации подвергаются ОН-группы фермента. Фосфорилирование осуществляется ферментами протеинкиназами, а дефосфорилирование – фосфопротеинфосфатазами. Присоединение остатка фосфорной кислоты приводит к изменению конформации активного центра и его каталитической активности. При этом результат может быть двояким: одни ферменты при фосфорилировании активируются, другие, напротив, становятся менее активными.

### **Регуляция каталитической активности ферментов частичным (ограниченным) протеолизом**

Некоторые ферменты, функционирующие вне клеток (в ЖКТ или в плазме крови), синтезируются в виде неактивных предшественников и активируются только в результате гидролиза одной или нескольких определённых пептидных связей, что приводит к отщеплению части белковой молекулы предшественника.

В результате в оставшейся части белковой молекулы происходит конформационная перестройка и формируется активный центр фермента (трипсиноген – трипсин).

### Ферменты плазмы крови

По происхождению ферменты плазмы крови можно подразделить на 3 группы.

1. **Собственные** ферменты плазмы крови (секреторные). Они образуются в печени, но проявляют своё действие в крови. К ним относятся ферменты свертывающей системы крови – протромбин, проакцелерин, проконвертин, а также церулоплазмин, холинэстераза.

2. **Экскреторные** ферменты – попадают в кровь из различных секретов – дуоденального сока, слюны и т. д. К ним относятся амилаза, липаза.

3. **Клеточные (индикаторные)** ферменты – попадают в кровь при повреждениях или разрушениях клеток или тканей. Эти ферменты также называют органоспецифическими (табл. 4.1).

Таблица 4.1. – Органоспецифические ферменты (изоферменты)

Фермент (изофермент)	Орган, при повреждении которого активность фермента в крови увеличивается
ЛДГ <sub>1</sub> , ЛДГ <sub>2</sub>	миокард
ЛДГ <sub>3</sub>	легкие
ЛДГ <sub>4</sub> , ЛДГ <sub>5</sub>	печень, мышцы
Амилаза	поджелудочная железа
АлАТ	печень
АсАТ	миокард
кислая фосфатаза	простата
щелочная фосфатаза	кости

### ЭНЗИМОПАТИИ

В основе многих заболеваний лежат нарушения функционирования ферментов в клетке – энзимопатии. По характеру нарушения выделяют **первичные** и **вторичные** энзимопатии

При **первичных энзимопатиях** дефектные ферменты на-

следуются, в основном, по аутосомно-рецессивному типу. Гетерозиготы чаще всего не имеют фенотипических отклонений. Первичные энзимопатии обычно относят к метаболическим болезням, так как происходит нарушение определённых метаболических путей: нарушение образования конечных продуктов, накопление субстратов-предшественников, нарушение образования конечных продуктов и накопление субстратов-предшественников.

**Нарушение образования конечных продуктов.** Недостаток конечного продукта этого метаболического пути (при отсутствии альтернативных путей синтеза) может приводить к развитию клинических симптомов, характерных для данного заболевания.

**Клинические проявления.** В качестве примера можно рассмотреть альбинизм. При альбинизме нарушен синтез в меланоцитах пигментов – меланинов. Меланин находится в коже, волосах, радужке, пигментном эпителии сетчатки глаза и влияет на их окраску. При альбинизме наблюдают слабую пигментацию кожи, светлые волосы, красноватый цвет радужки глаза из-за просвечивающих капилляров. Проявление альбинизма связано с недостаточностью фермента тирозингидроксилазы (тирозиныазы) – одного из ферментов, катализирующего метаболический путь образования меланинов.

**Накопление субстратов-предшественников.** При недостаточности фермента будут накапливаться определенные вещества, а также во многих случаях и предшествующие им соединения. Увеличение концентрации субстратов-предшественников дефектного фермента – ведущее звено развития многих заболеваний.

**Клинические проявления.** Известно заболевание алкаптонурия, при котором нарушено окисление гомогентизиновой кислоты в тканях (гомогентизиновая кислота – промежуточный метаболит катаболизма тирозина). У таких больных наблюдают недостаточность фермента окисления гомогентизиновой кислоты – диоксигеназы гомогентизиновой кислоты, приводящей к развитию заболевания. В результате увеличиваются концентрация гомогентизиновой кислоты и выведение её с мочой. В присутствии кислорода гомогентизиновая кислота превращается в соединение

чёрного цвета – алкаптон. Поэтому моча таких больных на воздухе окрашивается в чёрный цвет. Алкаптон также образуется и в биологических жидкостях, оседая в тканях, коже, сухожилиях, суставах. При значительных отложениях алкаптона в суставах нарушается их подвижность.

**Нарушение образования конечных продуктов и накопление субстратов-предшественников.** Отмечают заболевания, когда одновременно недостаток продукта и накопление исходного субстрата вызывают клинические проявления.

**Клинические проявления.** Например, у людей с болезнью Гирке (гликогеноз I типа) наблюдают снижение концентрации глюкозы в крови (гипогликемия) в перерывах между приёмами пищи. Это связано с нарушением распада гликогена в печени вследствие дефекта фермента глюкозо-6-фосфатазы. Одновременно у таких людей увеличиваются размеры печени (гепатомегалия) вследствие накопления в ней не используемого гликогена.

**Вторичные (приобретенные) энзимопатии** являются следствием тех или иных патологических процессов, сопровождающихся нарушением активности ферментов. Они наблюдаются при многих заболеваниях. Например, причиной развития вторичной лактазной недостаточности могут являться: кишечные инфекции вирусной и бактериальной этиологии, паразитарные заболевания; гипераммониемия может возникать при заболеваниях печени, при которых ухудшается синтез мочевины и в крови накапливается аммиак. Другим примером может служить недостаточность ферментов желудочно-кишечного тракта при заболеваниях желудка, поджелудочной железы.

Недостаток витаминов и их коферментных форм также является причиной приобретенных ферментопатий. Одним из вариантов вторичных энзимопатий являются **алиментарные энзимопатии** – патологические состояния, обусловленные стойкими нарушениями активности ферментов в связи с особенностями питания. Алиментарные энзимопатии могут быть нарушением биосинтеза коферментов при витаминной недостаточности, угнетением синтеза металлоферментов при низком содержании в рационе соответствующих минеральных веществ. Кроме того, они могут возникать при несбалансированном питании в целом. К развитию алиментарных энзимопатий может приводить также

нарушение поступления пищевых веществ из желудочно-кишечного тракта в кровь при длительных поносах, атрофии или поражении слизистой оболочки кишечника и др. К алиментарным энзимопатиям относят и так называемые **токсические энзимопатии**, связанные с угнетением активности или биосинтеза отдельных ферментов различными естественными компонентами пищевых продуктов (ингибиторы протеолитических ферментов, антивитамины и др.) или чужеродными веществами (например пестицидами), содержащимися в них.

Клинические проявления приобретенных энзимопатий зависят от вида фермента, функция которого нарушена и характеризуется нарушениями того или иного вида обмена веществ.

### **Применение ферментов в медицине**

Ферментные препараты широко используют в медицине. Ферменты в медицинской практике находят применение в качестве диагностических (энзимодиагностика) и терапевтических (энзимотерапия) средств.

Кроме того, ферменты используют в качестве специфических реактивов для определения ряда веществ. Так, глюкозооксидазу применяют для количественного определения глюкозы в моче и крови. Фермент уреазу используют для определения содержания количества мочевины в крови и моче. С помощью разных дегидрогеназ обнаруживают соответствующие субстраты, например пируват, лактат, этиловый спирт и др.

### **Энзимодиагностика**

Энзимодиагностика заключается в постановке диагноза заболевания (или синдрома) на основе определения активности ферментов в биологических жидкостях человека. Принципы энзимодиагностики основаны на следующих позициях:

- при повреждении клеток в крови или других биологических жидкостях (например, в моче) увеличивается концентрация внутриклеточных ферментов повреждённых клеток;
- количество высвобождаемого фермента достаточно для его обнаружения;
- активность ферментов в биологических жидкостях, обна-

руживаемых при повреждении клеток, стабильна в течение достаточно длительного времени и отличается от нормальных значений;

- ряд ферментов имеет преимущественную или абсолютную локализацию в определённых органах (органоспецифичность);
- существуют различия во внутриклеточной локализации ряда ферментов.

При многих заболеваниях происходит повреждение клеток, и их содержимое, в том числе и ферменты, высвобождаются в кровь. К причинам, вызывающим высвобождение внутриклеточного содержимого в кровь, относят нарушение проницаемости мембраны клеток (при воспалительных процессах) или нарушение целостности клеток (при некрозе). Уровень активности ферментов в плазме коррелирует со степенью повреждения клеток. Для энзимодиагностики имеют большое значение знания о субклеточной локализации ферментов. Так, появление в плазме крови ферментов, имеющих только цитозольную локализацию, свидетельствует о воспалительном процессе; при обнаружении митохондриальных или ядерных ферментов можно говорить о более глубоких повреждениях клетки, например о некрозе.

Определение в крови активности ряда **индикаторных** ферментов, специфичных только для определенного типа тканей (**органоспецифических**), используют для диагностики заболеваний сердца, печени, скелетной мускулатуры и других тканей (табл. 4.2). Распределение отдельных изоферментов в тканях более специфично для определенной ткани, чем суммарная ферментативная активность, поэтому исследование некоторых изоферментов приобрело важное значение для ранней диагностики поражения отдельных органов и тканей.

Таблица 4.2. – Ферменты, используемые для диагностики патологий

Фермент	Патология
Аланинаминотрансфераза	Заболевания печени
Аспартатаминотрансфераза	Инфаркт миокарда, заболевания печени
Амилаза	Панкреатит

Креатинкиназа ММ	Патология мышц
Креатинкиназа МВ	Инфаркт миокарда
Кислая фосфатаза	Рак предстательной железы
Лактатдегидрогеназа (ЛДГ <sub>1</sub> )	Инфаркт миокарда
Щелочная фосфатаза	Механическая желтуха, патология костной ткани

Диагностическая ценность энзимных тестов достаточно высока; она зависит как от специфичности данного вида гиперферментемии для определенных болезней, так и от степени чувствительности теста, т.е. кратности возрастания активности фермента при данном заболевании относительно нормальных значений. Однако большое значение имеет время постановки теста, т.к. появление и продолжительность гиперферментемии после повреждения органа различны и определяются соотношением скорости поступления фермента в кровоток и скорости его инактивации. При отдельных заболеваниях надежность их диагностики может быть повышена исследованием не одного, а нескольких изоферментов. Так, например, достоверность диагноза острого инфаркта миокарда возрастает, если в определенные сроки отмечено повышение активности креатинкиназы МВ, ЛДГ<sub>1</sub> и аспартатаминотрансферазы. Степень выявляемой гиперферментемии объективно отражает тяжесть и распространенность повреждения органа, что позволяет прогнозировать течение заболевания.

Заболевание органа может приводить к понижению синтеза ферментов (гипоферментемии) в клетках. Если некоторые ферменты секретируются клетками наружу, то их активность в биологической жидкости снижается. Например, при тяжелых хронических заболеваниях печени, особенно при циррозе, резко снижается активность холинэстеразы.

### **Применение ферментов в качестве лекарственных средств**

Использование ферментов в качестве терапевтических средств имеет много ограничений вследствие их высокой иммуногенности. Тем не менее, энзимотерапию активно развивают в



следующих направлениях:

- заместительная терапия – использование ферментов в случае их недостаточности;
- элементы комплексной терапии – применение ферментов в сочетании с другой терапией.

**Заместительная энзимотерапия** эффективна при желудочно-кишечных заболеваниях, связанных с недостаточностью секреции пищеварительных соков. Например, пепсин используют при ахилии, гипо- и анацидных гастритах. Дефицит панкреатических ферментов также в значительной степени может быть компенсирован приёмом внутрь препаратов, содержащих основные ферменты поджелудочной железы (фестал, энзистал, мезим-форте и др.). Заместительная энзимотерапия с использованием таких ферментов как идуронидаза, идурсульфаз и др. проводится при лечении мукополисахаридозов - наследственных болезней обмена веществ, связанных с нарушением метаболизма гликозаминогликанов (ГАГ), приводящее к мультиорганному поражению.

В качестве **дополнительных терапевтических средств** ферменты используют при ряде заболеваний. Протеолитические ферменты (трипсин, химотрипсин) применяют при местном воздействии для обработки гнойных ран с целью расщепления белков погибших клеток, для удаления сгустков крови или вязких секретов при воспалительных заболеваниях дыхательных путей. Ферментные препараты стали широко применять при тромбозах и тромбоземболиях. С этой целью используют препараты фибринолизина, стрептолиазы, стрептодеказы, урокиназы.

Фермент гиалуронидазу (лидазу), катализирующий расщепление гиалуроновой кислоты, используют подкожно и внутримышечно для рассасывания рубцов после ожогов и операций (гиалуроновая кислота образует сшивки в соединительной ткани).

Ферментные препараты используют при онкологических заболеваниях. Аспарагиназа, катализирующая реакцию катаболизма аспарагина, нашла применение для лечения лейкозов.

Предпосылкой антилейкемического действия аспарагиназы послужило обнаружение в лейкозных клетках дефектного фермента аспарагинсинтетазы, катализирующего реакцию синтеза аспарагина.

Лейкозные клетки не могут синтезировать аспарагин и по-

лучают его из плазмы крови. Если имеющийся в плазме аспарагин разрушать введением аспарагиназы, то в лейкозных клетках наступит дефицит аспарагина и в результате – нарушение метаболизма клетки и остановка прогрессирования заболевания.

**Иммобилизованные ферменты** – это ферменты, связанные с твердым носителем или помещенные в полимерную капсулу. Для иммобилизации ферментов используют два основных подхода:

1. химическая модификация фермента.
2. физическая изоляция фермента в инертном материале.

Часто для иммобилизации ферментов используют капсулы из липидов – липосомы, которые легко проходят через мембраны и оказывают необходимые эффекты внутри клетки.

**Преимущества иммобилизованных ферментов:**

1. Легко отделяются от реакционной среды, что позволяет использовать фермент повторно. Продукт не загрязнен ферментом.
2. Ферментативный процесс можно осуществлять непрерывно.
3. Повышается стабильность фермента.

Иммобилизованные ферменты можно использовать для аналитических и препаративных целей. Существуют несколько типов устройств, где иммобилизованные ферменты применяются в аналитических целях – ферментные электроды, автоматические анализаторы, тест-системы и т.д.

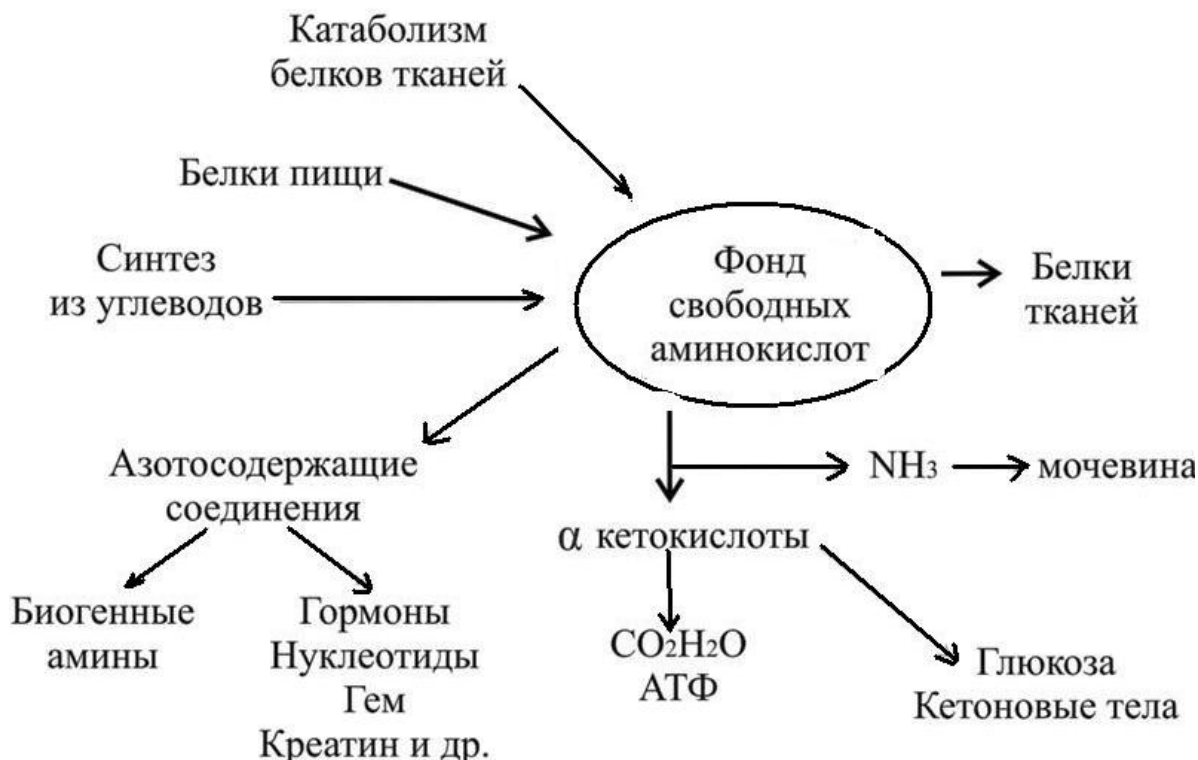
**Препаративное использование иммобилизованных ферментов в промышленности:**

1. получение L-аминокислот с помощью аминокислотазы.
2. получение сиропов с высоким содержанием фруктозы с использованием глюкозоизомеразы.
3. обработка молока.

## ГЛАВА 5

### ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ. ДИНАМИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВ ОРГАНИЗМА

Значение аминокислот для организма в первую очередь заключается в том, что они используются для синтеза белков, метаболизм которых занимает особое место в процессах обмена веществ между организмом и внешней средой. Аминокислоты непосредственно участвуют в биосинтезе большого количества других биологически активных соединений, регулирующих процессы обмена веществ в организме, таких как нейромедиаторы и гормоны (Рис. 5.1). Аминокислоты служат донорами азота при синтезе всех азотсодержащих небелковых соединений, в том числе нуклеотидов, гема, креатина, холина и др.



*Рисунок 5.1. – Общая схема метаболизма аминокислот в организме*

Катаболизм аминокислот является источником энергии для синтеза АТФ. Энергетическая функция аминокислот становится значимой при голодании, некоторых патологических состояниях (сахарный диабет). Именно обмен аминокислот осуществляет взаимосвязь многообразных химических превращений в живом организме. Большая часть аминокислот входит в состав белков, количество которых в организме взрослого человека составляет примерно 15 кг. Какой-либо специальной формы депонирования аминокислот и белков, подобно глюкозе или жирным кислотам, не существует. Поэтому резервом аминокислот могут служить все функциональные и структурные белки тканей, но преимущественно белки мышц. За сутки в организме человека распадается на аминокислоты около 400 г белков, примерно такое же количество синтезируется. Поэтому тканевые белки не могут восполнять затраты аминокислот при их катаболизме и использовании на синтез других веществ. Период полураспада белков различен – от нескольких минут до нескольких суток. Первичными источниками аминокислот не могут служить и углеводы, так как из них синтезируется только углеродная часть молекулы, а аминогруппа поступает от других аминокислот. Следовательно, основным источником аминокислот организма служат белки пищи.

Показателем, отражающим интенсивность аминокислотного обмена, является **азотистый баланс** – разница между количеством азота, поступающего с пищей, и количеством выделяемого азота (преимущественно в виде мочевины и аммонийных солей).

**Положительный азотистый баланс** – количество азотистых соединений, поступающих извне, превышает количество выделяемого азота, что сопровождается повышением обменного пула белков в организме. Положительный азотистый баланс характерен для детей, беременных, атлетов, выздоравливающих пациентов.

**Отрицательный азотистый баланс** – количество азотистых соединений, выделяемых из организма, превышает количество азота, поступающего в организм. Это состояние характеризуется снижением обменного пула белков в организме. Отрицательный азотистый баланс встречается при старении, голодании, тяжелых заболеваниях.

**Азотистое равновесие** характерно для взрослых здоровых людей при сбалансированном питании.

## Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте

Переваривание белков начинается в **желудке** под действием ферментов желудочного сока (Рис. 5.2). За сутки его выделяется до 2,5 л, и он отличается от других пищеварительных соков кислой реакцией, благодаря присутствию свободной соляной кислоты, секретлируемой обкладочными клетками слизистой желудка.

*Обкладочные (париентальные) клетки* желудка секретируют соляную кислоту. Этот процесс осуществляется ферментом  $H^+$ -АТФ-азой с затратой энергии АТФ.

Роль соляной кислоты:

- денатурирует белки;
- стерилизует пищу;
- вызывает набухание труднорастворимых белков;
- активирует пепсиноген;
- создает рН-оптимум для действия пепсина;
- способствует всасыванию железа;
- вызывает секрецию секретина в двенадцатиперстной кишке.

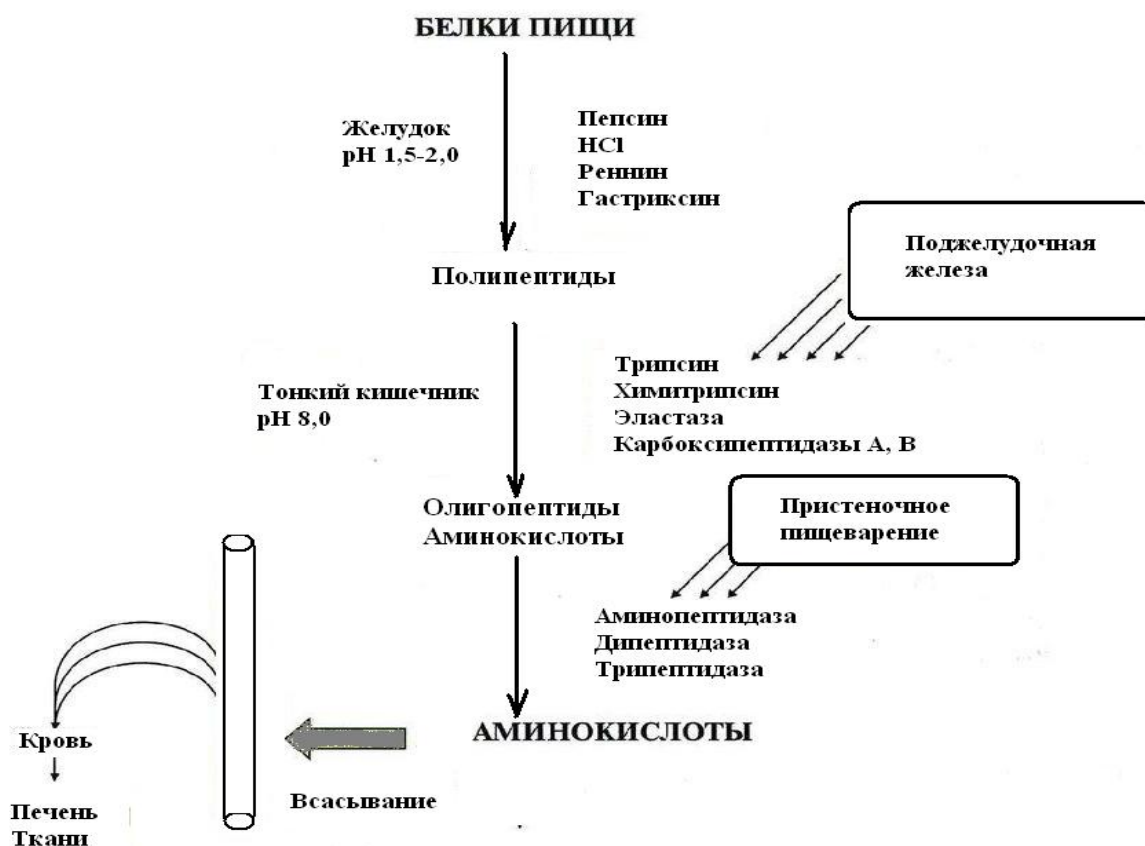
В желудочном соке содержатся протеолитические ферменты пепсин, гастрин и реннин.

**Пепсин** вырабатывается *главными клетками слизистой желудка* в виде профермента пепсиногена. Активация его осуществляется соляной кислотой (медленная) и аутокаталитически пепсином (быстрая) путем отщепления фрагмента полипептидной цепи с N-конца (частичный протеолиз). При этом происходит изменение конформации молекулы и формирование активного центра. Пепсин действует при значениях рН 1,5-2,5 и является эндопептидазой с относительной специфичностью действия, расщепляющей пептидные связи внутри белковой молекулы.

Помимо пепсина, в желудочном соке содержится фермент **гастрин**, проявляющий протеолитическую активность при рН 3,0-4,0. По-видимому, именно он начинает переваривание белков.

В желудочном соке грудных детей содержится фермент **реннин**, который имеет большое значение для переваривания белков у грудных детей, т. к. катализирует створаживание молока (превращение растворимого казеиногена в нерастворимый казеин), в результате чего замедляется продвижение нерастворимого

казеина в двенадцатиперстную кишку и он дольше подвергается действию протеаз.



*Рисунок 5.2. – Общая схема переваривания белков в ЖКТ*

Образовавшиеся в результате действия пепсина в желудке полипептиды поступают **в двенадцатиперстную кишку**, куда выделяется сок поджелудочной железы. Панкреатический сок имеет щелочную реакцию (рН 7,5-8,2), что обусловлено высоким содержанием бикарбонатов. Кислое содержимое, поступающее из желудка, нейтрализуется, и пепсин теряет свою активность.

В панкреатическом соке содержатся протеолитические ферменты **трипсин, химотрипсин, карбоксипептидаза** и **эластаза**, которые вырабатываются также в виде проферментов. Трипсиноген активируется энтерокиназой (вырабатывается клетками слизистой двенадцатиперстной кишки), переходит в активный трипсин, который активирует все остальные ферменты поджелудочного и кишечного сока. Клетки поджелудочной железы защищены от действия протеаз тем, что ферменты желудочного сока образуются в виде неактивных предшественников, а в панкреас синтезируется особый белок-ингибитор трипсина. В полости

ЖКТ протеазы не контактируют с белками клеток, поскольку слизистая оболочка покрыта слоем слизи, а каждая клетка содержит на наружной поверхности плазматической мембраны полисахариды, которые не расщепляются протеазами. Разрушение клеточных белков ферментами желудочного или кишечного сока происходит при язвенной болезни.

Последний этап переваривания белков – **пристеночное переваривание небольших пептидов** происходит под действием **амино-, ди-, и трипептидаз**, которые синтезируются клетками тонкого кишечника в активной форме.

### **Всасывание аминокислот**

Свободные аминокислоты, образовавшиеся при переваривании белков, быстро всасываются стенкой кишечника и попадают в кровь. **Три- и дипептиды** поглощаются энтероцитами, где внутриклеточные пептидазы гидролизуют их до аминокислот, которые затем поступают в кровь.

Максимальная концентрация аминокислот в крови достигается через 30-50 мин после приема белковой пищи. Перенос через щеточную кайму осуществляется целым рядом переносчиков, многие из которых действуют при участии  $\text{Na}^+$ -зависимых механизмов симпорта. Причем аминокислоты конкурируют друг с другом за специфические участки связывания.

Обнаружено **5 специфических транспортных систем для аминокислот**, каждая из которых переносит близкие по строению аминокислоты:

- I. нейтральных аминокислот с короткой боковой цепью (аланин, серин, треонин);
- II. нейтральных, с длинной или разветвленной боковой цепью (валин, лейцин, изолейцин);
- III. с катионными радикалами (лизин, аргинин);
- IV. с анионными радикалами (глутамат, аспартат);
- V. иминокислот (пролин, оксипролин).

Всосавшиеся аминокислоты попадают в порталный кровоток и, следовательно, в печень, а затем в общий кровоток. Освобождается кровь от свободных аминокислот очень быстро – уже через 5 мин 85-100% их оказывается в тканях. Особенно интен-

сивно аминокислоты поглощаются печенью и почками.

Транспорт аминокислот в клетки кишечника, мозга, почек, осуществляется особой системой, получивший название  **$\gamma$ -глутамильного цикла Майстера**, ключевыми компонентами которого является трипептид глутатион ( $\gamma$ -глутамилцистеинилглицин) и фермент  **$\gamma$ -глутамилтрансфераза**. Этот фермент катализирует перенос  $\gamma$ -глутамильной группы от глутатиона на транспортируемую аминокислоту с последующим комплексом в клетку. В клетке происходит распад комплекса на аминокислоту и оксопролин. Последующие реакции направлены на восстановление глутатиона и повторение транспортного цикла.

### **Наследственные нарушения транспорта аминокислот**

**Болезнь Хартнупа** – нарушение всасывания триптофана в кишечнике и его реабсорбции в почечных канальцах. Так как триптофан служит исходным продуктом для синтеза витамина РР, то основные проявления болезни Хартнупа – дерматиты, диарея и деменция, – характерные для пеллагры.

**Цистинурия** – нарушение реабсорбции цистина в почках. Цистин плохо растворим в воде, поэтому выпадает в виде кристаллов, которые приводят к образованию цистиновых камней в почках и мочевыводящих путях.

### **Расщепление белков в тканях**

Осуществляется с помощью протеолитических лизосомальных ферментов **катепсинов**. По строению активного центра выделяют цистеиновые, сериновые, карбоксильные и металлопротеиновые катепсины. Роль катепсинов:

- создание биологически активных пептидов путем ограниченного протеолиза белковых предшественников;
- разрушение состарившихся и аномальных белков;
- участие в фагоцитозе и делении клеток;
- участие в аутолизе (при ишемии);
- участие в патогенезе заболеваний, связанных с изменением функций лизосом (лизосомальные болезни накопления).

Кроме процессов протеолиза в лизосомах возможен процесс разрушения эндогенных белков непосредственно в цитозоле. При



этом происходит соединение подлежащих гидролизу белков со специальным белком убиквитином. Происходит ковалентная модификация белка, что может изменять его функцию. К одной молекуле может быть присоединено несколько молекул убиквитина и это служит сигналом для переноса белка-мишени на большую высокомолекулярную частицу протеасому, состоящую из протеаз.

## **Превращение аминокислот микрофлорой кишечника**

Микроорганизмы кишечника располагают набором ферментативных систем, отличных от соответствующих ферментов тканей организма человека и катализирующих самые разнообразные превращения пищевых аминокислот и не переваренных белков, в том числе и по несвойственным человеку метаболическим путям (гнилостный распад). В результате их действия образуются два типа веществ:

1. **нетоксические продукты:** кетокислоты, оксикислоты, жирные кислоты, спирты.
2. **токсические продукты:**
  - из ароматических аминокислот - *фенол, крезол, индол, скатол*;
  - из серосодержащих аминокислот - *сероводород, амины, меркаптан*.

В дальнейшем токсические продукты катаболизма аминокислот обезвреживаются в печени в реакциях конъюгации. В этих реакциях токсические вещества соединяются с *серной кислотой* (реакция с *3-фосфоаденозин-5-фосфосульфатом; ФАФС*), либо с *глюкуроновой кислотой* (реакция с *УДФ-глюкуронатом*). В результате образуются нетоксические водорастворимые вещества, которые выделяются через кишечник или почками.

При кишечных инфекциях (дизентерия, брюшной тиф, холера) образуется во много раз большее количество продуктов гнилостного распада аминокислот, которые вызывают общую интоксикацию организма, нарушение проницаемости мембран слизистой оболочки кишечника, приводящее к поносам, обезвоживанию тканей и повышению температуры тела. Кроме того, возрастает активность декарбоксилаз патогенных бактерий, в результате образуются амины, создающие картину инфекционного заболевания.

## Пути обмена аминокислот в тканях

Аминокислоты – это бифункциональные соединения, содержащие аминную и карбоксильную группу. Реакции по этим группам являются общими для различных аминокислот. К ним относят:

по аминной группе – реакции *дезаминирования* и *трансаминирования*;

по карбоксильной группе – реакции *декарбоксилирования*.

Кроме этих общих путей возможны реакции по углеводородному радикалу аминокислот, которые являются специфическими для каждой аминокислоты.

Катаболизм большинства аминокислот начинается с отщепления  $\alpha$ -аминогруппы, которое возможно в реакциях **трансаминирования** и **дезаминирования**.

### Трансаминирование аминокислот

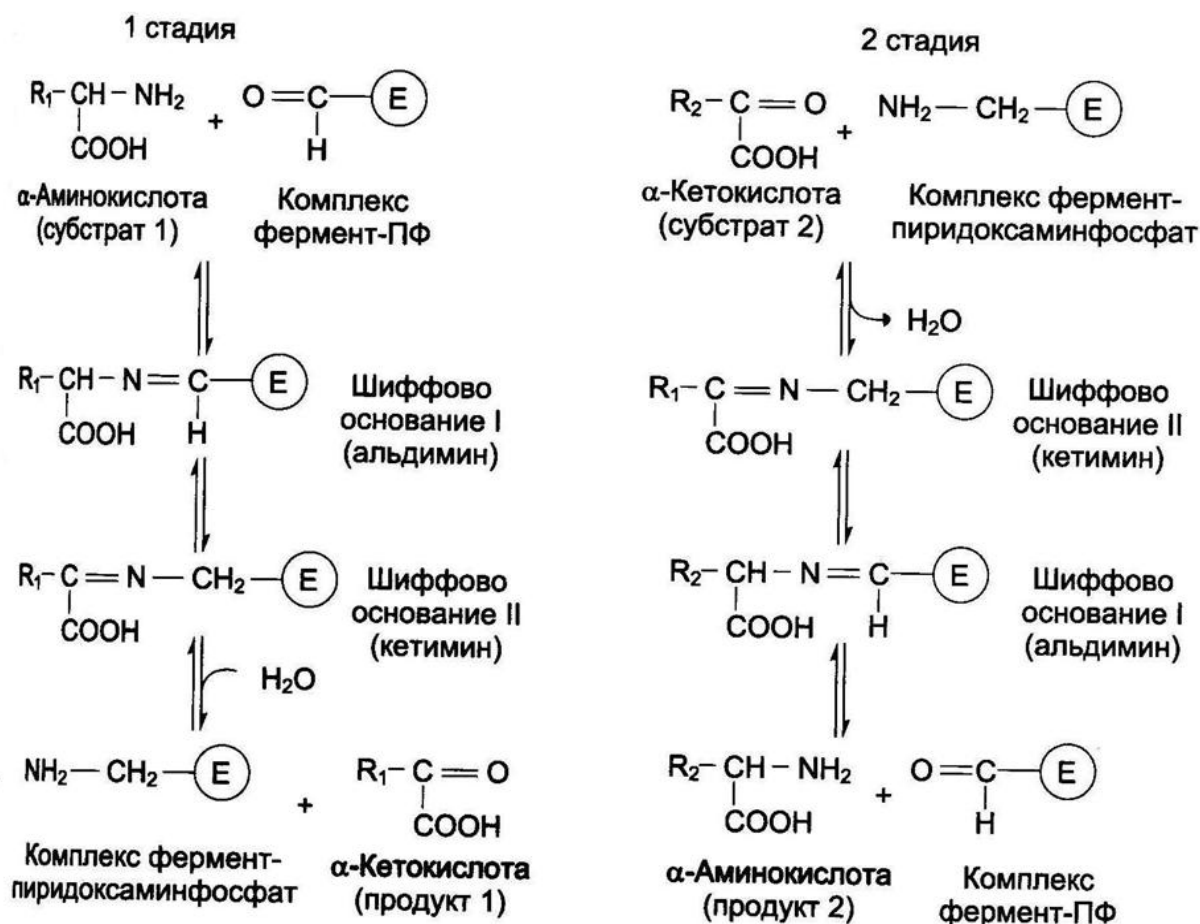
Трансаминирование – реакции переноса  $\alpha$ -аминогруппы с аминокислоты на  $\alpha$ -кетокислоту, в результате чего образуются новая кетокислота и новая аминокислота. Реакции катализируют ферменты **аминотрансферазы**. Это сложные ферменты, коферментом которых является производное **витамина В<sub>6</sub> – пиридоксальфосфат**, который обратимо может переходить в пиридоксаминфосфат. Реакции трансаминирования обратимы, и могут проходить как в цитоплазме, так и в митохондриях клеток. В клетках человека найдено более 10 аминотрансфераз, отличающихся по субстратной специфичности. Вступать в реакции трансаминирования могут почти все аминокислоты, за исключением лизина, треонина и пролина.

Реакции трансаминирования протекают в 2 стадии (рисунок 5.3). На первой стадии к пиридоксальфосфату в активном центре фермента присоединяется аминогруппа от первого субстрата – аминокислоты. Образуется комплекс фермент-пиридоксаминфосфат и кетокислота – первый продукт реакции. Этот процесс включает промежуточное образование 2 шиффовых оснований (альдимин и кетимин).

На второй стадии пиридоксаминфосфат соединяется с новой кетокислотой (второй субстрат) и снова через промежуточное образование 2 шиффовых оснований передает аминогруппу на ке-

токислоту. В результате фермент возвращается в свою нативную форму и образуется новая аминокислота – второй продукт реакции.

Чаще всего в реакциях трансаминирования участвуют аминокислоты, содержание которых в тканях значительно выше остальных – глутамат, аланин, аспартат. Наиболее распространенными в большинстве тканей являются **аланинаминотрансфераза (АлАТ)** и **аспартатаминотрансфераза (АсАТ)**.



**Рисунок 5.3. – Механизм реакции трансаминирования**

Наибольшая активность АсАТ обнаруживается в клетках сердечной мышцы и печени, в то время как в крови обнаруживается только фоновая активность АлАТ и АсАТ. Поэтому можно говорить об органоспецифичности этих ферментов, что позволяет широко применять их с диагностической целью (при инфарктах миокарда и гепатитах).

**Биологическое значение трансаминирования.** Трансаминирование – первая стадия дезаминирования большинства ами-

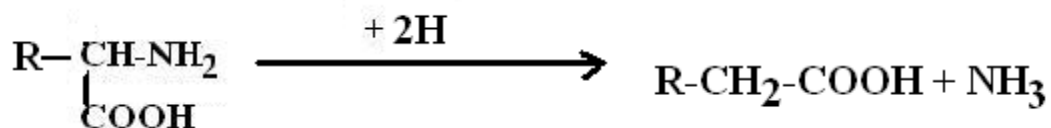
нокислот, т. е. начальный этап их катаболизма. Образующиеся при этом кетокислоты окисляются в ЦТК или используются для синтеза глюкозы и кетоновых тел. Поскольку этот процесс обратим, ферменты аминотрансферазы функционируют как в процессах катаболизма, так и биосинтеза аминокислот. Трансаминирование – заключительный этап синтеза заменимых аминокислот из соответствующих кетокислот, если они необходимы в данный момент клеткам. В результате происходит перераспределение аминного азота в тканях. При трансаминировании общее количество аминокислот в клетке не меняется.

### Дезаминирование аминокислот

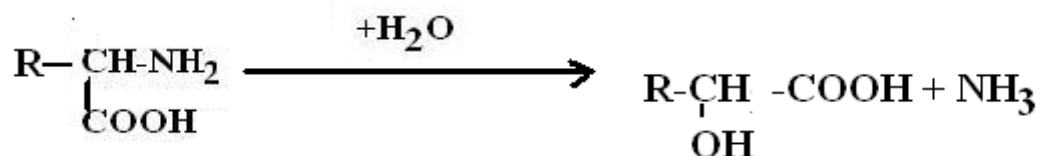
Дезаминирование аминокислот – реакция отщепления  $\alpha$ -аминогруппы от аминокислоты с выделением аммиака. Различают два типа реакций дезаминирования: **прямое** и **непрямое**.

**Прямое дезаминирование** – непосредственное отщепление аминогруппы от аминокислоты без промежуточных посредников. В живой природе возможны 4 типа прямого дезаминирования:

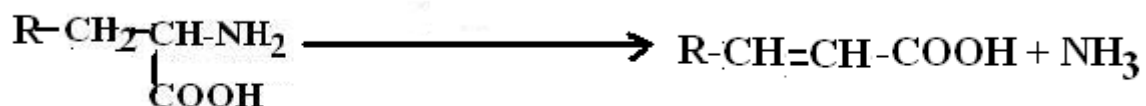
#### 1. Восстановительное дезаминирование



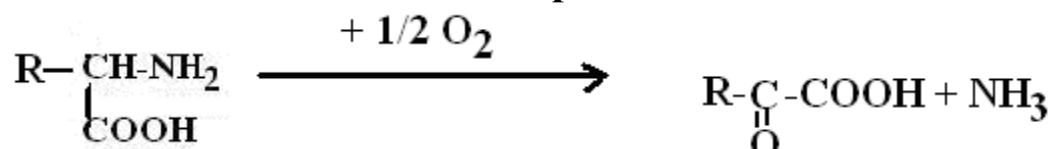
#### 2. Гидролитическое дезаминирование



#### 3. Внутримолекулярное дезаминирование



#### 4. Окислительное дезаминирование



У человека дезаминирование происходит преимущественно окислительным путем, в результате чего образуется соответствующая  $\alpha$ -кетокислота и выделяется аммиак. Процесс идет с уча-

ствием ферментов оксидаз. Выделены оксидазы L-аминокислот, превращающие L-изомеры аминокислот, и оксидазы D-аминокислот.

**Оксидазы D-аминокислот.** При физиологических значениях рН в тканях высоко активны оксидазы D-аминокислот. Они также обнаружены в почках и печени и находятся в микросомах. Роль оксидаз D-аминокислот невелика и до конца не понятна, потому что в белки пищи и тканей человека входят только природные L-аминокислоты.

В печени человека присутствуют специфические ферменты, катализирующие реакции дезаминирования **серина, треонина, цистеина и гистидина** неокислительным путем.

### **Окислительное дезаминирование глутамата**

Наиболее активно в тканях происходит дезаминирование глутаминовой кислоты. Реакцию катализирует фермент **глутаматдегидрогеназа**, который несколько отличается от типичных оксидаз L-аминокислот:

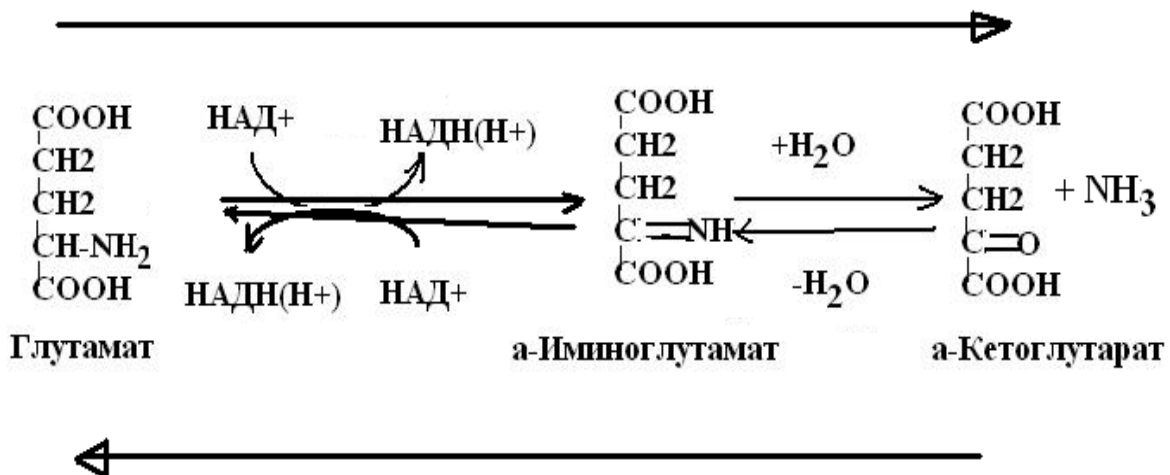
- в качестве кофермента содержит НАД<sup>+</sup> или НАДФ<sup>+</sup>;
- обладает абсолютной специфичностью;
- высокоактивен;
- локализован в митохондриях.

Реакция идет в 2 этапа. Вначале происходит дегидрирование глутамата и образование  $\alpha$ -иминоглутарата, затем – неферментативное гидролитическое отщепление иминогруппы в виде аммиака, в результате чего образуется  $\alpha$ -кетоглутарат.

### **Восстановительное аминирование**

Глутаматдегидрогеназная реакция – обратима. При повышении концентрации аммиака она протекает в обратном направлении со связыванием аммиака  $\alpha$ -кетоглутаратом. Глутаматдегидрогеназа очень активна в митохондриях клеток практически всех органов, кроме мышц. Она является регуляторным ферментом аминокислотного обмена. Аллостерические ингибиторы – АДФ, ГДФ, НАД(Ф)Н. Высокие концентрации АДФ активируют фермент. Таким образом, низкий энергетический уровень в клетке стимулирует разрушение аминокислот и образование  $\alpha$ -кетоглутарата, поступающего в ЦТК как энергетический субстрат.

## ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ

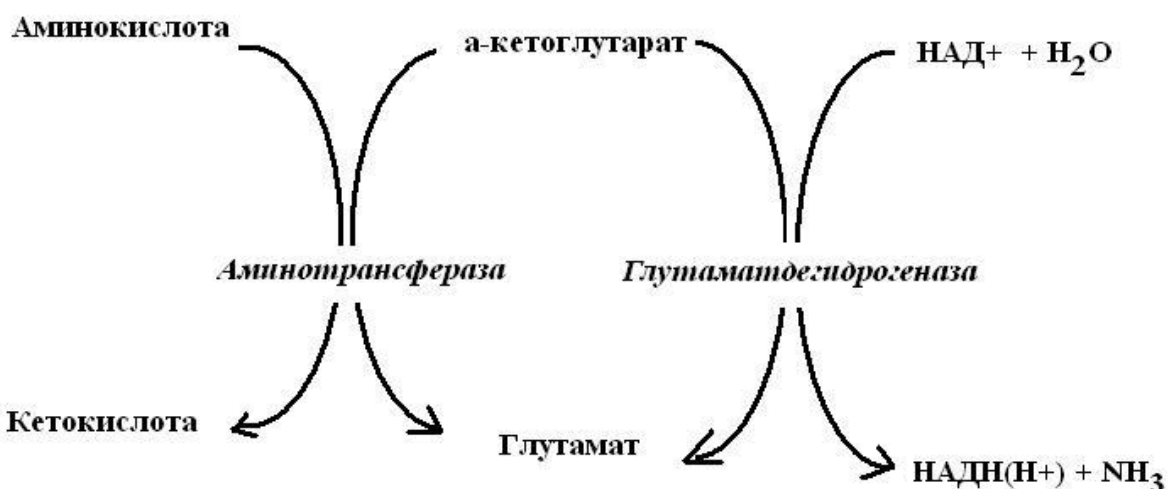


## ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЕ АМИНИРОВАНИЕ

Глутаматдегидрогеназа может индуцироваться стероидными гормонами (кортизолом) и ингибироваться эстрогенами и тироксинами.

### Непрямое дезаминирование аминокислот (транздезаминирование)

Большинство аминокислот не способны дезаминироваться в одну стадию, подобно глутамату. Аминогруппы таких аминокислот переносятся на α-кетоглутарат с образованием глутаминовой кислоты, которая затем подвергается прямому окислительному дезаминированию.



Такой механизм дезаминирования аминокислот в 2 стадии получил название **транздезаминирования** или **непрямого деза-**

**минирования.** Он происходит с участием 2 ферментов: **аминотрансферазы** и **глутаматдегидрогеназы**.

Значение этих реакций в обмене аминокислот очень велико, так как не прямое дезаминирование – основной способ дезаминирования большинства аминокислот. Обе стадии непрямого дезаминирования обратимы, что обеспечивает как катаболизм аминокислот, так и возможность образования практически любой аминокислоты из соответствующей  $\alpha$ -кетокислоты.

**Трансреаминирования** - обращение реакций, катализируемых аминотрансферазами и глутаматдегидрогеназой. Основная роль трансреаминирования – обезвреживание аммиака и синтез заменимых аминокислот из соответствующих кетокислот.

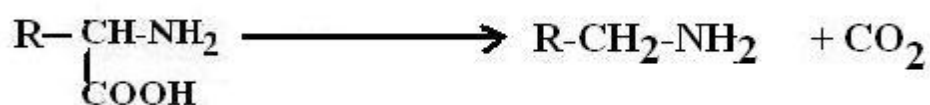
В мышечной ткани активность глутаматдегидрогеназы низка, поэтому в этих клетках при интенсивной физической нагрузке функционирует еще один путь непрямого дезаминирования с участием цикла ИМФ-АМФ (инозинмонофосфат – аденозинмонофосфат). Образующийся при этом аммиак предотвращает закисление среды в клетках, вызванное образованием лактата.

### **Декарбоксилирование аминокислот**

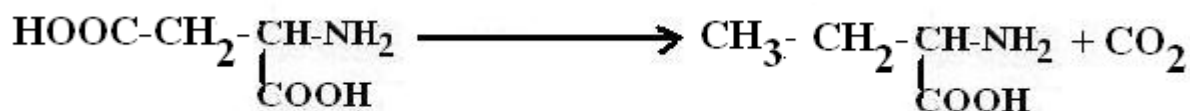
Некоторые аминокислоты и их производные могут подвергаться декарбоксилированию. Реакции декарбоксилирования необратимы и катализируются ферментами **декарбоксилазами**, нуждающимися в **пиридоксальфосфате** в качестве кофермента. Продуктами реакции являются  $\text{CO}_2$  и амины, которые оказывают выраженное биологическое действие на организм, и поэтому названы биогенными аминами. Они выполняют функцию нейромедиаторов (серотонин, дофамин, ГАМК и др.), гормонов (норадреналин, адреналин), регуляторных факторов местного действия (гистамин, карнозин, спермин и др.).

Известны 4 типа декарбоксилирования:

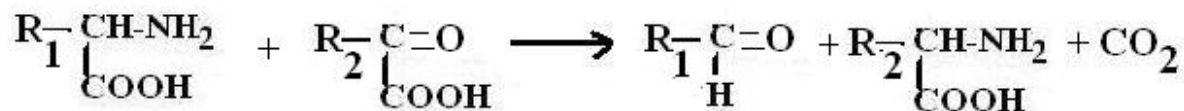
#### **1. Альфа-декарбоксилирование.**



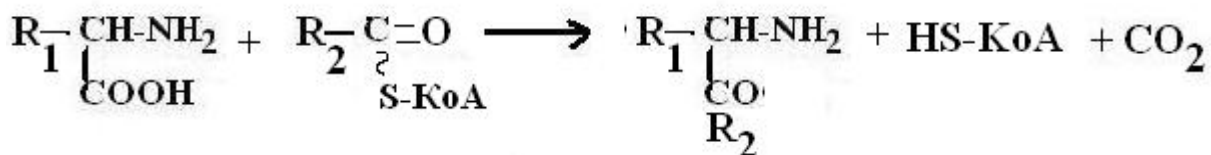
#### **2. Омега-декарбоксилирование.**



### 3. Декарбоксилирование, связанное с трансаминированием.



### 4. Декарбоксилирование, связанное с конденсацией двух молекул.



## Биогенные амины

**Гистамин** образуется при декарбоксилировании гистидина в тучных клетках соединительной ткани. В организме человека гистамин выполняет следующие функции:

- стимулирует секрецию желудочного сока и слюны;
- повышает проницаемость капилляров, вызывает отеки, снижает АД, но увеличивает внутричерепное давление, вызывая головную боль;
- вызывает сокращение гладкой мускулатуры легких;
- участвует в формировании воспалительных реакций – расширение сосудов, покраснение, отечность ткани;
- вызывает аллергическую реакцию;
- нейромедиатор;
- медиатор боли.

**Серотонин** – образуется при декарбоксилировании и дальнейшем окислении триптофана.

Биологические функции:

- оказывает мощное сосудосуживающее действие;
- повышает кровяное давление;
- участвует в регуляции температуры тела, дыхания;



– медиатор нервных процессов в ЦНС (обладает антидепрессантным действием).

**Дофамин** образуется при декарбоксилировании диоксифенилаланина (ДОФА). При дальнейшем окислении и метилировании образуются **адреналин** и **норадреналин**. Дофамин является нейромедиатором, контролирующим произвольные движения, эмоции и память. В высоких концентрациях дофамин:

- стимулирует адренорецепторы;
- увеличивает силу сердечных сокращений;
- повышает сопротивление периферических сосудов (с параллельным увеличением почечного и коронарного кровотока);
- тормозит секрецию пролактина и соматотропина.

**γ-Аминомасляная кислота (ГАМК)** образуется в нервных клетках при декарбоксилировании глутамата. ГАМК — основной тормозной нейромедиатором высших отделов головного мозга, и ее содержание в десятки раз выше других нейромедиаторов. Она увеличивает проницаемость постсинаптических мембран для ионов  $Cl^-$ , что вызывает торможение нервного импульса. ГАМК в небольшом количестве синтезируется в других тканях вне центральной нервной системы.

При декарбоксилировании орнитина образуется **путресцин**, который является предшественником биологически активных веществ **спермина** и **спермидина**. Путресцин, спермин и спермидин имеют большой положительный заряд, легко связываются с отрицательно заряженными молекулами ДНК и РНК, входят в состав хроматина и участвуют в репликации РНК. Кроме того эти вещества стабилизируют структуру мембран клеток.

**Этаноламин** образуется при декарбоксилировании **серина**. В организме используется для синтеза холина, ацетилхолина, фосфатидилэтаноламинов, фосфатидилхолинов.

При декарбоксилировании **лизина** образуется **кадаверин**, который является трупным ядом.

#### **Механизмы инактивации биогенных аминов:**

1. **окисление ферментами моноаминооксидазами (МАО)** (кофермент ФАД); таким путем чаще всего инактивируются дофамин, норадреналин, серотонин и ГАМК. При этом образуются альдегиды, а затем соответствующие кислоты, которые выводятся почками;

2. метилирование с участием S-аденозилметионина; таким путем чаще всего инактивируются катехоламины – фермент *катехол-орто-метилтрансфераза (КОМТ)*;
3. окисление с помощью диаминооксидаз – инактивация гистамина, а также короткоцепочечных алифатических диаминов (путресцина и кадаверина).

### Пути катаболизма углеродного скелета аминокислот

В состав белков входят 20 аминокислот, углеродный скелет которых распадается по своим специфическим метаболическим путям. Все аминокислоты условно разделяются на **три группы** по образованию веществ, вступающих в общий путь катаболизма..

**Гликогенные аминокислоты** превращаются в промежуточные продукты ЦТК (*α-кетоглутарат, сукцинил-КоА, фумарат, оксалоацетат, пируват*). Оксалоацетат используется в процессе глюконеогенеза (синтеза глюкозы из неуглеводных источников), что и дало название группе. К гликогенным аминокислотам относятся: **аланин, аргинин, аспарат, глутамат, глицин, гистидин, метионин, пролин, серин, треонин, валин и цистеин**.

**Кетогенные аминокислоты** – **лейцин и лизин**, чей углеродный скелет превращается непосредственно в ацетоацетат или в ацетил-КоА.

**Смешанная группа** – **тирозин, фенилаланин, изолейцин и триптофан**. Эти аминокислоты могут быть одновременно и **гликогенными, и кетогенными**, поскольку часть углеродных атомов их молекул образует пируват, другая часть включается в ацетил-КоА, минуя стадию пирувата.

## ГЛАВА 6

### ОБРАЗОВАНИЕ И ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ АММИАКА В ОРГАНИЗМЕ

В состоянии азотистого равновесия организм взрослого человека потребляет и выделяет около 15 г азота за сутки. Из экскретируемого с мочой азота на долю мочевины приходится 85%, креатинина – 5%, аммонийных солей – 3%, мочевой кислоты – 10%, другие формы – 3-6%. В образовании мочевины и аммонийных солей главную роль играет аммиак.

#### **Основные источники аммиака:**

- 1) трансдезаминирование аминокислот;
- 2) дезаминирование биогенных аминов;
- 3) распад пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований;
- 4) окислительное дезаминирование аминокислот (преимущественно глутамата);
- 5) дезамидирование глутамина и аспарагина;
- 6) поступление аммиака из кишечника в портальную вену (образуется при гниении белков в кишечнике).

Аммиак является высокотоксичным соединением. Он легко всасывается из кишечника в портальную венозную кровь, где его уровень намного выше, чем в общем кровотоке. В норме печень быстро захватывает аммиак из портальной крови, поэтому кровь, покидающая печень, практически свободна от аммиака. Именно поэтому в организме есть системы обезвреживания аммиака, в результате функционирования которых в крови поддерживается его низкая концентрация (*около 0,05 ммоль/л*).

Условно выделяют **местные (тканевые)**, в результате которых происходит временное связывание аммиака, и **общие пути (конечное обезвреживание)** обезвреживания аммиака, благодаря которым он выводится из организма.

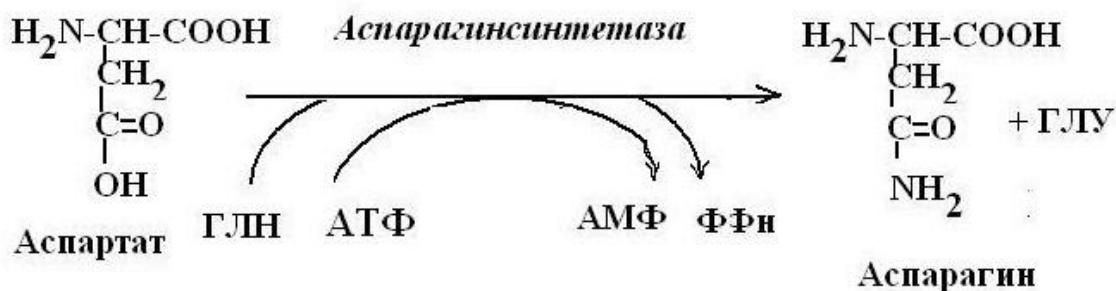
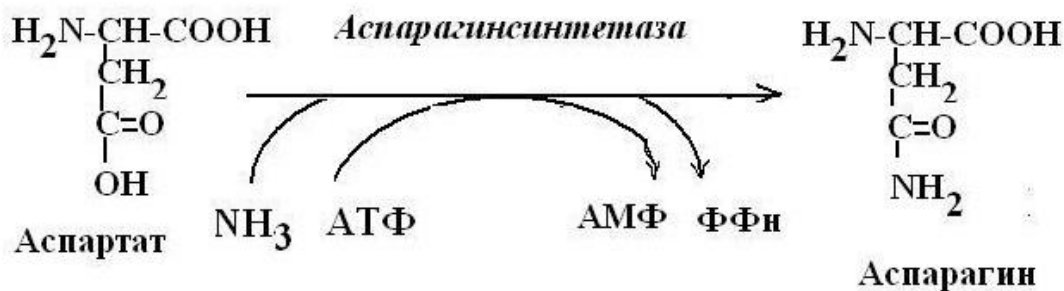
#### **Тканевое обезвреживание аммиака**

Осуществляется в тканях (головной мозг, сетчатка, мышцы, печень, почки и др.) по следующим путям:

1. Синтез глутамина из глутаминовой кислоты под действием *глутаминсинтетазы*:



2. Синтез аспарагина из аспарагиновой кислоты (фермент – *аспарагинсинтетаза*).



Существуют 2 варианта аспарагинсинтетазной реакции, в которых могут использоваться непосредственно аммиак, или глутамин, как источник аминогруппы для аспарагина. Эта реакция является энергетически невыгодной, так как АТФ в ней распадается до АМФ и пиррофосфата:

**3. Восстановительное аминирование  $\alpha$ -кетоглутарата** под действием *глутаматдегидрогеназы*. В мышечной ткани этот процесс приводит к образованию еще одной транспортной формы аммиака. При интенсивной мышечной работе выделяющийся аммиак связывается с  $\alpha$ -кетоглутаратом под действием глутаматдегидрогеназы. Образуется глутамат, который вступает в переаминирование с пируватом (образующимся при гликолизе). Синтезируется аланин, который является транспортной формой аммиака, доставляемой кровью в печень, где он вступает в переаминирование с  $\alpha$ -кетоглутаратом, в результате чего получают пируват и глутамат. Глутаминовая кислота через аспартат (переаминирование со ЩУК) включает свою  $\text{NH}_2$ -группу в мочевины. Пируват используется в глюконеогенезе для синтеза глюкозы, которая затем транспортируется в мышцы. Этот механизм имеет важное значение для выведения аммиака из мышечной ткани и получил название *глюкозо-аланинового цикла*.

### **Общее (конечное) обезвреживание аммиака**

#### **1. Образование и выведение аммонийных солей. Роль глутаминазы**

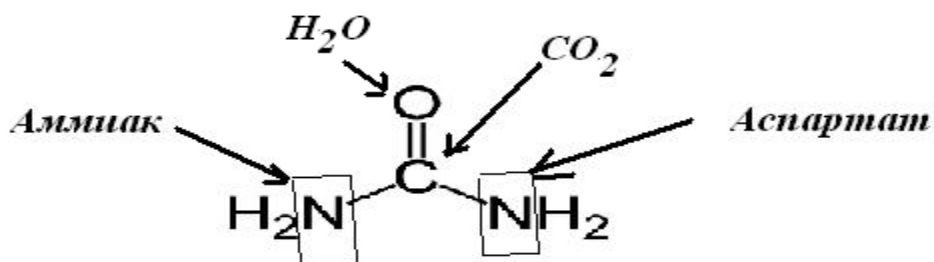
В почках под действием *глутаминазы* происходит гидролиз глутамина с образованием аммиака. Этот процесс является одним из механизмов регуляции кислотно-основного равновесия в организме и сохранения важнейших катионов для поддержания осмотического давления. Глутаминаза почек значительно индуцируется при ацидозе, образующийся аммиак нейтрализует кислые продукты обмена и в виде аммонийных солей экскретируется с мочой. Эта реакция защищает организм от излишней потери ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , которые также могут использоваться для выведения анионов и утрачиваться. При алкалозе активность глутаминазы в почках ингибируется.

#### **2. Синтез мочевины**

Мочевина – основной конечный продукт азотистого обмена, с помощью которой из организма выделяется до 90% азота. Печень – единственный орган, клетки которого содержат все ферменты синтеза мочевины и, следовательно, является единственным органом, где происходит ее образование. В 30-х годах XX века немецкие ученые – биохимики Г. Кребс и К. Гензелейт уста-

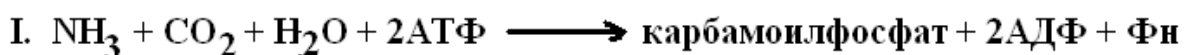
новили, что синтез мочевины представляет собой циклический процесс, состоящий из нескольких стадий, ключевым соединением которого является орнитин. Поэтому процесс синтеза мочевины получил название **орнитиновый цикл**, или **цикл Кребса-Гензелейта**.

Мочевина (карбамид) – полный амид угольной кислоты – содержит 2 атома азота, источником которых является аммиак и аминогруппа аспартата.



Синтез мочевины состоит из 5 реакций, 2 из которых происходят в митохондриях, а остальные 3 – в цитозоле клетки.

#### Митохондриальные реакции:



*Карбамоилфосфат синтетаза I*  
*Mg<sup>2+</sup>*



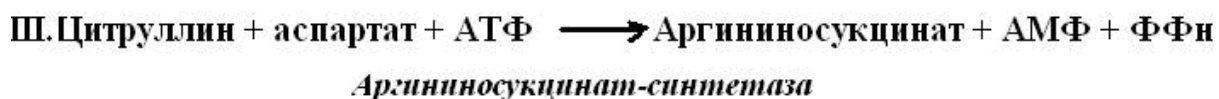
*Орнитин-карбамоилтрансфераза*

В реакции I аммиак связывается с CO<sub>2</sub> с образованием макроэргического соединения – **карбамоилфосфата**, под действием **карбамоилфосфатсинтетазы I**.

В реакции II карбамоилфосфат взаимодействует с **орнитином** при участии **орнитин-карбамоилтрансферазы** с образованием **цитруллина**. Далее цитруллин транспортируется из митохондрии в цитозоль.

#### Цитоплазматические реакции:

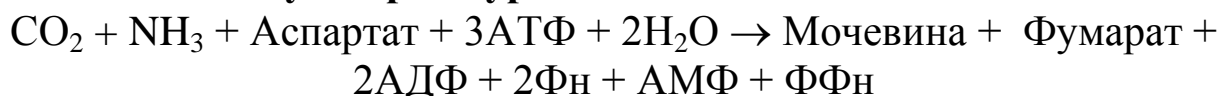
В реакции III цитруллин вступает в конденсацию с **аспарагиновой кислотой** с затратой АТФ, которая распадается до АДФ и пирофосфата. Образуется **аргининоянтарная кислота (аргининосукцинат)**. Реакция катализируется **аргининосукцинатсинтетазой**.



В реакции IV аргининосукцинат расщепляется *аргининосукцинатлиазой* на **аргинин** и **фумарат**. Фумарат является промежуточным продуктом ЦТК и превращается в цикле Кребса.

В реакции V происходит гидролитическое расщепление аргинина на **орнитин** и **мочевину** посредством *аргиназы*. Мочевина простой диффузией выходит из клеток в кровь и выделяется с мочой. Орнитин возвращается в митохондрию, где взаимодействует с новой молекулой карбамоилфосфата, и цикл замыкается.

#### Суммарное уравнение синтеза мочевины:



### Регуляция синтеза мочевины

**1. Быстрая регуляция** происходит на уровне *карбамоилфосфатсинтетазы I*. Этот фермент аллостерически регулируется **N-ацетилглутаминовой кислотой**, которая синтезируется внутри митохондрий из **глутамата** и **ацетил-КоА**.

**2. Долговременная регуляция** зависит от синтеза новых ферментов. Индукция синтеза определяется уровнем пищевого белка. Повышение поступления белков с пищей повышает синтез всех ферментов орнитинового цикла.

### Нарушения синтеза и выведения мочевины

**Гипераммониемия** – повышение концентрации аммиака в крови (в норме – до 60 мкмоль/л). Интоксикация аммиаком лежит в основе развития печеночной комы. Одной из главных причин токсичности  $\text{NH}_3$  на молекулярном уровне является его способность восстановительно аминировать  $\alpha$ -кетоглутарат в глутамат.

В результате происходит изъятие  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты из ЦТК. Это может привести к замедлению регенерации оксалоацетата и, как следствие, к накоплению ацетил-КоА, а через него к кетонемии и ацидозу, а также к ослаблению потока протонов и электронов в ЦПЭ и снижению продукции АТФ.

Повышенная концентрация аммиака в организме приводит к активации глутаминсинтетазы. При этом количество глутамата, который является нейромедиатором в ЦНС и предшественником ГАМК, истощается. Если гипераммониемия не поддается лечению, то развиваются тяжелые нарушения психики.

Выделяют **первичную (врожденную) и вторичную (приобретенную) гипераммониемию**. К настоящему времени описаны следующие врожденные дефекты каждого фермента, участвующего в синтезе мочевины (таблица 6.1). Полная потеря активности хотя бы одного из ферментов орнитинового цикла мочевинообразования приводит в летальному исходу.

**Вторичная (приобретенная) гипераммониемия.** При заболеваниях печени (гепатиты) ее функции, в том числе и мочевинообразование снижается, что приводит к накоплению аммиака в организме, так как только в гепатоците присутствует весь набор ферментов для синтеза мочевины. При циррозе печени развиваются коллатерали между портальной веной и нижней полую веной, аммиак попадает в общий кровоток и вызывает интоксикацию, проявляющуюся поражением нервной системы. При усилении катаболических процессов (обширные травмы, опухоли, кахексия) – печень перегружается поступающим аммиаком, который не успевает превратиться в мочевины.

**Азотемия** – повышенное накопление остаточного азота в крови. Остаточный азот крови – азот небелковых азотистых компонентов в сыворотке крови (мочевины, креатинина, креатина, мочевой кислоты, индикана, аминокислот, аммиака). Так как около 50% его составляет азот мочевины, поэтому в клинике исследуют не суммарный остаточный азот, а уровень мочевины. Повышение уровня мочевины в крови называется **уремия**. Уровень мочевины в крови зависит от соотношения процессов ее синтеза и выведения из организма. Выделяют **ретенционную и продукционную азотемию (уремию)**.



Таблица 6.1 – Наследственные нарушения орнитинового цикла и их проявления

Заболевание	Дефектный фермент	Метаболиты	
		Кровь	Моча
Гипераммониемия, тип I	Карбамоилфосфат-синтетаза I	Глутамин, аланин, NH <sub>3</sub>	Оротат
Гипераммониемия, тип II	Орнитинкарбамоил-трансфераза	Глутамин, аланин, NH <sub>3</sub>	Оротат
Цитруллинемия	Аргининосукцинат-синтаза	Цитруллин, аммиак	Цитруллин
Аргининосукцинат-ацидурия	Аргининосукцинат-лиаза	Аргинино-сукцинат, NH <sub>3</sub>	Аргинино-сукцинат, Глутамин, аланин
Гипераргининемия	Аргиназа	Аргинин, NH <sub>3</sub>	Аргинин, лизин

**Ретенционная азотемия** наступает в результате недостаточного выделения с мочой азотсодержащих продуктов (в основном мочевины) при их нормальном поступлении в кровяное русло. Ретенционная азотемия, в свою очередь, может быть почечной и внепочечной. При почечной ретенционной азотемии увеличение количества остаточного азота в крови происходит за счет ослабления экскреторной функции почек (острая и хроническая почечная недостаточность). Внепочечная ретенционная азотемия может возникнуть в результате тяжелой недостаточности кровообращения, снижения артериального давления и уменьшения почечного кровотока (при профузных кровотечениях, травматическом шоке, пороках сердца).

**Продукционная азотемия** возникает при избыточном поступлении азотсодержащих веществ в кровь как следствие усиленного распада тканевых белков. Функция почек при этом, как правило, не нарушена.

# ГЛАВА 7

## МЕТАБОЛИЗМ ОТДЕЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ

### Метаболизм метионина

**Метионин** – незаменимая аминокислота. Метильная группа метионина – мобильный одноуглеродный фрагмент, используемый для синтеза ряда соединений. Перенос метильной группы метионина на соответствующий акцептор называют трансметилированием, имеющим важное метаболическое значение. Метильная группа в молекуле метионина прочно связана с атомом серы, поэтому непосредственным донором одноуглеродного фрагмента служит активная форма аминокислоты.

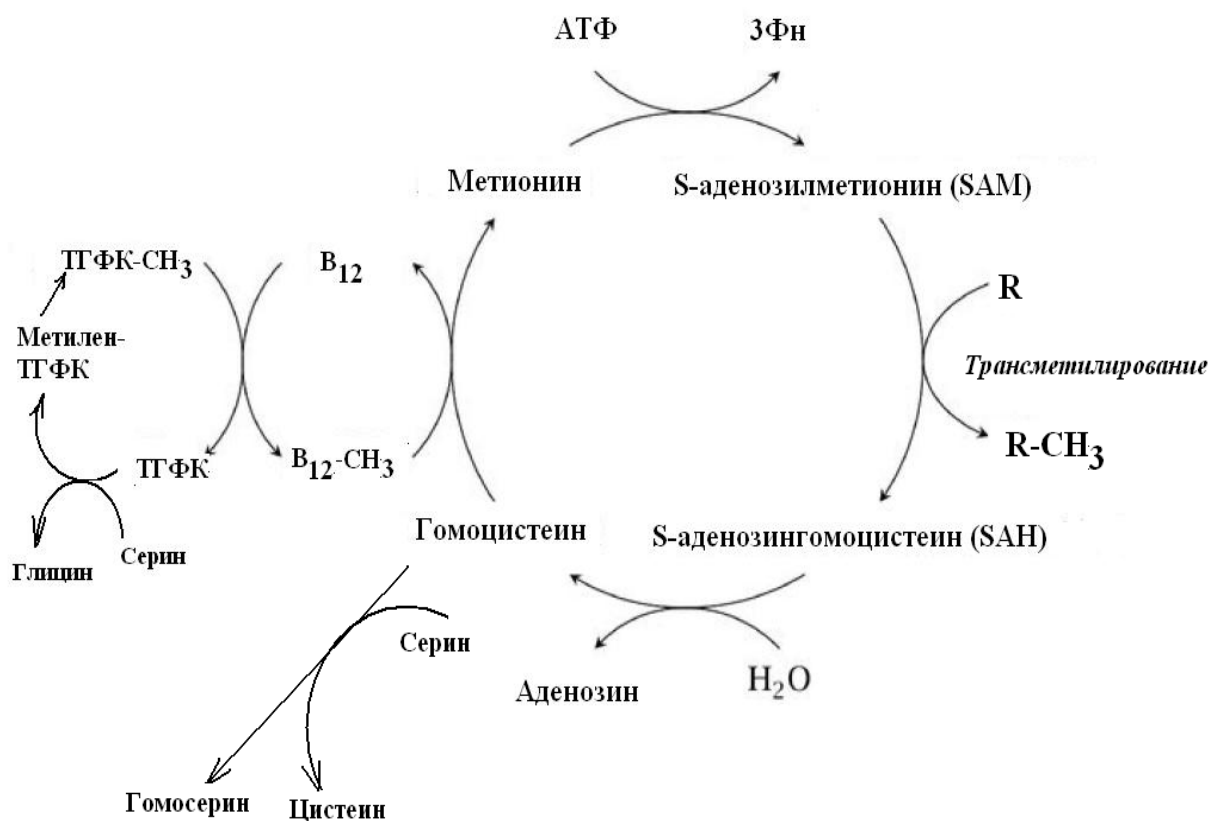
#### Реакция активации метионина

Активной формой метионина является **S-аденозилметионин (SAM)**, образующийся в результате присоединения метионина к молекуле аденозина. Реакцию образования **SAM** из метионина и АТФ катализирует фермент *метионаде-нозинтрансфераза*, присутствующий во всех типах клеток.

**Роль SAM.** Участие в реакциях *трансметилирования*, или переноса CH<sub>3</sub>- группы на субстраты-акцепторы. Реакции трансметилирования катализируют ферментами *метилтрансферазы*, SAM в ходе реакции превращается в **S-аденозилгомоцистеин (SAH)** (Рис. 7.1).

Реакции трансметилирования играют важную роль в организме и протекают очень интенсивно. Они используются для синтеза:

- фосфатидилхолина из фосфатидилэтаноламина;
- ансерина из карнозина
- креатина из гуанидинацетата;
- адреналина из норадреналина;
- метилирования азотистых оснований в нуклеотидах (урацил → тимин);
- инактивации метаболитов (гормонов, медиаторов) и обезвреживания чужеродных соединений.



**Рисунок 7.1. – Метаболизм метионина и некоторых аминокислот**

Все эти реакции вызывают большой расход метионина, так как он является незаменимой аминокислотой. В связи с этим имеет большое значение возможность регенерации метионина. В результате отщепления метильной группы **SAM** превращается в **SAH**, который при действии гидролазы расщепляется на **аденозин** и **гомоцистеин**. **Гомоцистеин** может снова превращаться в **метионин** под действием *гомоцистеинметилтрансферазы*. Донором метильной группы в этом случае служит **5-метилтетрагидрофолиевая кислота (ТГФК-CH<sub>3</sub>)**, которая превращается в **ТГФК**. Промежуточным переносчиком метильной группы в этой реакции служит производное витамина **B<sub>12</sub>** – **метилкобаламин (B<sub>12</sub>-CH<sub>3</sub>)**, выполняющий роль кофермента. Поставщиком одноуглеродных фрагментов для регенерации **ТГФК-CH<sub>3</sub>** служит **серин**, который превращается в **глицин**.

### Синтез креатина

Креатин необходим для образования в мышцах макроэргического соединения **креатинфосфата**. Синтез креатина идет в

2 стадии с использованием 3 аминокислот: **аргинина, глицина и метионина**.

В почках **глицинамидинотрансфераза** катализирует перенос гуанидиновой группы с **аргинина** на **глицин** с образованием **орнитина** и **гуанидинацетата**.

Затем **гуанидинацетат** транспортируется в печень, где происходит реакция его метилирования с образованием **креатина**.

**Креатин** с током крови переносится в мышцы и клетки мозга, где из него под действием **креатинкиназы** образуется **креатинфосфат** – своеобразное депо энергии. Реакция является обратимой; креатинфосфат образуется в условия расслабления мышц. В работающей мышце протекает обратная реакция; **креатинфосфат** служит источником АТФ для мышечного сокращения.

В мышцах и других тканях происходит неферментативное дефосфорилирование **креатинфосфата** на фосфат и **креатинин**. Креатинин выводится с мочой и его суточное выведение, как правило, постоянно и пропорционально общей мышечной массе.

### **Метаболизм фенилаланина и тирозина**

**Фенилаланин** – незаменимая аминокислота, так как в клетках животных не синтезируется ее бензольное кольцо. Метаболизм фенилаланина осуществляется по 2-м путям: включается в белки или превращается в **тирозин** под действием специфической монооксигеназы – **фенилаланингидроксилазы**. Данная реакция необратима и играет важную роль в удалении избытка фенилаланина, так как высокие концентрации его токсичны для клеток.

Обмен **тирозина** значительно сложнее. Кроме использования в синтезе белков, тирозин в разных тканях выступает предшественником таких соединений, как катехоламины, тироксин, меланин и др. В печени и некоторых других тканях происходит катаболизм тирозина до конечных продуктов фумарата и ацетоацетата. Фумарат может окисляться до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  или использоваться для глюконеогенеза. Превращение тирозина в меланоцитах. Он является предшественником меланинов. Синтез меланинов – сложный многоступенчатый процесс, первую реакцию – превращение тирозина в ДОФА – катализирует тирозиназа, использующая в качестве кофактора ионы меди. В щитовидной же-

лезе из тирозина синтезируются гормоны тироксин и трийодтиронин. В мозговом веществе надпочечников и нервной ткани тирозин является предшественником катехоламинов. Промежуточным продуктом их синтеза является ДОФА. В отличие от меланоцитов гидроксилирование тирозина осуществляется под действием тирозингидроксилазы, которая является  $Fe^{2+}$  – зависимым ферментом, и его активность регулирует скорость синтеза катехоламинов.

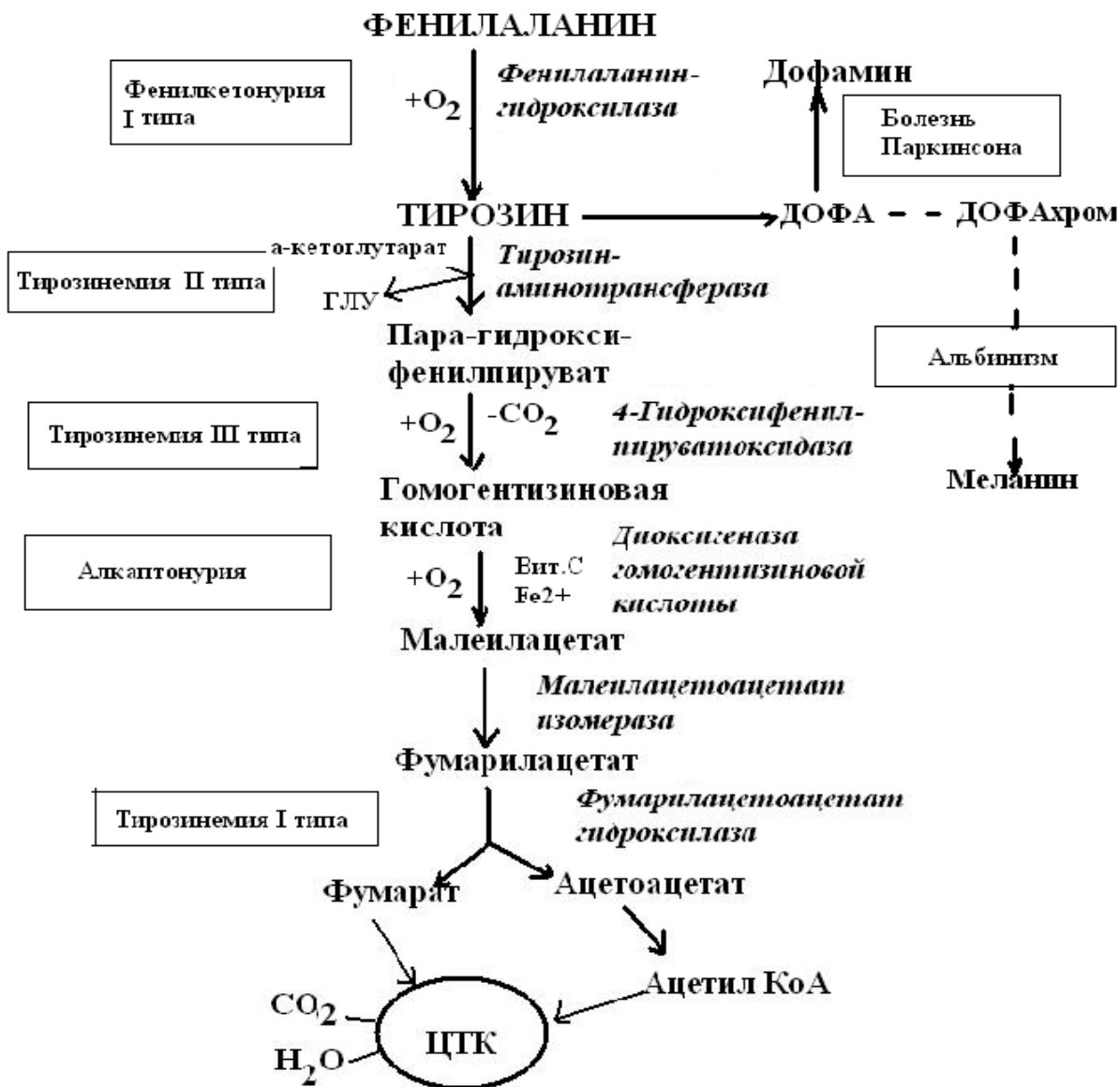
### **Нарушения обмена фенилаланина и тирозина**

Основные заболевания, сопровождаемые нарушениями в обмене фенилаланина и тирозина, показаны на рисунке 7.2.

**Фенилкетонурия I типа** – наследственное заболевание, связанное с мутациями в гене *фенилаланингидроксилазы*. Наиболее тяжелые проявления фенилкетонурии – нарушение умственного и физического развития, судорожный синдром, нарушение пигментации. Эти проявления связаны с токсическим действием на клетку высоких концентраций фенилаланина, и побочных продуктов его обмена - *фенилпирувата, фениллактата, фенилацетилглутамин (фенилкетонов)*. Такое нарушение сопровождается гиперфенилаланинемией и повышением в крови и моче содержания фенилаланина и его метаболитов.

**Тирозинемии** - наследственные нарушения метаболизма тирозина в печени. Известны три типа тирозинемий: **I тип** – дефект фермента *фумарилацетоацетат-гидроксилазы*, из-за которого в крови накапливается токсический **сукцинилацетон**, что приводит к тяжелому поражению печени и почек. **II тип** – возникает вследствие отсутствия фермента *тирозиламинотрансферазы*. Повышается концентрация тирозина, наблюдается гиперкератоз ладоней и подошв. **III тип** – отсутствует фермент *4-гидроксифенилпируватоксидаза*.

**Алкаптонурия** - сопровождается дефектом *диоксигеназы гомогентизиновой кислоты*. Для этой болезни характерно выделение с мочой большого количества гомогентизиновой кислоты, которая, окисляясь воздухом, образует темные пигменты **алкаптоны**. Кроме того, наблюдается пигментация соединительной ткани. Умственное и физическое развитие не нарушено.



**Рисунок 7.2. – Заболевания, связанные с нарушением обмена фенилаланина и тирозина**

Альбинизм обусловлен отсутствием *тирозины меланоцитов*, что приводит к нарушению синтеза пигментов меланинов. Клиническое проявление – отсутствие пигментации кожи и волос. Умственное развитие не страдает. У людей с альбинизмом повышена склонность к солнечным ожогам.

**Болезнь Паркинсона** развивается при недостаточности дофамина в черной субстанции головного мозга. При этой патологии происходит снижение активности *тирозингидроксилазы* и *ДОФА-декарбоксилазы*. Основными симптомами заболевания являются: скованность движений, напряжение мышц и непроизвольное дрожание.

## ГЛАВА 8

# СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Нуклеиновые кислоты – это биополимеры, состоящие из нуклеотидов, и выполняющие функцию хранения, передачи и реализации генетической информации. В 1869 г. смесь этих веществ (нуклеин) из ядер лейкоцитов выделил Фридрих Мишер. Термин «нуклеиновая кислота» в 1889 г. ввёл Рихард Альтман.

Ниже приведены основные события из истории изучения нуклеиновых кислот.

- 1908** – **А.Гаррод** обнаружил связь между геном и ферментом, закодированном в нем, то есть показал молекулярные основы наследственных заболеваний
- 1944** – **О.Эйвери, К.Маклеод, М.Маккарти** доказали роль ДНК как носителя генетической информации.
- 1950** – **Э.Чаргаф** выявил количественные закономерности содержания азотистых оснований в ДНК.
- 1953** – **Д.Уотсон, Ф.Крик** описали пространственную структуру ДНК.
- 1956** – **Д.Тжио и А.Леван** установили, что хромосомный набор человека состоит из 46 хромосом. Дата рождения современной цитогенетики человека.
- 1958** – **А. Корнберг** выделил и описал первую ДНК-полимеразу.
- 1961** – **Ф.Жакоб и Ж.Моно** предложили схему регуляции активности генов (теория оперона).
- 1966** – **М.Ниренберг, С.Очоа, Г.Корана** расшифровали генетический код.
- 1972-1973** **Г.Бойер, С.Козн, П.Берг** разработали технологию клонирования ДНК.
- 1990-2003** расшифровка генома человека.

Мономерами нуклеиновых кислот являются **нуклеотиды**. Каждый нуклеотид содержит 3 компонента: гетероциклическое азотистое основание, моносахарид (пентозу) и остаток фосфорной кислоты. В состав нуклеиновых кислот входят азотистые ос-

нования двух типов: пуриновые – **аденин (А)**, **гуанин (Г)** и пиримидиновые – **цитозин (Ц)**, **тимин (Т)** и **урацил (У)**. Кроме главных азотистых оснований в нуклеиновых кислотах присутствуют небольшие количества нетипичных (*минорных*) оснований (псевдоуридин, дигидроуридин, метиладенозин и др.).

Нуклеотиды, в которых пентоза представлена рибозой, называют рибонуклеотидами, а нуклеиновые кислоты, построенные из рибонуклеотидов, **рибонуклеиновыми кислотами**, или **РНК**. В молекулы РНК входят аденин, урацил, гуанин и цитозин. Нуклеиновые кислоты, в мономеры которых входит дезоксирибоза, называют **дезоксирибонуклеиновыми кислотами**, или **ДНК**. В ее состав входят аденин, тимин, гуанин и цитозин. Молекулы ДНК, как правило, состоят из 2 полинуклеотидных цепей, РНК в основном представляют собой одноцепочечные структуры.

Молекулы нуклеиновых кислот всех типов живых организмов – линейные полимеры, не имеющие разветвлений. Роль мостика между нуклеотидами выполняет 3',5'-фосфодиэфирная связь, соединяющая пентозы нуклеотидов. В связи с этим полинуклеотидная цепь имеет определенную направленность. На одном её конце находится **5'-ОН** группа, этерифицированная остатком фосфорной кислоты (начало цепи), на другом – свободная **3'-ОН**-группа (конец цепи). Последовательность нуклеотидов в полинуклеотидной цепи формирует **первичную структуру** нуклеиновой кислоты. Функционально значащей является последовательность азотистых оснований, уникальная для каждой молекулы. Это обуславливает большое разнообразие индивидуальных ДНК и РНК. В то же время нуклеиновые кислоты обладают видовой специфичностью, т.е. характеризуются определенным нуклеотидным составом у каждого биологического вида. В клеточных организмах присутствуют оба типа нуклеиновых кислот; вирусы содержат нуклеиновую кислоту лишь одного типа – ДНК или РНК.

**Биологическая роль** нуклеиновых кислот заключается в хранении, реализации и передаче генетической информации. Возможно, что нуклеиновые кислоты обеспечивают различные виды биологической памяти – иммунологическую, нейробиологическую и т.д., а также играют существенную роль в регуляции биосинтетических процессов.



## Структура и функции ДНК

Основной функцией молекул ДНК является хранение генетической информации, они же осуществляют передачу этой информации при делении клеток, а так же выполняют роль матрицы для синтеза РНК в ходе транскрипции

ДНК имеет первичную, вторичную и третичную структуры. **Первичная структура ДНК** – порядок чередования дезоксирибонуклеозидмонофосфатов (дНМФ) в полинуклеотидной цепи. Сокращенно эту последовательность записывают с помощью однобуквенного кода от 5' к 3' концу, например 5'-А-Г-Ц-Т-Т-А-Ц-А-3'. Первичная структура строго специфична и индивидуальна для каждой природной ДНК и представляет кодовую форму записи биологической информации (*генетический код*). Впервые доказательство генетической роли ДНК получено в 1944 г. Освальдом Эйвери с сотрудниками в опытах по трансформации, осуществленных на бактериях. Содержание нуклеотидов в ДНК, подчиняется закономерностям, выявленным Эрвином Чаргафом (1950): суммарное количество пуриновых оснований равно сумме пиримидиновых, причем количество А равно количеству Т, а количество Г – количеству Ц. Эти закономерности определяются особенностями вторичной структуры ДНК.

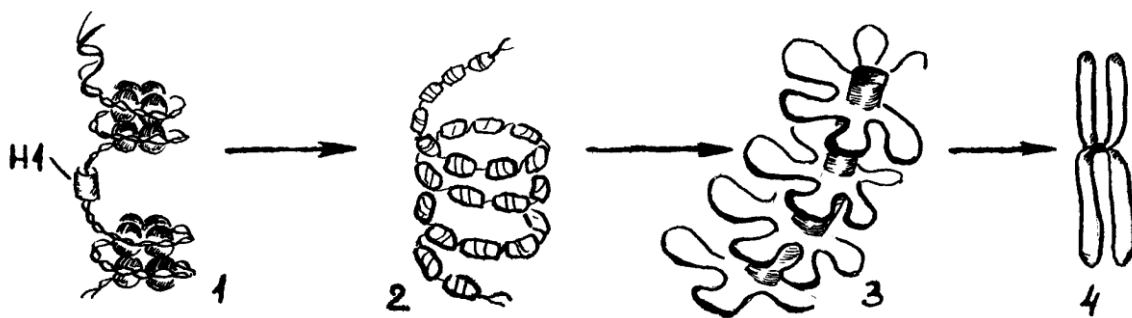
**Вторичная структура ДНК** представляет собой правозакрученную спираль, состоящую из двух антипараллельных полинуклеотидных цепей. Все азотистые основания цепей ДНК расположены стопкой внутри двойной спирали, а пентозофосфатный каркас – снаружи. Полинуклеотидные цепи удерживаются друг относительно друга за счет водородных связей между комплементарными основаниями. Дополнительная стабилизация спирали происходит за счет гидрофобных взаимодействий, возникающих между азотистыми основаниями в стопке. Описано несколько форм спиралей ДНК (А-Е, Z), наиболее распространенной среди них является форма В. Именно в таком виде ДНК существует при физиологических условиях. Выяснение вторичной структуры ДНК (Д. Уотсон, Ф. Крик, 1953) стало одним из величайших открытий в естествознании, так как позволило раскрыть механизм передачи наследственной информации в ряду поколений.

**Третичная структура ДНК** эукариотических клеток также выражена в многократной суперспирализации молекулы, однако,

в отличие от прокариот, она осуществляется в форме комплексов ДНК с гистоновыми и негистоновыми белками. Такие дезокси-нуклеопротеины называются **хроматином**.

Выделяют следующие уровни упаковки хроматина (Рис 8.1):

1. **Нуклеосомный.** Четыре гистона Н2А, Н2В, Н3 и Н4 (по 2 каждого типа) образуют октамерный белковый комплекс, который называют *нуклеосомным кором*. Молекула ДНК накручивается на поверхность этого кора, совершая 1,75 оборота (около 146 пар нуклеотидов). Такой комплекс гистоновых белков с ДНК является основной структурной единицей хроматина и называется *нуклеосомой*. ДНК, соединяющую нуклеосомные частицы, называют *линкерной ДНК*. С нею связываются молекулы гистона Н1, защищая эти участки от действия нуклеаз.
2. **Соленоидный.** Нуклеосомная нить скручивается в более толстые фибриллы – *соленоиды* с диаметром 30 нм. Их также называют *30 нм-хроматиновыми фибриллами*.
3. **Петлевой.** Соленоидная фибрилла образует петли и дополнительно упаковывается. В формировании такой структуры принимают участие ДНК-связывающие белки, они объединяют в петли 30-нм фибриллы, состоящие из 20000 – 100000 пар нуклеотидов
4. **Метафазная хромосома.** Эта структура формируется во время митоза Петельные домены дополнительно конденсируются и спирализуются, приобретают четкие формы. В хромосоме ДНК максимально компактизирована.



**Рисунок 8.1. – Уровни организации хроматина**

Негистоновые компоненты хроматина представлены сотнями самых разнообразных ДНК-связывающих белков. К этой группе относят семейство белков типа «цинковые пальцы», белки

высокой подвижности (HGM-белки), ферменты репликации, транскрипции и репарации. Таким образом, при участии структурных, регуляторных белков, а также ферментов, участвующих в синтезе ДНК и РНК, нить нуклеосом преобразуется в высоко конденсированный комплекс белков и нуклеиновых кислот.

### **Функции хроматина**

- обеспечивает компактную и надёжную упаковку ДНК в малом объеме;
- увеличивает прочность ДНК, чем способствует нормальному протеканию митоза;
- предотвращает повреждения ДНК;
- контролирует экспрессию генов и репликацию ДНК.

### **Организация генома человека**

Общая длина ДНК гаплоидного набора из 23 хромосом человека составляет  $3,5 \times 10^9$  пар нуклеотидов. Этого количества ДНК достаточно для создания нескольких миллионов генов. Однако истинное число структурных генов находится в области 40 тысяч. Такую избыточность ДНК объясняют как сложной организацией генов, так и наличием повторяющихся участков ДНК.

В геноме человека примерно 60% приходится на участки ДНК, представленные в виде одной или нескольких копий. Это так называемые **уникальные последовательности**, несущие информацию о структуре специфических белков, и представляющие собой структурные гены. Нередко уникальные последовательности образуют мультигенные семейства, располагающиеся в виде кластеров в определенных областях одной или нескольких хромосом. Примерами мультигенных семейств могут служить гены  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобинов, тубулинов, миоглобина, актина и трансферрина. В мультигенных семействах наряду с функционально активными генами содержатся **псевдогены** – мутационно измененные последовательности, не способные транскрибироваться или продуцирующие функционально неактивные генные продукты.

До 30% генома представлено **умеренно повторяющимися последовательностями** (от 10 до 10 000 копий на гаплоидный геном). Сюда относятся гены, которые кодируют продукты, не-

обходимые клетке в больших количествах. Так, гены рРНК имеются у человека в количестве от 300 до 600 копий. Многократно повторяются гены, кодирующие тРНК, гистоны, цепи иммуноглобулинов. Чаще всего они располагаются в ДНК в виде tandemных (следующих друг за другом) повторов. В группу умеренно повторяющихся последовательностей входят и участки ДНК, которые не транскрибируются, но выполняют важные регуляторные функции (**промоторы, энхансеры, сайленсеры**). Некоторые умеренно повторяющиеся последовательности способны перемещаться по геному (**транспозоны**).

Часто повторяющиеся последовательности могут присутствовать в одном геноме сотни тысяч и миллионы раз. В основном это **сателлитная ДНК**, сосредоточенная в центромерном и теломерном хроматине. Она состоит из простых последовательностей, формирующих кластеры (скопления нескольких сотен копий). Предполагается, что сателлиты участвуют в спаривании и расхождении хромосом. У человека на долю сателлитной приходится около 10% ДНК.

В геноме человека наблюдается однонуклеотидный полиморфизм – различие последовательности ДНК всего в один нуклеотид (SNP, снип). В отличие от мутаций, которые представляют собой единичные явления, одни и те же снипы могут встречаться у многих представителей вида. Вариабельность человеческого генома составляет 0,1%. Как правило, на каждую тысячу пар оснований встречается одна замена. В геноме выявлено 3 миллиона участков, занятых разными основаниями.

## **Виды и особенности структурной организации РНК**

Содержащиеся в клетке РНК различаются размером, составом, функциями и локализацией. В цитоплазме содержится стабильная РНК нескольких видов: **транспортная (тРНК), матричная (мРНК), рибосомальная (рРНК)**. В ядре локализована ядерная РНК, основная часть которой представлена предшественниками цитоплазматических РНК. Все РНК эукариот также разделяют на кодирующие и не кодирующие. Первые транслируются в белки (мРНК), а вторые – нет. К не кодирующим РНК относятся тРНК, рРНК, малые ядерные, антисмысловые,

малые интерферирующие, длинные некодирующие и ряд других РНК.

Молекулы РНК выполняют целый ряд функций:

- структурный и каталитический компонент рибосом (рРНК);
- перенос генетической информации (мРНК);
- перевод информации, закодированной в виде последовательности нуклеотидов в мРНК, в последовательность аминокислот в белке (тРНК);
- контроль экспрессии генов (микроРНК, малые интерферирующие РНК, малые ядерные и ядрышковые РНК);
- являются рибозимами (катализаторами) в процессинге других РНК (например, в сплайсосоме).

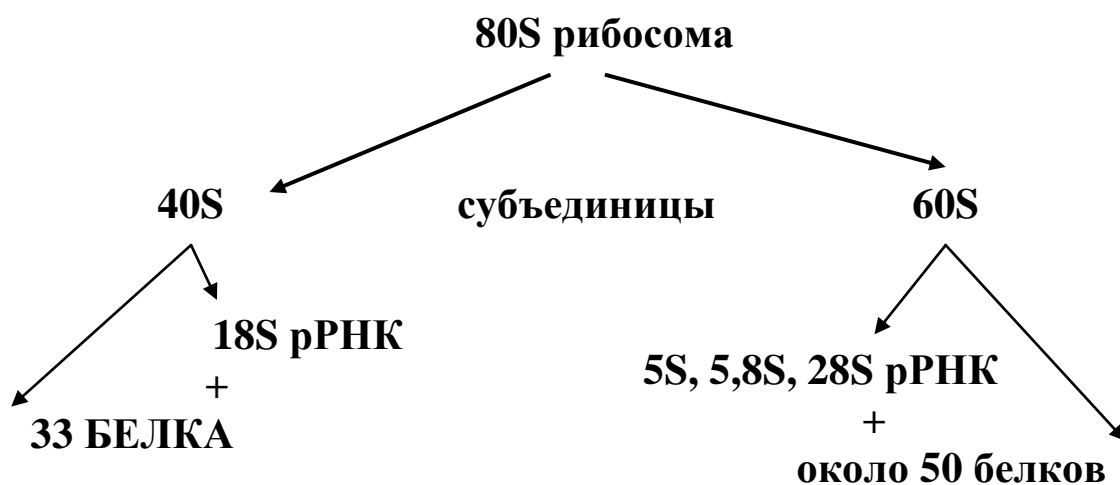
Молекула РНК построена из одной полинуклеотидной цепи. Отдельные участки цепи образуют спирализованные петли – *шпильки*, за счет водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями. Участки цепи РНК в таких спиральных структурах антипараллельны, но не всегда полностью комплементарны, в них встречаются неспаренные нуклеотидные остатки или одноцепочечные петли. Наличие **вторичной структуры** в виде спирализованных участков характерно для всех типов РНК. При взаимодействии спирализованных элементов вторичной структуры возникает упорядоченная **третичная структура**. Так, возможно образование дополнительных водородных связей между нуклеотидными остатками, достаточно удаленными друг от друга, или связей между ОН-группами остатков рибозы и основаниями. Третичная структура РНК стабилизирована ионами двухвалентных металлов ( $Mg^{2+}$ ).

Первичная структура всех **мРНК**, независимо от уникальности их кодирующей последовательности, имеет одинаковое строение 5'- и 3'-концов. Так, на 5'-конце присутствует модифицированный нуклеотид 7-метилгуанозин-5'-трифосфат (**кэп**). Этот сайт распознается рибосомой. На 3'-конце большинства мРНК присутствует последовательность нуклеотидов из 100-200 аденозинмонофосфатных остатков (**полиА**). Эта последовательность обеспечивает стабильность мРНК, препятствуя её гидролизу. На долю мРНК приходится до

2% от всех РНК.

Пространственную структуру любых **тРНК** описывают универсальной моделью «клеверного листа». В состав тРНК входят минорные основания, которые поддерживают определенную третичную структуру молекулы и делают ее устойчивой к действию нуклеаз цитоплазмы. 3'- и 5'-концы полинуклеотидной цепи спарены и образуют *акцептирующий* стебель, он завершается на 3'-конце последовательностью ЦЦА. Противостоит акцептирующему стеблю антикодонная петля, которая содержит в своей средней части *антикодон*, комплементарный кодону данной аминокислоты в мРНК. Каждая тРНК имеет свой специфический антикодон. *Псевдоуридиловая* петля осуществляет взаимодействие тРНК с рибосомой, *дигидроуридиловая* петля участвует во взаимодействии с аминоацил-тРНК-синтетазой. Функции добавочной петли мало исследованы, предполагается, что с её помощью уравнивается длина разных молекул тРНК. На долю тРНК приходится 15-16% от всех РНК.

Больше всего (80-82%) в клетке содержится **рибосомальной РНК**. Различают 5S, 5,8S, 18S и 28S **рРНК**. Они имеют многочисленные спирализованные участки и образуют комплексы с белками – рибосомы. Рибосомы эукариотических клеток имеют константу седиментации 80S, состоят из двух субъединиц.(рис. 8.2)Компоненты субъединиц представлены на рисунке:



**Рисунок 8.2. – Структура рибосомы эукариот**  
рРНК имеют V-образную или Y-образную форму. Они

образуют каркас, к которому прикрепляются белки, создавая плотно упакованный рибонуклеопротеин. Вторичная структура создается за счет коротких двухспиральных шпилек. Примерно треть молекулы представлена одотяжевыми участками, с которыми преимущественно связаны белки рибосом.

### Гибридизация нуклеиновых кислот

Вторичная структура нуклеиновых кислот образуется за счет слабых взаимодействий – водородных и гидрофобных. При нагревании раствора ДНК такие связи разрушаются, и полинуклеотидные цепи расходятся. Этот процесс называют *денатурацией*. При денатурации снижается вязкость раствора, а также наблюдается увеличение его оптической плотности – *гиперхромный эффект*. Этот эффект вызван тем, что при денатурации экранированность азотистых оснований уменьшается, и они более интенсивно поглощают свет с  $\lambda=260$  нм.

Если же раствор, содержащий денатурированную ДНК, медленно охладить, могут вновь сформироваться двухспиральные структуры, идентичные исходным. Такой процесс получил название *ренатурации*. На явлении денатурации и ренатурации основан метод, называемый *молекулярной гибридизацией*. Процесс гибридизации может осуществляться между двумя любыми цепями нуклеиновых кислот (ДНК – ДНК, ДНК – РНК) при условии, что они содержат комплементарные последовательности нуклеотидов. Гибриды могут быть совершенными (полная комплементарность цепей) и несовершенными (частичная комплементарность цепей). Методом молекулярной гибридизации можно установить сходство и различие первичной структуры разных образцов нуклеиновых кислот. Это используется для выделения генов и РНК, изучения первичной структуры нуклеиновых кислот, определения степени родства, а также для получения рекомбинантных ДНК.

## ГЛАВА 9

### ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ

Пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды являются существенными компонентами клеток. Они или их производные выполняют различные функции:

- нуклеозидтрифосфаты используются в качестве субстратов для синтеза ДНК и РНК;
- цикл АДФ-АТФ является универсальным механизмом трансформации энергии окисления в энергию биосинтетических процессов. В некоторых биологических процессах в качестве источника энергии используются другие нуклеозидтрифосфаты;
- производные нуклеотидов служат донорами активных субстратов в синтезе гомо- и гетерополисахаридов, липидов и белков. Например: УДФ-глюкоза, УДФ-галактоза, ГДФ-манноза, УДФ-N-ацетилглюкозамин или ЦМФ-ацетилнейраминная кислота принимают участие в синтезе гликогена и гликозаминогликанов; ЦДФ-холин – в синтезе фосфолипидов;
- УДФ-глюкуроновая кислота, ФАФС, S-аденозилметионин – участники системы детоксикации;
- АМФ входит в состав коферментов (НАД<sup>+</sup>, ФАД, ФМН, КоА);
- с помощью циклических форм нуклеотидов (цАМФ, цГМФ) осуществляется передача в клетку сигналов гормонов, факторов роста, нейромедиаторов и некоторых других регуляторных молекул.

Практически все клетки организма способны к синтезу нуклеотидов (исключение составляют некоторые клетки крови). Другим источником этих молекул могут быть нуклеиновые кислоты собственных тканей и пищи, однако эти источники имеют лишь второстепенное значение.

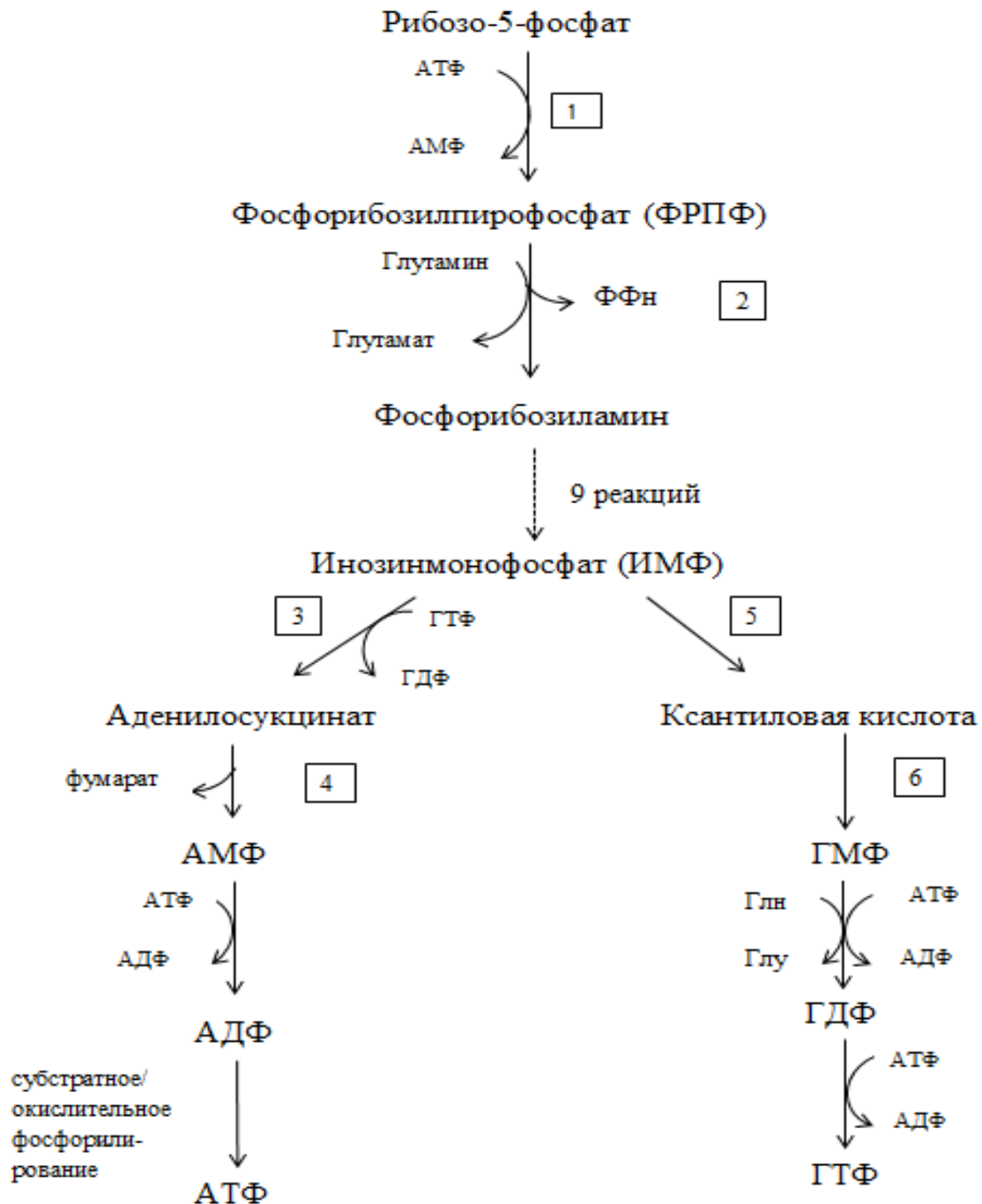
#### Биосинтез пуриновых нуклеотидов

В формировании пуринового кольца принимают участие аминокислоты (аспартат, глицин, глутамин), CO<sub>2</sub> и два производных тетрагидрофолата: метенил-N<sub>4</sub>-фолат и формил-N<sub>4</sub>-фолат.



Этим способом образуется основное количество пуриновых нуклеотидов, тогда как нуклеотиды, синтезирующиеся за счёт повторного использования азотистых оснований или нуклеозидов, составляют не более 10-20% общего фонда этих соединений.

Схема синтеза пуринов представлена на рисунке:



**Рисунок 9.1. – Синтез пуриновых нуклеотидов**

1 – ФРПФ-синтетаза, 2 – ФРПФ-амидотрансфераза, 3 – аденилсукцинатсинтетаза, 4 – аденилсукцинатлиаза, 5 – ИМФ-дегидрогеназа. 6 – ГМФ-синтетаза

## Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов

Образование АМФ и ГМФ регулируется аллостерическими механизмами по принципу обратной связи (Рис. 9.2).

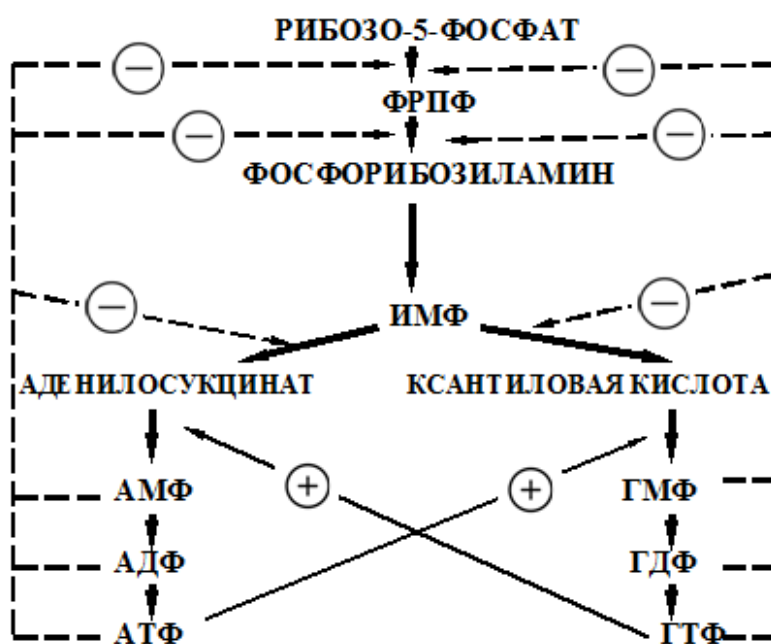
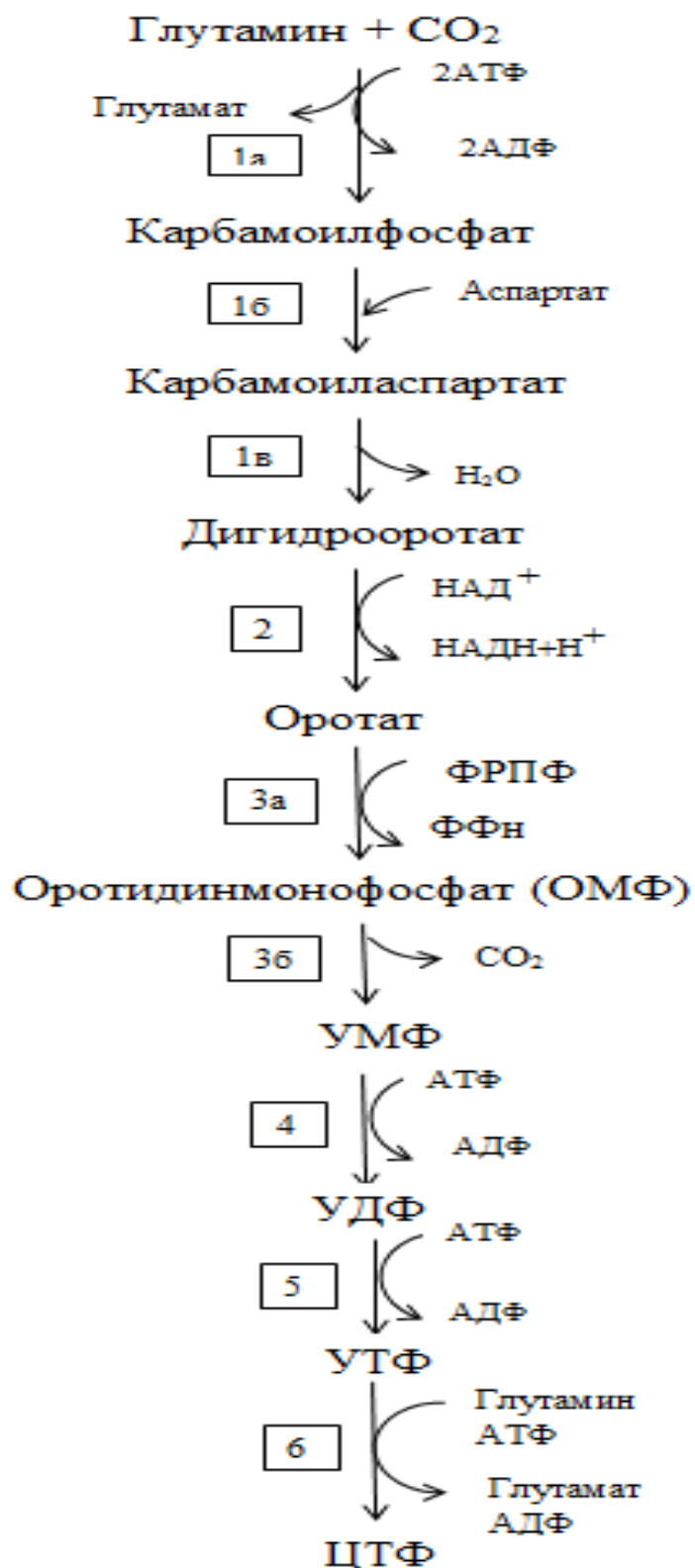


Рисунок 9.2. – Регуляция скорости синтеза пуринов

## Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов

Фонд пиримидиновых нуклеотидов, подобно пуриновым нуклеотидам, в основном синтезируется из простых предшественников *de novo*, и только 10-20% от общего количества образуется по «запасным» путям из азотистых оснований или нуклеозидов. В отличие от синтеза пуринов, где формирование гетероциклического основания осуществляется на остатке рибозо-5-фосфата, пиримидиновое кольцо синтезируется из простых предшественников: глутамина,  $\text{CO}_2$  и аспарагиновой кислоты и затем связывается с рибозо-5-фосфатом, полученным от фосфорибозилпирофосфата (ФРПФ).

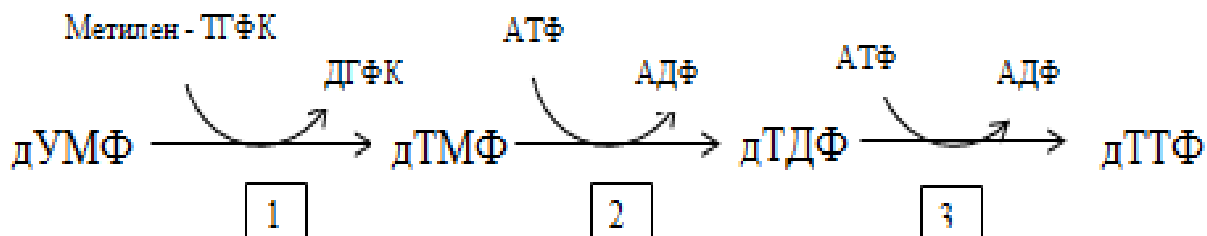
Процесс протекает в цитозоле клеток. Синтез ключевого пиримидинового нуклеотида (УМФ) идёт с участием трех ферментов, два из которых полифункциональны (Рис. 9.3).



**Рисунок 9.3. – Синтез пиримидиновых нуклеотидов**  
 1-КАД-фермент (1а-карбамоилфосфатсинтетаза II, 2б-аспараткарбамоилтрансфераза, 2в-дигидрооротаза), 2-дигидрооротатдегидрогеназа, 3-УМФ-синтаза (3а-оротатфосфорибозилтрансфераза, 3б-ОМФ-декарбоксилаза), 4-нуклеозидмонофосфаткиназа, 5-нуклеозиддифосфаткиназа, 6-ЦТФ-синтетаза

Регуляторным ферментом синтеза пиримидинов является КАД-фермент. Реакцию, катализируемую карбамоилфосфатсинтетазой II, аллостерически ингибируют УМФ и пурины. Активатором этого процесса является ФРПФ. Активность аспараткарбамоилтрансферазного домена ингибируется ЦТФ.

Синтез тимидинтрифосфата происходит по следующей схеме:



1-тимидилатсинтаза, 2-нуклеозидмонофосфаткиназа, 3-нуклеозиддифосфаткиназа

### Синтез дезоксирибонуклеотидов

Все дезоксирибонуклеотиды, кроме тимидиловых, образуются из рибонуклеотидов под действием рибонуклеотидредуктазного комплекса (Рис 9.4).

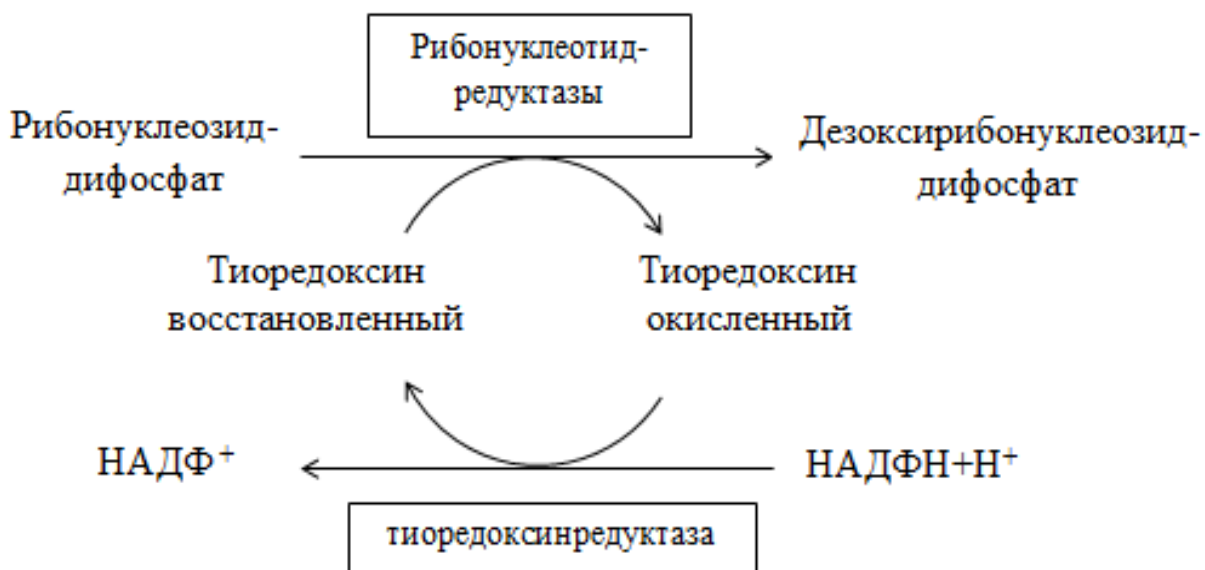
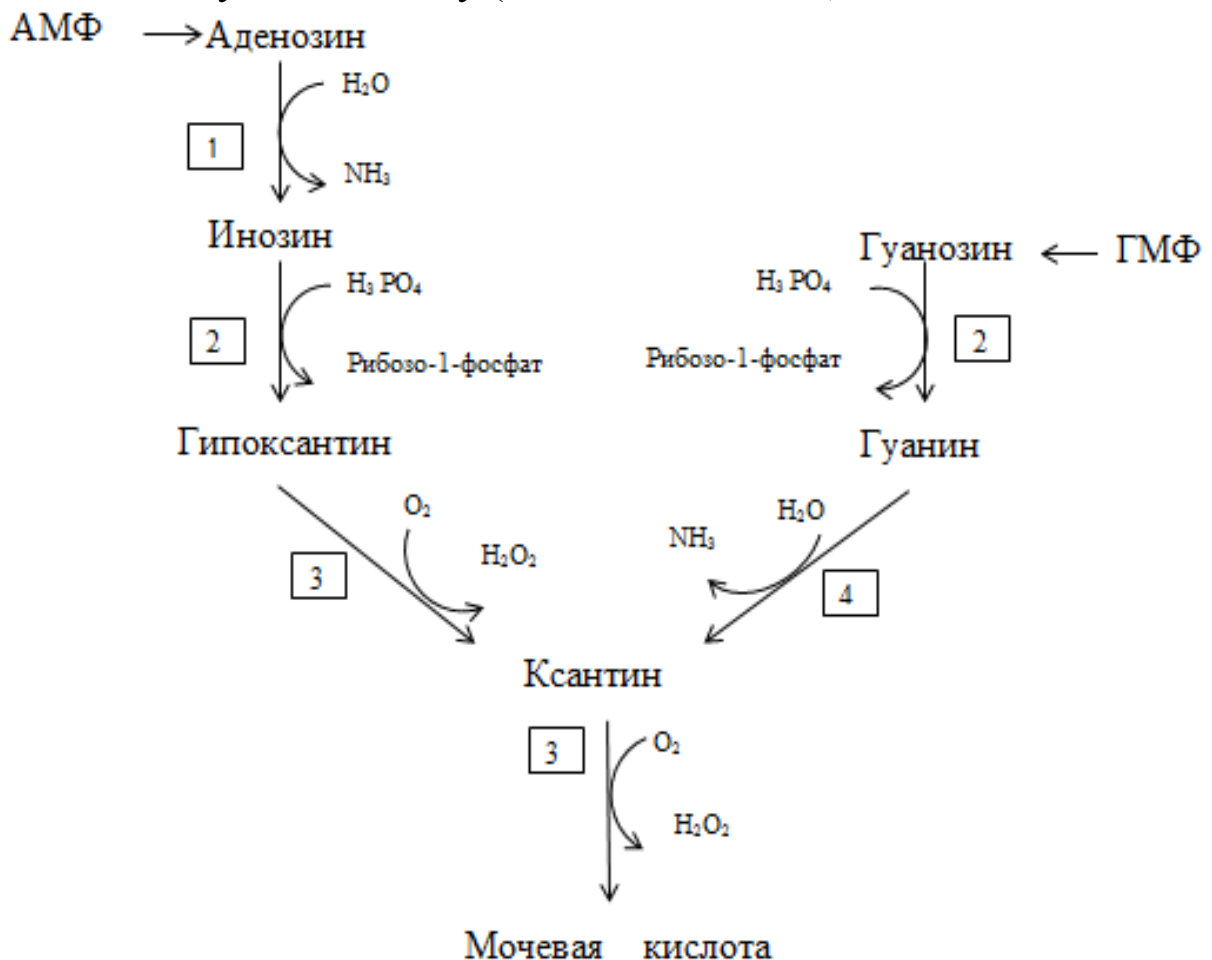


Рисунок 9.4. – Синтез дезоксирибонуклеотидов

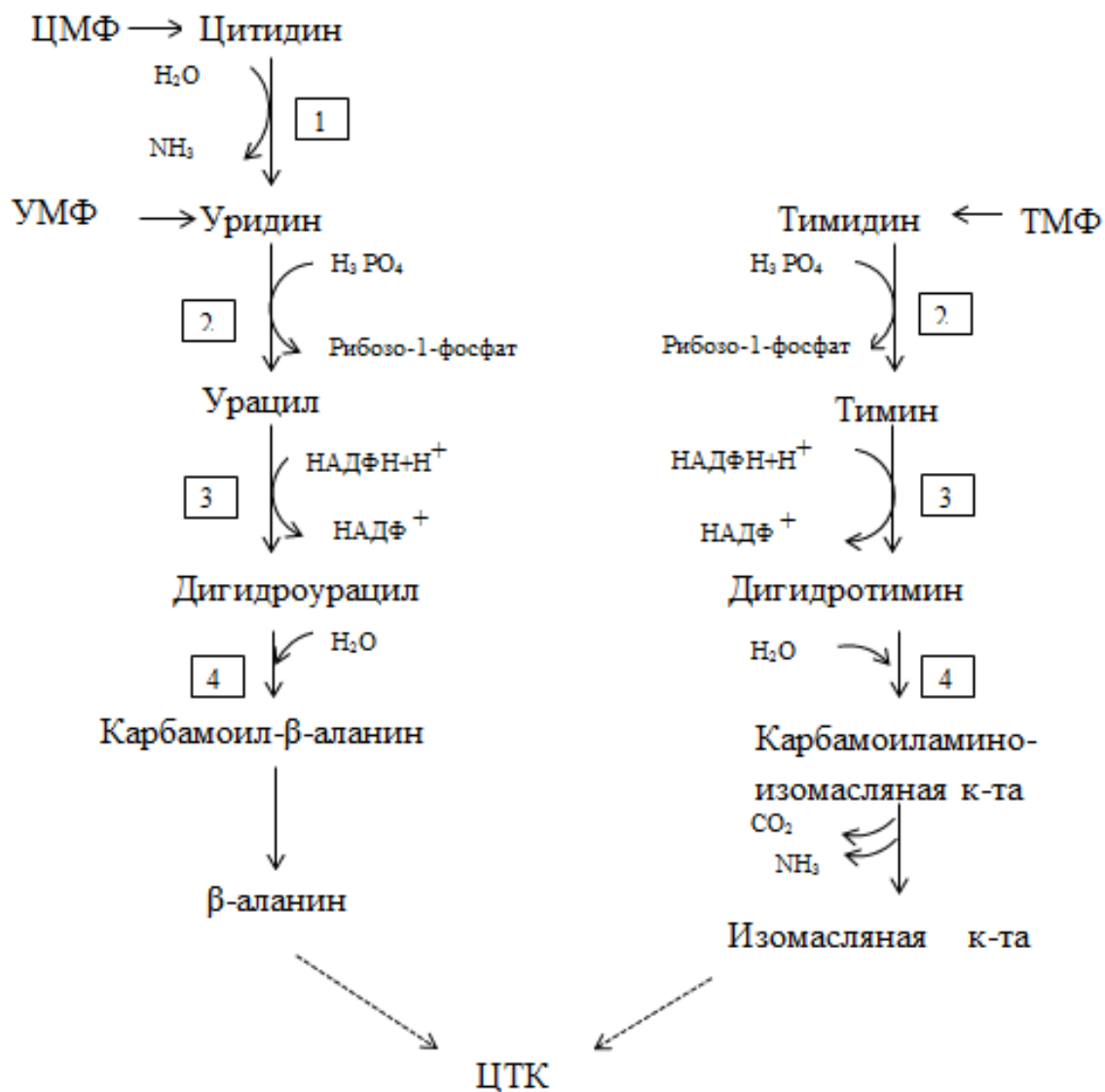
## Распад нуклеиновых кислот в желудочно-кишечном тракте и тканях. Катаболизм нуклеотидов

Нуклеиновые кислоты поступают в организм с пищей в составе нуклеопротеинов и высвобождаются в результате действия протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта. Далее под действием дезоксирибонуклеазы и рибонуклеазы панкреатического сока нуклеиновые кислоты гидролизуются до нуклеотидов. Нуклеотиды под воздействием нуклеотидаз или фосфатаз распадаются до нуклеозидов, которые могут всасываться или гидролизоваться далее до азотистых оснований и пентоз.

В тканях нуклеиновые кислоты гидролизуются дезоксирибонуклеазами и рибонуклеазами до нуклеотидов, которые под действием нуклеотидаз теряют остаток фосфора. Образующиеся нуклеозиды пуринового и пиримидинового ряда подвергаются дальнейшему катаболизму (Рис. 9.5 и Рис. 9.6).



**Рисунок 9.5. – Распад пуриновых нуклеотидов**  
 1 – аденозиндеаминаза, 2 – нуклеозидфосфорилаза, 3 – ксантиноксидаза 4 – гуаниндеаминаза



**Рисунок 9.6. – Распад пиримидиновых нуклеотидов**  
 1-деаминаза, 2-нуклеозидфосфорилаза, 3-  
 дигидроурацилдегидрогеназа.  
 4-дигидропиримидиназа

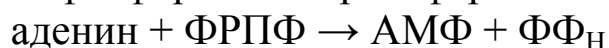
### Реутилизация азотистых оснований и нуклеозидов («запасные» пути или «пути спасения»)

«Пути спасения» – это синтез нуклеотидов из азотистых оснований и нуклеозидов, которые образуются при распаде нуклеиновых кислот. Эти пути исключительно важны для тканей, не способных к синтезу пуринов или пиримидинов *de novo*, а также в период гастрულიции и раннего роста ребенка. В организме имеют только вспомогательное значение.

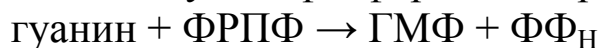
Реутилизацию пуриновых оснований катализируют 2 фер-

мента.

Аденинфосфорибозилтрансфераза:



Гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза:



ИМФ затем может превращаться в АМФ или ГМФ.

Пиримидиновые основания (урацил и тимин) превращаются в нуклеозиды с помощью соответствующих фосфорилаз, затем нуклеозидкиназы фосфорилируют их до УМФ и ТМФ.

### **Нарушения обмена нуклеотидов**

**Ксантинурия** – наследственная энзимопатия, связанная с дефектом ксантиноксидазы, что приводит к нарушению катаболизма пуринов до мочевой кислоты. В плазме крови и моче может наблюдаться десятикратное снижение уровня мочевой кислоты, но увеличивается в 10 и более раз экскреция ксантина и гипоксантина. Основное клиническое проявление – образование ксантиновых конкрементов в почках, величиной до нескольких миллиметров, коричневого цвета, сравнительно мягкой консистенции. Постепенно может развиваться патология почек.

**Оротацидурия** – наследственное заболевание, связанное с утратой двух ферментов пути синтеза пиримидинов – **оротатфосфорибозилтрансферазы** и **оротидиндекарбоксилазы** (I тип) или только отсутствием оротидиндекарбоксилазы (II тип). В детском возрасте для больных характерны отставание в психическом и физическом развитии, мегалобластическая анемия, оротовая ацидурия, подверженность инфекциям. Организм испытывает «пиримидиновый голод». С мочой при заболевании I типа может выделяться до 1,5 г в сутки оротовой кислоты, что в 1000 раз превышает норму. Введение УМФ или его предшественников позволяет организму синтезировать другие пиримидины (ЦТФ, дТТФ).

**Подагра.** Мочевая кислота, являясь конечным продуктом распада пуринов, выделяется из организма с мочой. При усиленном образовании мочевой кислоты в тканях организма развивает-

ся гиперурикемия. Это состояние может быть вызвано наследственными дефектами обмена пуринов, например, нарушением реутилизации пуриновых азотистых оснований (синдром Леша-Нихана, дефицит гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы), а также наблюдается при заболеваниях крови, почек, отравлениях свинцом и других состояниях. Гиперурикемия часто приводит к развитию подагры. Это заболевание характеризуется отложением кристаллов солей мочевой кислоты (уратов) в суставах (преимущественно плюснефалангового большого пальца) и вокруг них, в мягких тканях, местах прикрепления связок, сухожилий. Постепенно развивается полиартрит и появляются подагрические узлы. Хронический подагрический артрит приводит к деформации сустава. При отложении кристаллов в почках развивается мочекаменная болезнь. Подагрой страдают 0,3% – 1,7% взрослого населения. Мужчины болеют в 20 раз чаще женщин. Для лечения подагры используют аллопуринол – структурный аналог гипоксантина. Аллопуринол блокирует ксантиноксидазу и уменьшает образование мочевой кислоты.



## ГЛАВА 10

### БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Способность к передаче наследственных свойств путем переноса генетической информации является уникальным свойством живых систем. В организмах существуют три варианта передачи генетической информации.

1. **Репликация** – перенос генетической информации в пределах одного класса нуклеиновых кислот (от ДНК к ДНК или у некоторых вирусов от РНК к РНК).
2. **Транскрипция** – перенос информации между разными классами нуклеиновых кислот, бывает прямая (от ДНК к РНК) и обратная (от РНК к ДНК).
3. **Трансляция** – перенос генетической информации от мРНК к белку.

Центральная догма молекулярной биологии отражает направление переноса генетической информации в клетке: от ДНК через РНК к белку. Согласно ей, не может быть переноса информации от белка к РНК, но допускается перенос от РНК к ДНК. То есть, генетическая информация существует только в форме нуклеиновой кислоты и не может передаваться от аминокислотных последовательностей белка.

Репликацию, транскрипцию и трансляцию называют матричными синтезами, так как они происходят на матрице – молекуле, которая является основой для синтеза другой молекулы. В каждом матричном синтезе есть стадии инициации, элонгации и терминации.

#### Биосинтез ДНК

Удвоение ДНК у эукариот проходит в S-фазу клеточного цикла. Инициацию репликации регулируют специфические сигнальные белковые молекулы – факторы роста. Они связываются с рецепторами клеточных мембран, генерируя сигнал, который и побуждает клетку к началу репликации. Одними из первых активируются гены, кодирующие белки *циклины*. Циклинзависимые киназы, связывая циклин, переходят в активную форму и фосфо-

рируют специфические белки, которые регулируют синтез ферментов, обеспечивающих репликацию.

В репликации выделяют несколько этапов:

- **инициация** - образование репликативной вилки и синтез праймеров;
- **элонгация** – присоединение нуклеотидов и проверка правильности присоединения;
- **терминация** – удаление праймеров, замещение их последовательностями дезоксирибонуклеотидов и модификация новых молекул ДНК.

Синтез новых цепей ДНК может произойти только при расхождении родительских цепей. В точке начала репликации (сайты инициации или **ориджины**) происходит локальное расхождение цепей ДНК и образуются две **репликативные вилки**, движущиеся в противоположных направлениях.

В образовании репликативной вилки принимает участие ряд белков и ферментов (Рис. 10.1):

- семейство **ДНК-топоизомераз** обеспечивает устранение суперспирализации.
- **ДНК-хеликазы**, используя энергию АТФ, осуществляют разрыв водородных связей между полинуклеотидными цепями и расплетают двойную спираль ДНК.

В поддержании этого участка ДНК в раскрученном состоянии участвуют **ДНК-связывающие белки** (ДСБ). Они связываются с одноцепочечной ДНК по всей длине разделившихся цепей, предотвращая их комплементарное взаимодействие.

Репликация ДНК осуществляется **ДНК-зависимыми ДНК-полимеразами**. Субстратами и одновременно источниками энергии для синтеза служат дАТФ, дГТФ, дЦТФ и дТТФ. Ферменты проявляют каталитическую активность только в присутствии предварительно раскрученной матричной двухцепочечной ДНК. Синтез цепей происходит в направлении **5'→3'** растущей цепи. Матричная цепь всегда считывается в направлении **3'→5'**, т. е. синтезируемая цепь всегда антипараллельна матричной цепи. В ходе репликации образуются 2 дочерние цепи, представляющие собой копии матричных цепей.

В синтезе эукариотических ДНК принимают участие 5

ДНК-полимераз. **ДНК-полимераза  $\gamma$**  обеспечивает репликацию только митохондриальной ДНК. ДНК-полимеразы  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  участвуют в синтезе ДНК в ядре клеток.

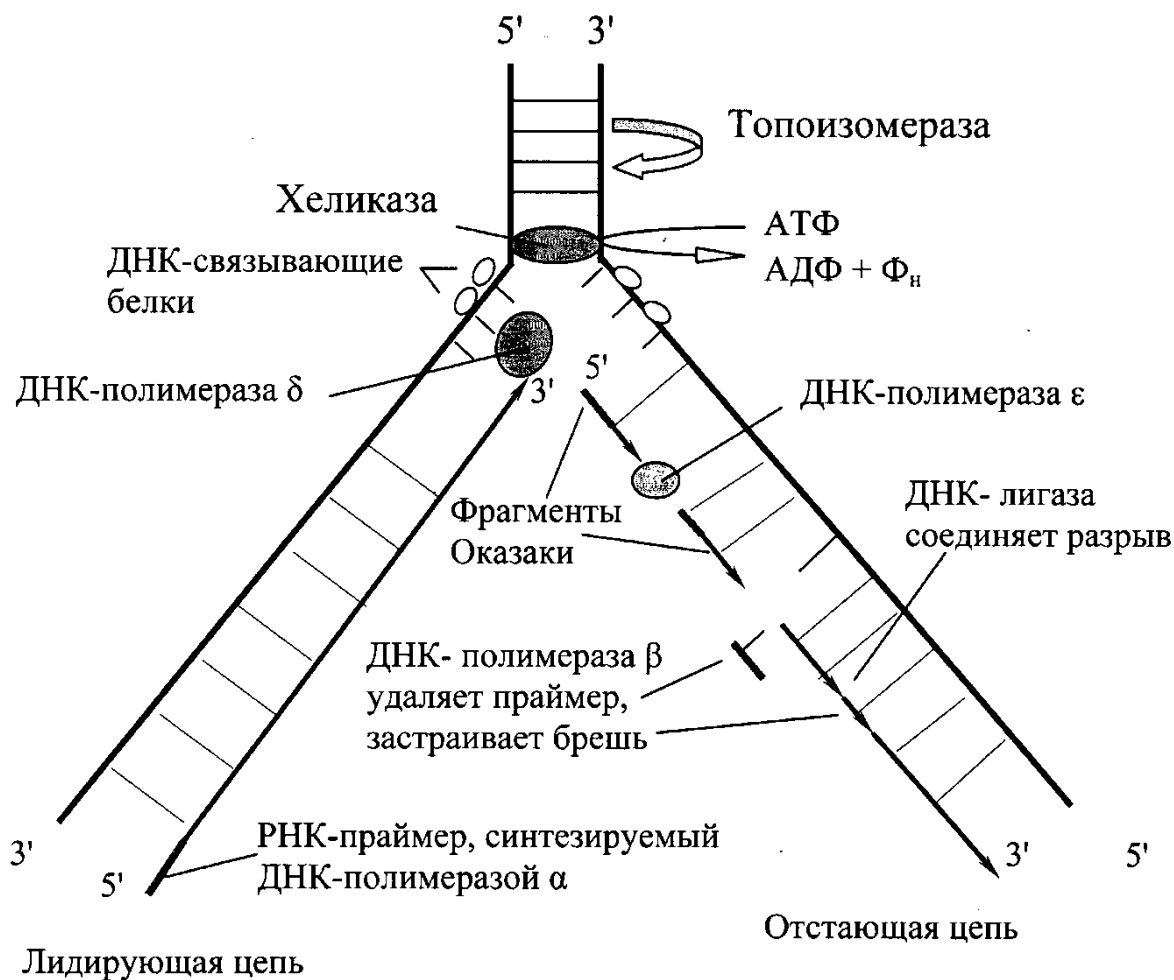
Синтез новой цепи начинается **ДНК-полимераза  $\alpha$** . Фермент обладает сродством к определенному сайту одноцепочечной ДНК. Присоединяясь к нему, ДНК-полимераза синтезирует небольшой фрагмент РНК – **праймер**, состоящий из 8-10 рибонуклеотидов, к которому присоединяет еще около 50 дезоксирибонуклеотидов. Таким образом, ДНК-полимераза  $\alpha$  синтезирует олигонуклеотид, состоящий из короткой последовательности РНК и фрагмента цепи ДНК.

Олигонуклеотид, синтезированный ДНК-полимеразой  $\alpha$  и образующий небольшой двухцепочечный фрагмент с матрицей, позволяет присоединиться **ДНК-полимеразе  $\delta$**  и продолжить синтез новой цепи в направлении  $5' \rightarrow 3'$  по ходу раскручивания репликативной вилки. Выбор ДНК-полимеразой очередного нуклеотида определяется матрицей: включение нуклеотида в синтезируемую цепь ДНК невозможно без предварительного связывания азотистого основания водородными связями с комплементарным нуклеотидом матричной цепи.

В каждой репликативной вилке идет одновременно синтез двух дочерних цепей. Направление синтеза цепи ДНК совпадает с направлением движения репликативной вилки лишь для одной из вновь синтезируемых цепей (**лидирующая цепь**). На второй матричной цепи синтез новой цепи осуществляется двумя ферментами: ДНК-полимеразой  $\alpha$  и **ДНК-полимеразой  $\epsilon$**  в направлении  $5' \rightarrow 3'$ , но **против** движения репликативной вилки. Поэтому вторая цепь синтезируется прерывисто, короткими фрагментами, которые по имени открывшего их исследователя называют **«фрагменты Оказаки»**. Дочернюю цепь, синтез которой происходит фрагментами, а потому отстает, называют **отстающей цепью**.

Каждый фрагмент Оказаки содержит праймер. Праймеры удаляет **ДНК-полимераза  $\beta$** , после чего присоединяет к ОН-группе на  $3'$ -конце предыдущего фрагмента дезоксирибонуклеотиды в количестве, равном вырезанному фрагменту и таким образом заполняет брешь, возникающую при удалении рибонуклеотидов.

Фермент **ДНК-лигаза** катализирует образование фосфоэфирной связи между 3'-ОН-группой дезоксирибозы одного фрагмента и 5'-фосфатом следующего. Реакция протекает с затратой энергии АТФ. Таким образом из множества фрагментов Оказаки образуется непрерывная цепь ДНК.



**Рисунок 10.1. – Репликация ДНК**

Терминация синтеза ДНК наступает вследствие исчерпания матрицы при встрече двух репликативных вилок. После окончания репликации происходит метилирование вновь образованных цепей ДНК. Наличие СН<sub>3</sub>-групп необходимо для формирования структуры хромосом, а также для регуляции транскрипции генов.

На каждом конце хромосомы имеются неинформативные повторяющиеся последовательности нуклеотидов – **теломеры**. В соматических клетках с каждым актом репликации теломеры укорачиваются из-за невозможности достроить ДНК на месте 5'-

праймера. Это укорочение является важным фактором, определяющим продолжительность жизни клетки. Однако в эмбриональных и других быстро делящихся клетках потери концов хромосом недопустимы, так как укорочение хромосом будет происходить очень быстро. У эукариотических клеток имеется фермент **теломераза**, обеспечивающий восстановление недореплицированных 5'-концов. В большинстве клеток теломераза неактивна, так как соматическая клетка имеет длину теломерной ДНК, достаточную для времени жизни клетки и её потомства. Небольшая активность теломеразы обнаруживается в клетках с высокой скоростью обновления, таких как лимфоциты, стволовые клетки костного мозга, клетки эпителия и т.д.

## Репарация ДНК

Высокая стабильность ДНК обеспечивается не только консервативностью её структуры и высокой точностью репликации, но и наличием в клетках всех живых организмов специальных систем **репарации**, устраняющих из ДНК возникающие в ней повреждения.

Действие различных химических веществ, ионизирующей радиации а также ультрафиолетового излучения может вызвать следующие нарушения структуры ДНК:

- повреждения одиночных оснований (дезаминирование, ведущее к превращению цитозина в урацил, аденина в гипоксантин; алкилирование оснований; включение аналогов оснований, инсерции и делеции нуклеотидов);
- повреждение пары оснований (образование тиминовых димеров);
- разрывы цепей (одиночные и двойные);
- образование перекрестных связей между основаниями, а также сшивок ДНК-белок.

Некоторые из указанных нарушений могут возникать и спонтанно, т.е. без участия каких-либо повреждающих факторов.

Любой тип повреждений ведет к нарушению вторичной структуры ДНК, что является причиной частичного или полного блокирования репликации. Такие нарушения конформации и служат мишенью для систем репарации. Процесс восстановления

структуры ДНК основан на том, что генетическая информация представлена в ДНК двумя копиями – по одной в каждой из цепей двойной спирали. Благодаря этому повреждение в одной из цепей может быть удалено репарационным ферментом, а данный участок цепи ресинтезирован в своем нормальном виде за счет информации, содержащейся в неповрежденной цепи.

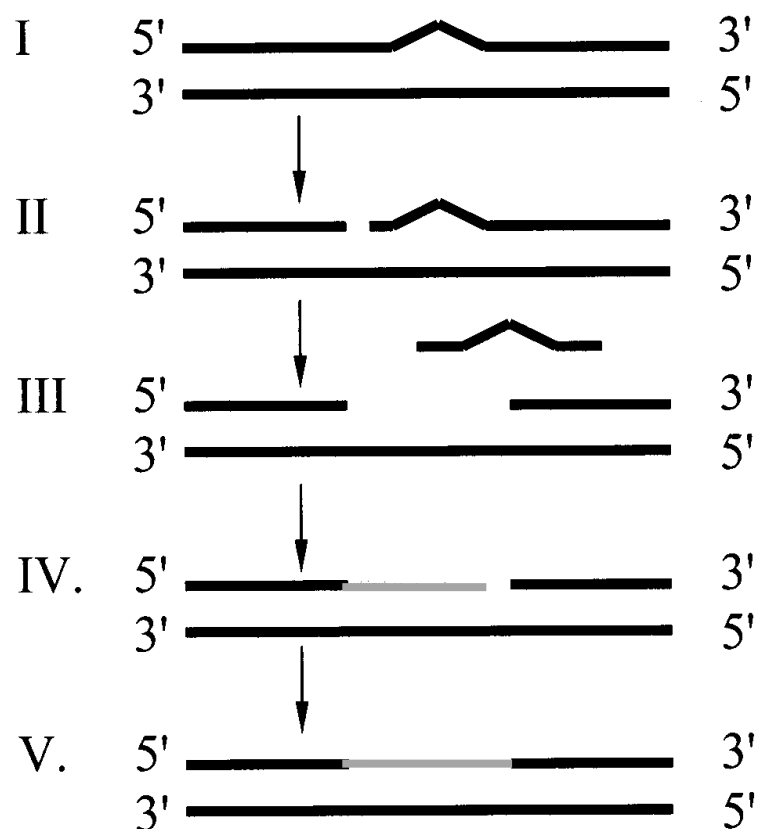
В настоящее время выявлено несколько механизмов репарации ДНК: фотореактивация, прямая, эксцизионная и пострепликативная репарация. Последние два типа называют также темновой репарацией.

**Фотореактивация** заключается в расщеплении ферментом *фотолиазой*, активируемой видимым светом, тиминовых димеров, возникающих в ДНК под действием ультрафиолетового излучения.

**Прямая** репарация происходит тогда, когда в нуклеотиде, встроенном в цепь ДНК, отсутствует азотистое основание, но сохраняется остаток дезоксирибозы, связанный с другими нуклеотидами. В этом случае нет необходимости разрезать цепь ДНК, вырезать дефектный фрагмент и застраивать разрыв. Прямую репарацию осуществляет фермент ДНК-инсертаза, которая в соответствии с принципом комплементарности присоединяет к имеющейся в цепи дезоксирибозе нужное основание.

**Эксцизионная** репарация заключается в узнавании повреждения ДНК, вырезании поврежденного участка, ресинтезе ДНК по матрице интактной цепочки с восстановлением непрерывности цепи ДНК. Такой способ называют также репарацией по типу выщепления – замещения, или механизм «режь – латай». Эксцизионная репарация представляет собой многоэтапный процесс. Он заключается в следующем:

- 1) «узнавание» повреждения;
- 2) надрезание одной цепи ДНК вблизи повреждения (инцизия);
- 3) удаление поврежденного участка (эксцизия);
- 4) ресинтез ДНК на месте удаленного участка;
- 5) восстановление непрерывности репарируемой цепи за счет образования фосфодиэфирных связей между нуклеотидами (Рис 10.2).



*Рисунок 10.2. – Схема эксцизионной репарации*

Репарация начинается с присоединения **ДНК-N-гликозилазы** к поврежденному основанию. Существует множество ДНК-N-гликозилаз, специфичных к разным модифицированным основаниям. Ферменты гидролитически расщепляют N-гликозидную связь между измененным основанием и дезоксирибозой, это приводит к образованию АП (апуринового-апиримидинового) сайта в цепи ДНК (первый этап). Репарация АП-сайта может происходить при участии только **ДНК-инсертазы**, которая присоединяет к дезоксирибозе основание в соответствии с правилом комплементарности. В этом случае нет необходимости разрезать цепь ДНК, вырезать неправильный нуклеотид и репарировать разрыв. При более сложных нарушениях структуры ДНК необходимо участие всего комплекса ферментов, участвующих в репарации (Рис. 10.2.): **АП-эндонуклеаза** распознает АП-сайт и разрезает возле него цепь ДНК (II этап). Как только в цепи возникает разрыв, в работу вступает **АП-экзонуклеаза**, которая удаляет фрагмент ДНК, содержащий

ошибку (III этап). **ДНК-полимераза  $\beta$**  застраивает возникшую брешь по принципу комплементарности (IV этап). **ДНК-лигаза** соединяет 3'-конец вновь синтезированного фрагмента с основной цепью и завершает репарацию повреждения (V этап).

**Пострепликативная** репарация включается в тех случаях, когда эксцизионная не справляется с устранением всех повреждений ДНК до её репликации. В этом случае воспроизведение поврежденных молекул приводит к появлению ДНК с одностранными пробелами, а нативная структура восстанавливается при рекомбинации.

Врожденные дефекты системы репарации являются причиной таких наследственных заболеваний, как пигментная ксеродерма, атаксия-телеангиэктазия, трихотриодистрофия, прогерия.

Нормальные клетки, содержащие поврежденную ДНК, которая не может быть репарирована, подвергаются апоптозу.

## Биосинтез РНК

Транскрипция – первая стадия реализации генетической информации в клетке. В ходе этого процесса происходит синтез цепи РНК, нуклеотидная последовательность которой комплементарна последовательности одной из цепей ДНК. В отличие от репликации, при которой копируется вся хромосома, транскрипция протекает избирательно. Процесс управляется особыми регуляторными последовательностями, указывающими начало и конец участков ДНК, подлежащих транскрипции. Единицы процесса транскрипции несут информацию о структуре одного или нескольких белков. Участок ДНК, в котором заключена информация о структуре одного белка, называется **структурным геном**. Внутри этих участков существуют разрывы – **интроны**, которые не несут генетической информации, относящейся к синтезу белка, кодируемого данным геном. Кодированные части гена называются **экзонами**.

Субстратами и одновременно источниками энергии для транскрипции являются рибонуклеозидтрифосфаты (ЦТФ, ГТФ, АТФ, УТФ). Процесс осуществляется **ДНК-зависимой РНК-полимеразой**, которая у большинства изученных организмов представляет собой комплекс 4 и более неидентичных субъеди-

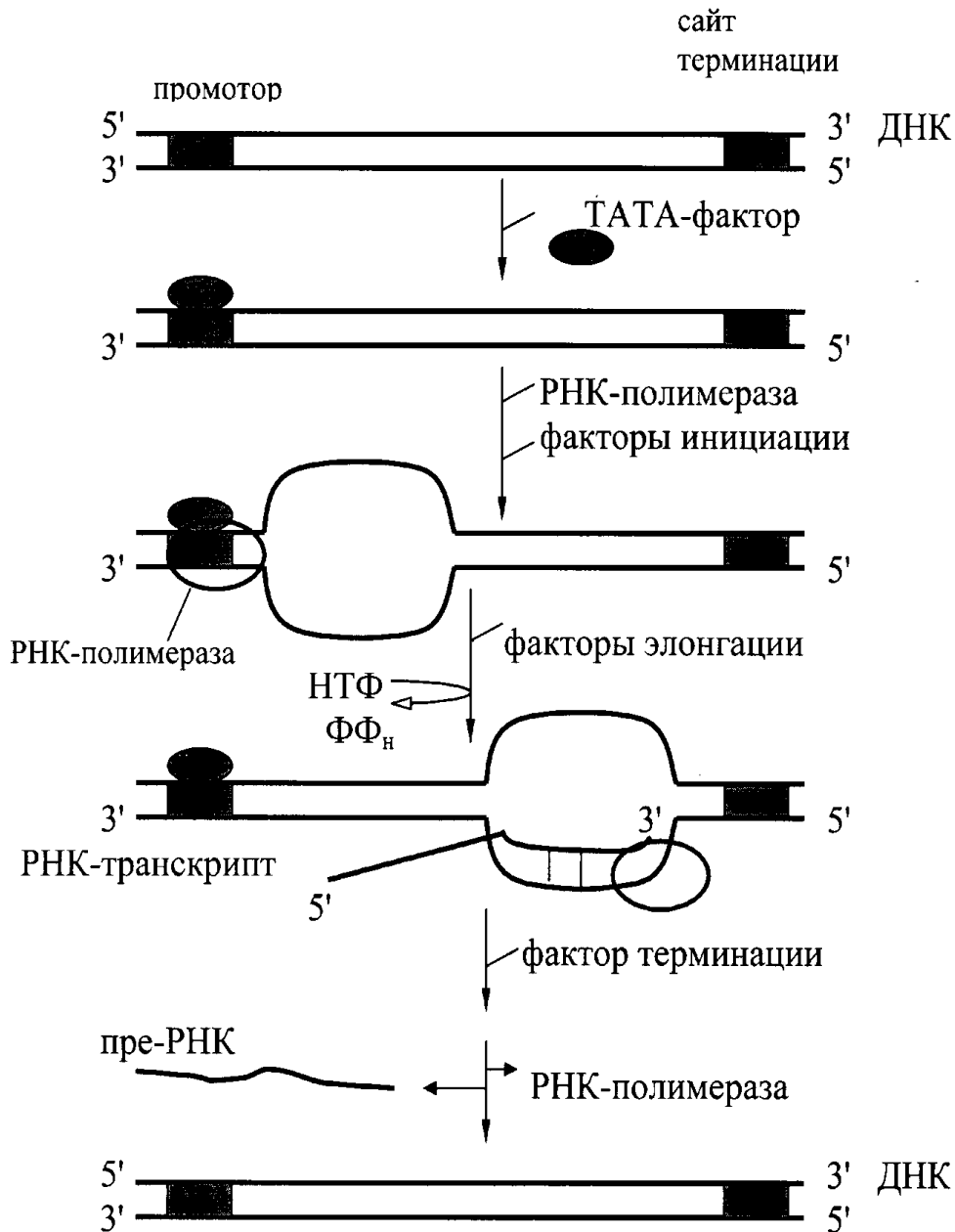


ниц, выполняющих разные роли. В ядрах эукариот обнаружены 3 специализированные РНК-полимеразы: **РНК-полимераза I**, синтезирующая 45 S пре-рРНК; **РНК-полимераза II**, ответственная за синтез пре-мРНК; **РНК-полимераза III**, синтезирующая пре-тРНК и 5 S рРНК.

В процессе транскрипции различают 3 стадии: **инициацию**, **элонгацию** и **терминацию** (Рис. 10.3). Инициация начинается с активации *промотора* (знак начала транскрипции). Это происходит при участии особого белка – ТАТА-фактора, называемого так потому, что он взаимодействует со специфической последовательностью нуклеотидов промотора – ТАТААА- (ТАТА-бокс). Присоединение ТАТА-фактора облегчает взаимодействие промотора с РНК-полимеразой. Факторы инициации вызывают изменение конформации фермента и раскручивание спирали ДНК с образованием транскрипционной вилки, в которой матрица ДНК доступна для инициации синтеза цепи РНК. РНК-полимераза синтезирует небольшой олигонуклеотид. После этого к ней присоединяются факторы элонгации, значительно повышающие активность фермента и облегчающие расхождение цепей ДНК.

РНК-полимераза перемещается вдоль молекулы ДНК и копирует одну из её цепей, последовательно присоединяя нуклеотиды в образующейся РНК в соответствии с принципом комплементарности. Синтез цепи РНК идет от 5'- к 3'-концу, при этом матричная цепь ДНК всегда антипараллельна синтезируемой мРНК. По мере движения РНК-полимеразы растущая цепь РНК отходит от матрицы, а двойная спираль ДНК позади фермента восстанавливается. Когда РНК-полимераза достигает конца копируемого участка (*терминатора*), фермент и первичный транскрипт отделяются от матрицы. Этот этап происходит с участием факторов терминации.

**Регуляция транскрипции.** Транскрипция не связана с фазами клеточного цикла; она может ускоряться и замедляться в зависимости от потребности клетки или организма в определенном белке. Такое избирательное функционирование возможно благодаря существованию механизмов регуляции генной экспрессии, которые действуют на разных уровнях. С их помощью клетка экономит свои ресурсы и в каждый момент времени синтезирует определенный набор веществ, а не весь возможный их спектр.



**Рисунок 10.3. – Схема процесса транскрипции**

Среди нескольких уровней регуляции экспрессии генов наиболее существенной является регуляция синтеза белка на уровне транскрипции. Суть такого типа регуляции сводится к ускорению или замедлению процессов транскрипции определенных генов, что в конечном итоге отражается на скорости синтеза их продуктов.

Наилучшим образом регуляция транскрипции генов изучена у прокариот. Их особенностью является организация генов, участвующих в одном метаболическом пути, в особые структурные

единицы – **опероны**. Оперонами называют участки молекулы ДНК, которые содержат информацию о группе функционально связанных структурных белков, и регуляторную зону, контролирующую транскрипцию этих генов. Структурные гены оперона экспрессируются согласованно: либо все сразу, либо ни один из них. Это дает возможность прокариотам «включать» и «выключать» транскрипцию такой группы генов одновременно. Связывание РНК-полимеразы с промотором зависит от присутствия белка-репрессора на смежном с промотором участке – **операторе**. **Белок-репрессор** (продукт **гена-регулятора**, не входящего в оперон) синтезируется в клетке с постоянной скоростью и имеет сродство к операторному участку. Структурные участки промотора и оператора частично перекрываются, поэтому присоединение белка-репрессора к оператору создает стерическое препятствие для присоединения РНК-полимеразы и, соответственно, делает невозможной транскрипцию структурных генов.

Гипотеза оперона была предложена Ф.Жакобом и Ж.Моно на основании данных, полученных при изучении свойств лактозного оперона *E.coli*, т.е. оперона, в котором закодированы белки, участвующие в усвоении лактозы. Клетки кишечной палочки обычно используют в качестве источника углерода глюкозу. Но, если в среде культивирования глюкозу заменить на лактозу, клетки в течение нескольких минут перестраиваются и начинают утилизировать лактозу. Теория оперона объясняет это явление следующим образом. В отсутствие индуктора (лактозы) белок-репрессор связан с оператором, блокируя таким образом транскрипцию структурных генов. Когда в среде появляется индуктор (лактоза), то он присоединяется к белку-репрессору, изменяет его конформацию, снижает сродство к оператору и способствует отделению репрессора от оператора. РНК-полимераза связывается со ставшим доступным промотором и транскрибирует структурные гены. Это явление называется *индукцией* синтеза белков.

Регуляция транскрипции генов высших организмов сходна с регуляцией экспрессии генов прокариот. Основное различие состоит в значительно большем количестве участков ДНК и регуляторных факторов, контролирующих этот процесс. Скорость транскрипции в основном определяется скоростью формирования инициаторного комплекса. В настоящее время идентифицировано

более 100 белков, способных взаимодействовать со специфическими регуляторными последовательностями ДНК, влияя тем самым на процесс сборки транскрипционного комплекса. Эти белки имеют один или несколько доменов, обеспечивающих выполнение регуляторных функций:

- ДНК-связывающие домены; ответственные за узнавание и связывание регуляторных факторов со специфическими участками на молекуле ДНК;
- домены, активирующие транскрипцию за счет связывания с транскрипционными факторами, коактиваторами или РНК-полимеразой;
- антирепрессорные домены, благодаря которым белки способны взаимодействовать с гистонами нуклеосом и освобождать участки ДНК для транскрипции;
- домены, связывающие лиганды; присоединение лиганда способствует формированию ДНК-связывающего участка, узнающего специфическую последовательность в регуляторной зоне ДНК и индуцирующего/подавляющего транскрипцию определенных генов; к лигандам-индукторам транскрипции относятся стероидные гормоны, ретиноевая кислота, кальцитриол и гормоны щитовидной железы; репрессорами могут быть конечные продукты метаболических путей.

В молекуле ДНК на небольшом расстоянии до стартовой точки транскрипции имеются короткие специфические последовательности: ЦААТ-элемент, ЦГ-бокс и октамерный бокс, узнающие факторы транскрипции. Эти элементы есть во всех клетках, и постоянно транскрибируемые гены нуждаются только в них. В то же время для генов, подвергающихся адаптивной регуляции, обнаружены участки молекулы ДНК, более удаленные от промотора, но тоже участвующие в транскрипции. Эти нуклеотидные последовательности бывают двух типов. **Энхансеры** – участки ДНК, присоединение к которым регуляторных белков увеличивает скорость транскрипции. Если же участки ДНК, связываясь с белками, обеспечивают замедление транскрипции, то их называют **сайленсерами** (Рис. 10.4).



*Рисунок 10.4. – Организация регуляторных блоков транскрипции*

### Процессинг РНК

Все виды РНК синтезируются в виде предшественников и нуждаются в **процессинге** (созревании).

Процессинг мРНК начинается с **кэпирования**. Фермент гуанилилтрансфераза гидролизует макроэргическую связь в молекуле ГТФ и присоединяет нуклеозиддифосфатный остаток 5'-фосфатной группой к 5'-концу пре-мРНК с образованием 5',5'-фосфодиэфирной связи. Последующее метилирование остатка гуанина в составе ГТФ с образованием N<sub>7</sub>-метилгуанозина завершает образование кэпа. Модифицированный 5'-конец удлиняет время жизни мРНК, защищая её от действия 5'-экзонуклеаз в цитоплазме. Кэпирование важно для обеспечения инициации трансляции, так как иницирующие кодоны распознаются рибосомой только если присутствует кэп. Наличие кэпа необходимо для работы системы, обеспечивающей удаление интронов.

3'-конец пре-мРНК также подвергается модификации, при которой специальным ферментом полиА-полимеразой формируется полиА-последовательность, состоящая из 100-200 остатков адениловой кислоты. Наличие полиА-«хвоста» облегчает выход мРНК из ядра и замедляет её гидролиз в цитоплазме. Ферменты, осуществляющие кэпирование и полиаденилирование, избирательно связываются с РНК-полимеразой II, и в отсутствие полимеразы неактивны.

Первичный транскрипт представляет собой строго комплементарную матрицу нуклеиновую кислоту, содержащую как кодирующие участки – **экзоны**, так и некодирующие – **интроны**. В ходе дальнейших стадий процессинга последовательности интронов «вырезаются» из первичного транскрипта, концы экзонов соединяются друг с другом. Такая модификация РНК называется **сплайсингом**. В результате сплайсинга из первичных транскриптов образуются молекулы «зрелой» мРНК.

Для некоторых генов описаны альтернативные пути сплайсинга и полиаденилирования одного и того же первичного транскрипта. Разные варианты сплайсинга могут приводить к образованию разных изоформ одного и того же белка. Например, ген тропонина состоит из 18 экзонов и кодирует многочисленные изоформы этого мышечного белка, которые образуются в тканях на разных стадиях их развития.

Процессинг тРНК заключается в формировании 3'-конца, удалении единственного интрона и модификациях азотистых оснований. Формирование акцепторного конца катализирует РНК-аза, которая поочередно удаляет нуклеотиды до достижения последовательности ЦЦА, одинаковой для всех тРНК. Для некоторых тРНК формирование последовательности ЦЦА происходит в результате присоединения этих нуклеотидов.

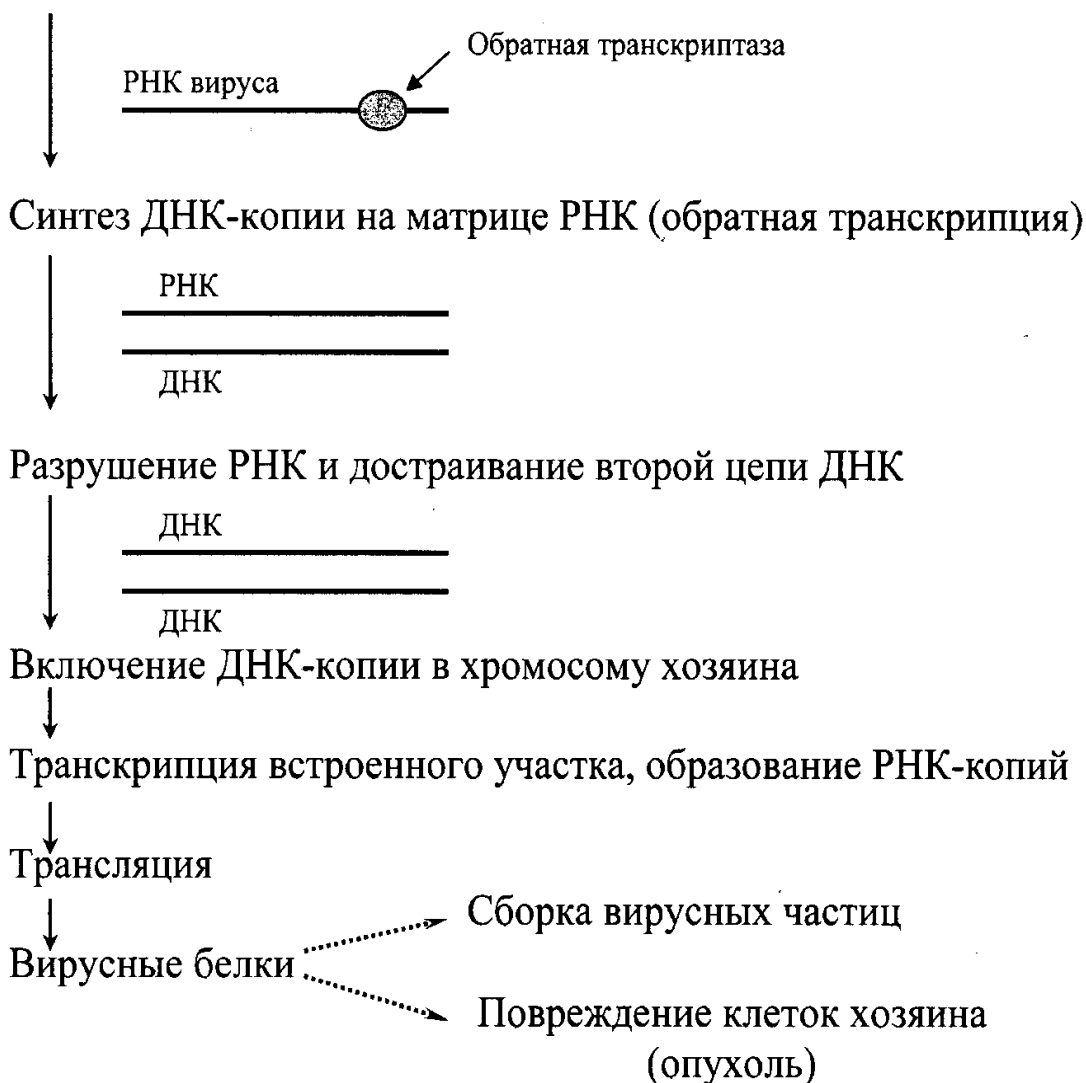
Процессинг рРНК. Гены рРНК транскрибируются РНК-полимеразой I с образованием идентичных первичных транскриптов (45S рРНК). В результате процессинга из этого предшественника образуются 3 типа рРНК: 18S, входящая в состав малой субъединицы рибосом, а также 28S и 5,8S, локализующиеся в большой субъединице. Остальная часть транскрипта разрушается в ядре. 5S рРНК большой субъединицы транскрибируется отдельно.

### **Обратная транскрипция**

Некоторые РНК-содержащие вирусы (вирус саркомы Рауса, ВИЧ) обладают уникальным ферментом – РНК-зависимой ДНК-полимеразой, часто называемой **обратной транскриптазой** или **ревертазой**. Этот фермент обладает тремя активностями. Первая из них – РНК-зависимая ДНК-полимеразная. Она обеспечивает синтез одноцепочечной комплементарной ДНК на матрице РНК. Вторая – рибонуклеазная активность, обеспечивающая удаление

цепи РНК. Третья активность – ДНК-зависимая ДНК-полимеразная, обеспечивающая синтез второй цепи ДНК. В результате образуется ДНК которая содержит гены, обуславливающие развитие рака (**онкогены**). Эта ДНК встраивается в геном эукариотической клетки, где может в течение многих поколений оставаться в скрытом состоянии (Рис. 10.5).

Проникновение ретровируса в клетку



**Рисунок 10.5. – Обратная транскрипция**

При определенных условиях такие гены могут активироваться и вызвать репликацию вируса, при других же условиях они могут способствовать перерождению такой клетки в раковую. Вирусы с таким механизмом размножения индуцируют развитие опухолей у животных и человека, поэтому их еще называют **онкогенными вирусами**.

## ГЛАВА 11

### БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

Завершающий этап реализации генетической информации, заключающийся в синтезе полипептидных цепей на матрице мРНК, называется **трансляцией**. В результате этого процесса генетическая информация с языка последовательности нуклеотидов в мРНК переводится (транслируется) на язык последовательности аминокислот в молекуле белка. Роль своеобразного «словаря» при этом переводе выполняет **генетический код**. Это свойственная всем живым организмам единая система записи наследственной информации в виде нуклеотидной последовательности, которая определяет порядок включения аминокислот в синтезирующуюся полипептидную цепь. Для генетического кода характерны следующие свойства:

- триплетность – каждая аминокислота кодируется тремя нуклеотидами;
- универсальность – код одинаков для всех организмов;
- однозначность (специфичность) – каждому кодону соответствует только одна определенная аминокислота;
- вырожденность – возможность кодирования одной и той же аминокислоты несколькими кодонами;
- неперекрываемость – кодоны считываются последовательно, один за другим, не перекрываясь;
- однонаправленность - декодирование мРНК осуществляется в направлении  $5' \rightarrow 3'$ ;
- колинеарность – соответствие последовательности аминокислот в белке последовательности нуклеотидов в зрелой мРНК;
- существование нескольких типов кодонов – иницирующего (АУГ), смысловых и терминирующих (УАА, УАГ, УГА).

Для осуществления синтеза белка необходимо согласованное взаимодействие большого числа компонентов (Табл. 11.1.).



Таблица 11.1. - Компоненты белок-синтезирующей системы

Компоненты	Функции
1. Аминокислоты	Субстраты для синтеза
2. тРНК	Адапторы, обеспечивающие доставку и включение нужной аминокислоты в белок
3. Аминоацил-тРНК-синтетазы	Обеспечение специфического связывания аминокислоты с соответствующей тРНК
4. мРНК	Матрица для синтеза
5. Рибосомы	Место синтеза белка
6. АТФ, ГТФ	Источники энергии
7. Факторы инициации, элонгации, терминации	Внерибосомные белки, необходимые для соответствующих этапов трансляции
8. Mg <sup>2+</sup>	Кофактор, стабилизирующий структуру рибосом.

Синтез белка происходит в несколько стадий:

- подготовка к синтезу, заключающаяся в активации аминокислот и образовании аминоацил-тРНК;
- инициация;
- элонгация;
- терминации;
- посттрансляционная модификация белка.

**Активация аминокислот.** На стадии подготовки к синтезу каждая из 20 протеиногенных аминокислот присоединяется α-карбоксильной группой к 2'- или 3'-гидроксильному радикалу акцепторного конца соответствующей тРНК с образованием сложноэфирной связи. Эти реакции, происходящие в цитозоле, катализирует семейство **аминоацил-тРНК-синтетаз** (aa-тРНК-синтетаз). Каждый фермент этого семейства узнаёт только одну определенную аминокислоту и те тРНК, которые способны связаться с этой аминокислотой. Аминоацил-тРНК-синтетазы активируют аминокислоты в 2 стадии. В ходе первой аминокислота присоединяется к ферменту и реагирует с АТФ с образованием

богатого энергией промежуточного соединения – аминокциладенилата. На второй стадии аминокислотный остаток аминокциладенилата, оставаясь связанным с ферментом, взаимодействует с молекулой соответствующей тРНК и присоединяется к концевому 3'(или 2')-ОН-группе АМФ, который вместе с двумя остатками ЦМФ образует концевой триплет ЦЦА. В результате образуется **аминоацил-тРНК** и освобождается АМФ. Энергия, заключенная в макроэргической связи аминокцил~тРНК, впоследствии используется на образование пептидной связи в ходе синтеза белка.

Высокая специфичность aa-тРНК-синтетаз в связывании аминокислоты с соответствующими тРНК лежит в основе точности трансляции генетической информации. В активном центре этих ферментов есть 4 специфических участка для узнавания: аминокислоты, тРНК, АТФ и четвертый – для присоединения молекулы  $H_2O$ , которая участвует в гидролизе неправильных аминокциладенилатов. То есть, в активном центре этих ферментов существует корректирующий механизм, обеспечивающий немедленное удаление ошибочно присоединенного аминокислотного остатка.

Аминокислота, присоединяясь к тРНК, в дальнейшем не определяет специфических свойств aa-тРНК, её структуру не узнает ни рибосома, ни мРНК. И участие конкретной аминокислоты в синтезе белка зависит только от структуры тРНК, а точнее, от комплементарного взаимодействия антикодона аминокцил-тРНК с кодоном мРНК. Иными словами, молекулы тРНК в синтезе белка играют роль *адапторов*, т.е. приспособлений, при помощи которых аминокислоты включаются в определенном порядке в растущую полипептидную цепь.

**Инициация.** Инициация трансляции представляет собой процесс, в ходе которого происходит образование комплекса, включающего иницирующую метионил-тРНК (мет-тРНК<sub>i</sub>), мРНК и рибосому (Рис 11.1). В этом процессе участвуют не менее 10 факторов инициации (eIF). Первоначально 40S субъединица рибосомы соединяется с факторами инициации, которые препятствуют её связыванию с 60 S субъединицей, но стимулируют объединение с мет-тРНК<sub>i</sub>, ГТФ и другими факторами инициации. Этот сложный комплекс связывается с 5'-концом мРНК при

участии нескольких eIF, один из которых присоединяется к кэп-участку. Прикрепившись к мРНК, 40S субъединица начинает скользить по некодирующей части мРНК до тех пор, пока не достигнет иницирующего кодона АУГ кодирующей нуклеотидной последовательности. Скольжение 40S субъединицы по мРНК сопровождается гидролизом АТФ, энергия которого затрачивается на преодоление участков спирализации в нетранслируемой части мРНК.

Достигнув начала кодирующей последовательности мРНК, 40S субъединица останавливается и связывается с другими факторами инициации, ускоряющими присоединение 60S субъединицы и образование 80S рибосомы за счет гидролиза ГТФ. При этом формируются А (**аминоацильный**), Р (**пептидилный**) и сайты рибосомы, причем в Р-сайте оказывается кодон АУГ с присоединенной к нему Мет-тРНК<sub>i</sub>. Помимо сайтов А и Р в рибосоме формируется еще сайт Е. Он служит для выхода освободившихся тРНК и называется сайтом выхода или exit-сайтом.

**Элонгация.** На данном этапе полипептидная цепь удлиняется за счет ковалентного присоединения последующих аминокислот, каждая из которых доставляется к рибосоме и встраивается в определенное положение с помощью соответствующей тРНК. Это самый продолжительный этап белкового синтеза. В начале данного этапа в Р-центре находится иницирующий кодон с присоединенной к нему мет-тРНК<sub>i</sub>, а в А-центре – триплет, кодирующий включение следующей аминокислоты синтезируемого белка. Включение каждой аминокислоты происходит в 3 стадии (Рис. 11.2).

На первой стадии аа-тРНК следующей за метионином аминокислоты связывается с А-центром рибосомы. Включение аа-тРНК в рибосому происходит за счет энергии гидролиза ГТФ при участии белкового фактора элонгации.

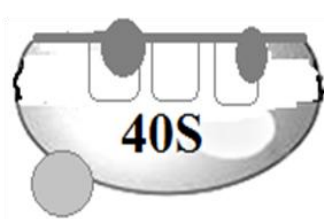
Метионин от инициаторной метионил-тРНК, находящейся в Р-центре, присоединяется к  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-группе аминоацильного остатка аа-тРНК А-центра с образованием пептидной связи. Эта реакция называется реакцией **транспептидации** и катализируется 28S рРНК большой субъединицы. Это один из примеров РНК, обладающих свойствами ферментов (рибозимов).

+ eIF1, eIF3, eIF1A



Малая субъединица рибосомы (40S) связывается с факторами инициации (1, 3, 1A).

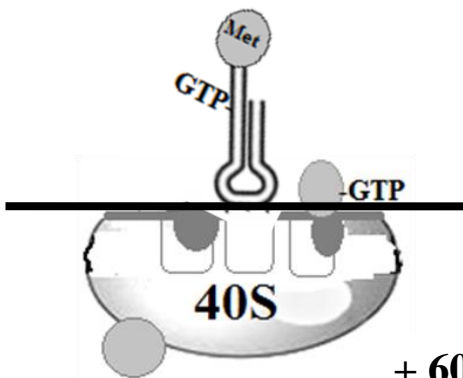
+ ГТФ-eIF2, Мет-тРНК<sub>i</sub>, ГТФ-eIF5



Мет-тРНК<sub>i</sub> связывается с фактором eIF2, объединенным с ГТФ. Этот тройной комплекс связывается с 40S субъединицей и ГТФ-eIF5. Так возникает преиницирующий комплекс 43S.

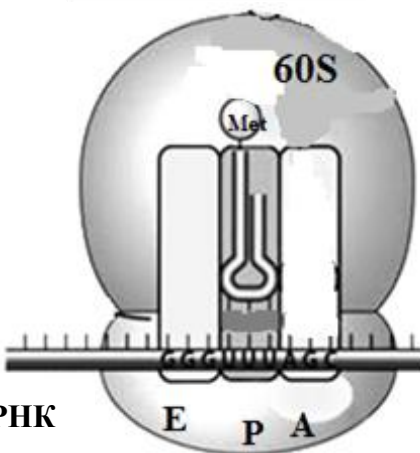
+ мРНК- eIF4F

мРНК связывается с eIF4F, который обеспечивает её ассоциацию с преиницирующим комплексом 43S.



В результате образуется комплекс 48S. Он сканирует мРНК, пока не обнаружит кодон АУГ.

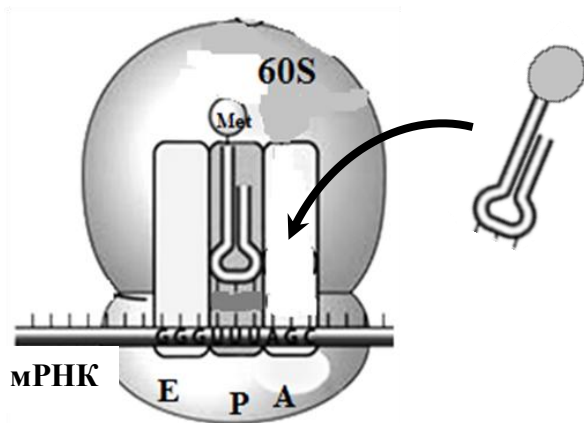
+ 60S



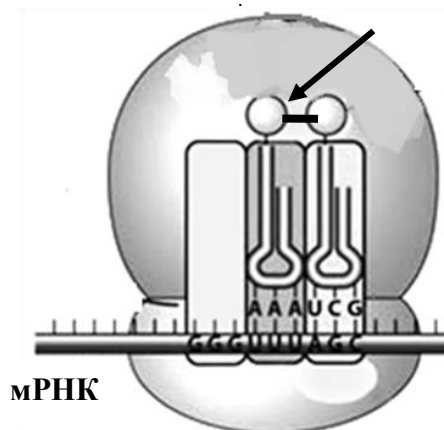
После обнаружения кодона АУГ к комплексу присоединяется большая субъединица рибосомы (60S). В рибосоме формируются сайты: аминокатильный (А), пептидильный (Р), сайт выхода (Е). Сборка иницирующего комплекса осуществляется за счет гидролиза ГТФ.

мРНК

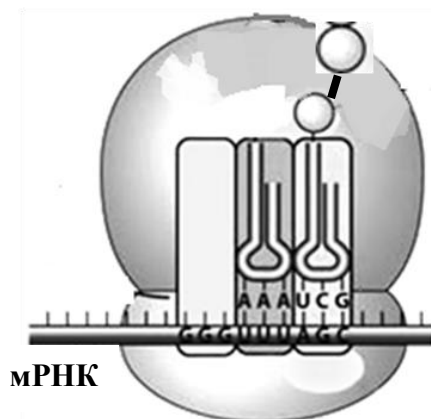
*Рисунок 11.1. – Инициация трансляции*



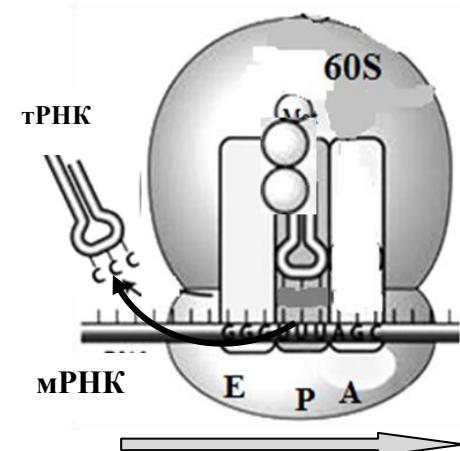
Элонгация начинается со связывания аминоксил-тРНК с А-сайтом. Этот процесс требует энергии гидролиза ГТФ.



После того, как нужная аминоксил-тРНК оказывается в А-сайте, пептидил-трансфераза катализирует образование пептидной связи между аминоксилотой в А-сайте и аминоксилотой в Р-сайте.



После реакции транс-пептидации пептидил-тРНК оказывается в А-сайте



Далее рибосома продвигается на один кодон и вновь синтезированная поли пептидная цепь перемещается из сайта А в сайт Р. Этот этап называется транслокацией. Для добавления следующей аминоксилоты все этапы элонгации повторяются.

*Рисунок 11.2. – Элонгация*

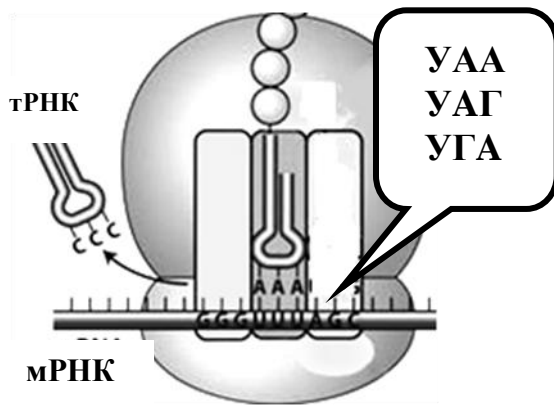
Удлиненная на один аминокислотный остаток дипептидил-тРНК перемещается из А-сайта в Р-сайт в результате **транслокации** рибосомы. Процесс происходит за счет энергии гидролиза ГТФ и с участием ещё одного фактора элонгации. Свободная от метионина тРНК<sub>i</sub><sup>Met</sup> покидает рибосому через Е-сайт, а в область А-сайта попадает следующий кодон.

После завершения третьей стадии элонгации рибосома в Р-сайте имеет дипептидил-тРНК, а в А-сайт попадает триплет, кодирующий включение в полипептидную цепь новой аминокислоты. Начинается следующий цикл элонгации, в ходе которого на рибосоме снова проходят описанные выше события. Повторение этих циклов по числу смысловых кодонов мРНК и составляет весь этап элонгации.

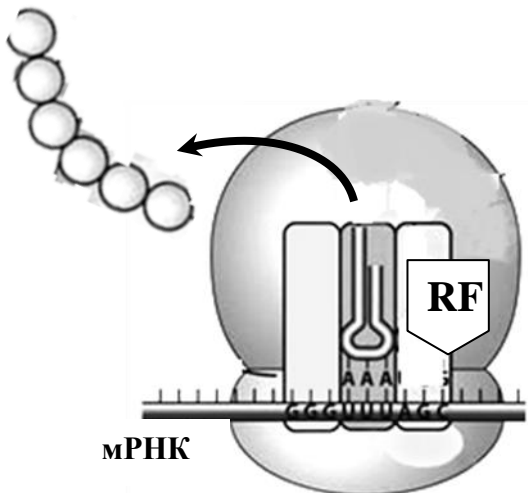
**Терминация** трансляции (Рис. 11.3) наступает в том случае, когда в А-центр рибосомы попадает один из стоп-кодонов (УАГ, УАА, УГА). Для этих кодонов нет соответствующих тРНК. Вместо них к рибосоме присоединяются 2 белковых *фактора терминации* (рилизинг-фактора). Один из них катализирует отщепление синтезированного пептида от тРНК, другой за счет энергии гидролиза ГТФ вызывает диссоциацию рибосомы на субъединицы.

Все освободившиеся компоненты белоксинтезирующей системы используются вновь в очередном цикле. Реакции белкового синтеза протекают по конвейерному типу, они синхронизированы, что обеспечивает максимальную скорость и эффективность процесса.

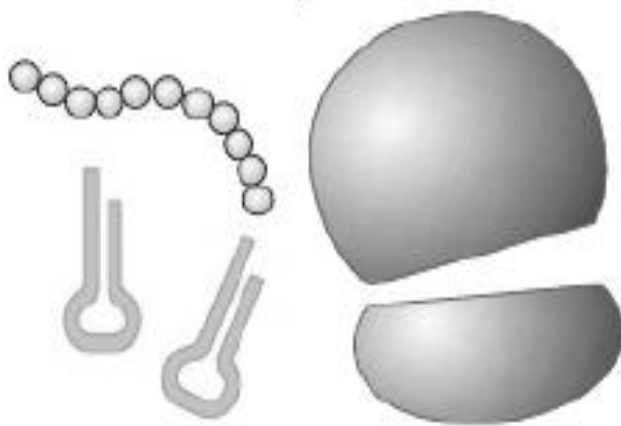
Почти всегда на одной молекуле мРНК трансляцию осуществляют несколько рибосом, образуя *полирибосомы (полисомы)*. Каждая рибосома в полисоме способна синтезировать полную полипептидную цепь. Образование групп рибосом повышает эффективность использования мРНК, поскольку на ней может одновременно синтезироваться несколько идентичных полипептидных цепей. Полисомы находятся или в свободном состоянии, или в тесной связи с мембранами эндоплазматической сети. мРНК, кодирующие внутриклеточные белки, содержатся преимущественно в свободных полисомах, а мРНК, кодирующие секреторные белки, – в мембраносвязанных.



Терминация синтеза белка наступает, когда в А-сайт попадает один из стоп-кодонов (УАА, УАГ, УГА).



Фактор терминации (рилизинг-фактор, RF) распознает стоп-кодон и связывается с ним. Это вызывает высвобождение белка, прикрепленного к тРНК в Р-сайте. Этот процесс является энергозависимым и требует гидролиза ГТФ.



После высвобождения белка компоненты белок-синтезирующей системы диссоциируют.

**Рисунок 11.3. – Терминация трансляции**

## Посттрансляционные изменения белков

Многие белки синтезируются в неактивном виде (предшественники) и после схождения с рибосом подвергаются постсинтетическим структурным модификациям. Эти конформационные и структурные изменения полипептидных цепей получили название посттрансляционных изменений. Они включают удаление части полипептидной цепи (*частичный протеолиз*), ковалентное присоединение одного или нескольких низкомолекулярных лигандов, связывание между собой субъединиц олигомерного белка, приобретение белком нативной конформации (**фолдинг**). В этом процессе участвуют белки-шапероны (см. главу 2).

При **частичном протеолизе**, например, неактивные предшественники секретируемых ферментов – проферменты – образуют активный фермент после расщепления по определенным участкам молекулы. Наглядным примером последовательного протеолиза служит и образование активных форм инсулина или глюкагона из препрогормонов.

В ходе **ковалентных модификаций** структурные белки и ферменты могут активироваться или инактивироваться в результате присоединения различных химических групп: фосфатных, ацильных, метильных, олигосахаридных и др. Многочисленным модификациям подвергаются боковые радикалы некоторых аминокислот: в тиреоглобулине йодируются остатки тирозина, в факторах свертывания крови карбоксилируются остатки глутамата, в цепях тропоколлагена гидроксилируются остатки пролина и лизина.

У некоторых белков на N-конце имеются короткие последовательности гидрофобных аминокислотных остатков, которые называют сигнальными последовательностями. Эти участки играют важную роль в транспорте белков через мембраны. В процессе переноса через мембрану сигнальная последовательность отщепляется сигнальной пептидазой. В итоге белок приобретает функциональную активность, оказавшись в соответствующей органелле или вне клетки.

Существование посттрансляционной модификации расширяет возможности клеток в регуляции метаболизма. Изменения количества или активности ферментов, участвующих в модифи-



кации белков, приводят к снижению или увеличению концентрации последних, что отражается на скорости соответствующих процессов.

### **Регуляция синтеза белка**

Соматические клетки всех тканей и органов многоклеточного организма содержат одинаковую генетическую информацию, но отличаются друг от друга по содержанию тех или иных белков. Для эритроцитов, например, характерно высокое содержание гемоглобина, для клеток соединительной ткани – коллагена, – клетки поджелудочной железы вырабатывают много ферментов. В отдельных клетках, тканях и органах содержание разных белков меняется в онтогенезе. Все это свидетельствует о том, что в живых организмах существуют механизмы, регулирующие белковый синтез. Они функционируют под действием внутренних и внешних факторов на каждой из стадий сложного процесса синтеза белка. Количество протеинов может изменяться в результате увеличения числа некоторых генов, регуляции на стадии транскрипции, процессинга мРНК. Скорость белкового синтеза определяется также и временем жизни мРНК, регуляцией синтеза на уровне трансляции и посттрансляционной модификации белков.

Регуляция на самых ранних этапах (на уровне экспрессии генов) является наиболее выгодной и поэтому широко встречается у эукариотических организмов. На экспрессию генов у эукариот влияет целый ряд факторов.

**Организация хроматина и доступность генов:** в ядрах дифференцированных клеток хроматин имеет такую укладку, что только небольшое число генов доступно для транскрипции. Различают участки *гетерохроматина*, в которых ДНК упакована очень компактно и для транскрипции недоступна, и участки *эухроматина*, имеющие более рыхлую укладку и способные связывать РНК-полимеразу. В разных типах клеток в область эухроматина попадают разные гены. Это ведет к тому, что в разных тканях транскрибируются разные участки хроматина.

**Изменение количества генов:** амплификация (увеличение числа) генов при необходимости увеличения синтеза определенного генного продукта; утрата генетического материала (процесс, происходящий при созревании некоторых типов клеток, напри-

мер, эритроцитов).

**Перестройка генов или генетическая рекомбинация:** перемещение генов между хромосомами или внутри одной хромосомы, объединение генов с образованием измененной хромосомы, которая после таких изменений способна к репликации и транскрипции.

Регуляция транскрипции (см. главу 10).

Существенное значение в обеспечении разнообразия белков играет посттранскрипционный процессинг РНК. Основные способы такой регуляции – альтернативный сплайсинг и изменение стабильности РНК.

Известны и некоторые случаи регуляции количества и разнообразия белков путем изменения скорости процесса их трансляции. Наиболее изученный пример – синтез белков в ретикулоцитах. Известно, что на этом уровне дифференцировки кроветворные клетки лишены ядра, а, следовательно, и ДНК. Регуляция синтеза белка-глобина осуществляется только на уровне трансляции и зависит от содержания гема в клетке.

### **Ингибиторы матричных биосинтезов**

Существует большая группа веществ, ингибирующих синтез ДНК, РНК или белков. Некоторые из них нашли применение в медицине для лечения инфекционных болезней и новообразований, а другие являются для человека сильнейшими токсинами. К последним можно отнести токсин бледной поганки  $\alpha$ -аманитин, который является ингибитором эукариотических РНК-полимераз.

Действие ингибиторов матричных биосинтезов как лекарственных препаратов основано на:

- модификации матриц (ДНК или РНК);
- белоксинтезирующего аппарата (рибосом);
- инактивации ферментов.

Центральное место среди них принадлежит антибиотикам. Краткие сведения об антибиотиках, ингибирующих матричные синтезы, приведены в таблице 11.2.

Таблица 11.2. Антибиотики – ингибиторы матричных биосинтезов

Антибиотики	Механизм действия
<i>Ингибиторы репликации</i>	
Мелфалан	Алкилирует ДНК
<i>Ингибиторы репликации и транскрипции</i>	
Дауномицин Доксорубицин Актиномицин D	Встраиваются между парами оснований ДНК, блокируют синтез ДНК и РНК у про- и эукариот
Номермицин Новобиоцин	Ингибируют ДНК-топоизомеразу, ответственную за суперспирализацию ДНК
<i>Ингибиторы транскрипции</i>	
Рифампицин	Связываются с бактериальной РНК-полимеразой
<i>Ингибиторы трансляции</i>	
Тетрациклины	Ингибируют элонгацию: связываются с 30S субъединицей рибосомы и блокируют присоединение aa-tРНК в А-центр
Левомецетин	Присоединяется к 50S субъединице рибосомы и ингибирует пептидилтрансферазную активность
Эритромицин	Присоединяется к 50S субъединице рибосомы и ингибирует транслокацию
Стрептомицин	Ингибирует инициацию трансляции. Связывается с 50S субъединицей рибосомы, вызывает ошибки в прочтении информации, закодированной в мРНК

## ГЛАВА 12

### МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Методы молекулярной биологии все более активно применяются в диагностике, составлении прогнозов течения и определении стратегий лечения многих заболеваний, подборе индивидуальной лекарственной терапии. Молекулярная диагностика позволяет выявлять полиморфизмы и вариации в генетическом материале, обнаруживать присутствие чужеродной ДНК или РНК. Для проведения молекулярно-биологических исследований требуется выделить ДНК из исследуемого образца, а затем получить достаточное количество её копий. Методы выделения и амплификации генов, исследования и манипуляции с последовательностями нуклеотидов основываются на использовании ферментов рестрикции, векторов клонирования, молекулярных зондов, полимеразной цепной реакции, гель-электрофореза и блот-анализа.

**Рестрикционные эндонуклеазы (рестриктазы)** представляют собой группу ферментов, которые разрезают двойные цепи ДНК. Эти ферменты распознают специфические последовательности, называемые сайтами рестрикции. При этом каждая рестриктаза разрывает цепь ДНК лишь в определенных, характерных для этой рестриктазы, участках. В результате действия определенной рестриктазы молекула ДНК расщепляется на уникальный набор фрагментов различной длины. Длина фрагментов зависит от того, сколько сайтов рестрикции присутствует в данной ДНК. Эти фрагменты можно разделить методом электрофореза.

**Вектор клонирования** – инструмент генной инженерии, обеспечивающий перенос генетической информации в клетку-реципиент и её клонирование. Представляет собой молекулу ДНК, способную к самостоятельной репликации, в которую можно включить чужеродную ДНК. Проникнув в клетку, вектор обеспечивает клонирование (размножение) и экспрессию встроенного в него гена. В качестве векторов применяются плазмиды, фаги, фазмиды (гибриды фагов и плазмид), ретро- и аденовирусы.

Для выявления определенного фрагмента нуклеиновой кислоты или идентификации белка, находящегося в смеси с другими, используется технология **гибридизации**, основанная на

принципе комплементарности. В ходе этого процесса применяют небольшой полинуклеотид (для обнаружения фрагмента нуклеиновой кислоты) или антитело (для обнаружения белка), содержащие метку (радиоактивную или флюоресцентную). Такая меченая молекула называется **зондом**. При наличии комплементарности зонда и молекулы-мишени образуется комплекс, который может быть обнаружен по метке, присутствующей в составе зонда. Процесс гибридизации специфичен, а это означает, что зонд находит молекулу-мишень в смеси множества похожих, но не комплементарных ему молекул. Технология гибридизации легла в основу группы методов, получивших название блот-анализа.

### **Блот-анализ**

Одним из важных шагов в развитии методов молекулярной биологии стало обнаружение того, что фрагменты нуклеиновых кислот или белков после разделения их путем электрофореза могут быть перенесены из геля на нитроцеллюлозную мембрану (или фильтр). Этот процесс называется **блоттингом**. Фиксированные на фильтре фрагменты гибридизируют с молекулярными зондами. Если в исследуемом образце есть последовательности, комплементарные последовательностям зонда, то гибридизацию можно определить визуально или с помощью специальных приборов. Первым методом, использующим процесс блоттинга, стала гибридизация ДНК с ДНК-зондом, предложенная Э. Саузерном. Впоследствии этот метод назвали Саузерн-блотом (что можно перевести как южный блот). Методы для идентификации РНК или белков по «географической» аналогии назвали нозерн-блот и вестерн-блот соответственно.

Процедура всех блот-анализов в целом однотипна и заключается в последовательном выполнении ряда этапов (Рис. 12.1):

- подготовка образцов молекул;
- разделение молекул или их фрагментов при помощи гелевого электрофореза;
- перенос разделенных молекул или их фрагментов на нитроцеллюлозную или нейлоновую мембрану (блоттинг);
- блокирование пустых пространств между фракциями;
- гибридизация с зондом;

– визуализация продуктов гибридизации путем автордиографии, а также по флуоресценции или окрашиванию.



*Рисунок 12.1. – Основные этапы блот-анализа*

К настоящему времени количество вариантов блот-анализа существенно возросло. Ниже перечислены некоторые из них.

**Истерн-блот** – метод выявления посттрансляционных модификаций белков.

**Саузерн-блот** – метод идентификации ДНК-связывающих белков.

**Нозвестерн-блот** – метод идентификации РНК-связывающих белков.

Методы блот-анализа применяются для диагностики наследственных дефектов, установления механизмов генетической предрасположенности к ряду заболеваний и обнаружения их генетических маркеров, для изучения экспрессии тех или иных генов. Саузерн-блот также является одним из этапов генетической дактилоскопии и футпринтинга.

Таблица 12.1 - Основные характеристики блот-анализов

	<b>Саузерн-блот</b>	<b>Нозерн-блот</b>	<b>Вестерн-блот</b>
Исследуемая молекула (мишень)	ДНК	РНК	Белок
Природа зонда	Полинуклеотид	Полинуклеотид	Антитело
Получаемые сведения	рестрикционная карта гена; наличие определенной последовательности нуклеотидов в пробе; число копий генов в геноме	количество РНК; размер РНК; выявление альтернативных про-дуктов сплайсинга; экспрессия гена	выявление молекул определенного белка, его количество; величина его молекулы

### **Полимеразная цепная реакция (ПЦР)**

Полимеразная цепная реакция – это метод, позволяющий копировать (амплифицировать) ДНК или её фрагменты *in vitro* при наличии самого минимального количества биологического материала. Полученные в результате амплификации копии могут использоваться для дальнейших аналитических процедур.

#### **Состав реакционной смеси для ПЦР:**

- ДНК-матрица, которую нужно амплифицировать;
- праймеры, комплементарные концевым участкам копируемой ДНК;
- термостабильная ДНК-полимераза;
- субстраты для синтеза ДНК (дезоксинуклеозидтрифосфаты);
- буферный раствор, содержащий  $Mg^{2+}$ .

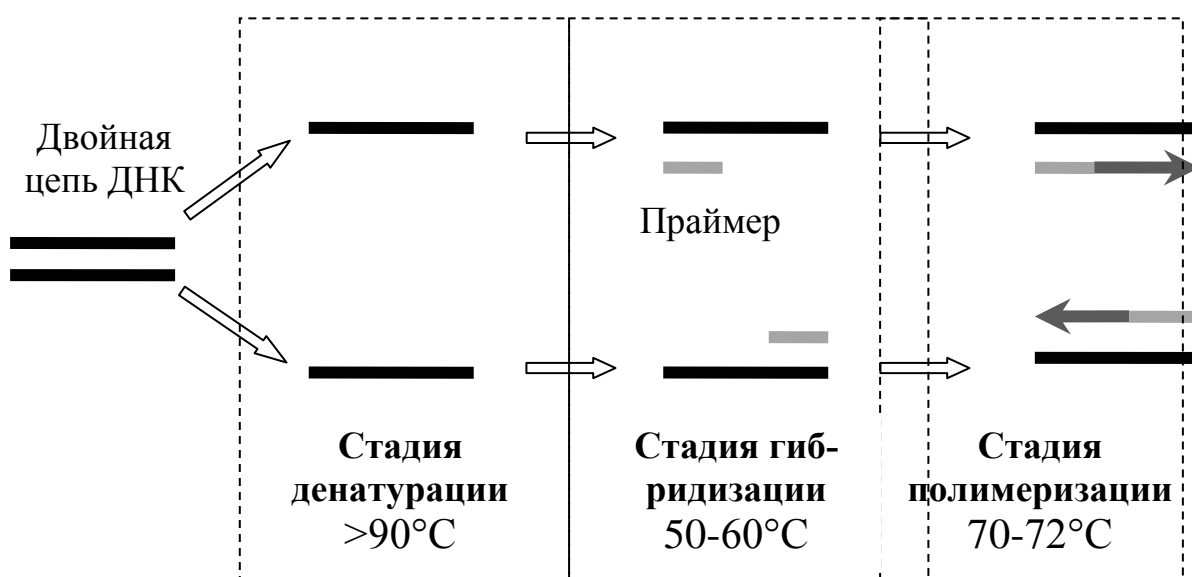
#### **Этапы ПЦР:**

**1. Денатурация.** Инкубационную смесь нагревают до температуры  $>90^{\circ}C$ . В результате происходит разрушение водородных связей между цепями ДНК, и из одной двухцепочечной молекулы образуется две одноцепочечные.

**2. Гибридизация праймеров.** Температуру снижают до 50-60°C. При этом происходит гибридизация цепей ДНК с праймерами.

**3. Полимеризация.** Инкубационную смесь нагревают до 70-72°C. При такой температуре полимеразы удлиняют оба праймера с их 3'-концов. Копии дорастают до размеров матрицы. В результате получается два двухцепочечных фрагмента.

В следующем цикле каждая вновь синтезированная цепь ДНК также становится матрицей для синтеза, поэтому количество продукта в процессе ПЦР возрастает экспоненциально. Упрощенная схема ПЦР представлена на рис 12.2.



**Рисунок 12.2. – Схема полимеразной цепной реакции**

В автоматическом режиме процедуру проводят в термоциклере (циклизаторе, амплификаторе). Это устройство позволяет задавать нужное количество циклов и выбирать оптимальные для реакции временные и температурные параметры. Визуализация продуктов ПЦР в классическом варианте проводится с помощью гель-электрофореза с последующим окрашиванием.

При диагностике инфекций используют праймеры, специфичные к участкам ДНК потенциального возбудителя. При наличии ДНК возбудителя в биологических образцах, ПЦР-анализ даст положительный результат. Этот способ анализа позволяет выявить возбудителя заболевания в очень низкой концентрации. При диагностике генетических и онкологических заболеваний



используются праймеры, специфичные к генам, обуславливающим данные болезни.

### Виды ПЦР

- **ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).** Её проводят в случае, если в качестве матрицы доступна только мРНК. Сначала с помощью обратной транскриптазы получают кДНК, а затем с ней проводят обычную ПЦР. Применяется при работе с РНК-содержащими вирусами, в диагностике некоторых видов рака, в генной инженерии.
- **ПЦР в реальном времени (количественная ПЦР).** Позволяет обнаруживать в пробе специфические последовательности и измерять количество их копий. Визуализация продуктов реакции проводится по излучению, испускаемому флуоресцирующими метками. Применяется для анализа экспрессии генов, выявления нуклеотидных полиморфизмов и хромосомных aberrаций, обнаружения патогенов и белков.
- **Иммуно-ПЦР.** Соединяет технологии иммуноферментного анализа и ПЦР, основана на применении специфических к искомым молекулам антител с прикрепленными к ним ДНК-метками. Применяется для выявления вирусных или опухолеассоциированных антигенов, гормонов, токсинов и других молекул.

Реакция может проводиться в нескольких вариантах. Вот некоторые из них:

**ПЦР с горячим стартом.** Здесь используют полимеразу в комплексе с антителами, которые ингибируют её активность. При нагреве на первой стадии антитела денатурируют, и полимеразы начинают работать во всех пробах одновременно. Это снижает вероятность получения неспецифически амплифицированных фрагментов.

**«Холодная» ПЦР** основана на изменениях температуры плавления ДНК. Позволяет выявлять однонуклеотидные мутации в пробах, содержащих как мутантные, так и нормальные гены. Используется для ранней диагностики рака, его рецидивов, а также при подборе индивидуальной терапии.

**Мультиплексная ПЦР** позволяет выявлять сразу несколько специфических последовательностей (при инфекции несколькими

ми патогенами, диагностике комплекса заболеваний, выявлении мутаций). В этом случае используют сразу несколько праймеров.

**Асимметричная ПЦР** проводится для получения копий одной из цепей ДНК. Для этого концентрация одного праймера должна быть намного выше другого.

**Вложенная ПЦР** позволяет уменьшить число побочных продуктов реакции. В этом варианте используют два набора праймеров. Сначала добавляют один тип праймеров, который синтезирует более длинные фрагменты, а затем добавляют второй тип, который амплифицирует фрагмент ДНК внутри продукта первой реакции.

**ПЦР *in situ*** проводят в клетках (тканях) для изучения развития вирусов.

## **Применение ПЦР-анализа**

### *Клиническая медицина*

- обнаружение бактериальных, вирусных, грибковых инфекций;
- диагностика лейкемии, лейкомы и других видов неоплазий по наличию точечных мутаций и генетических маркеров;
- диагностика наследственных заболеваний;
- выявление генетически обусловленных особенностей метаболизма для индивидуального подбора лекарственных препаратов в персонализированной медицине;
- типирование тканей в трансплантологии;
- обнаружение хромосомных перестроек в половых клетках до оплодотворения.

### *Судебная медицина и криминалистика*

- установление личности по ДНК;
- установление родства;
- расследование причин необъяснимой смерти («молекулярная аутопсия»).

### *Генная инженерия*

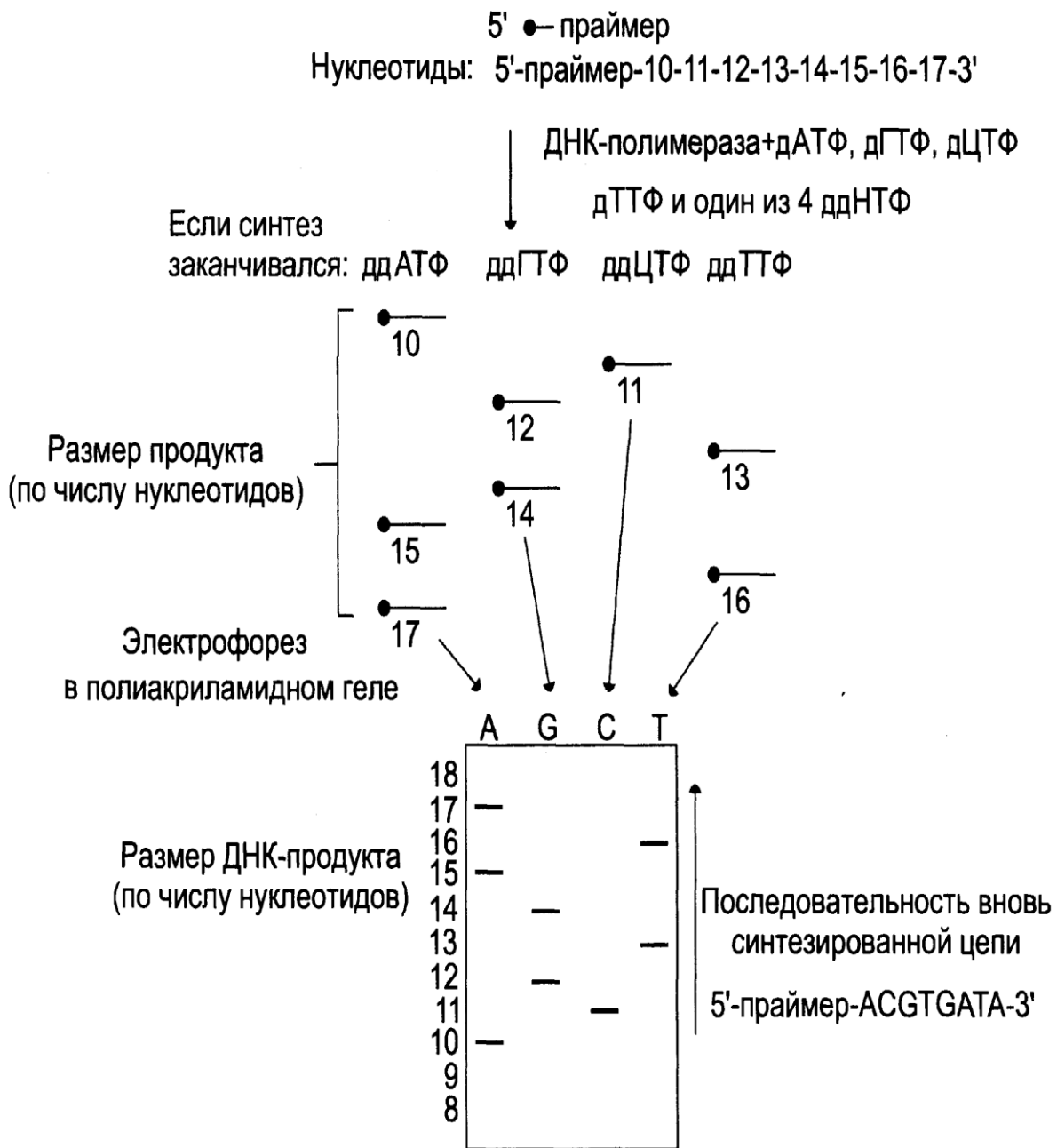
- амплификация и секвенирование ДНК;
- мутагенез;
- создание гибридизационных зондов для различных видов блот-анализа;
- анализ экспрессии генов.

## Секвенирование нуклеиновых кислот

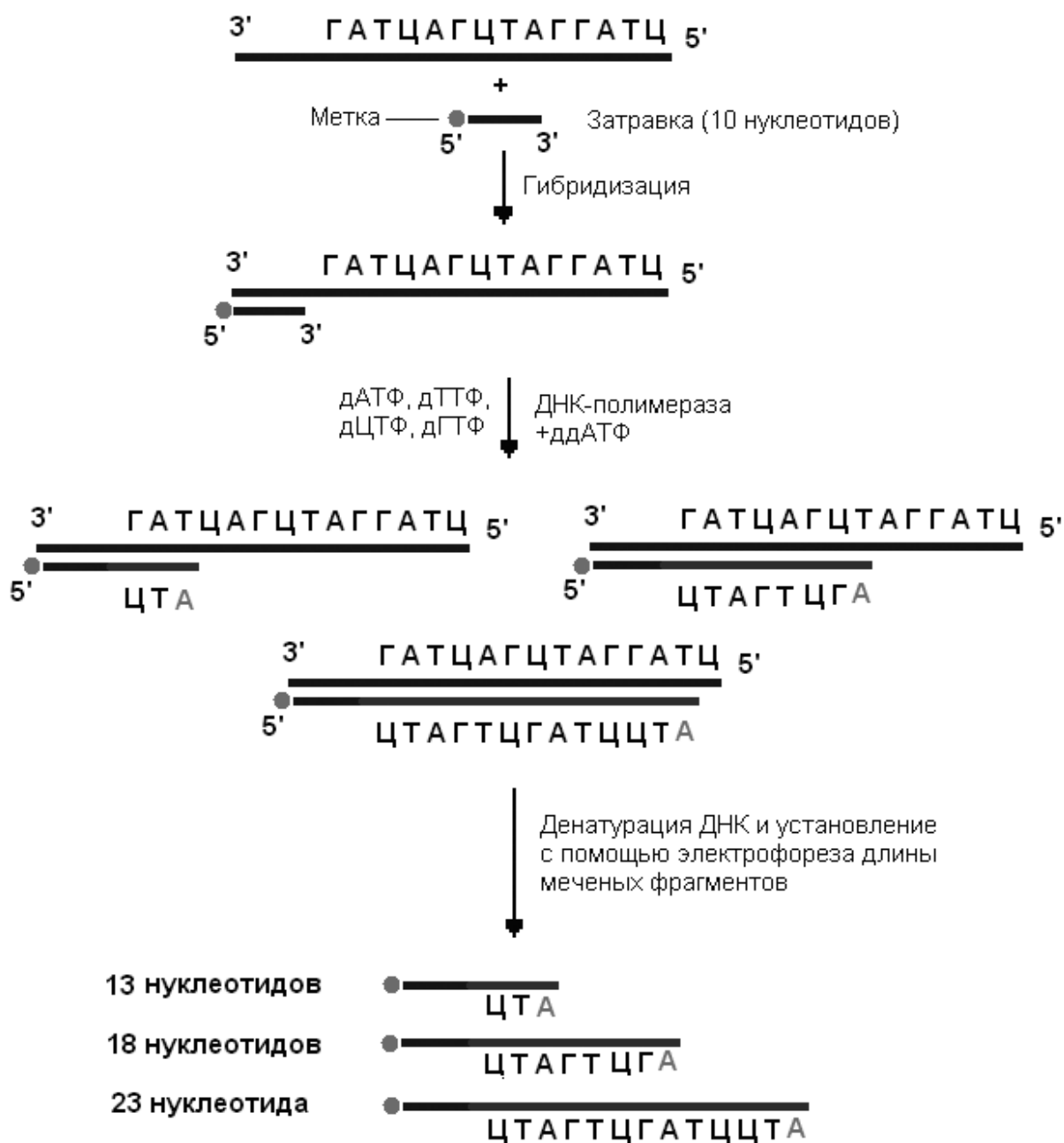
Активное применение определения первичной структуры (секвенирования) нуклеиновых кислот существенно расширило возможности изучения генетической природы целого спектра заболеваний человека. Исследования на достаточно больших клинических выборках позволяют получать данные о генетических особенностях определенных групп людей, способствуя развитию персонализированной медицины. Технологической основой для подобных исследований служат геномные секвенаторы. Самым распространенным способом секвенирования «старого поколения» стал метод Сэнгера. Главные плюсы этого метода – высокая точность получаемых данных и относительная дешевизна работ при анализе небольшого количества ДНК-фрагментов.

**Метод Сэнгера** (метод обрыва цепи) основан на моделировании ДНК-полимеразной реакции, где исследуемая молекула ДНК используется в качестве матрицы. В реакционную смесь добавляют дидезоксинуклеотиды (ОН-группа в 3'-положении пентозы отсутствует). ДНК-полимераза включает эти предшественники в ДНК. Однако, включившись в ДНК, модифицированный нуклеотид не может образовать фосфодиэфирную связь со следующим дезоксирибонуклеотидом.

В результате элонгация данной цепи останавливается в том месте, где в ДНК включился дидезоксирибонуклеотид. Реакция проводится одновременно в четырех отдельных пробах, каждая из которых содержит один из четырех дидезоксинуклеотидов и все 4 дезоксинуклеозидтрифосфата (к ним, как правило, присоединяют радиоактивную или флюоресцентную метку). В каждой из проб образуется набор меченых фрагментов разной длины (Рис 12.3). Длина их зависит от того, в каком месте в цепь включен дефектный нуклеотид. Полученные меченые фрагменты ДНК разделяют в полиакриламидном геле, и по картине распределения фрагментов в четырех пробах устанавливают нуклеотидную последовательность ДНК.



*Рисунок 12.3. – Секвенирование ДНК методом Сэнгера*



**Рисунок 12.4. – Секвенирование в пробе с ддАТФ**

Схема процесса, происходящего в одной из проб (с добавлением дДАТФ) представлена на рис 12.4. Затравка гибридизуется с участком ДНК анализируемой цепи в области ее 3'-конца. После этого ДНК-полимераза будет включать в растущую цепь нуклеотиды в соответствии с принципом комплементарности. Напротив Т она может включить либо дАМФ, либо ддАМФ. Процесс включения является случайным. Если в растущую цепь ДНК включится ддАМФ, то синтез ДНК оборвется. Если же в растущую цепь ДНК включится дАМФ, то

синтез ДНК будет продолжен. В результате в пробе будут содержаться фрагменты вновь синтезированной цепи ДНК различной длины. При этом все они будут заканчиваться ддАМФ.

После денатурации двухцепочечной ДНК с помощью электрофореза определяют длину вновь синтезированных фрагментов. Если длина фрагментов ДНК равна 13, 18 и 23 нуклеотидам, следовательно, в 13, 18 и 23 положении фрагмента будет находиться А, а в анализируемой цепи Т. В оставшихся пробах аналогично определяют положение других нуклеотидов в анализируемой цепи ДНК. Таким образом, устанавливается первичная структура ДНК. В одном эксперименте можно определить последовательность ДНК до 1000 пар нуклеотидов, поэтому её молекулу предварительно фрагментируют. Для фрагментации ДНК используют не менее двух различных рестриктаз. В результате их действия образуются перекрывающиеся фрагменты, которые позволяют определить последовательность определяемых фрагментов в интактной молекуле ДНК.

Открытие флуоресцентных молекул позволило модифицировать метод и проводить реакцию в одной пробирке. В этом случае реакционную смесь разделяют капиллярным электрофорезом, а положение нуклеотидов в цепи регистрируют детекторами флуоресценции.

Секвенирование по Сэнгеру используется для:

- секвенирования отдельных участков генома с целью анализа мутаций и полиморфизмов;
- идентификации вирусов и ряда организмов;
- валидации данных, полученных с помощью методов секвенирования нового поколения;
- микросателлитного анализа;
- анализа инсерций и делеций.

### **Секвенирование нового поколения**

Появление методов секвенирования нового поколения позволило ускорить и снизить стоимость определения полной последовательности геномов различных организмов, оценивать экспрессию генов, анализировать регуляцию их активности. В настоящее время активно используется сразу несколько разработок, позво-

ляющих определять последовательность полных геномов, проводить анализ экспрессии генов и метилирования ДНК. Ниже приводятся сведения о некоторых из них.

**Пиросеквенирование** или «секвенирование путем синтеза». Основной смысл этого типа секвенирования заключается в синтезе ДНК на фрагментах ДНК изучаемого организма. В процессе синтеза дочерней цепи ДНК определяют количество высвобождающихся пирофосфатов. Во ходе цикла пиросеквенирования при образовании фосфодиэфирной связи выделяется пирофосфат, который запускает каскад химических реакций, приводящих к наработке АТФ, необходимой для реакции окисления люциферина с испусканием кванта света, который и фиксируется специальным детектором. Этим методом можно определять нуклеотидную последовательность фрагментов геномной ДНК размером 300–500 пар оснований.

**Технология секвенирования на молекулярных кластерах** с использованием флуоресцентно меченых нуклеотидов так же подразумевает синтез новой молекулы ДНК на матрице из изучаемого материала. К концам предварительно фрагментированной ДНК присоединяют адаптеры, необходимые для ПЦР и секвенирования на молекулярных кластерах. Полученные ДНК-библиотеки иммобилизуют на поверхностях особых проточных ячеек, где и проводят секвенирование. Реакционная смесь, которая подаётся на поверхность проточной ячейки для синтеза комплементарной ДНК, содержит ферменты, олигонуклеотиды, и четыре типа флуоресцентно меченых дезоксинуклеозидтрифосфатов. После включения в растущую цепь ДНК нуклеотида-терминатора, определяют его тип и положение. Затем терминирующая группа и флуоресцентная метка отщепляются от нуклеотида, и цикл синтеза повторяется. Эта серия шагов продолжается определенное количество раз, число которых задает пользователь.

**Одномолекулярное секвенирование** дало возможность наблюдать за работой ДНК-полимеразы, наращивающей синтезируемую цепь, в реальном времени. Метод позволяет определять нуклеотидную последовательность достаточно длинных фрагментов геномной ДНК (20 000 пар оснований) с присоединенными к их концам адаптерами, необходимыми для последующего

секвенирования. Сама реакция секвенирования проходит в ячейках (SMRT-ячейки) на кремниевой подложке, с напыленным на нее слоем алюминия. Сквозь дно в ячейку подается свет, который освещает только место, где закреплена молекула считывающего фермента ( $\phi 29$  ДНК-полимераза). Эта ДНК-полимераза достраивает вторую цепь исследуемой молекулы ДНК, используя нуклеотиды, меченные различными флуоресцентными метками, которые регистрируют при помощи конфокальной микроскопии.

Другой способ одномолекулярного секвенирования использует нанопоровые системы, в которых считываются изменения силы тока. Это позволяет определять тип нуклеотида, проходящего через пору в данный отрезок времени.

Бурное развитие технологий исследования генов к настоящему времени позволило не только выявлять нуклеотидные последовательности в них, но и дало ключ к пониманию механизмов функционирования геномов. Методы секвенирования нового поколения позволяют оценивать уровень метилирования ДНК, проводить анализ дифференциальной экспрессии генов, в том числе и генов-регуляторов, изучать экспрессию некодирующих РНК.

### **Генетическая дактилоскопия**

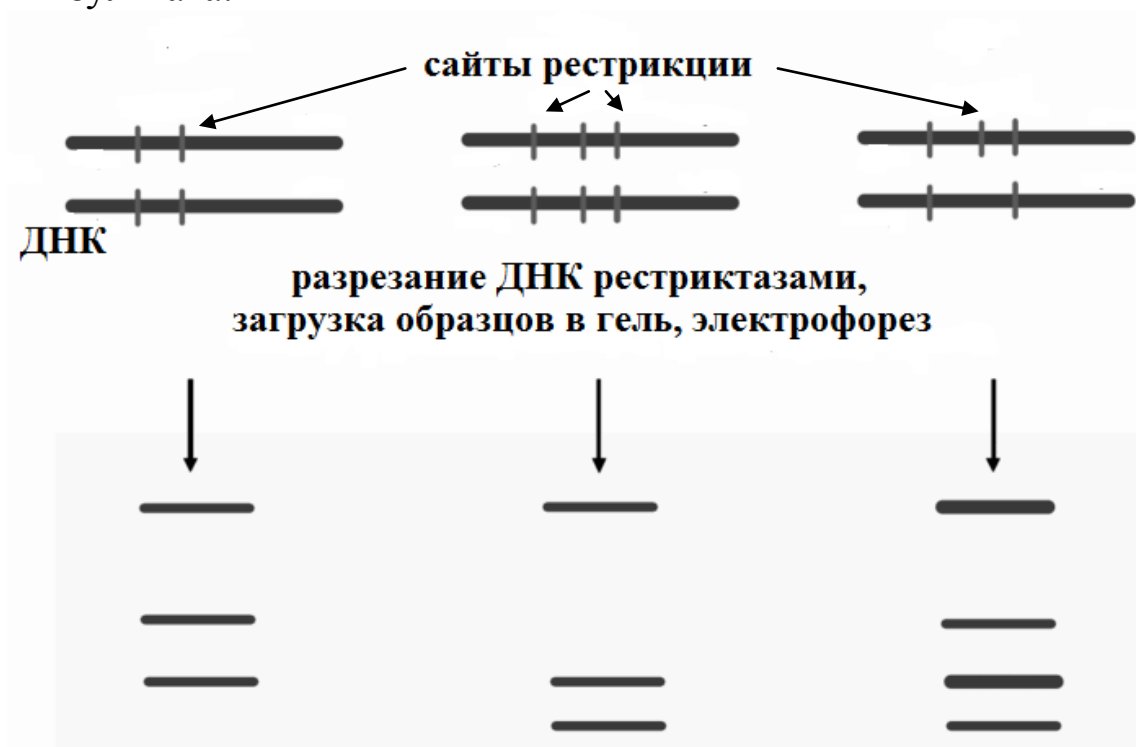
Генетическая дактилоскопия (ДНК-фингерпринт) основывается на различиях последовательности нуклеотидов в определенных участках ДНК каждого индивидуума. Изменения последовательности нуклеотидов в сайтах рестрикции что ведет к различиям в длине получаемых после действия определенной рестриктазы фрагментов. Эти различия называют полиморфизмом длины рестрикционных фрагментов.

Последовательность процедур следующая:

- 1) выделение ДНК из подготовленного образца;
- 2) разрезание выделенной ДНК с помощью рестриктазы;
- 3) электрофорез полученных фрагментов ДНК в геле;
- 4) перенос ДНК из геля на мембрану;
- 5) гибридизация фиксированной на мембране ДНК с одним или несколькими зондами;
- 6) отмывание избытка зонда;



7) выявление полос гибридизации и анализ полученного результата.



*Рисунок 12.5. – Генетическая дактилоскопия*

Этапы 1-3 показаны на рисунке 12.5.

Распределение гибридизационных полос, полученных методом генетической дактилоскопии, у различных индивидуумов различно, но для разных тканей одного и того же человека, оно остается постоянным на протяжении всей жизни. То есть каждый человек имеет свой неповторимый рисунок гибридизационных полос – «отпечаток пальцев» ДНК. Причем чем более родственны обследуемые лица, тем число совпадающих полос будет больше и наоборот. Метод геномной дактилоскопии применяется для генетической идентификации личности в судебной медицине и криминалистике, а также для установления родства.

Особое прикладное значение метод генетической дактилоскопии приобрел в диагностике наследственных заболеваний. Случаи, когда участки узнавания рестриктаз изменены не как следствие полиморфизма, а в результате мутаций, также могут быть выявлены по изменению длины рестрикционных фрагментов. На рис.12.6 показана схема выявления точечной мутации в гене  $\beta$ -глобина, ведущей к возникновению серповидноклеточной анемии.



**Рисунок 12.6. – Применение геномной дактилоскопии для выявления мутаций.**

\**AA* – гомозигота по нормальному гену  $\beta$ -глобина,  
*SS* – гомозигота по мутантному гену  $\beta$ -глобина,  
*AS* – гетерозигота (носитель мутантного гена)

Данная мутация нарушает сайт рестрикции для рестриктазы Mst II. При обработке ДНК обследуемых этой рестриктазой получают фрагменты разной длины, которые разделяют с помощью электрофореза и гибридизируют со специфическими зондами. Важно, что этот метод позволяет выявить и гетерозиготных носителей дефектного гена. С помощью этого метода выявляют мутации, вызывающие миодистрофию Дюшенна, гемофилию А, талассемию, контролируют генетический статус детей в семьях, где родители являются гетерозиготами по гену серповидноклеточной анемии или другим генам.

## ГЛАВА 13

### ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ

**Обмен веществ или метаболизм** – это совокупность химических реакций в организме, которые обеспечивают его веществами и энергией, необходимыми для жизнедеятельности.

**Катаболизм** – процесс метаболизма, сопровождающийся образованием более простых соединений из более сложных с выделением энергии. Например, распад гликогена в печени до глюкозы.

**Анаболизм** включает реакции образования сложного продукта из более простых субстратов. Анаболические процессы сопровождаются потреблением энергии, выделенной в процессе катаболизма. Например, биосинтез белка и нуклеиновых кислот.

Анаболизм и катаболизм не являются простым обращением реакций. Анаболические пути должны отличаться от путей катаболизма хотя бы одной из ферментативных реакций, чтобы регулироваться независимо, и за счет контроля активности этих ферментов регулируется суммарная скорость распада и синтеза веществ. Ферменты, которые определяют скорость всего процесса в целом, называются ключевыми. Связующим звеном между процессами катаболизма и анаболизма является АТФ, которая образуется при распаде макромолекул до простых продуктов и используется для синтеза макромолекул из более простых предшественников.

Метаболизм выполняет следующие основные функции:

- 1) снабжение организма химической энергией, полученной при расщеплении богатых энергией пищевых веществ;
- 2) превращение пищевых веществ в строительные блоки, которые используются в клетке для биосинтеза макромолекул;
- 3) сборка макромолекулярных (биополимеры) и надмолекулярных структур живого организма, пластическое и энергетическое поддержание его структуры;
- 4) синтез и разрушение тех биомолекул, которые необходимы для выполнения специфических функций клетки и организма.

**Метаболический путь** – это последовательное превращение одних соединений в другие, катализируемые ферментами. Промежуточные продукты, образующиеся в процессе превраще-

ния, называют *метаболитами*, а последнее соединение метаболического пути – *конечным продуктом*. Примером метаболического пути является гликолиз, синтез холестерина.

Известны четыре основных типа метаболических путей в организме (таблица 13.1).

**Линейный метаболический путь** представляет собой линейную последовательность ферментативных реакций, в которых каждый последующий продукт реакции превращается следующим ферментом. Примером линейного метаболического пути является гликолиз,

В **разветвленном метаболическом пути** промежуточный субстрат С превращается, как в вещество D, так и в вещество F. Обе реакции катализируются отдельными ферментами. Примером разветвленного метаболического пути является синтез аденозинмонофосфата (АМФ) и гуанидинмонофосфата (ГМФ) из одного общего предшественника – инозиновой кислоты.

В **циклическом метаболическом пути** продукт последней ферментативной реакции используется как субстрат для первого фермента. Наиболее важными в организме человека метаболическими циклами являются цикл трикарбоновых кислот и цикл мочевинообразования.

**Спиральный метаболический путь** напоминает разветвленный. Однако здесь субстрат С разделяется на два разных продукта E и D в результате действия одного фермента. Затем продукт E превращается под действием первых ферментов этого метаболического пути. Примером спирального метаболического пути является  $\beta$ -окисление жирных кислот, в ходе которого от жирной кислоты последовательно отщепляются двухуглеродные фрагменты (ацетил-КоА) вплоть до полного расщепления жирной кислоты до ацетил-КоА.

В живой клетке анаболические и катаболические реакции происходят независимо друг от друга. Это достигается, как разделением этих процессов как во времени, так и в пространстве. Практически все метаболические пути разделены мембранами по так называемым компартментам (отсекам), которые представляют собой цитоплазму и отдельные органеллы клетки.

Примерное распределение метаболических путей внутри клетки показано в таблице 13.2.

Таблица 13.2. – Компартиментализация некоторых метаболических путей в гепатоците

Органеллы клетки	Метаболические пути
Цитозоль	Гликолиз, многие реакции глюконеогенеза, активация аминокислот, синтез жирных кислот
Плазматическая мембрана	Энергозависимые транспортные системы
Ядро	Репликация ДНК, синтез различных видов РНК
Рибосомы	Синтез белка
Лизосомы	Гидролитический распад компонентов клетки
Митохондрии	Цикл трикарбоновых кислот, цепь переноса электронов, окисление жирных кислот, окислительное фосфорилирование

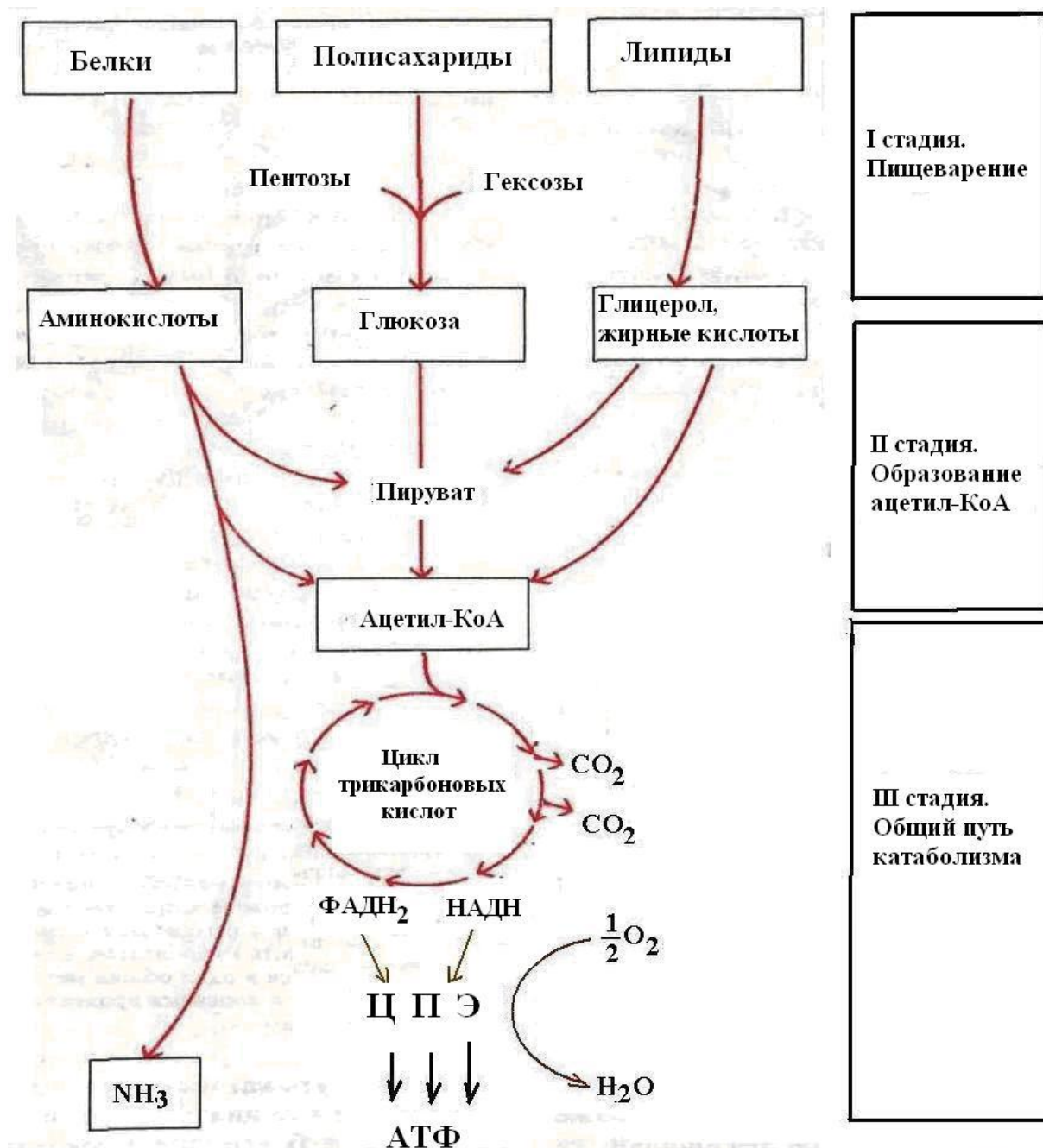
### Специфические и общие пути катаболизма

Основные питательные вещества, поступающие ежедневно с пищей, в процессах катаболизма окисляются до простых конечных продуктов – углекислого газа, воды и аммиака

В катаболизме различают три стадии (рисунок 13.1): I и II стадии катаболизма относятся к *специфическим* путям, которые уникальны для метаболизма белков, липидов и углеводов. III стадия – *общая* для всех нутриентов.

**I стадия.** Биополимеры из пищи превращаются в более простые мономеры в процессе пищеварения в ЖКТ, или в клетке под действием лизосомальных ферментов: белки → аминокислоты, полисахариды → моносахариды (глюкозу), липиды → глицерол и жирные кислоты. Химическая энергия при этом рассеивается в виде тепла.

**II стадия.** Мономеры превращаются в общие промежуточные субстраты, в подавляющем большинстве — в ацетил-КоА. Химическая энергия частично рассеивается в виде тепла, частично накапливается в виде восстановленных коферментных форм (НАДН, ФАДН<sub>2</sub>), или запасается в макроэргических связях АТФ (субстратное фосфорилирование).



**Рисунок 13.1. – Схема специфических и общих путей катаболизма**

**III стадия.** На заключительном, общем этапе катаболизма ацетил-КоА окисляется до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O в реакциях цикла трикарбоновых кислот, где выделяются 2 молекулы CO<sub>2</sub> и образуются восстановленные коферменты НАДН и ФАДН<sub>2</sub>. Эти восстановленные коферменты окисляются затем кислородом в цепи переноса электронов (ЦПЭ) до ФАД и НАД<sup>+</sup>, соответственно, с образованием H<sub>2</sub>O и выделением энергии, которая используется для синтеза АТФ (окислительное фосфорилирование).

В результате специфических и общих путей катаболизма биополимеры пищи (белки, углеводы, липиды) распадаются до  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{NH}_3$ , и некоторых других конечных продуктов катаболизма.

### Основные конечные продукты катаболизма

В процессе катаболизма основные классы биополимеров пищи окисляются до **конечных продуктов**, которые выделяются из организма в неизмененном виде. В состав углеводов и липидов, в основном, входят химические элементы С, О и Н, и конечными продуктами катаболизма для них являются  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Помимо этих элементов, в состав нуклеиновых кислот и белков входит N, что приводит к образованию специфических **конечных продуктов азотистого обмена** – аммиака, мочевины, мочевой кислоты, индикана и креатинина. Последние используются в клинической диагностике для оценки состояния азотистого обмена в организме (таблица 13.3).

Таблица 13.3. – Основные конечные продукты катаболизма

<i>Биополимеры пищи</i>	<i>Конечные продукты</i>
Углеводы	$\text{CO}_2$ , $\text{H}_2\text{O}$
Липиды	$\text{CO}_2$ , $\text{H}_2\text{O}$
Белки (аминокислоты))	$\text{CO}_2$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{NH}_3$ , мочевины, креатинин, индикан
Нуклеиновые кислоты, азотистые основания	$\text{CO}_2$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{NH}_3$ , мочевая кислота

### Нормальные и патологические метаболиты в организме и их использование в диагностике

В живой клетке каждую секунду образуются сотни метаболитов. Однако их концентрации поддерживаются на определенном уровне, который является специфической биохимической константой или референтной величиной. При болезнях происходит изменение концентрации метаболитов, что является основой биохимической лабораторной диагностики. К **нормальным метаболитам** относят глюкозу, мочевины, холестерол, мочевую кислоту сыворотки крови и ряд других. Выход концентрации этих веществ за пределы физиологических норм (повышение либо

снижение) говорит о нарушении их обмена в организме. Более того, ряд веществ в организме здорового человека обнаруживается только в определенных биологических жидкостях, что обуславливается спецификой их метаболизма. Например, белки сыворотки крови в норме не проходят через почечный фильтр и, соответственно, не обнаруживаются в моче. Но при воспалении почек (гломерулонефрите) белки (в первую очередь альбумины) проникают через капсулу клубочка, появляются в моче – протеинурия – и трактуются как патологические компоненты мочи.

**Патологическими метаболитами** являются **миеломные белки (белки Бенс-Джонса)**, **парапротеины** при макроглобулинемии Вальденстрема, накопление **аномального гликогена** при гликогенозах, **разнообразных фракций сложных липидов** при сфинголипидозах и т.д. Они обнаруживаются только при болезнях и для здорового организма не характерны.

### Уровни изучения обмена веществ

В экспериментальных исследованиях обмен веществ может быть изучен на следующих уровнях:

- Целостного организма (*in vivo*, лат. – «внутри живого»).

Для этого используют линии инбредных (генетические однородных) животных (крысы, мыши, кролики, собаки, и другие животные).

Исследования вне живого организма (*in vitro* – «в пробирке») проводятся на:

- изолированных органах;
- срезах тканей;
- культурах клеток;
- гомогенатах тканей;
- изолированных клеточных органеллах;
- уровне молекул (очищенных ферментов, нуклеиновых кислот, рецепторов, фрагментов молекул).

Например, очищенные ферменты используются для изучения их кинетики, действия на них ингибиторов и других регуляторов.

**Гомогенаты тканей** – это взвеси измельченной до субклеточных элементов ткани животного в буферном или другом рас-



творе, получаемые обычно с помощью специального прибора **гомогенизатора**. Гомогенаты используются в биохимических исследованиях для изучения активности клеточных ферментов или уровней субстратов реакций при разных воздействиях. Из гомогенатов с помощью дифференциального центрифугирования можно выделить отдельные **субклеточные фракции** (митохондрий, ядер, микросом, и др.).

### Методы исследования обмена веществ

С начала 20 века биохимическая методология основана на фракционировании, изучении структуры и свойств биомолекул, особенностей протекания ферментативных реакций в физиологических и патологических условиях. Для этой цели используются следующие базовые методы:

- гомогенизация тканей,
- диализ,
- электрофорез,
- хроматографические методы,
- колориметрические (спектрофотометрические) методы,
- изотопные методы, и другие.

Для изучения метаболизма часто используют радиоактивные изотопы химических элементов ( $^3\text{H}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{O}$ ), которыми помечают вещества, вводимые в организм.

Так, введение животным глюкозы, содержащей изотоп  $^{14}\text{C}$  ( $[^{14}\text{C}]$ -глюкоза), позволило изучить превращения глюкозы в различных тканях, определить весь спектр и внутриклеточную локализацию промежуточных метаболитов гликолиза, найти взаимосвязи между некоторыми отдельными метаболическими путями.

## ГЛАВА 14

### БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ

Клетка представляет биологическую систему, основу которой составляют мембранные структуры, отделяющие клетку от внешней среды, формирующие ее отсеки (компарменты), а также обеспечивающие поступление и удаление метаболитов, восприятие и передачу сигналов и являющиеся структурными организаторами метаболических путей. Согласованное функционирование мембранных систем – рецепторов, ферментов, транспортных механизмов – помогает поддерживать гомеостаз клетки и в то же время быстро реагировать на изменения внешней среды.

Мембраны – нековалентные надмолекулярные, динамические структуры. Белки и липиды в них удерживаются вместе множеством нековалентных взаимодействий.

#### **Разновидности биологических мембран:**

- 1) плазматическая;
- 2) ядерная;
- 3) мембраны эндоплазматического ретикулума;
- 4) мембраны аппарата Гольджи;
- 5) лизосомальная;
- 6) митохондриальная:     - наружная;  
                                      - внутренняя.

#### **К основным функциям мембран можно отнести:**

- 1) отделение клетки от окружающей среды и формирование внутриклеточных компарментов (отсеков);
- 2) барьерная функция: контроль и регулирование транспорта огромного разнообразия веществ через мембраны (избирательная проницаемость);
- 3) участие в обеспечении межклеточных взаимодействий;
- 4) восприятие и передача сигнала внутрь клетки (рецепция);
- 5) место прикрепления некоторых ферментов;
- 6) энерготрансформирующая функция (преобразование энергии переноса протонов в энергию АТФ).

#### **Общие свойства клеточных мембран:**

- 1) **Самосборка** (способность самопроизвольно восстанавливать целостность).

2) **Асимметричность.** Наружная сторона мембраны всегда отличается от внутренней по химическому составу, углеводы локализуются всегда снаружи, и их нет на внутренней стороне мембраны.

3) **Текучесть** (определяется составом мембраны, соотношением насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в фосфолипиде, и наличием холестерина);

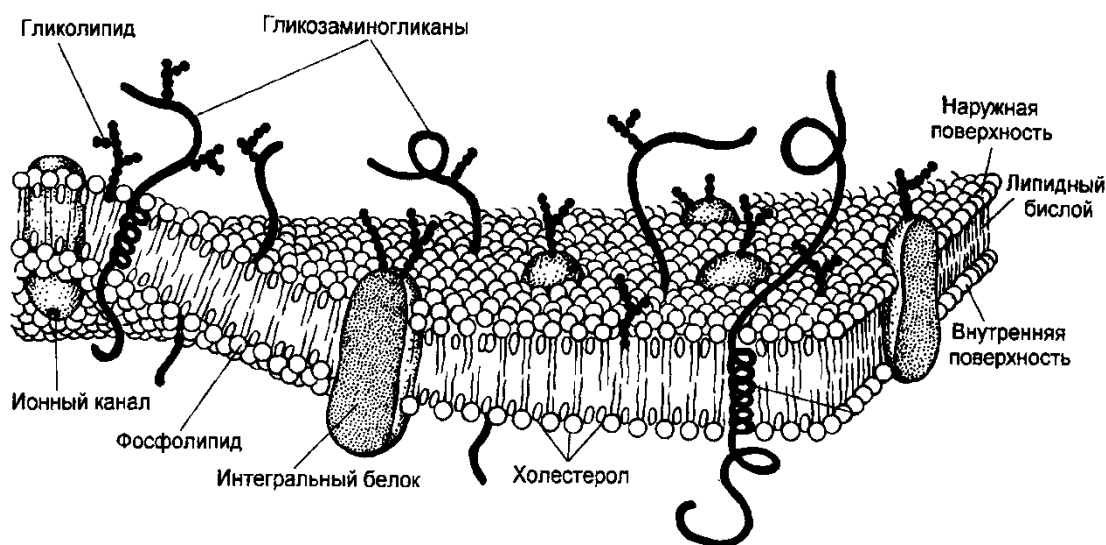
4) **Подвижность и динамичность.** Липиды и белки в мембране способны перемещаться в пределах слоя (латеральная диффузия).

5) **Высокое электрическое сопротивление;**

6) **Избирательная проницаемость.** Мембраны легко проницаемы для воды и нейтральных липофильных соединений; в меньшей степени проницаемы для полярных веществ; плохо проницаемы для небольших ионов ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  и др.).

### **Жидкостно-мозаичная модель строения мембран**

Структура биологических мембран описывается жидкостно-мозаичной моделью строения мембран, предложенной Сингером и Николсоном в 1972 году.



Согласно этой модели, мембраны состоят из липидных и белковых молекул, относительное количество которых у разных мембран широко колеблется. Углеводы содержатся в форме гликопротеинов, гликолипидов и составляют 0,5-10% веществ мембраны. Углеводная часть наружной части мембраны образует гликокаликс.

Основу мембраны составляет **двойной липидный слой**, в

формировании которого участвуют **фосфолипиды** и **гликолипиды**. Липидный бислой образован двумя рядами липидов, гидрофобные радикалы которых спрятаны внутрь, а гидрофильные группы обращены наружу и контактируют с водной средой. Белковые молекулы как бы растворены в липидном бислое и относительно свободно *«плавают в липидном море в виде айсбергов, на которых растут деревья гликокаликса»*.

Биологические мембраны состоят из 3-х основных компонентов: липидов, белков, углеводов.

### **Липиды мембран**

Мембранные липиды – амфифильные молекулы, то есть в молекулах имеются, как гидрофильные группы (полярные головки), так и алифатические радикалы (гидрофобные хвосты), самопроизвольно формирующие бислой, в котором хвосты липидов обращены друг к другу. Толщина одного липидного слоя 2,5 нм, из которых 1 нм приходится на головку и 1,5 нм на хвост.

В мембранах присутствуют три основных типа липидов: **фосфолипиды**, **гликолипиды** и **холестерол**. Среднее молярное отношение холестерол/фосфолипиды равно 0,3-0,4, но в плазматической мембране это соотношение гораздо выше (0,8-0,9). Наличие холестерола в мембранах уменьшает подвижность жирных кислот, снижает латеральную диффузию липидов и белков.

**Фосфолипиды** можно разделить на **глицерофосфолипиды** и **сфингофосфолипиды**.

**Глицерофосфолипиды** (*глицерол + 2 жирные кислоты + фосфат + холин*) представлены: **фосфатидилхолинами**, **фосфатидилэтаноламинами**, **фосфатидилсеринами**, **фосфатидилинозитолами**, **кардиолипинами**. Отдельные категории глицерофосфолипидов могут отличаться составом жирных кислот, которые бывают насыщенными или ненасыщенными.

**Кардиолипины (дифосфатидглицеролы)** внутренней митохондриальной мембраны построены на основе глицерола и двух остатков фосфатидной кислоты и составляют около 22% от всех фосфолипидов митохондриальных мембран.

**Сфингофосфолипиды** – производные спирта сфингозина. Представителями являются **сфингомиелины**, обнаруженные в миелиновой оболочке нервных клеток. Сфингомиелины построе-

ны на основе сфингозина, жирной кислоты, фосфатного остатка и азотистого основания (холина, этаноламина, или серина).

**Гликолипиды** мембран представлены **цереброзидами** и **ганглиозидами**, в которых гидрофобная часть содержит церамид (сфингозин + жирная кислота). Гидрофильная группа гликолипидов представляет собой олигосахарид, который присоединен к гидроксильной группе первого углеродного атома церамида гликозидной связью. В значительных количествах гликолипиды находятся в мембранах клеток мозга, эпителия и эритроцитов.

**Холестерол** присутствует во всех мембранах животных клеток. Клеточные мембраны содержат только свободный холестерол. Он взаимодействует с остатками жирных кислот фосфолипидов и снижает текучесть мембран, за счет усиления взаимодействия между фосфолипидными молекулами.

### **Основные функции липидов мембран**

1. Стабилизируют нативную конформацию мембранных белков, формируют среду для функционирования мембранных белков, принимающих в ней нативную конформацию.

2. Являются предшественниками вторичных посредников при передаче гормонального сигнала (диацилглицерол, инозитолтрифосфат).

3. Выполняют «якорную» функцию для некоторых белков. Примером заякоренного белка является ацетилхолинэстераза, которая фиксируется на постсинаптической мембране к фосфатитинозитолу.

4. Используются в качестве аллостерических активаторов мембранных ферментов.

### **Белки мембран**

Мембранные белки отвечают за функциональную активность мембран, и на их долю приходится от 30 до 70% веществ мембраны. Белки мембран отличаются по своему положению в мембране.

1. **Интегральные белки** проникают в липидный бислой или даже пронизывают ее, образуя ионные каналы.
2. **Поверхностные белки** прикрепляются к мембране нековалентными связями.
3. **Заякоренные белки** присоединены ковалентной связью к

отдельным липидам мембраны, имеют липидный якорь.

Поверхностные белки почти всегда гликозилированы. Олигосахаридные остатки защищают белок от протеолиза, участвуют в узнавании лигандов и адгезии.

#### **Основные функции мембранных белков:**

1. Транспортная (для ионов и полярных молекул)
2. Ферментативная.
3. Рецепторная (участие в передаче сигналов).
4. Структурная (связываются с внутриклеточным цитоскелетом и внеклеточным матриксом).
5. Антигенная (участие в иммунном ответе).

#### **Углеводы мембран**

Мембранные углеводы (в основном, олигосахариды) составляют около 0.5-10% всех компонентов мембраны. В мембранах они могут быть связаны с белковой частью, образуя **гликопротеины**. Присутствуют также **гликолипиды**, состоящие из углеводной цепи, ковалентно связанной с липидной частью. В мембранном бислое углеводные части гликолипидов направлены наружу клетки.

**Гликолипиды (цереброзиды и ганглиозиды)** выполняют в мембране множество функций, включая распознавание клеток, клеточную адгезию, и другие. Распознавание клеток происходит посредством контактов между специальными структурами на поверхности их мембран, содержащих углеводы.

**Гликопротеины** – интегральные белки, играющие важную роль в формировании иммунного ответа и защитной реакции.

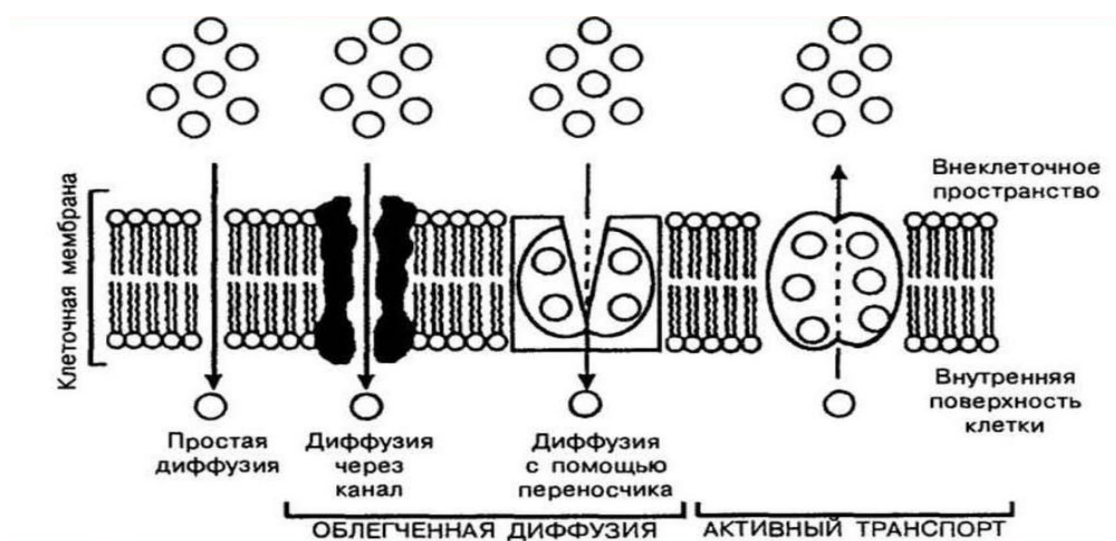
#### **Механизмы мембранного транспорта веществ**

Различают несколько способов переноса веществ через мембрану.

1. **Пассивный транспорт** (без употребления энергии).
  - Простая диффузия;
  - Облегченная диффузия;
  - Осмос.
2. **Активный транспорт** (с потреблением энергии).
  - Первичный;
  - Вторичный
3. **Транспорт макромолекул** (экзоцитоз, эндоцитоз, пиноцитоз).

При **пассивном транспорте** молекулы переносятся через мембрану **по градиенту концентрации**, и этот процесс **не требует энергии**. Разновидностями пассивного транспорта являются: **простая и облегченная диффузии, осмос**.

**Простая диффузия** – перенос небольших нейтральных молекул по градиенту концентрации без затрат энергии и переносчиков. Легче всего проходят простой диффузией через липидную мембрану малые неполярные молекулы, такие как  $O_2$ , стероиды, тиреоидные гормоны. Малые полярные незаряженные молекулы –  $CO_2$ ,  $NH_3$ ,  $H_2O$ , этанол и мочевина – также диффундируют с достаточной скоростью.



Диффузия глицерола идет значительно медленнее, а глюкоза практически не способна самостоятельно пройти через мембрану. Для всех заряженных молекул, независимо от размера, липидная мембрана не проницаема.

**Облегченная диффузия** – перенос вещества по градиенту концентрации без затрат энергии, но с переносчиком. Характерна для водорастворимых веществ. Облегченная диффузия отличается от простой диффузии большей скоростью переноса и способностью к насыщению. Различают две разновидности облегченной диффузии:

- а) транспорт по специальным каналам, образованным в трансмембранных белках (например: катионселективные каналы);
- б) с помощью белков-транслоказ, которые взаимодействуют со специфическим лигандом, обеспечивают его диффузию по

градиенту концентрации (например: перенос глюкозы в эритроциты с помощью белка-переносчика ГЛЮТ-1).

**Осмоз**- перемещение молекул воды через полупроницаемую мембрану из области высокой концентрации в область низкой концентрации.

**Активный транспорт** - транспорт вещества против градиента концентрации для незаряженных частицы, или электрохимического градиента для заряженных частиц, требующий затрат энергии, чаще всего АТФ.

Выделяют два вида активного транспорта: **первично активный транспорт** и **вторично-активный транспорт**.

**Первично активный транспорт** использует энергию АТФ или окислительно-восстановительного потенциала для транспорта ионов против градиента концентрации. Этот вид мембранного транспорта осуществляется с помощью транспортных АТФ-аз. Наиболее распространены в плазматической мембране клеток человека  $Na^+, K^+$ -АТФ-аза,  $Ca^{2+}$ -АТФ-аза,  $H^+$ -АТФ-аза.

Например,  $Na^+, K^+$ -АТФ-аза является интегральным белком плазматической мембраны, который переносит эти ионы калия и натрия против их градиента концентрации.

При **вторично активном транспорте** перенос вещества против градиента концентрации сопряжен с транспортом другого вещества (иона) в том же направлении (симпорт), или в противоположном направлении (антипорт). Этот процесс энергетически сопряжен с активностью  $Na^+, K^+$ -АТФ-азы.

Примерами являются всасывание глюкозы и аминокислот в тонком кишечнике; реабсорбция глюкозы и аминокислот из первичной мочи клетками почек. Оба процесса сопровождаются гидролизом АТФ и транспортом ионов  $Na^+$  по градиенту концентрации.

### **Перенос через мембрану макромолекул**

Транспортные белки обеспечивают перенос через клеточную мембрану полярных молекул небольшого размера, но они не могут транспортировать макромолекулы, например. Механизмы, с помощью которых клетки могут усваивать такие вещества или удалять их из клетки, отличаются от механизмов транспорта ионов и полярных соединений.



**Эндоцитоз** - перенос макромолекул, других частиц из среды в клетку вместе с частью плазматической мембраны. Такими молекулами могут быть - белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды или отдельные частицы. **Фагоцитоз** – разновидность эндоцитоза, когда клетки поглощают вирусы, бактерии или фрагменты других клеток.

**Пиноцитоз** - поглощение жидкости и растворенных в ней веществ с помощью небольших пузырьков.

**Экзоцитоз** - процесс секреции макромолекул в межклеточное пространство или кровь. Такими макромолекулами могут быть белки плазмы крови, пептидные гормоны, синтезируемые в клетках соответствующих тканей и секретиремые в кровь. Примером экзоцитоза является выделение в пищеварительный тракт неактивных предшественников пищеварительных ферментов, синтезируемых стенкой желудка или в поджелудочной железе.

Существует классификация транспортных систем по направлению переноса молекул через биологические мембраны:

**Унипорт** – перенос молекул одного типа в одном направлении. **Симпорт** происходит, когда белок-переносчик транспортирует два вещества в одном направлении. Например: совместный перенос глюкозы и ионов  $\text{Na}^+$  в эпителиоциты тонкого кишечника. При **антипорте** белок-переносчик транспортирует два вещества в разных направлениях (например, перенос  $\text{K}^+$  в клетку и  $\text{Na}^+$  из клетки).

## ГЛАВА 15

### ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ

Живые организмы, с точки зрения термодинамики – открытые системы. Между системой и окружающей средой возможен обмен энергии, который происходит в соответствии с законами термодинамики. Каждое органическое соединение, поступающее в организм, обладает определенным запасом энергии (**E**). Часть этой энергии может быть использована для совершения полезной работы. Такую энергию называют **свободной энергией Гиббса (G)**.

При постоянных температуре и давлении соотношение между **изменением свободной энергии системы ( $\Delta G$ )** и **изменением энтропии** (меры упорядоченности системы,  **$\Delta S$** ) можно представить уравнением:

$$\Delta G = \Delta H - T \times \Delta S,$$

где  $\Delta H$  – изменение энтальпии (внутренней энергии, или теплоты системы),  $T$  – абсолютная температура,  $\Delta S$  – энтропии системы.

Направление химической реакции определяется значением  **$\Delta G$** . При отрицательных значениях  **$\Delta G$  ( $\Delta G < 0$ )** реакция протекает самопроизвольно, с выделением энергии. Такие реакции называются **экзергоническими**. Большинство реакций катаболизма являются **экзергоническими**.

Если значение  **$\Delta G$**  положительно ( **$\Delta G > 0$** ), то реакция будет протекать только при поступлении свободной энергии извне – это **эндергонические** реакции. Большинство реакций анаболизма являются **эндергоническими**.

При  **$\Delta G = 0$**  наступает равновесие, реакция проходит, как в одном, так и в другом направлении.

В биологических системах термодинамически невыгодные эндергонические реакции могут протекать лишь за счет энергии экзергонических реакций. Такие реакции называют энергетически сопряженными.

Важнейшей функцией многих биологических мембран служит превращение одной формы энергии в другую. Мембраны,

обладающие такими функциями, называются **энергопреобразующими**. Любая мембрана, выполняющая энергетическую функцию, способна к превращению химической энергии окисляемых субстратов или АТФ в электрическую энергию, а именно, в **трансмембранную разность электрических потенциалов ( $\Delta\psi$ )** или в энергию разности концентраций веществ, содержащихся в разделенных мембраной растворах, и наоборот. Среди энергопреобразующих мембран, имеющих наибольшее значение, можно назвать внутреннюю мембрану митохондрий, внешнюю цитоплазматическую мембрану, мембраны лизосом и комплекса Гольджи, саркоплазматический ретикулум. Наружная мембрана митохондрий и ядерная мембрана не может превращать одну форму энергии в другую.

Преобразование энергии в живой клетке описывается следующей общей схемой:

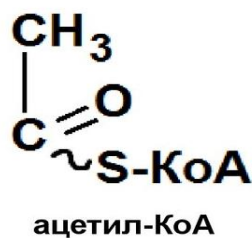
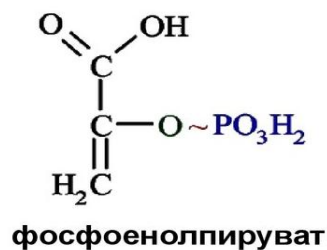
Энергетические ресурсы  $\rightarrow \Delta\mu I \rightarrow$  работа,

где  $\Delta\mu I$  – трансмембранная разность электрохимических потенциалов иона I.

Следовательно, процессы утилизации энергии и совершения за счет нее работы оказываются сопряжены через образование и использование  $\Delta\mu I$ . Поэтому данный ион может быть назван сопрягающим ионом. Основным сопрягающим ионом в клетке эукариот является  $H^+$ , и, соответственно,  $\Delta\mu H^+$  является основной конвертируемой формой запасаения энергии. Вторым по значимости сопрягающим ионом является  $Na^+$  ( $\Delta\mu Na^+$ ).  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$  и  $Cl^-$  не используются для совершения какой-либо работы.

### **Макроэргические соединения**

Часть свободной энергии клетки может аккумулироваться в высокоэнергетических субстратах, называемых **макроэргами**. Макроэргические соединения могут обладать двумя **макроэргическими связями** (нуклеозидтрифосфаты) или одной макроэргической связью (все остальные макроэрги). Свободная стандартная энергия при гидролизе такой связи **превышает 5 ккал/моль (или 21 кДж/моль)**. При написании структурной формулы такого соединения **макроэргическая связь** обозначаются знаком «~» – тильда.



Существуют две группы макроэргических соединений:

1. высокоэнергетические фосфаты – содержат остаток (остатки) фосфорной кислоты:

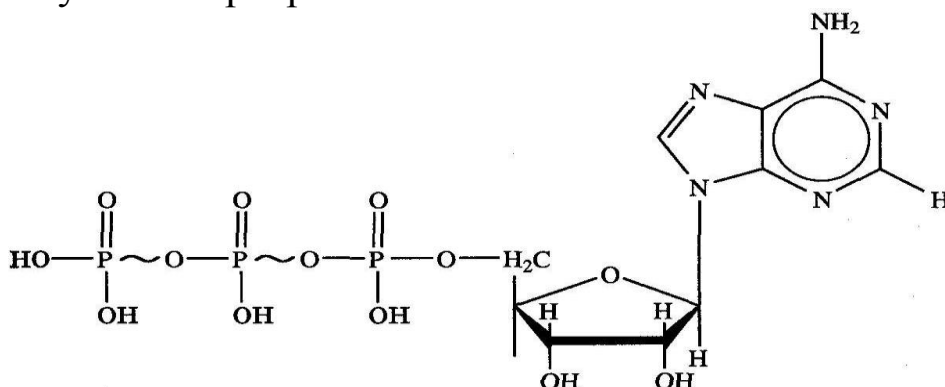
- Нуклеозидтрифосфаты (АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ, ТТФ).
- Нуклеозиддифосфаты (АДФ, ГДФ, ЦДФ, УДФ, ТДФ).
- Креатинфосфат
- 1,3-дифосфоглицерат.
- Фосфоенолпируват
- Карбамоилфосфат

2. Тиоэфиры - производные кофермента А (HS-КоА):

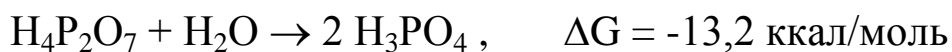
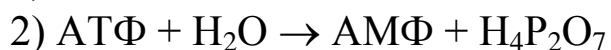
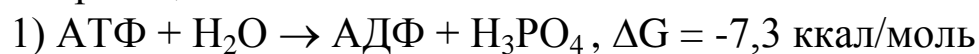
- Ацетил КоА.
- Сукцинил-КоА
- Ацилы КоА (тиоэфиры жирных кислот).

### Роль АТФ в энергетике клетки

Аденозинтрифосфорная кислота – универсальный донор свободной энергии в биологических системах. В молекуле АТФ присутствует 2 макроэргические связи.



Высвобождение энергии из АТФ происходит в двух возможных реакциях:



Таким образом, при распаде АТФ до АМФ и двух фосфатных остатков суммарно выделяется больше энергии, чем при распаде АТФ до АДФ и фосфата.

Энергия АТФ в клетке расходуется в течение одной минуты после ее образования и поэтому не запасается. Использование АТФ как источника энергии возможно только в условиях непрерывного ее синтеза из АДФ за счет энергии окисления пищевых веществ (белков, жиров и углеводов).

### Пути использования АТФ в клетках

1. Биосинтез макромолекул из более простых веществ.
2. Реакции фосфорилирования.
3. Мышечное сокращение.
4. Проведение нервного импульса.
5. Активный транспорт молекул через мембраны против градиента концентрации.
6. Передача наследственной информации.
7. Теплопродукция.

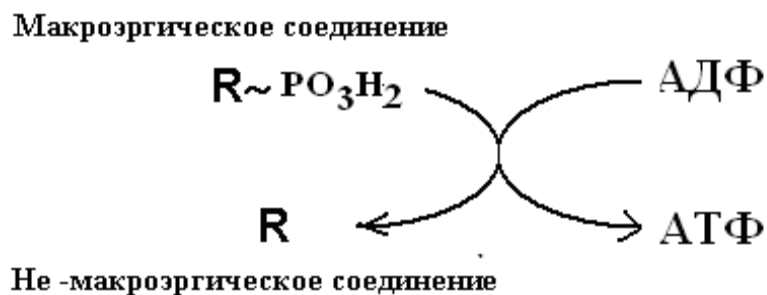
Образование АТФ происходит в следующих двух процессах:

1. Субстратное фосфорилирование (10% всей АТФ).
2. Окислительное фосфорилирование (90% всей АТФ). Процесс происходит в митохондриях в цепи переноса электронов.

### Субстратное фосфорилирование

Макроэргические соединения играют большую роль в функционировании клетки. Накопленная в них энергия может передаваться от одной молекулы к другой для выполнения работы. Большинство макроэргов используется в **субстратном фосфорилировании**, или синтезе **аденозинтрифосфорной кислоты** из аденозиндифосфорной кислоты на основе гидролиза макроэргической связи в одном из макроэргов.

Субстратное фосфорилирование служит источником до 10% всей АТФ в клетке.



## Биологическое окисление

В процессе катаболизма клетки окисляются разнообразные субстраты (глюкоза, др.) до  $CO_2$  и  $H_2O$  с образованием небольшого количества АТФ за счет субстратного фосфорилирования. Полученные в ходе этих реакций восстановительные эквиваленты переносятся на коферменты ( $НАД^+$ ,  $НАДФ^+$ , ФАД, КоQ) с образованием их восстановленных форм ( $НАДН+H^+$ ,  $НАДФН+H^+$ ,  $ФАДН_2$ ,  $КоQH_2$ ). Эти восстановленные коферменты окисляются молекулярным кислородом в цепи переноса электронов (ЦПЭ). В ходе работы ЦПЭ происходит поэтапное окисление субстратов дыхания, сопряженное с переносом ионов  $H^+$  через внутреннюю митохондриальную мембрану. Энергия окисления субстратов запасается в форме электрохимического потенциала  $\Delta\mu H^+$ , которая используется для синтеза АТФ в окислительном фосфорилировании.

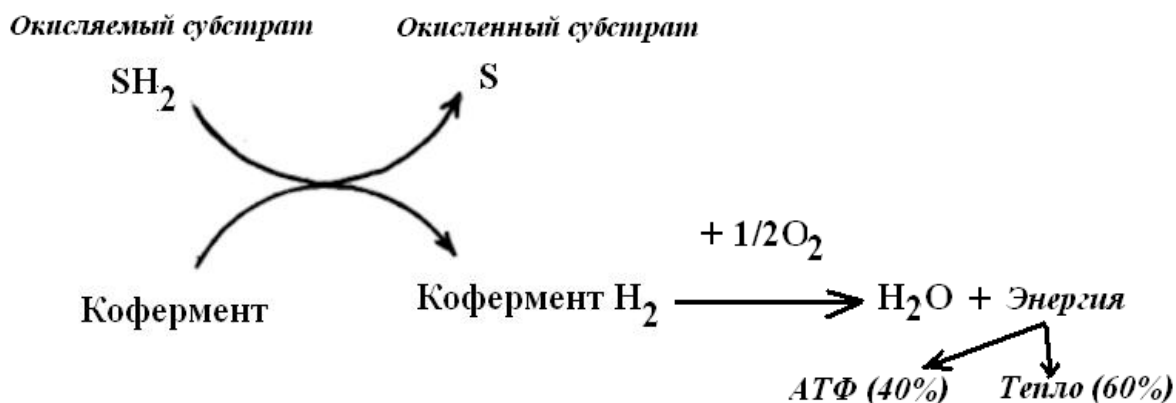
Таким образом, **биологическое окисление** – совокупность реакций окисления субстратов в клетке, в ходе которых происходит их дегидрирование (удаление 2 атомов H) с использованием промежуточных переносчиков водорода (коферментов) и конечного акцептора водорода.

Если в роли конечного акцептора выступает кислород, процесс называется **аэробным окислением** или **тканевым дыханием**, если конечный акцептор представлен не кислородом – **анаэробным окислением**. Анаэробное окисление имеет ограниченное значение в организме человека. Основная функция биологического окисления – обеспечение клетки энергией в доступной форме.

**Тканевое дыхание (аэробное окисление)** происходит в митохондриях и включает процессы переноса электронов в ЦПЭ. На 1-й стадии этого процесса субстраты окисляются с восстановле-

нием соответствующих коферментов ферментами-дегидрогеназами. На 2-й стадии водород в коферментах окисляется кислородом до воды ферментами ЦПЭ.

Упрощенная схема тканевого дыхания показана ниже:



Выделяют 2 типа окисляемых субстратов:

**Пиридинзависимые** – спиртовые или альдегидные – изоцитрат,  $\alpha$ -кетоглутарат, пируват, малат, глутамат,  $\beta$ -гидроксиацил-КоА,  $\beta$ -гидроксибутират, – в их дегидрировании участвуют НАД-зависимые дегидрогеназы.

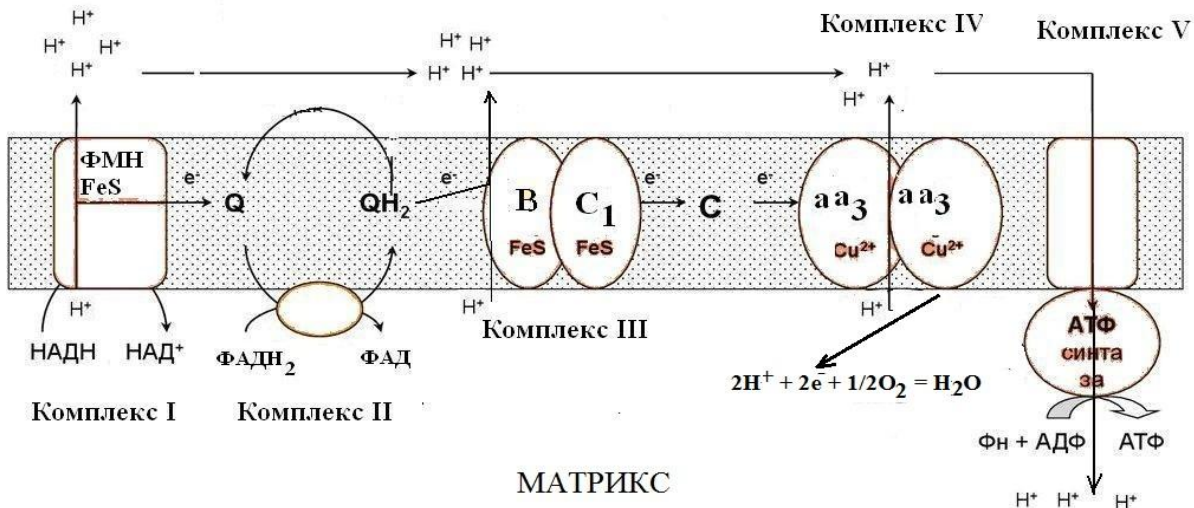
**Флавинзависимые** – являются производными углеводов – сукцинат, ацил-КоА, глицерол-3-фосфат – при дегидрировании передают водород на ФАД-зависимые дегидрогеназы.

### Структурная организация цепи переноса электронов

**Цепь переноса электронов** – последовательность переносчиков протонов и электронов от окисляемого субстрата на кислород, встроенных во внутреннюю мембрану митохондрий. ЦПЭ состоит из четырех белковых комплексов, осуществляющих последовательный перенос электронов от восстановленных коферментов НАДН( $\text{H}^+$ ) и ФАДН<sub>2</sub> через **убихинон** и **цитохром с** на молекулярный кислород. V комплекс – **АТФ-синтаза**, катализирует синтез АТФ из АДФ и Фн в процессе, называемом **окислительным фосфорилированием** (рис. 15.1).

## НАРУЖНАЯ МЕМБРАНА МИТОХОНДРИИ

Межмембранное пространство



**Рисунок 15.1. – Структурная организация цепи переноса электронов**

Переносчики в ЦПЭ расположены определенным образом по мере возрастания окислительно-восстановительного потенциала. В этой последовательности их стандартные окислительно-восстановительные потенциалы становятся все более положительными по мере приближения к кислороду. Энергетически выгодный перенос электронов комплексами ЦПЭ сопряжен с трансмембранным переносом протонов и активацией АТФ-синтазной реакции.

### Компоненты ЦПЭ:

**НАД-зависимые дегидрогеназы** дегидрируют пиридинзависимые субстраты и акцептируют  $2\bar{e}$  и один  $H^+$ .

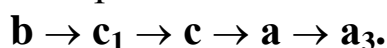
**ФАД (ФМН) – зависимые дегидрогеназы** акцептируют 2 атома водорода ( $2H^+$  и  $2\bar{e}$ ). ФМН-зависимая дегидрогеназа дегидрирует только НАДН, в то время как ФАД-зависимые дегидрогеназы окисляют флавинзависимые субстраты.

**Убихинон (КоQ или Q)** – группа жирорастворимых коферментов, свободно перемещающихся внутри мембраны. Убихинон может принимать 1 электрон, превращаясь в **семихинон**, или 2 электрона, превращаясь в **убихинол**. Убихинон принимает  $2H^+$  и



2 электрона от I и II комплексов и переносит электроны на цитохром b.

**Система цитохромов** – переносит **только** электроны. Цитохромы – железосодержащие белки, простетическая группа которых по структуре напоминает гем. В отличие от гема атом железа в цитохроме может обратимо переходить из двух – в трехвалентное состояние ( $\text{Fe}^{3+} + \bar{e} \leftrightarrow \text{Fe}^{2+}$ ). Это и обеспечивает участие цитохрома в транспорте электронов. Цитохромы действуют в порядке возрастания их редокс-потенциала и в дыхательной цепи располагаются следующим образом:



Два последних работают в ассоциации как один фермент **цитохромоксидаза  $a_3$** . Цитохромоксидаза состоит из 6 субъединиц (2 – цитохрома a и 4 – цитохрома  $a_3$ ). В цитохроме  $a_3$  кроме железа имеются атомы меди, и он передает электроны непосредственно на кислород. Атом кислорода при этом заряжается отрицательно и приобретает способность взаимодействовать с протонами с образованием метаболической воды.

**Железосерные белки ( $\text{FeS}$ )** – содержат негемовое железо и участвуют в окислительно-восстановительных процессах, протекающих по одноэлектронному механизму и ассоциированы с флавопротеинами и цитохромом b.

### Характеристика комплексов ЦПЭ

**I комплекс (НАДН-КоQ-оксидоредуктаза)** состоит из **ФМН-зависимой дегидрогеназы и железосерных белков**. Комплекс окисляет НАДН( $\text{H}^+$ ), отбирая у него 2 электрона и перенося их на **убихинон**. Одновременно I комплекс перекачивает 4 протона из матрикса в межмембранное пространство митохондрии.

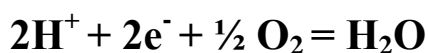
Полученная в ходе работы комплекса восстановленная форма убихинона – убихинол, диффундирует в мембране к комплексу III.

**II комплекс – сукцинат – КоQ – оксидоредуктаза** – включает ФАД-зависимые дегидрогеназы и железосерные белки. Передает  $2\text{H}^+$  и 2 электрона на убихинон, который затем диффундирует к комплексу III. Не перекачивает протоны, но обеспечивает вход в цепь дополнительных электронов за счёт окисления сукцината

**III комплекс – КоQH<sub>2</sub> – цитохром c – оксидоредуктаза** –

имеет в своем составе **цитохромы b, c<sub>1</sub> и железосерные белки**. Компоненты III комплекса переносят электроны с убухинона на два водорастворимых **цитохрома c** внутренней мембраны митохондрии. При этом комплекс переносит 4 протона из матрикса в межмембранное пространство митохондрии.

**IV комплекс – цитохром c – кислород – редуктаза** – состоит из **цитохромов a и a<sub>3</sub>**, которые, помимо гема, содержат ионы меди и катализируют перенос 2 электронов через **цитохром c** на один атом молекулярного O<sub>2</sub>, перекачивая, при этом, в межмембранное пространство 2 из 4-х протонов. Два других протона вместе с 2 электронами «снятых» с субстрата взаимодействуют с атомом молекулярного O<sub>2</sub> образуя воду:



Таким образом, в процессе транспорта с субстрата 2-х электронов (через НАДН+H<sup>+</sup>) на кислород из матрикса в межмембранное пространство переносится **10H<sup>+</sup>**, т.е. стехиометрия протоны/электроны составляет 10/2.

#### **V комплекс – АТФ-синтаза**

Сложный интегральный белок внутренней мембраны митохондрий. Он расположен в непосредственной близости к дыхательной цепи и обозначается как V комплекс. АТФ-синтаза состоит из 2 субъединиц, обозначаемых как F<sub>0</sub> и F<sub>1</sub>. Гидрофобный комплекс F<sub>0</sub> погружен во внутреннюю мембрану митохондрий и состоит из нескольких протомеров, образующих канал, по которому протоны переносятся в матрикс. Субъединица F<sub>1</sub> выступает в митохондриальный матрикс и состоит из 9 протомеров. Причем три из них связывают субъединицы F<sub>0</sub> и F<sub>1</sub>, образуя своеобразную ножку и являются чувствительными олигомицину.

#### **Существует 2 разновидности ЦПЭ:**

**Полная цепь** – включает I, III и IV комплексы, убухинон и цитохром c. В полной цепи происходит перенос электронов от НАДН до кислорода с переносом в межмембранное **10 протонов**.

**Неполная (укороченная или редуцированная) ЦПЭ**, состоит из II, III и IV комплексов, убухинона и цитохрома c. В неполной цепи происходит перенос электронов от ФАДН<sub>2</sub> до кислорода с переносом в межмембранное пространство **6 протонов**.

## Окислительное фосфорилирование АТФ

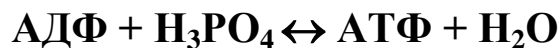
**Окислительное фосфорилирование** – процесс образования АТФ **V комплексом**, сопряженный с транспортом электронов по ЦПЭ от окисляемого субстрата на кислород. Электроны всегда стремятся переходить от электроотрицательных систем к электроположительным, поэтому их транспорт по ЦПЭ сопровождается снижением свободной энергии. В дыхательной цепи на каждом этапе снижение свободной энергии происходит ступенчато. При этом можно выделить три участка, в которых перенос электронов сопровождается относительно большим снижением свободной энергии. Эти этапы способны обеспечить энергией синтез АТФ, так как количество выделяющейся свободной энергии приблизительно равно энергии, необходимой для синтеза АТФ из АДФ и фосфата.

Механизм сопряжения дыхания и фосфорилирования раскрывает теория Митчелла.

### Хемиосмотическая теория Питера Митчелла (1961 г.)

*Основные постулаты этой теории:*

- внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для ионов  $H^+$  и  $OH^-$ ;
- транспорт электронов переносчиками ЦПЭ сопровождается выкачиванием примерно 10 протонов в межмембранное пространство на уровне I, III и IV комплексов;
- возникающий на мембране электрохимический потенциал является промежуточной формой запасания энергии;
- возвращение протонов в матрикс митохондрии через протонный канал АТФ-синтазы является поставщиком энергии для синтеза АТФ по схеме:



Таким образом, сопрягающим фактором, в соответствии с этой теорией, является электрохимический протонный потенциал  $\Delta\mu H^+$ .

*Доказательства хемиосмотической теории:*

- на внутренней мембране есть градиент  $H^+$  и его можно измерить;

- создание градиента  $H^+$  в митохондриии сопровождается синтезом АТФ;
- ионофоры (разобщители), разрушающие протонный градиент, тормозят синтез АТФ;
- ингибиторы, блокирующие транспорт протонов по протонным каналам АТФ-синтазы, ингибируют синтез АТФ
- реконструкция АТФ-синтазного комплекса, осуществляющего синтез АТФ, при наличии на мембране протонного потенциала.

Суть хемииосмотической теории: за счет энергии переноса электронов по ЦПЭ происходит движение протонов через внутреннюю митохондриальную мембрану в межмембранное пространство, где создается электрохимический потенциал ( $\Delta\mu H^+$ ). Этот потенциал приводит к конформационной перестройке активного центра АТФ-синтазы, в результате чего становится возможным обратный транспорт протонов через протонные каналы АТФ-синтазы. **Высказано предположение, что возвращение в матрикс примерно  $4H^+$  сопровождается реакцией образования 1 молекулы АТФ.** Образовавшаяся АТФ с помощью белка-переносчика транслоказы перемещается в цитозоль клетки, а взамен в матрикс поступают АДФ и  $\Phi_n$ .

**Коэффициент фосфорилирования (P/O)** – отношение числа атомов неорганического фосфата, включенных в молекулы АТФ, к одному атому поглощенного кислорода. Другими словами, P/O представляет количество молекул АТФ, синтезированных АТФ-синтазой в расчете на перенос 2 электронов на атом кислорода.

При окислении 1 молекулы НАДН( $H^+$ ) в полной цепи в межмембранное пространство переносится примерно  $10H^+$ . Следовательно, коэффициент P/O при окислении пиридинзависимых субстратов рассчитывается как  **$10 : 4 \sim 2,5$ - 3 молекулы АТФ.**

При окислении 1 молекулы ФАДН<sub>2</sub> в неполной цепи в межмембранное пространство переносится примерно  $6H^+$ . Следовательно, коэффициент P/O при окислении флавинзависимых субстратов рассчитывается как  **$6 : 4 \sim 1,5$ - 2 молекулы АТФ.**

### **Нарушения энергетического обмена**

Все живые клетки постоянно нуждаются в АТФ для осуществ-

вления различных видов деятельности. Нарушение какого-либо этапа метаболизма, приводящие к прекращению синтеза АТФ, губительны для клетки. Ткани с высокими энергетическими потребностями (ЦНС, миокард, почки, скелетные мышцы и печень) являются наиболее уязвимыми. Состояния, при которых синтез АТФ снижен, объединяют термином «гипоэнергетические». Причины данных состояний можно разбить на две группы:

*Алиментарные* – голодание и гиповитаминозы В<sub>2</sub> и РР – возникает нарушение поставки окисляемых субстратов в ЦПЭ или синтеза коферментов.

*Гипоксические* – возникают при нарушении доставки или утилизации кислорода в клетке.

**Регуляция ЦПЭ.** Осуществляется с помощью дыхательного контроля.

Дыхательный контроль – это регуляция скорости переноса электронов по дыхательной цепи отношением АТФ/АДФ. Чем меньше это отношение, тем интенсивнее идет дыхание и активнее синтезируется АТФ. Если АТФ не используется, и его концентрация в клетке возрастает, то прекращается поток электронов к кислороду. Накопление АДФ увеличивает окисление субстратов и поглощение кислорода. Механизм дыхательного контроля характеризуется высокой точностью и имеет важное значение, так как в результате его действия скорость синтеза АТФ соответствует потребностям клетки в энергии. Запасов АТФ в клетке не существует. Относительные концентрации АТФ/АДФ в тканях изменяются в узких пределах, в то время как потребление энергии клеткой может изменяться в десятки раз.

Американский биохимик Д. Чанс предложил рассматривать 5 состояний митохондрий, при которых скорость их дыхания ограничивается определенными факторами:

1. Недостаток SH<sub>2</sub> и АДФ – скорость дыхания очень низкая.
2. Недостаток SH<sub>2</sub> при наличии АДФ – скорость ограничена.
3. Есть SH<sub>2</sub> и АДФ – дыхание очень активно (лимитируется только скоростью транспорта ионов через мембрану).
4. Недостаток АДФ при наличии SH<sub>2</sub> – дыхание тормозится (состояние дыхательного контроля).
5. Недостаток кислорода, при наличии SH<sub>2</sub> и АДФ – состояние анаэробноза.

Митохондрии в покое находятся в состоянии 4, при котором скорость дыхания определяется количеством АДФ. Во время усиленной работы могут пребывать в состоянии 3 (исчерпываются возможности дыхательной цепи) или 5 (недостаток кислорода) – гипоксии.

**Ингибиторы ЦПЭ** – это вещества, которые блокируют перенос электронов по ЦПЭ:

- ингибиторы I комплекса – барбитураты, ротенон;
- ингибитор II комплекса – малонат;
- ингибитор III комплекса – антимицин А;
- ингибиторы IV комплекса – сероводород, цианиды, угарный газ, оксид азота.

**Ингибиторы окислительного фосфорилирования (олигомицин)** – это вещества, которые блокируют транспорт  $H^+$  по протонному каналу АТФ-синтазы.

**Разобщители окислительного фосфорилирования (ионофоры)** – это вещества, которые подавляют окислительное фосфорилирование, не влияя при этом на процесс переноса электронов по ЦПЭ. Механизм действия разобщителей сводится к тому, что они являются жирорастворимыми (липофильными) веществами и обладают способностью связывать протоны и переносить их через внутреннюю мембрану митохондрий в матрикс, минуя протонный канал АТФ-синтазы. Выделяющаяся при этом энергия рассеивается в виде тепла.

**Искусственные разобщители** – динитрофенол, производные витамина К (дикумарол), некоторые антибиотики (валиномицин). **Естественные разобщители** – продукты перекисного окисления липидов, жирные кислоты с длинной цепью, большие дозы йодсодержащих гормонов щитовидной железы, белки термогенины, белки UCP 1-5. На разобщении дыхания и фосфорилирования базируется терморегуляторная функция тканевого дыхания. Митохондрии бурой жировой ткани продуцируют больше тепла, так как присутствующий в них белок *термогенин* разобщает окисление и фосфорилирование. Это имеет важное значение в поддержании температуры тела новорожденных.

## ГЛАВА 16

### ТИПЫ ОКИСЛЕНИЯ. АНТИОКСИДАНТНЫЕ СИСТЕМЫ

Все реакции с участием кислорода, протекающие в живом организме, относятся к реакциям биологического окисления. Почти во всех клетках около 90% потребляемого кислорода восстанавливается в ЦПЭ с участием цитохромоксидазы (окисление, сопряженное с фосфорилированием АТФ, выполняет энергетическую функцию). Однако в некоторых тканях содержатся ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции, в которых атомы кислорода включаются непосредственно в молекулу субстрата (свободное окисление, выполняет пластическую функцию). Хотя в таких специализированных реакциях потребляется лишь небольшая часть кислорода, поглощаемого клетками, эти реакции очень важны для организма.

Выделяют четыре типа реакций с участием кислорода:

Таблица 16.1. – Типы окисления

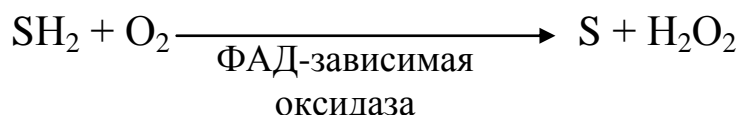
Тип окисления	Ферменты	Основные продукты реакции
оксидазный	оксидазы	$S + H_2O$
пероксидазный	ФАД-зависимые оксидазы	$S + H_2O_2$
диоксигеназный	диоксигеназы	$SO_2$
монооксигеназный	монооксигеназы (гидроксилазы)	$SOH + H_2O$

#### Оксидазный тип окисления

Этот путь окисления осуществляется в процессе функционирования ЦПЭ. Терминальный фермент ЦПЭ, переносящий электроны непосредственно на кислород – цитохромоксидаза. Это основной путь потребления кислорода в организме. Он выполняет энергетическую функцию.

#### Пероксидазный тип окисления

Окисление субстрата путем дегидрирования. Два атома водорода переносятся на молекулу кислорода с образованием перекиси:

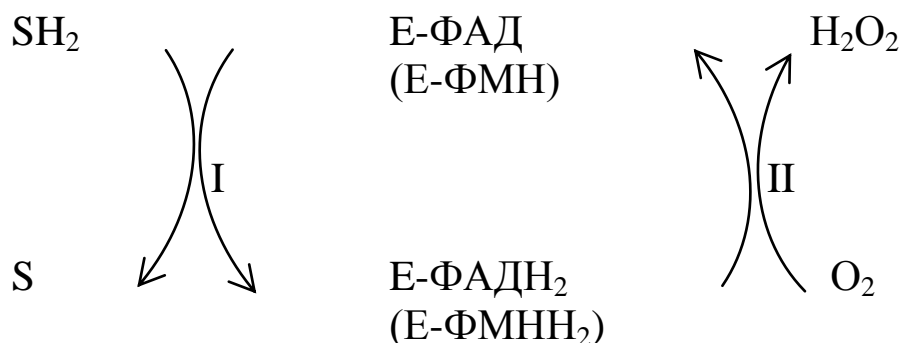


В этой реакции энергия окисления выделяется в виде тепла. Реакции этого типа катализируют ФАД-зависимые оксидазы (аэробные дегидрогеназы), содержащие в качестве простетической группы ФАД или ФМН. В клетке около 80% этих ферментов сосредоточено в пероксисомах. Пероксидазный путь окисления активно протекает в лейкоцитах, макрофагах и других фагоцитирующих клетках. Образующийся пероксид водорода  $\text{H}_2\text{O}_2$  – сильный окислитель, обезвреживающий патогенные бактерии (защитная функция).

Реакция пероксидазного окисления протекает в 2 стадии:

I. **Анаэробная** – происходит дегидрирование восстановленного субстрата  $\text{SH}_2$ , при этом протоны и электроны переносятся на ФАД ( $\text{ФАД} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{ФАДН}_2$ ).

II. **Аэробная** – происходит окисление фермента ( $\text{ФАДН}_2 \rightarrow \text{ФАД}$ ) кислородом (самопроизвольный процесс).



Биологическая роль оксидазного типа окисления:

- 1) защитная функция – в лейкоцитах и других фагоцитирующих клетках;
- 2) катаболизм биогенных аминов (фермент – моноаминоксидаза);
- 3) метаболизм аминокислот (ферменты – оксидазы D- и L-аминокислот);
- 4) катаболизм пуринов (фермент – ксантиноксидаза);
- 5) катаболизм глюкозы в растительных клетках (фермент – глюкозооксидаза).



### Диоксигеназный тип окисления

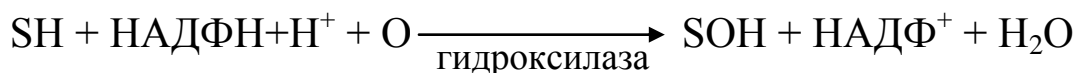
В процессе диоксигеназного окисления в молекулу субстрата включаются оба атома кислорода:



Диоксигеназы катализируют разрыв двойной связи в ароматическом кольце. Например: гомогентизатоксидаза катализирует расщепление ароматического кольца гомогентизиновой кислоты с образованием малеилацетоацетата.

### Монооксигеназный тип окисления

Монооксигеназы (гидроксилазы) катализируют включение в субстрат одного атома молекулы кислорода. Другой атом кислорода восстанавливается до воды. Для работы монооксигеназной системы необходим, кроме неполярного субстрата (SH), донор атомов водорода – **косубстрат** (НАДФН + H<sup>+</sup>, ФАДН<sub>2</sub>, аскорбиновая кислота):



Монооксигеназные реакции необходимы:

- 1) для специфических превращений аминокислот, например, для синтеза тирозина из фенилаланина (фермент – фенилаланингидроксилаза);
- 2) для синтеза холестерина, желчных кислот в печени; стероидных гормонов в коре надпочечников, яичниках, плаценте, семенниках; кальцитриола в почках;
- 3) для обезвреживания чужеродных веществ (ксенобиотиков) в печени.

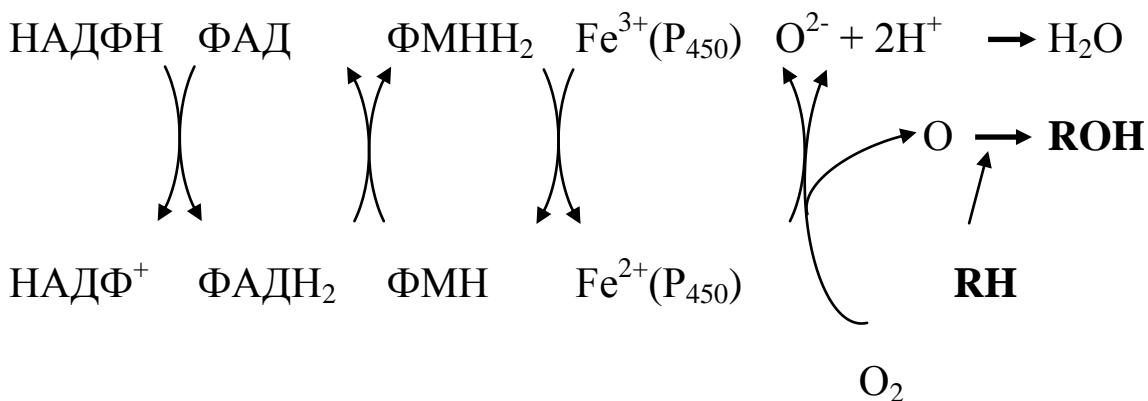


Рисунок 16.1. – Схема микросомального окисления

Ферменты монооксигеназного пути окисления локализованы в мембранах эндоплазматического ретикулума (при гомогенизации тканей эти мембраны превращаются в микросомы – мембранные пузырьки). Поэтому монооксигеназный путь окисления называют **микросомальным окислением**.

Микросомальное окисление представляет короткую электронтранспортную цепь, включающую НАДФ, ФАД, ФМН, цитохром P<sub>450</sub> (рис. 12.1).

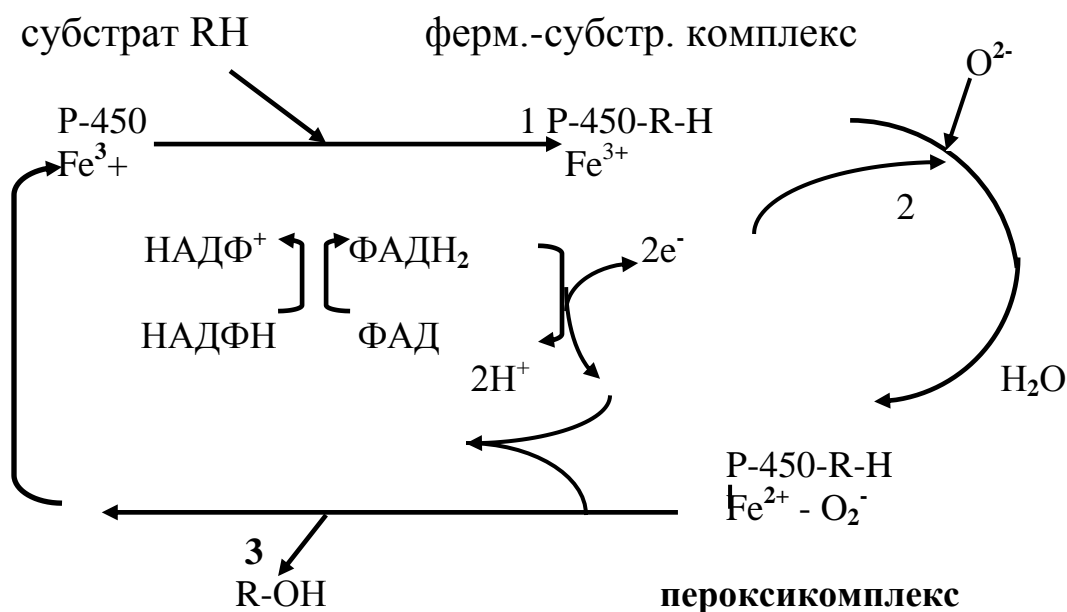
Микросомальная система включает два фермента: цитохром P<sub>450</sub> и НАДФН-цитохром-P<sub>450</sub>-оксидоредуктазу.

НАДФН-цитохром P<sub>450</sub> – оксидоредуктаза – флавопротеин, в качестве простетической группы содержит два кофермента ФАД и ФМН.

Цитохром P<sub>450</sub> – гемопротейн, содержит простетическую группу гем и участки связывания для кислорода и субстрата. Восстановленный цитохром P<sub>450</sub> имеет максимум поглощения при 450 нм. Выполняет две функции: связывание окисляемого субстрата и активация молекулярного кислорода.

Микросомальное окисление протекает в несколько этапов (рис. 16.2):

1) связывание в активном центре цитохрома P<sub>450</sub> субстрата RH;



**Рисунок 16.2. – Механизм микросомального окисления**

2) присоединение первого электрона и восстановление железа в геме до  $Fe^{2+}$ ; изменение валентности железа увеличивает сродство комплекса  $P_{450} - Fe^{2+} \cdot RH$  к молекуле кислорода; присоединение второго электрона к молекуле кислорода и образование неустойчивого пероксикомплекса  $P_{450} - Fe^{2+} \cdot O_2^- \cdot RH$ ;

3)  $Fe^{2+}$  окисляется, при этом электрон присоединяется к молекуле кислорода; восстановленный атом кислорода ( $O^{2-}$ ) связывает два протона (донор протонов – НАДФН +  $H^+$ ) и образуется 1 молекула воды; второй атом кислорода участвует в гидроксильровании субстрата RH; гидроксильрованный субстрат ROH отделяется от фермента.

В результате гидроксильрования гидрофобный субстрат становится более полярным, повышается его растворимость и возможность выведения из организма с мочой. Так окисляются многие ксенобиотики, лекарственные вещества.

В редких случаях в результате гидроксильрования токсичность соединения увеличивается. Например, при окислении нетоксичного бензпирена (содержится в табачном дыму, копченостях) образуется токсичный оксипирен, который является сильным канцерогеном, индуцирующим злокачественное перерождение клеток.

В митохондриях содержится монооксигеназная система, которая выполняет биосинтетическую функцию: синтез холестерина; стероидных гормонов (кора надпочечников, яичники, плацента, семенники); желчных кислот (печень); образование кальцитриола (почки).

### Активные формы кислорода

В организме в результате окислительно-восстановительных реакций постоянно происходит генерация активных форм кислорода (АФК) при одноэлектронном восстановлении кислорода (молекула имеет неспаренный электрон на молекулярной или внешней атомной орбите).

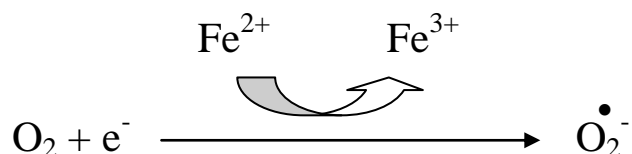
#### Источники АФК:

- 1) цепь тканевого дыхания (утечка электронов с восстановленного убихинона  $CoQH_2$  на кислород);
- 2) реакции, катализируемые оксидазами, гемопротейнами, цито-

хромом P<sub>450</sub>;

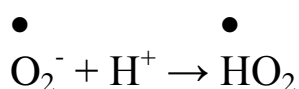
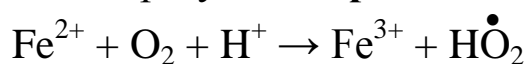
- 3) реакции окисления в лейкоцитах, макрофагах и пероксисомах;
- 4) радиолитиз воды;
- 5) воздействие ксенобиотиков, пестицидов;
- 6) реакции самопроизвольного (неферментативного) окисления ряда веществ.

**Супероксид-анион** является одним из наиболее широко распространенных в организме свободных радикалов:

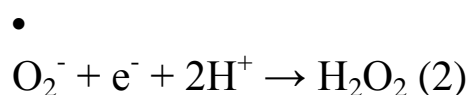
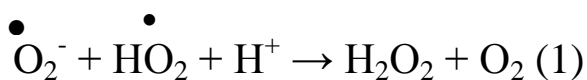


Он образуется в клетках болезнетворных бактерий и является повреждающим фактором для мембран клеток паренхиматозных органов человеческого организма. Для лейкоцитов и макрофагов супероксид-анион является фактором бактерицидности, с помощью которого клетки инактивируют патогенные микроорганизмы.

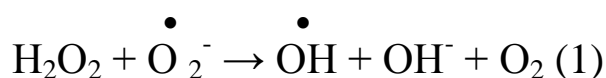
Другой путь образования свободных радикалов – взаимодействие кислорода с металлами переменной валентности. При этом образуется **пероксидный радикал**:

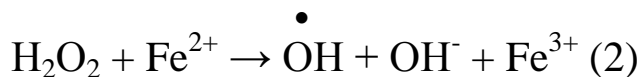


Взаимодействие супероксиданиона с пероксидным радикалом (1) или одноэлектронное восстановление супероксид-аниона (2) в водной среде приводят к образованию **пероксида водорода**



**Гидроксильный радикал OH** образуется при взаимодействии пероксида водорода с супероксид-анионом (1) либо с металлами (2):





Кислородные радикалы обладают высокой реакционной способностью и легко вступают в химические реакции с органическими молекулами для приобретения недостающего электрона. Кислородные радикалы оказывают воздействие на различные структурные компоненты клеток: ДНК (повреждение азотистых оснований); белки (окисление аминокислотных остатков, образование ковалентных «сшивок»); липиды; мембранные структуры.

Активные формы кислорода могут отщеплять электроны от многих соединений, превращая их в новые свободные радикалы, и инициируют тем самым цепные окислительные реакции. Если в реакцию с АФК вступают ненасыщенные жирные кислоты плазматических мембран, говорят о перекисном окислении липидов.

### **Перекисное окисление липидов (ПОЛ)**

Реакции ПОЛ являются свободнорадикальными и постоянно протекают в организме, так же как и реакции образования АФК. В норме они поддерживаются на определенном уровне и выполняют ряд функций:

- индуцируют апоптоз (запрограммированную гибель клеток);
- регулируют структуру клеточных мембран и тем самым обеспечивают функционирование ионных каналов, рецепторов, ферментных систем;
- обеспечивают освобождение из мембраны арахидоновой кислоты, из которой синтезируются биорегуляторы (простагландины, тромбоксаны, лейкотриены);
- ПОЛ может выступать в качестве вторичного мессенджера, участвуя в трансформации сигналов из внешней и внутренней среды организма, обеспечивая их внутриклеточную передачу.

#### **Механизм ПОЛ:**

##### **1. Инициация.**

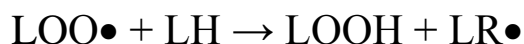
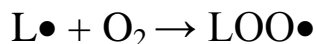
Иницирует реакцию чаще всего гидроксильный радикал,

отнимающий водород от  $\text{CH}_2$ - групп ненасыщенной жирной кислоты L, что приводит к образованию липидного радикала  $\text{L}\bullet$ :



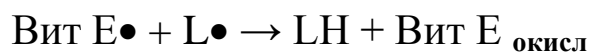
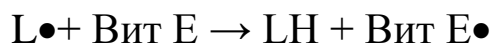
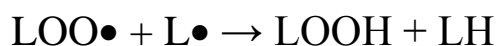
## 2. Развитие цепи.

Развитие цепи происходит при присоединении кислорода, в результате чего образуется пероксидный радикал  $\text{LOO}\bullet$  или гидроперекись липида  $\text{LOOH}$ :



## 3. Обрыв цепи.

Развитие цепи может останавливаться при взаимодействии свободных радикалов между собой или при взаимодействии с различными антиоксидантами (витамином E), которые являются донорами электронов:



В результате ПОЛ происходит преобразование обычных липидов в **первичные продукты ПОЛ** (гидроперекиси липидов). Это приводит к появлению в мембранах участков («дыр»), через которые наружу выходит содержимое как самих клеток, так и их органелл.

Первичные продукты ПОЛ разрушаются с образованием **вторичных продуктов ПОЛ**: альдегидов, кетонов, малонового диальдегида, диеновых конъюгатов. Накоплением в крови малонового диальдегида (МДА) объясняется синдром интоксикации, сопровождающий многие заболевания внутренних органов. Реагируя с SH- и  $\text{CH}_3$ -группами белков, МДА подавляет активность цитохромксидаз (угнетая тем самым тканевое дыхание) и гидроксилаз. МДА обуславливает также ускоренное развитие атеросклероза.

При взаимодействии МДА с аминокетонами фосфолипидов образуются **конечные продукты ПОЛ** – Шиффовы основания. Примером этих соединений является пигмент липофусцин, появ-

ляющийся на оболочке глаза, на коже с возрастом. Липофусцин представляет собой смесь липидов и белков, связанных между собой поперечными ковалентными связями и денатурированных в результате взаимодействия с химически активными группами продуктов ПОЛ. Этот пигмент фагоцитируется, но не гидролизуется ферментами лизосом, накапливается в клетках, нарушая их функцию.

#### **Негативные последствия активации ПОЛ:**

- повреждение липидного бислоя мембран, в результате чего в клетки проникает вода, ионы натрия, кальция, что приводит к набуханию клеток, органелл и их разрушению;
- преждевременное старение клеток и организма в целом;
- взаимодействие высокореактивных продуктов ПОЛ с аминокислотными группами белков с образованием Шиффовых оснований;
- изменение текучести (вязкости) мембран, в результате чего нарушается транспортная функция мембран (функционирование ионных каналов);
- нарушение активности мембраносвязанных ферментов, рецепторов.

**Активация ПОЛ** характерна для многих заболеваний и патологических состояний:

- атеросклероз и другие сердечно-сосудистого заболевания;
- поражения ЦНС (болезнь Паркинсона, Альцгеймера);
- воспалительные процессы любого генеза;
- дистрофия мышц (болезнь Дюшенна);
- онкологические заболевания;
- радиационные поражения;
- бронхолегочные патологии.

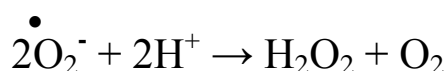
#### **Антиоксидантные системы организма**

В организме токсическое действие активных форм кислорода предотвращается за счет функционирования систем антиоксидантной защиты. В норме сохраняется равновесие между окислительными (прооксидантными) и антиоксидантными системами. Антиоксидантная система защиты представлена ферментными и неферментативными компонентами.

### **Ферменты антиоксидантной системы:**

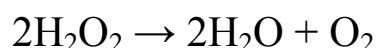
Супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза (глутатионпероксидаза), глутатионредуктаза. Наиболее активны эти ферменты в печени, почках и надпочечниках.

**Супероксиддисмутаза** превращает супероксидные анионы в пероксид водорода:



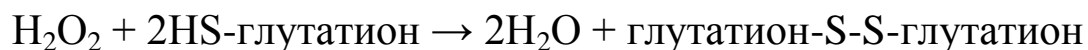
Супероксиддисмутаза является мощным ингибитором свободнорадикального окисления в организме, защищающим биополимеры (белки, нуклеиновые кислоты и др.) от окислительной деструкции. Супероксиддисмутаза – индуцируемый фермент, т.е. синтез его увеличивается, если в клетках активизируется ПОЛ.

**Каталаза** является гемопротеином и катализирует реакцию разложения пероксида водорода:



В клетках каталаза локализована в пероксисомах, где образуется наибольшее количество пероксида водорода, а также в лейкоцитах, где она защищает клетки от последствий «респираторного взрыва».

**Глутатионпероксидаза** – важнейший фермент, обеспечивающий инактивацию пероксида водорода и пероксидных радикалов. Он катализирует восстановление пероксидов при участии трипептида глутатиона. SH-группа глутатиона служит донором электронов и, окисляясь, образует дисульфидную форму глутатиона:



Окисленный глутатион восстанавливается **глутатионредуктазой**:



Глутатионпероксидаза в качестве кофермента использует селен. При его недостатке активность антиоксидантной защиты снижается.



### **Неферментативные антиоксиданты:**

1. Природные водорастворимые антиоксиданты (витамин С; карнозин; таурин; восстановленные тиолы, содержащие SH-группы; цистеин; HS-КоА; белки, содержащие селен). Витамин С участвует в ингибировании ПОЛ с помощью двух механизмов. Во-первых, он восстанавливает окисленную форму витамина Е и поддерживает необходимую концентрацию этого антиоксиданта в мембранах клеток. Во-вторых, витамин С взаимодействует как восстановитель с водорастворимыми активными формами кислорода и инактивирует их.

2. Липофильные низкомолекулярные антиоксиданты, локализованные в мембранах клеток (витамин Е;  $\beta$ -каротин; КоQ; нафтахиноны). Витамин Е – наиболее распространенный антиоксидант в природе, способен инактивировать свободные радикалы непосредственно в гидрофобном слое мембран и тем самым предотвращать развитие цепи перекисного окисления.  $\beta$ -каротин, предшественник витамина А, также ингибирует ПОЛ. Уменьшение содержания этого антиоксиданта в тканях приводит к тому, что продукты ПОЛ начинают производить вместо физиологического патологический эффект.

Растительная диета, обогащенная витаминами Е, С, каротиноидами, уменьшает риск развития атеросклероза и заболеваний сердечно-сосудистой системы, обладает антиканцерогенным действием. Действие этих витаминов связано с ингибированием ПОЛ и кислородных радикалов и, следовательно, с поддержанием нормальной структуры компонентов клеток.

## ГЛАВА 17

### ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УГЛЕВОДОВ

Углеводы входят в состав живых организмов и вместе с белками, липидами и нуклеиновыми кислотами определяют специфичность их строения и функционирования. Углеводы участвуют во многих метаболических процессах, но прежде всего они являются основными поставщиками энергии. На долю углеводов приходится примерно 75% массы пищевого суточного рациона и более 50% от суточного количества необходимых калорий (табл. 17.1). Углеводы можно разделить на 3 основные группы в зависимости от количества составляющих их мономеров: моносахариды; олигосахариды; полисахариды.

Таблица 17.1. – Углеводы пищи (300-500 г в сутки)

Углеводы	Представители	Пищевые продукты	Количество, г/сутки
Полисахариды	Крахмал, гликоген, амилопектин	Хлеб, крупа, рис, картофель	250-400
Дисахариды	Сахароза, лактоза, мальтоза	Сахар, кондитерские изделия, молоко	50-100
Моносахариды	Глюкоза, фруктоза, галактоза	Фрукты, ягоды, соки	0-50

По функциям углеводы условно можно подразделить на две группы:

1. углеводы с преимущественно энергетической функцией. К ним относится глюкоза, гликоген, крахмал.
2. углеводы с преимущественно структурной функцией. К ним относятся гликопротеины, гликолипиды, гликозаминогликаны, у растений – клетчатка.

Углеводы выполняют ряд важных функций:

1. Энергетическая (глюкоза).
2. Запасающая (крахмал растений, гликоген животных – запас энергии).
3. Структурная (целлюлоза, хитин – структурные компоненты клеточных стенок растений, грибов и насекомых).

4. Рецепторная (мембранные гликопротеины клеточных рецепторов).
5. Осмотическая (глюкоза – осмотическое давление плазмы крови).
6. Защитно-механическая (гликозаминогликаны, гликопротеины) – соприкасающиеся поверхности суставов.
7. Специфическая (гепарин – антикоагулянт, кофактор липопротеинлипазы плазмы крови).

Пищевые волокна (клетчатка) – это компоненты растительных клеток, которые не расщепляются ферментами животного организма. Основной компонент пищевых волокон – целлюлоза. Рекомендуемое суточное потребление клетчатки – не менее 25 г.

### **Биологическая роль клетчатки**

1. Утилизируется микрофлорой кишечника и поддерживает ее нормальный состав.
2. Адсорбирует воду и удерживает ее в полости кишечника.
3. Увеличивает объем каловых масс.
4. Нормализует давление на стенки кишечника.
5. Связывает некоторые токсические вещества, образующиеся в кишечнике, а также адсорбирует радионуклиды.

### **Переваривание углеводов**

В слюне содержится фермент  $\alpha$ -амилаза, расщепляющая  $\alpha$ -1,4-гликозидные связи внутри молекул полисахаридов.

Переваривание основной массы углеводов происходит в двенадцатиперстной кишке под действием ферментов панкреатического сока –  $\alpha$ -амилазы, амило-1,6-гликозидазы и олиго-1,6-гликозидазы (терминальной декстриназы).

Ферменты, расщепляющие гликозидные связи в дисахаридах (дисахаридазы), образуют ферментативные комплексы, локализованные на наружной поверхности цитоплазматической мембраны энтероцитов.

Сахаразо-изомальтазный комплекс гидролизует сахарозу и изомальтозу, расщепляя  $\alpha$ -1,2- и  $\alpha$ -1,6-гликозидные связи. Кроме того обладает мальтазной и мальтотриазной активностью, гидро-

лизуя  $\alpha$ -1,4-гликозидные связи в мальтозе и мальтотриозе (трисахарид, образующийся из крахмала).

Гликоамилазный комплекс – катализирует гидролиз  $\alpha$ -1,4-связей между остатками глюкозы в олисахаридах, действуя с редуцирующего конца. Расщепляет также связи в мальтозе, действуя как мальтаза.

$\beta$ -гликозидазный комплекс (лактаза) – расщепляет  $\beta$ -1,4-гликозидные связи в лактозе.

Трегаллаза – также гликозидазный комплекс, гидролизующий связи между мономерами в трегалозе – дисахариде, содержащемся в грибах. Трегалоза состоит из двух глюкозных остатков, связанных гликозидной связью между первыми аномерными атомами углерода.

### **Всасывание моносахаридов в кишечнике**

Всасывание моносахаридов из кишечника происходит путем облегченной диффузии с помощью специальных белков-переносчиков (транспортеров). Кроме того, глюкоза и галактоза транспортируются в энтероциты путем вторично-активного транспорта, зависящего от градиента концентрации ионов натрия. Белки-транспортеры, зависящие от градиента  $\text{Na}^+$ , обеспечивают всасывание глюкозы из просвета кишечника в энтероцит против градиента концентрации. Концентрация  $\text{Na}^+$ , необходимая для этого транспорта, обеспечивается  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-азой, которая работает как насос, откачивая из клетки  $\text{Na}^+$  в обмен на  $\text{K}^+$ . В отличие от глюкозы, фруктоза транспортируется системой, не зависящей от градиента натрия. При разной концентрации глюкозы в просвете кишечника «работают» разные механизмы транспорта. Благодаря активному транспорту эпителиальные клетки кишечника могут поглощать глюкозу при ее очень низкой концентрации в просвете кишечника. Если же концентрация глюкозы в просвете кишечника велика, она может транспортироваться в клетку путем облегченной диффузии. Таким же способом может всасываться и фруктоза. Скорость всасывания глюкозы и галактозы гораздо выше, чем других моносахаридов.

## Транспорт глюкозы из крови в клетки

Поглощение глюкозы клетками из кровотока происходит также путем облегченной диффузии. Следовательно, скорость трансмембранного потока глюкозы зависит только от градиента ее концентрации. Исключение составляют клетки мышц и жировой ткани, где облегченная диффузия регулируется инсулином.

Таблица 17.2 – Клеточные транспортеры глюкозы

Транспортер	Локализация в органах
ГЛЮТ-1 (GLUT-1)	Головной мозг, почки, сетчатка, плацента, эндотелиальные клетки, толстый кишечник
ГЛЮТ-2	Печень, $\beta$ -клетки островков Лангерганса, клетки почечных канальцев, энтероциты
ГЛЮТ-3	Нейроны, головной мозг
ГЛЮТ-4	Скелетные мышцы, миокард, жировая ткань
ГЛЮТ-5	Тонкий кишечник, яички, сперматозоиды, почки

Глюкозные транспортеры (ГЛЮТ) обнаружены во всех тканях. Существует несколько разновидностей ГЛЮТ, они пронумерованы в соответствии с порядком их обнаружения. Описанные 5 типов ГЛЮТ имеют сходную первичную структуру и доменную организацию. ГЛЮТ-1 обеспечивает стабильный поток глюкозы в мозг. ГЛЮТ-2 обнаружен в клетках органов, выделяющих глюкозу в кровь (печень, почки). Именно при участии ГЛЮТ-2 глюкоза переходит в кровь из энтероцитов и печени. ГЛЮТ-2 участвует в транспорте глюкозы в  $\beta$ -клетки поджелудочной железы. ГЛЮТ-3 содержится во многих тканях, обладает большим, чем ГЛЮТ-1, сродством к глюкозе. Он также обеспечивает постоянный приток глюкозы к клеткам нервной и других тканей. ГЛЮТ-4 – главный переносчик глюкозы в клетки мышц и жировой ткани. ГЛЮТ-5 встречается главным образом, в клетках тонкого кишечника. Его функции известны недостаточно.

Все типы ГЛЮТ могут находиться как в плазматической мембране, так и в цитозольных везикулах. ГЛЮТ-4 (в меньшей степени ГЛЮТ-1) почти полностью находятся в цитоплазме клетки. Влияние инсулина на такие клетки приводит к перемеще-

нию везикул, содержащих ГЛЮТ, к плазматической мембране, слиянию с ней и встраиванию транспортеров в мембрану. После чего возможен облегченный транспорт глюкозы в эти клетки. После снижения концентрации инсулина в крови транспортеры глюкозы снова перемещаются в цитоплазму, и поступление глюкозы в клетку прекращается.

В клетки печени глюкоза проходит при участии ГЛЮТ-2, независимо от инсулина. Хотя инсулин и не влияет на транспорт глюкозы, он усиливает приток глюкозы в гепатоцит в период пищеварения косвенным путем, индуцируя синтез глюкокиназы и ускоряя тем самым фосфорилирование глюкозы.

Транспорт глюкозы из первичной мочи в клетки канальцев почек происходит путем вторично-активного транспорта. Благодаря этому глюкоза может поступать в клетки канальцев даже в том случае, если ее концентрация в первичной моче меньше, чем в клетках. Глюкоза реабсорбируется из первичной мочи почти полностью (на 99%) в конечной части канальцев.

Известны различные нарушения в работе транспортеров глюкозы. Наследственный дефект этих белков может лежать в основе инсулинонезависимого сахарного диабета.

### **Нарушения переваривания и всасывания углеводов**

В основе патологии переваривания и всасывания углеводов могут быть причины двух типов:

1. Дефекты ферментов, участвующих в гидролизе углеводов в кишечнике.
2. Нарушения всасывания продуктов переваривания углеводов в клетки слизистой оболочки кишечника.

В обоих случаях возникает осмотическая диарея, которую вызывают неращепленные дисахариды или не всосавшиеся моносахариды. Термином «мальабсорбция» называют недостаточное всасывание продуктов переваривания углеводов. Но поскольку клинические проявления при недостаточном переваривании и всасывании схожи, то термином «мальабсорбция» называют оба вида нарушений.

### **Нарушения переваривания дисахаридов:**

1. Наследственный дефицит лактазы симптомы – сразу после рождения.
2. Недостаточность лактазы из-за снижения экспрессии гена фермента в онтогенезе.
3. Недостаточность лактазы вторичного характера (приобретенная).
4. Наследственная недостаточность сахараза-изомальтазного комплекса.
5. Приобретенная недостаточность сахараза-изомальтазного комплекса.

### **Метаболизм фруктозы**

Значительное количество фруктозы, образующееся при расщеплении сахарозы, прежде чем поступить в систему воротной вены, превращается в глюкозу уже в клетках кишечника. Другая часть фруктозы всасывается с помощью белка-переносчика, т.е. путем облегченной диффузии.

Возможны два пути превращения фруктозы, главным из которых является ее фосфорилирование по первому атому углерода ферментом фруктокиназой с образованием фруктозо-1-фосфата.

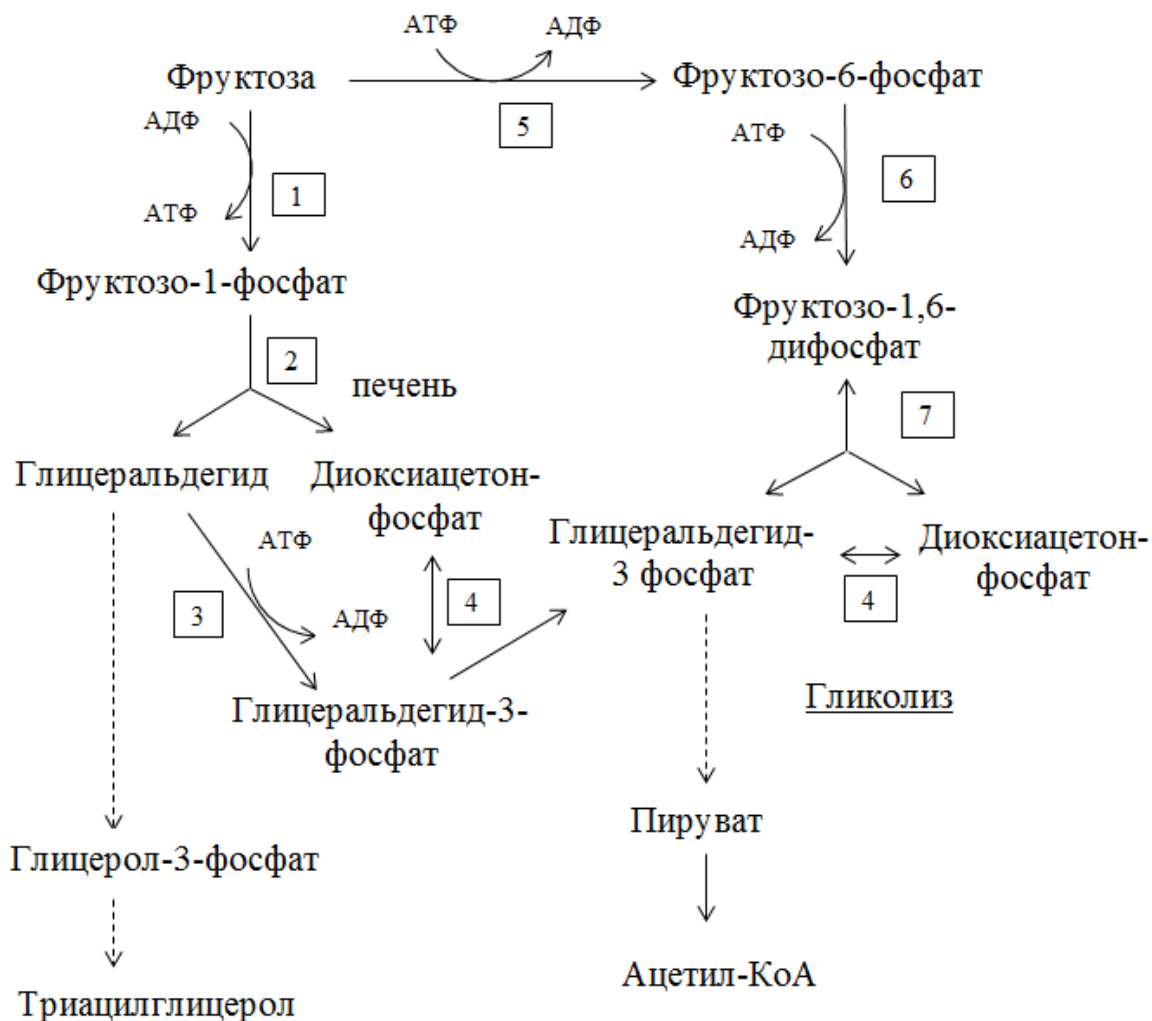
Второй путь превращения фруктозы – фосфорилирование гексокиназой шестого углеродного атома с образованием фруктозо-6-фосфата, который затем изомеризуется в глюкозо-6-фосфат. Однако сродство к глюкозе у гексокиназы в 20 раз выше, чем к фруктозе, поэтому этот процесс происходит слабо.

Возможны наследственные нарушения обмена фруктозы вследствие дефектов двух ферментов (рис. 17.1).

1. Эссенциальная фруктозурия отмечается при дефекте фруктокиназы печени. Нарушается фосфорилирование фруктозы, что проявляется повышением содержания фруктозы в крови (фруктоземия) и выделением ее с мочой (фруктозурия). Заболевание протекает бессимптомно.

2. Наследственная непереносимость фруктозы является следствием генетически обусловленного дефекта фермента альдолазы фруктозо-1-фосфата. Проявляется судорогами, рвотой,

гипогликемией, поражением печени, почек и головного мозга. Заканчивается смертельным исходом. Гипогликемия является следствием ингибирования фруктозо-1-фосфатом, накапливающимся в крови и в тканях, ферментов фосфоорилазы, альдолазы, фруктозо-1,6-ди-фосфата, фосфоглюкомутазы, что нарушает энергообеспечение клеток.



**Рисунок 17.1. – Метаболизм фруктозы**

1- фруктокиназа; 2- альдолаза фруктозо-1-фосфата; 3- триозокиназа; 4- триозофосфатизомераза; 5- гексокиназа; 6- фосфофруктокиназа;

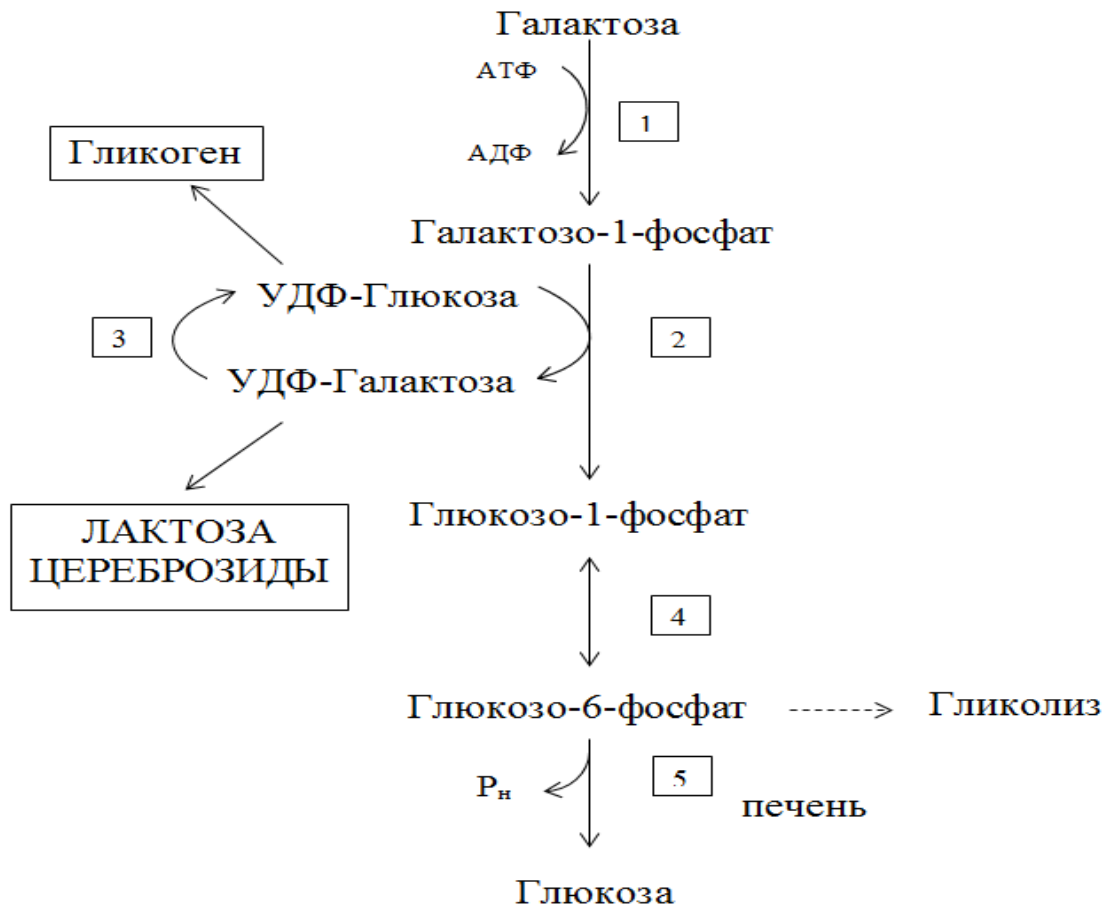
7- альдолаза фруктозо-1,6-дифосфата.



## Метаболизм галактозы

Галактоза образуется в кишечнике в результате гидролиза лактозы.

Нарушение метаболизма галактозы проявляется при наследственном заболевании – галактоземии. Оно является следствием врожденного дефекта фермента гексозо-1-фосфатуридилитрансферазы. Галактоземия проявляется вскоре после рождения, как только ребенок начинает получать молоко, в виде рвоты, диареи, дегидратации, уменьшении массы тела, желтухи. В крови, моче и тканях повышается концентрация галактозы и галактозо-1-фосфата. Вскоре после рождения развивается катаракта, гепатомегалия, поражение почек и головного мозга, в тяжелых случаях возможен летальный исход.



**Рисунок 17.2. – Метаболизм галактозы**

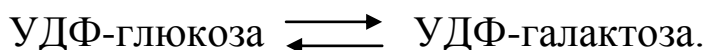
1-галактокиназа; 2-галактозо-1-фосфатуридилитрансфераза; 3-уридилфосфатглюкозо-4-эпимераза; 4-фосфоглюкомутаза; 5-глюкозо-6-фосфатаза.

В гораздо более редких случаях причиной развития галактоземии могут быть наследственные дефекты других ферментов метаболизма галактозы – галактокиназы и УДФ-глюкозо-4-эпимеразы. Клинические проявления этих дефектов менее выражены.

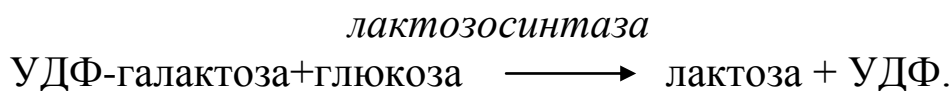
### Метаболизм лактозы

Лактоза, дисахарид который содержится только в молоке и состоит из галактозы и глюкозы. Лактоза синтезируется только секреторными клетками желез млекопитающих в период лактации. Она присутствует в молоке в количестве от 2% до 6% в зависимости от вида млекопитающих.

Синтез лактозы идет на основе глюкозы и УДФ-галактозы. Благодаря обратимому действию фермента УДФ-глюкозо-4-эпимеразы имеет место взаимопревращение:



Далее фермент лактозосинтаза осуществляет реакцию конденсации:



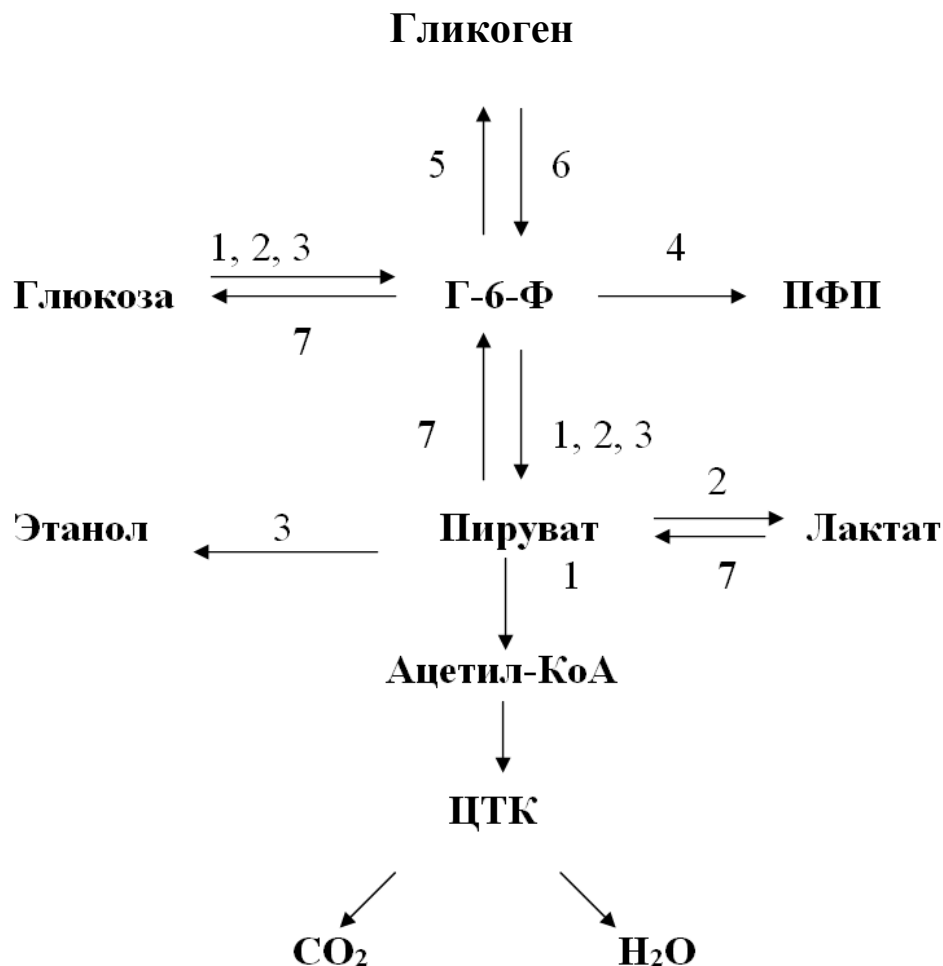
Лактозосинтаза состоит из двух субъединиц: каталитической и модифицирующей. Модифицирующая субъединица представляет собой  $\alpha$ -лактальбумин.

Нарушения переваривания лактозы в кишечнике могут быть наследственными и приобретенными. Наследственный дефицит лактазы встречается относительно редко. После приема молока наблюдаются рвота, диарея, спазмы и боли в животе, метеоризм. Симптомы развиваются сразу после рождения. Вторая разновидность данной патологии – недостаточность лактазы вследствие снижения экспрессии гена фермента в онтогенезе. Характерна для взрослых и детей старшего возраста. Является следствием возрастного снижения количества лактазы. Симптомы непереносимости молока аналогичны наследственной форме дефицита лактозы. Кроме того выделяют недостаточность лактазы вторичного характера, причиной которой могут быть кишечные заболевания, операции на ЖКТ.

## ГЛАВА 18

### ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА ГЛЮКОЗЫ

Глюкоза является основным метаболитом и транспортной формой углеводов в организме человека и животных. Источниками глюкозы являются углеводы пищи, гликоген тканей и процесс глюконеогенеза в печени и корковом веществе почек. Для включения глюкозы в метаболизм она должна фосфорилироваться с образованием глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф), который далее может превращаться по различным метаболическим путям. На рисунке 18.1 представлены основные пути метаболизма глюкозы.



**Рисунок 18.1. – Общая схема путей метаболизма глюкозы**

1 – аэробный распад глюкозы; 2 – анаэробный гликолиз; 3 – спиртовое брожение; 4 – пентозофосфатный путь; 5 – синтез гликогена; 6 – распад гликогена; 7 – глюконеогенез

## Гликолиз

**Гликолиз** – главный путь катаболизма глюкозы путем последовательных ферментативных превращений. Гликолиз называют дихотомией, так как здесь происходит расщепление метаболитов глюкозы между 3-м и 4-м углеродными атомами с образованием двух триоз с последующим их окислением.

**Анаэробный гликолиз** – процесс расщепления глюкозы с образованием в качестве конечного продукта лактата. Этот процесс протекает без использования кислорода и поэтому не зависит от работы митохондриальной цепи переноса электронов. АТФ здесь образуется за счет реакций **субстратного фосфорилирования**. Баланс АТФ при анаэробном гликолизе составляет 2 моль в расчете на 1 моль глюкозы.

В гликолизе выделяют две реакции **субстратного фосфорилирования** (где происходит образование АТФ). Эти реакции катализируются ферментами – фосфоглицераткиназой и пируваткиназой.

В анаэробном гликолизе существует взаимосвязь двух реакций на уровне окисленной и восстановленной форм НАД – **гликолитическая оксидоредукция**. В глицеральдегидфосфатдегидрогеназной реакции НАД<sup>+</sup> восстанавливается, а в лактатдегидрогеназной – окисляется.

**Аэробный гликолиз** – процесс окисления глюкозы до пирувата, протекающий в присутствии кислорода. В дальнейшем происходит окисление глюкозы до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O (**аэробный распад глюкозы**).

Процесс **аэробного распада глюкозы** включает несколько стадий:

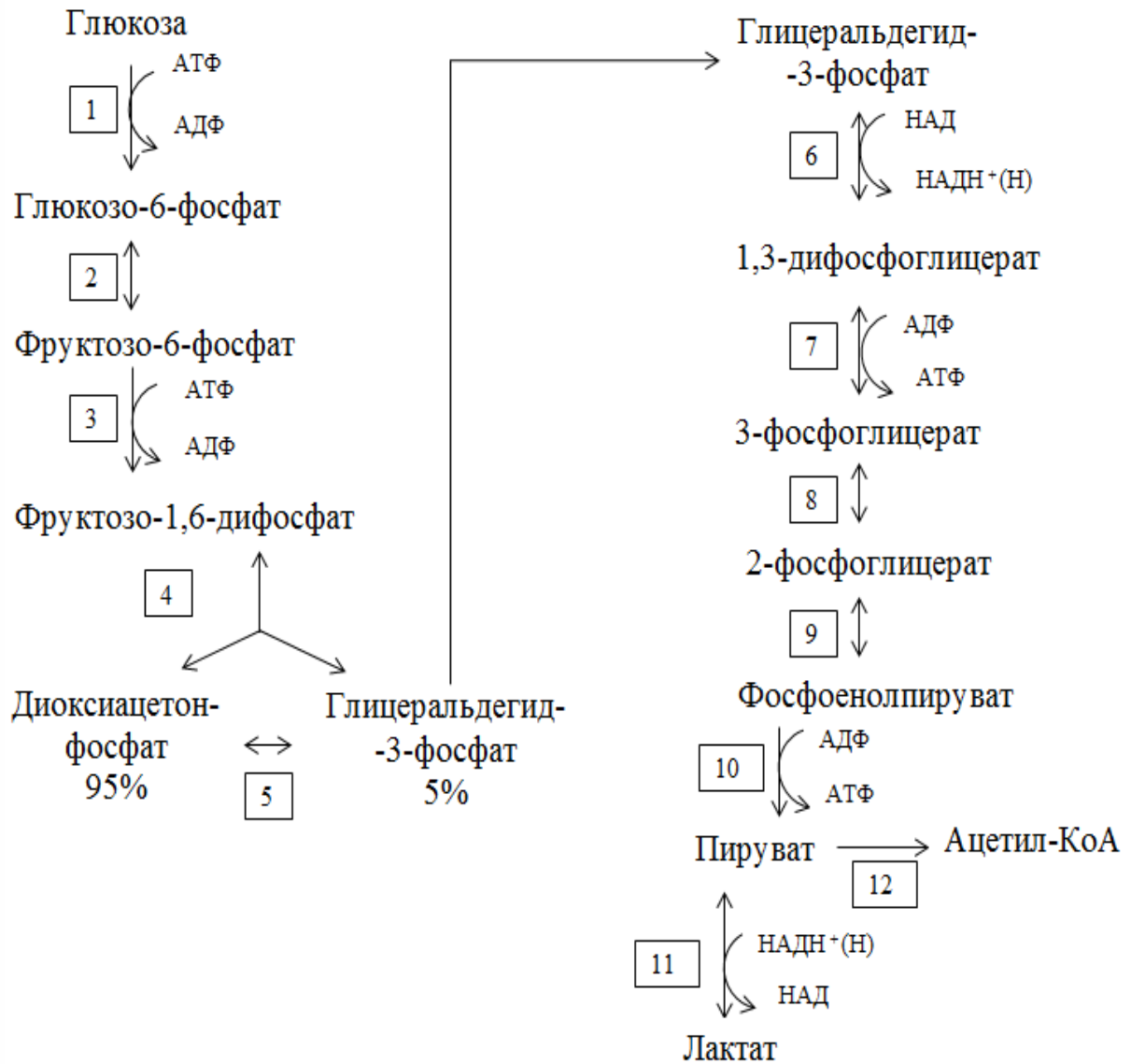
1. Процесс окисления глюкозы с образованием двух молекул пирувата.

2. Общий путь катаболизма, включающий **окислительное декарбоксилирование пирувата** до ацетил КоА (рис. 18.2) и его дальнейшее окисление в цикле трикарбоновых кислот.

3. Цепь переноса электронов на кислород, сопряженная с реакциями дегидрирования, происходящими в процессе распада глюкозы.

Суммарный выход АТФ при аэробном окислении 1 моль

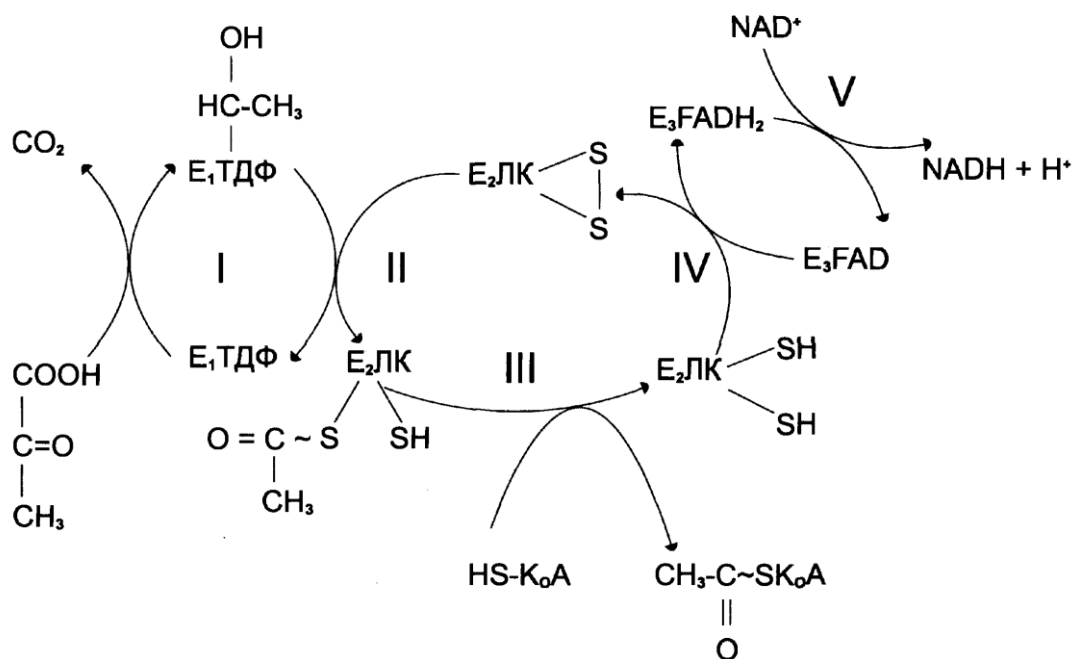
глюкозы до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  составляет 38 моль.



**Рисунок 18.2. – Схема гликолиза**

1-гексокиназа; 2- глюкозофосфатизомераза; 3- фосфоглицераткиназа; 4- альдолаза фр-1,6-дифосфата; 5- триозофосфатизомераза; 6- глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа; 7- фосфоглицераткиназа; 8- фосфоглицератмутаза; 9-енолаза; 10- пируваткиназа; 11- лактатдегидрогеназа; 12- пируватдегидрогеназный комплекс.

Аэробный распад глюкозы происходит во многих органах и тканях и служит основным, хотя и не единственным источником энергии для жизнедеятельности.



**Рисунок 18.3. – Окислительное декарбоксилирование пирувата**

### Окислительное декарбоксилирование пирувата

Окислительное декарбоксилирование пирувата происходит в матриксе митохондрий при участии пируватдегидрогеназного комплекса (ПДК). В его состав входят 3 фермента:  $E_1$  – пируватдекарбоксилаза,  $E_2$  – дигидролипоилтрансациетилаза,  $E_3$  – дигидролипоилдегидрогеназа и 5 коферментов ТДФ, липоевая кислота, ФАД,  $\text{НАД}^+$  и КоА.

Реакция протекает в 5 стадий (рис. 18.3):

I –  $E_1$  катализирует декарбоксилирование пирувата и перенос  $\text{C}_2$ -фрагмента на ТДФ;

II –  $E_2$  катализирует поокисление гидроксиэтильной группы и перенос  $\text{C}_2$ -фрагмента на липоевую кислоту (ЛК).

III – ацетилированная дигидролипоилтрансациетилаза взаимодействует с КоА с образованием липоевой кислоты и ацетил-КоА;

IV – окисленная форма трансациетилазы регенерируется при участии  $E_3$ ;

V – окисленная форма  $E_3$  регенерируется при участии  $\text{НАД}^+$ .

## Регуляция пируватдегидрогеназного комплекса

ПДК активный – дефосфорилированный (фосфатаза ПДК)

ПДК неактивный – фосфорилированный (киназа ПДК)

Активаторы ПДК:

АМФ

НАД<sup>+</sup>

инсулин

Ca<sup>2+</sup>

Ингибиторы ПДК:

ацетил – КоА

НАДН+Н<sup>+</sup>

АТФ

жирные кислоты

Кроме энергетической функции, гликолиз может выполнять и анаболические функции. Метаболиты гликолиза используются для синтеза новых соединений. Так фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат участвуют в образовании рибозо-5-фосфата – структурного компонента нуклеотидов. 3-фосфоглицерат может включаться в синтез аминокислот, таких как серин, глицин, цистеин. В печени и жировой ткани ацетил-КоА, образующийся из пирувата, используется как субстрат при биосинтезе жирных кислот холестерина.

## Регуляторные ферменты гликолиза

### Гексокиназа

Активаторы:

инсулин, АМФ, АДФ.

Ингибиторы:

адреналин, АТФ,  
глюкозо-6-фосфат.

### Фосфофруктокиназа

Активаторы:

инсулин, АМФ, АДФ,  
фруктозо-6-фосфат,  
фруктозо-2,6-дифосфат, K<sup>+</sup>.

Ингибиторы:

глюкагон, АТФ, цитрат,  
жирные кислоты,  
Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>.

### Пируваткиназа

Активаторы:

инсулин,  
фр-1,6-дифосфат.

Ингибиторы:

АТФ, ацетил-КоА,  
жирные кислоты,  
глюкагон, адреналин.

Анаэробный гликолиз активизируется в мышцах при интен-

сивной мышечной работе, происходит в эритроцитах (в них отсутствуют митохондрии), а также в разных условиях ограниченного снабжения их кислородом (спазм и тромбоз сосудов, формирование атеросклеротических бляшек).

### Пентозофосфатный путь (ПФП)

ПФП, называемый также гексозомонофосфатным шунтом, служит альтернативным путем окисления глюкозо-6-фосфата. По ПФП в печени метаболизируется до 33% всей глюкозы, в жировой ткани – до 20%, в эритроцитах – до 10%, в мышечной ткани – менее 1%. Наиболее активно ПФП протекает в жировой ткани, печени, коре надпочечников, эритроцитах, молочной железе в период лактации, семенниках. ПФП состоит из 2 фаз (частей) – окислительной и неокислительной (рис. 18.4).

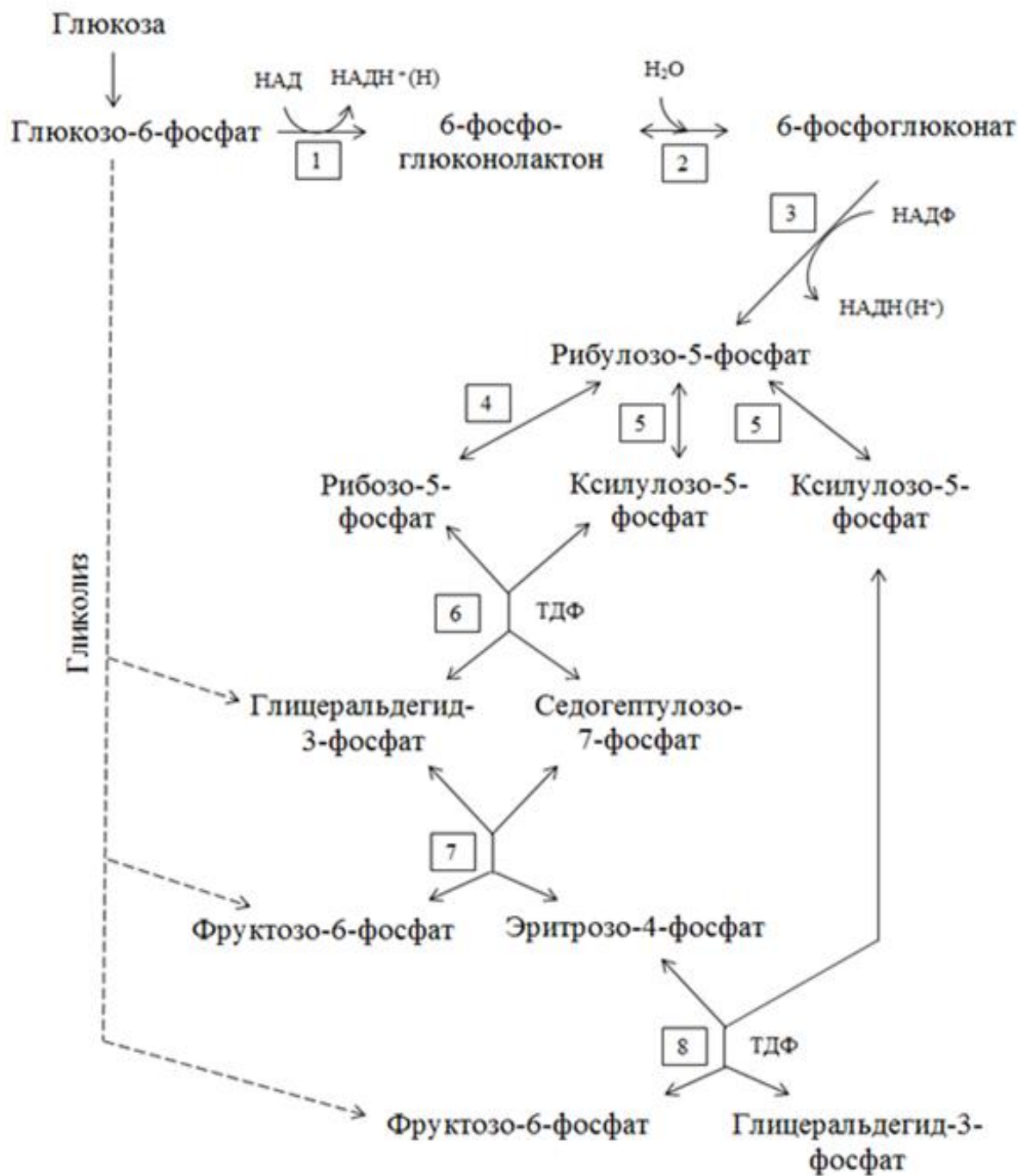
В окислительной фазе глюкозо-6-фосфат необратимо окисляется в пентозу – рибулозо-5-фосфат, и образуется восстановленный НАДФН. В неокислительной фазе рибулозо-5-фосфат обратимо превращается в рибозо-5-фосфат, метаболиты гликолиза и другие фосфорилированные сахара.

Биологическая роль ПФП:

1. Нарработка восстановленного НАДФН для восстановительных биосинтезов (жирных кислот, холестерина и т. д.).
2. Синтез пентозофосфатов для образования нуклеиновых кислот и некоторых коферментов.
3. Синтез моносахаридов с числом углеродных атомов от 3 до 8.
4. Обезвреживание ксенобиотиков – необходим НАДФН.
5. В растениях – участие в темновой фазе фотосинтеза как акцептор  $\text{CO}_2$ .

ПФП не приводит к синтезу АТФ, т. е. не выполняет энергетической функции.



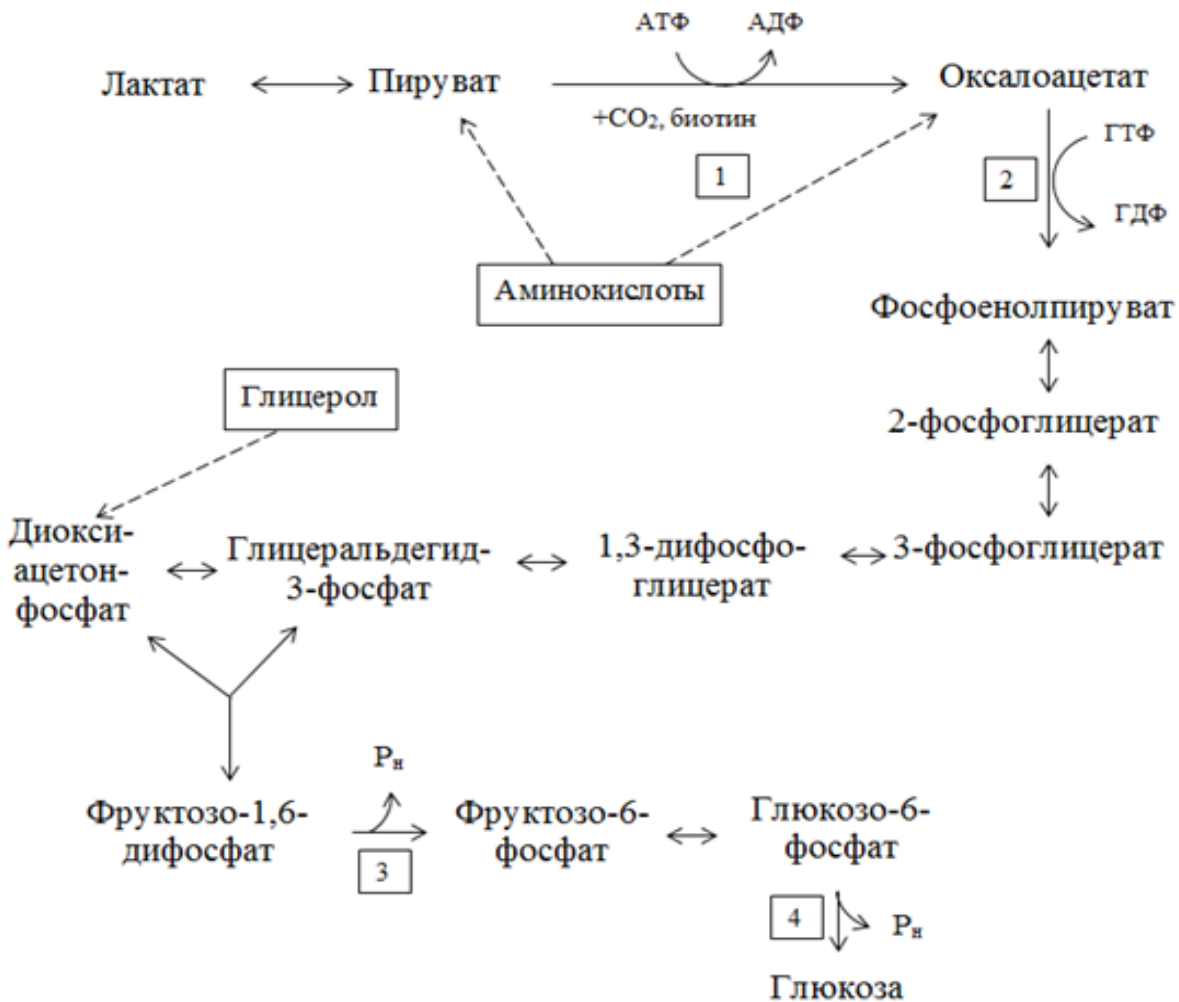


**Рисунок 18.4 – Схема пентозофосфатного пути**  
 1- глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа; 2- глюконолактоназа; 3- 6-фосфоглюконатдегидрогеназа; 4- изомераза; 5- эпитераза; 6- транскетолаза 1; 7- трансальдолаза; 8- транскетолаза 2.

## Глюконеогенез (ГНГ)

Глюконеогенез – это синтез глюкозы из неуглеводных предшественников. Основной функцией ГНГ является поддержание уровня глюкозы в крови в период длительного голодания и интенсивных физических нагрузок. Процесс протекает в основном в печени и менее интенсивно в корковом веществе почек, а также в слизистой оболочке кишечника. Эти ткани могут обеспечивать синтез 80-100 г глюкозы в сутки.

Первичными субстратами (предшественниками) в ГНГ являются лактат, глицерол, большинство аминокислот. Включение этих субстратов в ГНГ зависит от физиологического состояния организма.



**Рисунок 18.5. – Схема глюконеогенеза**

*1-пируваткарбоксилаза; 2-фосфоенолпируваткарбоксикиназа; 3-фруктозо-1,6-дифосфатаза; 4- глюкозо-6-фосфатаза.*

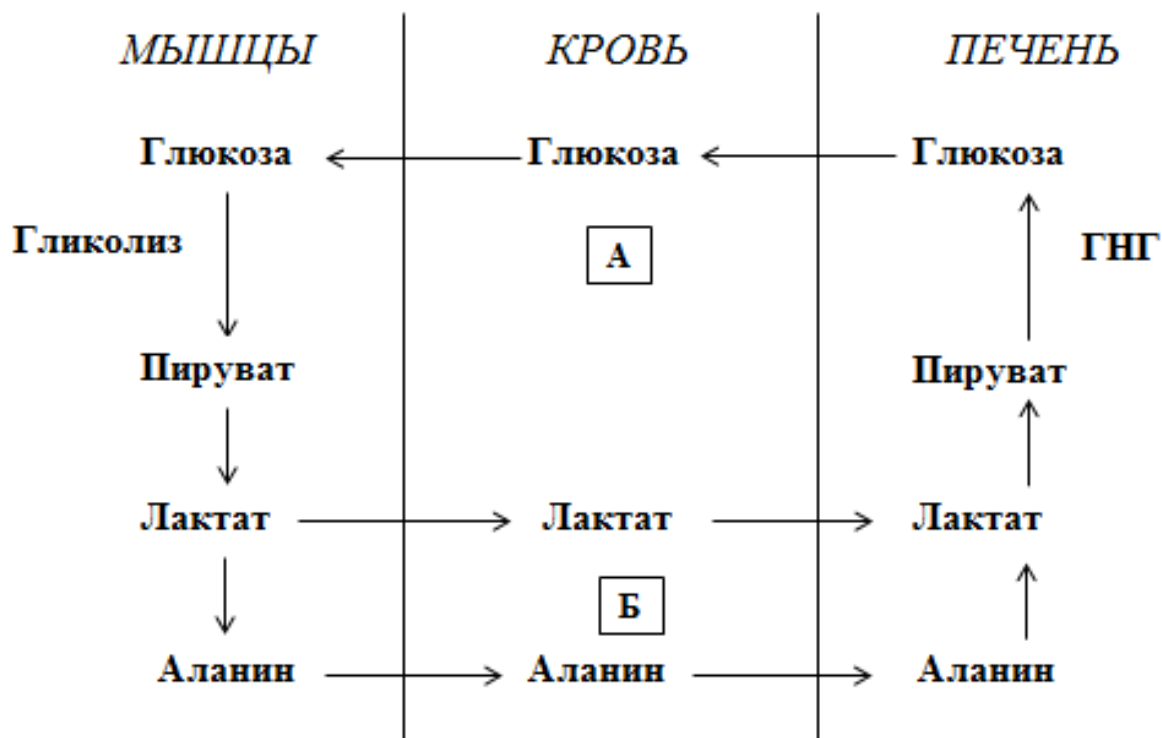
## Специфические ферменты ГНГ

1. Пируваткарбоксилаза.
2. Фосфоенолпируваткарбоксикиназа.
3. Фруктозо-1,6-дифосфатаза.
4. Глюкозо-6-фосфатаза.

Лактат – продукт анаэробного гликолиза, образуется в работающих мышцах и непрерывно в эритроцитах. Таким образом, лактат используется в ГНГ постоянно. Глицерол высвобождается при гидролизе жиров в жировой ткани в период голодания или при длительной физической нагрузке. Аминокислоты образуются в результате распада мышечных белков и используются в ГНГ при длительном голодании или продолжительной мышечной работе. Аминокислоты, которые при катаболизме превращаются в пируват или метаболиты цикла трикарбоновых кислот, могут рассматриваться как потенциальные предшественники глюкозы и носят название гликогенных.

Из всех аминокислот, поступающих в печень, примерно 30% приходится на долю аланина. Это объясняется тем, что при расщеплении мышечных белков образуются аминокислоты, многие из которых превращаются сразу в пируват или сначала в оксалоацетат, а затем в пируват. Последний превращается в аланин, приобретая аминогруппу от других аминокислот. Аланин из мышц переносится кровью в печень, где снова преобразуется в пируват, который частично окисляется и частично включается в ГНГ. Такая последовательность превращений приводит к формированию глюкозо-аланинового цикла (Рис.18.6.).

Глюкозо-лактатный цикл объединяет реакции глюконеогенеза и анаэробного гликолиза. Он выполняет 2 важнейшие функции: 1- обеспечивает утилизацию лактата; 2- предотвращает накопление лактата и, как следствие этого, опасное снижение рН (лактоацидоз). Глюкозо-аланиновый цикл объединяет реакции обмена глюкозы и аминокислот, регулирует баланс пирувата, переносит аминный азот из мышечной ткани в печень в составе аланина.

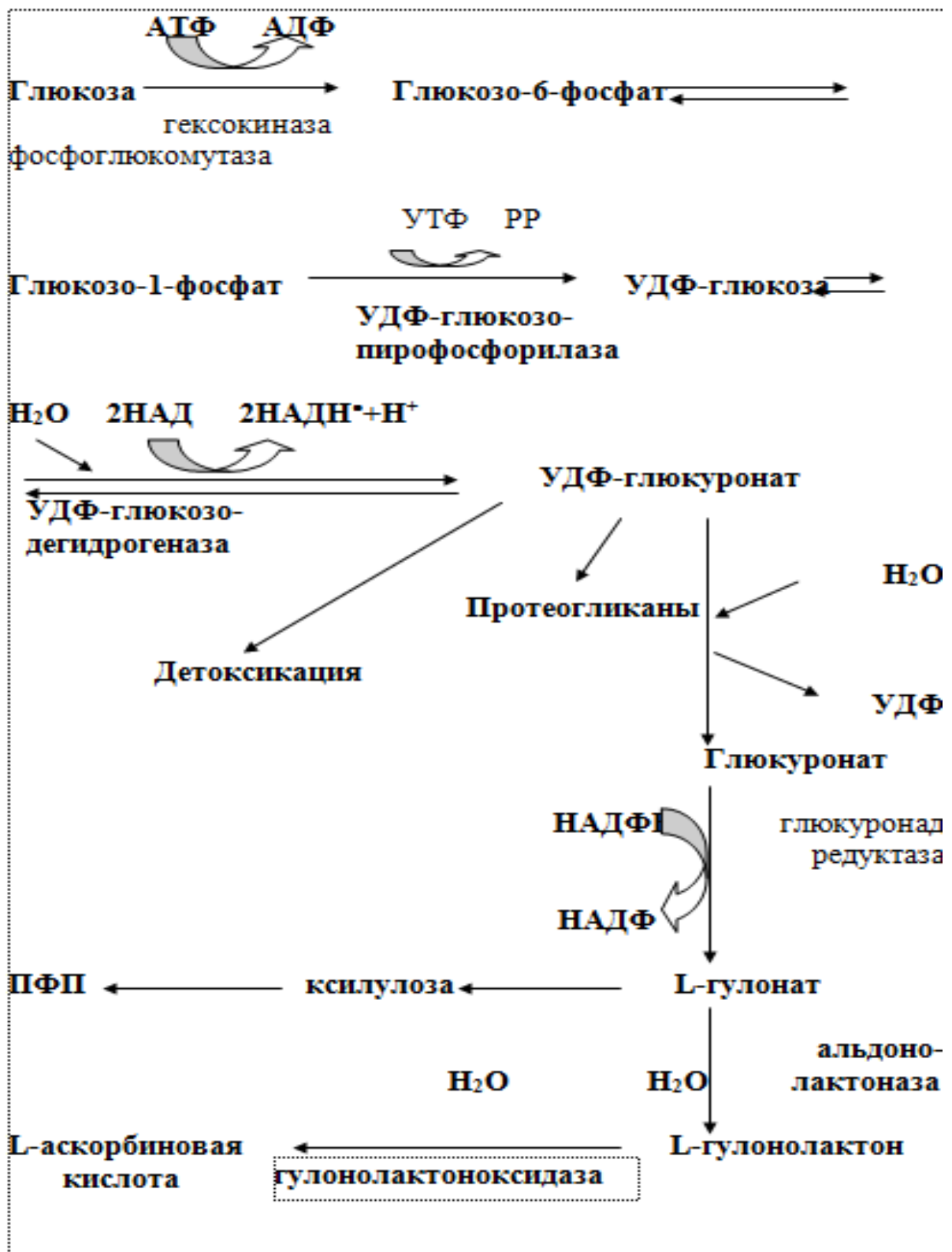


**Рисунок 18.6.** – Схема глюкозо-лактатного цикла (цикл Кори) (А) и глюкозо-аланинового цикла (Б).

### Путь глюкуроновой кислоты

Он относится к вторичным путям метаболизма глюкозы (Рис. 18.7.). Доля глюкозы, отвлекаемой на метаболизм по пути глюкуроновой кислоты, очень невелика по сравнению с большим ее количеством, расщепляемым в процессе гликолиза или используемом в синтез гликогена. Однако продукты этого вторичного пути жизненно необходимы организму.

УДФ-глюкуронат способствует обезвреживанию некоторых чужеродных веществ и лекарственных препаратов. Кроме того, он служит предшественником D-глюкуронатных остатков в молекулах гиалуроновой кислоты и гепарина. В организме человека, морской свинки и некоторых видов обезьян аскорбиновая кислота (витамин С) не синтезируется, так как у них отсутствует фермент гулонолактон-оксидаза. Эти виды должны получать необходимый им витамин С с пищей.



*Рисунок 18.7. – Путь глюкуроновой кислоты.*

## ГЛАВА 19

### ОБМЕН ГЛИКОГЕНА

Гликоген – основной резервный полисахарид в животных тканях. Он представляет собой разветвленный гомополимер глюкозы, в котором остатки глюкозы соединены в линейных участках  $\alpha$ -1,4-гликозидными связями, а в точках ветвления –  $\alpha$ -1,6-гликозидными связями. Точки ветвления в гликогене встречаются примерно через каждые десять остатков глюкозы. Так возникает древообразная структура с молекулярной массой  $10^5$ - $10^8$  Да и выше. При полимеризации глюкозы снижается растворимость образующейся молекулы гликогена и, следовательно, её влияние на осмотическое давление в клетке. Это обстоятельство объясняет, почему в клетке депонируется гликоген, а не свободная глюкоза.

После приема пищи, богатой углеводами, запас гликогена в печени может составлять примерно 5% от её массы. В мышцах запасается около 1% гликогена, однако масса мышечной ткани значительно больше и поэтому общее количество гликогена в мышцах приблизительно в 2 раза больше, чем в печени. Гликоген может синтезироваться во многих клетках, например в нейронах, макрофагах, адипоцитах, но содержание его в этих тканях незначительно. В организме может содержаться до 400 г гликогена. Распад гликогена печени служит в основном для поддержания уровня глюкозы в крови в постабсорбтивном периоде. Гликоген мышц служит резервом глюкозы – источника энергии при мышечном сокращении. Мышечный гликоген не используется для поддержания уровня глюкозы в крови.

#### Синтез гликогена (гликогенез)

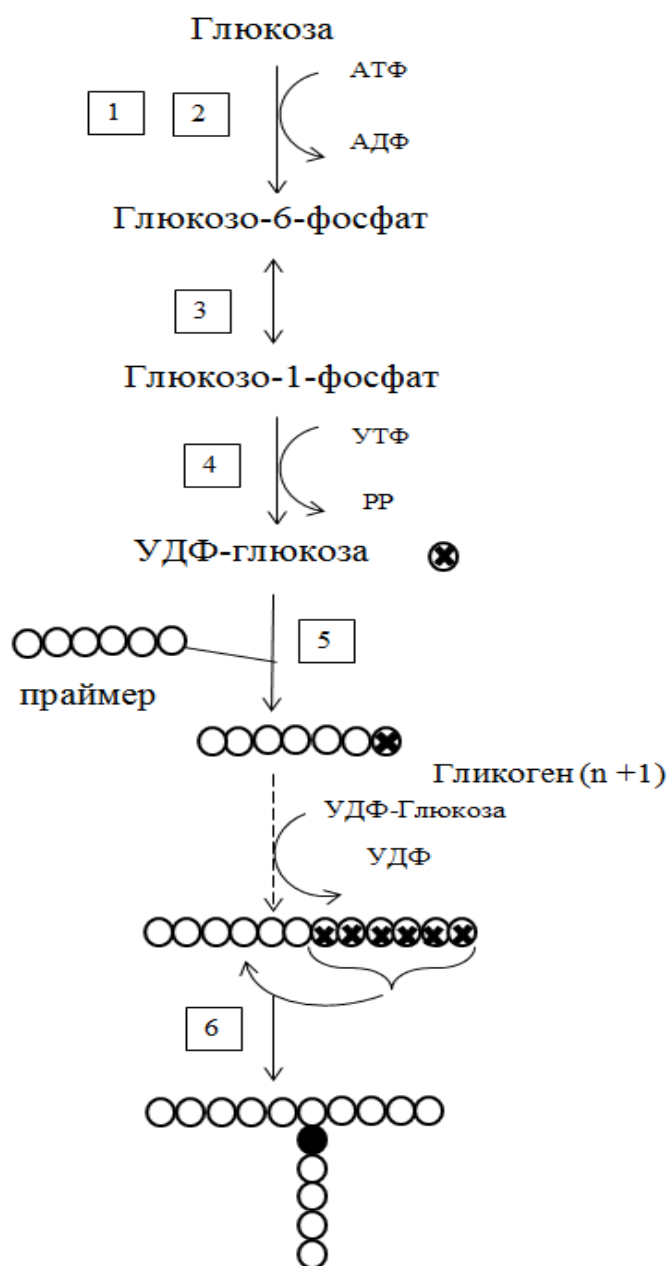
Гликоген синтезируется в период пищеварения (через 1-2 часа после приема углеводной пищи). Синтез гликогена из глюкозы, как и любой анаболический процесс, является эндергоническим, т. е. требует затрат энергии.

Синтез гликогена включает 4 этапа (рис. 19.1). :

1. Фосфорилирование глюкозы до глюкозо-6-фосфата при

участии гексокиназы или глюкокиназы.

2. Активация первого углеродного атома с образованием активной формы – УДФ – глюкозы.



**Рисунок 19.1. – Схема синтеза гликогена**

1-гексокиназа; 2- глюкокиназа; 3- фосфоглюкомутаза; 4- глюко-1-фосфат-уридилитрансфераза; 5- гликогенсинтаза; 6- фермент «ветвления».

3. Образование  $\alpha$ -1,4-гликозидных связей. В присутствии «затравки» гликогена (молекулы, включающей не менее 4 остатков глюкозы) фермент гликогенсинтаза присоединяет ос-

татки глюкозы из УДФ-глюкозы к С4-атому концевому остатка глюкозы в гликогене, образуя  $\alpha$ -1,4-гликозидную связь.

4. Образование  $\alpha$ -1,6-гликозидных связей (точки ветвления молекулы). Образование их осуществляется амило-1,4  $\rightarrow$  1,6-трансглюкозидазой (ветвящий или бранчинг фермент). Когда длина линейного участка цепи включает минимально 11 остатков глюкозы, этот фермент переносит фрагмент (1 $\rightarrow$ 4) цепи с минимальным количеством 6 остатков глюкозы на соседнюю цепь или на несколько участков глюкозы дальше, образуя  $\alpha$ -1,6-гликозидную связь. Таким образом, образуется точка ветвления. Ветви растут путем последовательного присоединения (1 $\rightarrow$ 4)-гликозидных единиц и дальнейшего ветвления.

5. Гликогенсинтаза – регуляторный фермент, существующий в двух формах: дефосфорилированной, активной (форма а); фосфорилированной, неактивной (форма б). Активная форма образуется из неактивной под действием фосфатазы гликогенсинтазы при дефосфорилировании. Превращение активной формы в неактивную происходит при участии протеинкиназы путем фосфорилирования за счет АТФ (рис. 19.1).

### Распад гликогена (гликогенолиз)

Распад гликогена может проходить двумя путями.

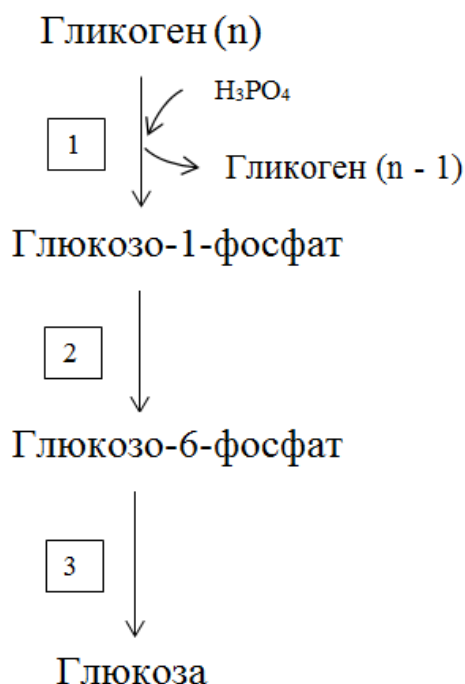
1. Гидролитический – при участии амилазы с образованием декстринов и даже свободной глюкозы.

2. Фосфоролитический – под действием фосфорилазы и образованием глюкозо-1-фосфата. Это основной путь распада гликогена.

Фосфорилаза – сложный регуляторный фермент, существующий в двух формах – активной и неактивной. Активная форма (фосфорилаза а) – это тетрамер, в котором каждая субъединица соединена с остатком ортофосфата через гидроксильную группу серина. Под действием фосфатазы фосфорилазы происходит дефосфорилирование, отщепление 4 молекул фосфорной кислоты, и фосфорилаза а превращается в неактивную форму – фосфорилазу б, распадаясь на две димерные молекулы. Фосфорилаза б активируется путем фосфорилирования остатков серина за счет АТФ под действием фермента киназы фосфорилазы. В



свою очередь, этот фермент также существует в двух формах.

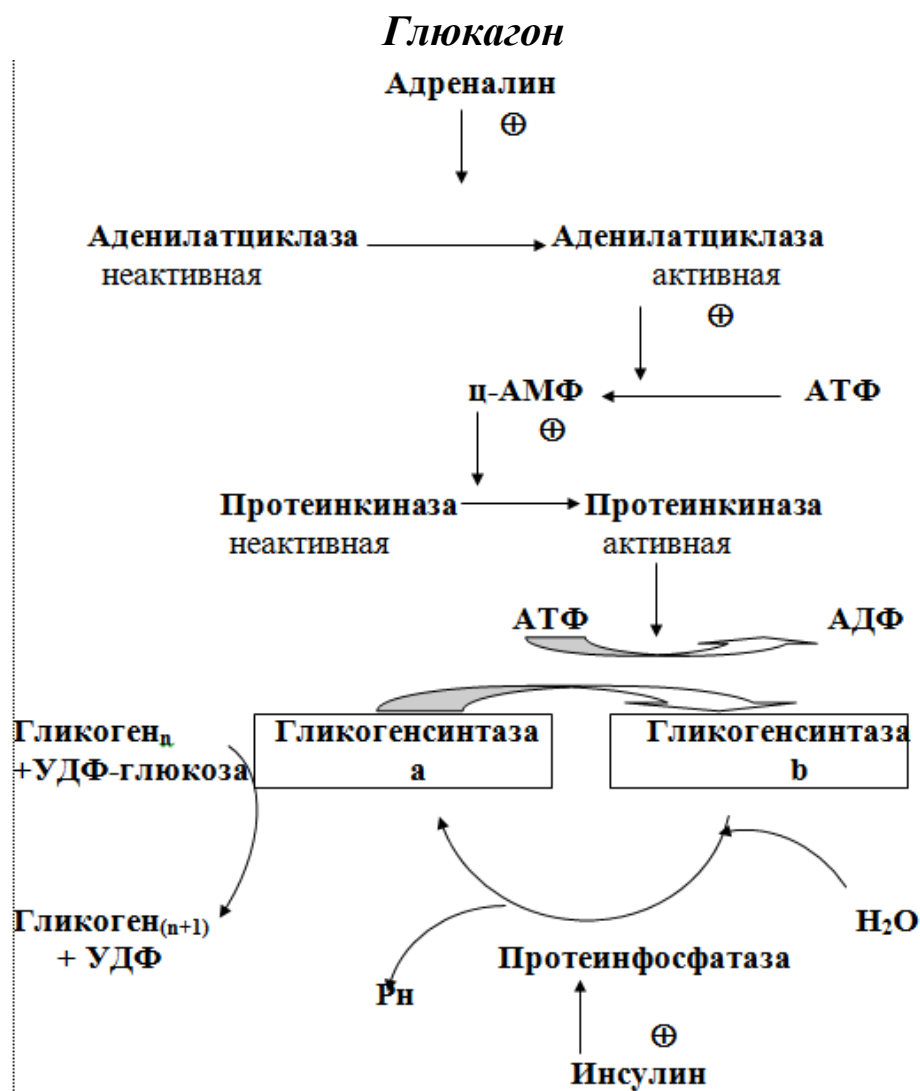


**Рисунок 19.2. – Схема распада гликогена (гликогенолиза)**  
*1-гликогенфосфорилаза (расщепляет только  $\alpha$ -1,4 гликозидные связи); 2- фосфоглюкомутаза; 3- глюкозо-6-фосфатаза. В местах ветвления гликогена  $\alpha$ -1,6-гликозидные связи расщепляет  $\alpha$ -1,6-гликозидаза*

Активная киназа фосфорилазы – фосфорилированный фермент, превращается в неактивную форму под действием фосфатазы. Активация киназы фосфорилазы осуществляется путем фосфорилирования за счет АТФ в присутствии ионов  $Mg^{2+}$  протеинкиназой.

Регуляция синтеза и распада гликогена носит каскадный характер и происходит путем химической модификации ферментов.

Поскольку синтез и распад гликогена протекают по разным метаболическим путям, эти процессы могут контролироваться реципрокно. Влияние гормонов на синтез и распад гликогена осуществляется путем изменения в противоположных направлениях активности двух ключевых ферментов: гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы с помощью их фосфорилирования и дефосфорилирования. Инсулин стимулирует синтез гликогена и тормозит распад, адреналин и глюкагон обладают противоположным эффектом.



**Рисунок 19.3. – Регуляция активности гликогенсинтазы**

### Нарушения обмена гликогена

Гликогеновые болезни – группа наследственных нарушений, в основе которых лежит снижение или отсутствие активности ферментов, катализирующих реакции синтеза или распада гликогена. К данным нарушениям относятся гликогенозы и агликогенозы.

Гликогенозы – заболевания, обусловленные дефектом ферментов, участвующих в распаде гликогена. Они проявляются или необычной структурой гликогена, или его избыточным накоплением в печени, мышцах и других органах. В настоящее время предлагается деление гликогенозов на 2 группы: печеночные и мышечные.

Печеночные формы гликогенозов проявляются в нарушении

использования гликогена для поддержания уровня глюкозы в крови. Общий симптом этих форм – гипогликемия в постабсорбтивный период. К этой группе относятся гликогенозы I, III, IV, VI, IX и X типов по нумерации Кори.

Мышечные формы гликогенозов характеризуются нарушениями в энергоснабжении скелетных мышц. Эти болезни проявляются при физических нагрузках и сопровождаются болями и судорогами в мышцах, слабостью и быстрой утомляемостью. К ним относятся гликогенозы V и VII типов.

Агликогеноз (гликогеноз O по классификации) – заболевание, возникающее в результате дефекта гликогенсинтазы. В печени и других тканях наблюдается очень низкое содержание гликогена. Это проявляется резко выраженной гипогликемией в постабсорбтивном периоде. Характерным симптомом являются судороги, особенно по утрам. Болезнь совместима с жизнью, но больные дети нуждаются в частом кормлении.

### **Регуляция гликемии**

Нормальное содержание глюкозы в крови составляет 3,33-6,4 ммоль/л (нормогликемия). Источники глюкозы в крови: 1. Углеводы пищи. 2. Гликоген печени. 3. Глюконеогенез.

### **Регуляция гликемии в абсорбтивном или постабсорбтивном периодах**

Более половины всей глюкозы (60%), поступающей из кишечника в воротную вену, поглощается печенью. Около 2/3 этого количества идет на синтез гликогена, остальная часть превращается в жиры и окисляется, обеспечивая синтез АТФ.

Другая часть глюкозы, поступающей из кишечника, попадает в общий кровоток. Примерно 2/3 этого количества поглощается мышцами или жировой тканью (инсулинзависимые ткани). Остальная часть глюкозы общего кровотока поглощается другими клетками (инсулиннезависимыми).

### **Регуляция гликемии при длительном голодании**

При голодании в течение первых суток источником глюкозы крови является гликоген печени. Начиная со 2-х суток голодания – источником глюкозы является только глюконеогенез. Глюконеогенез при этом ускоряется (100г глюкозы в сутки), а гликолиз

замедляется вследствие низкой концентрации инсулина и высокой – глюкагона.

Через 2-е суток голодания начинает проявляться и другой механизм регуляции – индукция синтеза ферментов глюконеогенеза и репрессия синтеза ферментов гликолиза.

Регуляция гликемии осуществляется с помощью гормонов:

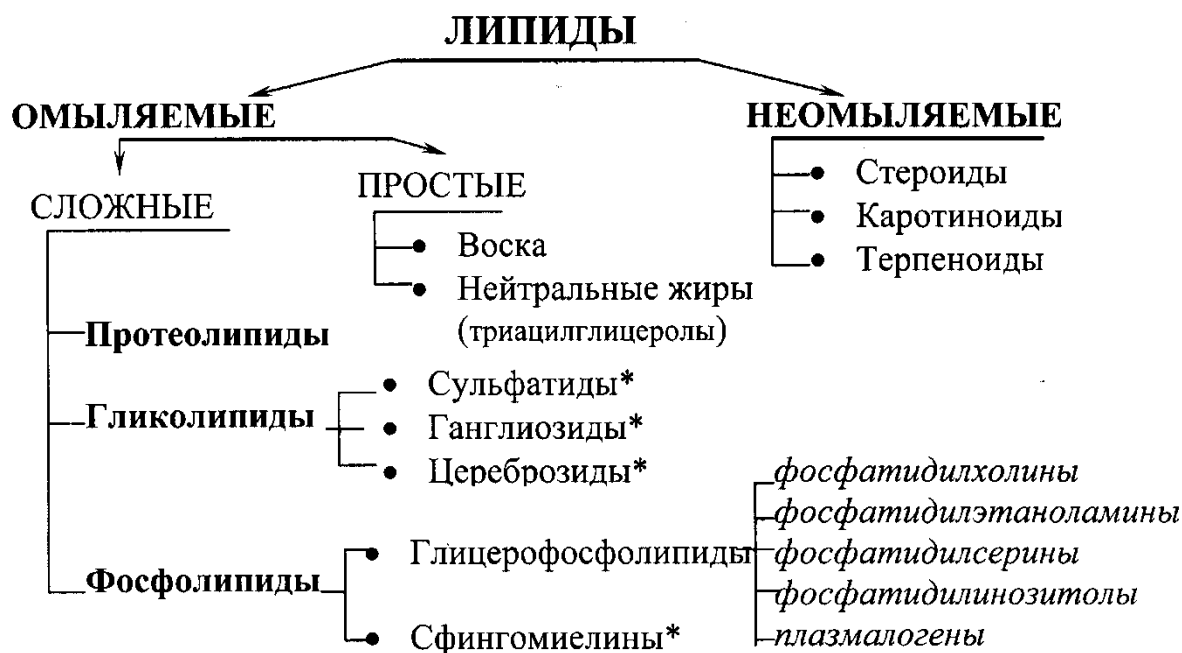
Таблица 19.1. – Гормоны, участвующие в гомеостазе глюкозы

Гормон	Основное действие	Ткань
Инсулин	<i>увеличивает:</i> захват глюкозы клеткой синтез гликогена синтез белка синтез жирных кислот и триглицеридов <i>уменьшает:</i> глюконеогенез кетогенез липолиз протеолиз	скелетная мышца, жировая печень, скелетная мышца печень, скелетная мышца печень, жировая  печень печень жировая скелетная мышца
Глюкагон	<i>увеличивает:</i> гликогенолиз глюконеогенез кетогенез липолиз	печень печень  жировая
Адреналин	<i>увеличивает:</i> гликогенолиз липолиз	печень, скелетная мышца жировая
Гормон роста	<i>увеличивает:</i> глюконеогенез липолиз	печень жировая
Кортизол	<i>увеличивает:</i> глюконеогенез синтез гликогена протеолиз <i>уменьшает:</i> захват глюкозы клетками	печень печень скелетная мышца  скелетная мышца, печень

## ГЛАВА 20

### ЛИПИДЫ ТКАНЕЙ, ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ТРАНСПОРТ ЛИПИДОВ

Липиды – неоднородная в химическом отношении группа веществ биологического происхождения, общим свойством которых является гидрофобность и способность растворяться в неполярных органических растворителях. Существует несколько классификаций липидов: физико-химическая, биологическая или физиологическая и структурная. Наиболее сложной является структурная классификация, основанная на структурных особенностях этих соединений (Рис.20.1). Согласно этой классификации, все липиды делятся на *омыляемые* и *неомыляемые*. К омыляемым относят те соединения, которые при щелочном гидролизе образуют соли жирных кислот (мыла), неомыляемые же липиды щелочному гидролизу не подвергаются.



**Рисунок 20.1. – Классификация липидов**

*\*В некоторых классификациях сфингомиелины, сульфатиды, ганглиозиды и цереброзиды объединяют в группу сфинголипидов, так как все они содержат аминоксирт сфингозин.*

Разделение липидов по *физико-химическим свойствам* учитывает степень их полярности. По этому признаку липиды делятся на нейтральные или *неполярные* (не имеющие заряда), и *полярные* (несущие заряд), например, фосфолипиды и жирные кислоты. По *физиологическому значению* липиды делятся на *резервные* и *структурные*. Резервные липиды депонируются в больших количествах и затем расходуются для энергетических нужд организма. К резервным липидам относятся триацилглицеролы (ТАГ). Все остальные липиды можно отнести к структурным. Они не имеют особой энергетической ценности, но участвуют в построении биологических мембран и защитных покровов.

Характерным структурным компонентом большинства липидов являются жирные кислоты. Это длинноцепочечные органические кислоты, состоящие из 4-24 углеродных атомов и содержащие одну карбоксильную группу и длинный неполярный углеводородный «хвост». В составе ТАГ жирные кислоты выполняют функцию депонирования энергии. В составе фосфолипидов и сфинголипидов жирные кислоты образуют внутренний гидрофобный слой мембран, определяя его свойства. В клетках и тканях жирные кислоты встречаются в ковалентно связанной форме в составе липидов различных классов. В свободном состоянии жирные кислоты в организме содержатся в небольшом количестве, например в крови, где они транспортируются в комплексе с белком альбумином. Большинство жирных кислот образуется в организме человека, однако линолевая и линоленовая не синтезируются, поэтому обязательно должны поступать с пищей. Эти кислоты называются незаменимыми или эссенциальными. К ним относят и арахидоновую кислоту, которая может синтезироваться в организме из линолевой при достаточном поступлении последней.

### **Функции липидов**

1. Субстратно-энергетическая: нейтральные жиры служат в организме весьма эффективным источником энергии.
2. Структурная (пластическая): липиды в виде комплекса с белками являются структурными элементами мембран.

3. Транспортная: являясь одним из основных компонентов клеточных мембран, липиды определяют транспорт веществ в клетки.
4. Механическая защита: жировая прослойка предохраняет тело и органы от механических повреждений.
5. Теплоизолирующая: благодаря выраженной низкой теплопроводимости, липиды сохраняют тепло в организме.
6. Электроизолирующая: липиды являются электроизолирующим материалом, участвуя таким образом в передаче нервного импульса и, соответственно, в функционировании нервной системы.
7. Эмульгирующая: фосфолипиды и желчные кислоты стабилизируют эмульсию на поверхности раздела фаз масло-вода.
8. Гормональная (регуляторная): стероидные гормоны, синтезируемые из холестерина, участвуют в регуляции водно-солевого обмена, половых функций; эйкозаноиды, производные полиеновых жирных кислот, вызывают разнообразные биологические эффекты.
9. Витаминная: в пищевых жирах содержатся жирорастворимые витамины и незаменимые жирные кислоты.
10. Растворяющая: одни липиды являются растворителями для других липидных веществ.

### **Липиды тканей человека**

Липиды составляют около 10-12% массы тела человека. В среднем в теле взрослого человека содержится около 10-12 кг липидов, из них 2-3 кг приходится на структурные липиды, а остальное количество – на резервные. Основная масса резервных липидов (около 98%) сосредоточена в жировой ткани и представлена ТАГ. Эти липиды являются источником потенциальной химической энергии, доступной в периоды голодания.

Содержание липидов в тканях человека существенно различается. В жировой ткани они составляют до 75% сухого веса. В нервной ткани липидов содержится до 50% сухого веса, основные из них фосфолипиды и сфингомиелины (30%),

холестерол (10%), ганглиозиды и цереброзиды (7%). В печени общее количество липидов в норме не превышает 10-14%.

Жирные кислоты, характерные для организма человека, содержат чётное число атомов углерода, чаще всего – от 16 до 20. Основной насыщенной жирной кислотой в липидах человека является пальмитиновая (до 30-35%). Ненасыщенные жирные кислоты представлены моноеновыми и полиеновыми. Двойные связи в жирных кислотах в организме человека имеют цис-конфигурацию. Жиры и фосфолипиды организма при нормальной температуре тела имеют жидкую консистенцию, так как количество ненасыщенных жирных кислот преобладает над насыщенными. В фосфолипидах мембран ненасыщенных кислот может быть до 80-85%, а в составе подкожного жира – до 60%.

$\omega$ -3-Полиненасыщенные жирные кислоты – это жирные кислоты, имеющие двойную углерод-углеродную связь в  $\omega$ -3-позиции, то есть после третьего атома углерода, считая от метилового конца цепи жирной кислоты. Наиболее важными представителями этого семейства являются линоленовая, эйкозапентаеновая и докозапентаеновая кислоты. Две последние кислоты могут синтезироваться из линоленовой.  $\omega$ -3-Полиненасыщенные жирными кислотами богаты рыбий жир и морепродукты, льняное, горчичное и рыжиковое масло.

### **Липиды пищи, их переваривание и всасывание**

Взрослому человеку требуется от 70 до 145 г липидов в сутки в зависимости от трудовой деятельности, пола, возраста и климатических условий. При рациональном питании жиры должны обеспечивать не более 30% от общей калорийности рациона. Жидкие жиры (масла), содержащие в своем составе незаменимые жирные кислоты, должны составлять не менее одной трети жиров пищи.

В ротовой полости и желудке взрослого человека нет ферментов и условий для переваривания липидов. Основное место расщепления липидов – тонкий кишечник. Для увеличения поверхности соприкосновения с гидрофильными ферментами жиры должны эмульгироваться (разбиться на мелкие капли). Эмульгирование происходит под действием солей желчных



кислот. Эмульгированию также способствует перистальтика кишечника и выделение пузырьков  $\text{CO}_2$ , происходящее при нейтрализации кислого содержимого желудка бикарбонатом, выделяющимся в составе сока поджелудочной железы.

Основная масса липидов пищи представлена ТАГ, меньше фосфолипидами (ФЛ) и стероидами. Постадийный гидролиз ТАГ осуществляется *панкреатической липазой*. Она секретируется в кишечник в неактивном виде и активируется *колипазой* и желчными кислотами. Панкреатическая липаза гидролизует жиры преимущественно в положениях 1 и 3, поэтому основными продуктами гидролиза являются глицерол, свободные жирные кислоты, моноацилглицеролы.

Фосфолипиды гидролизуются панкреатическими фосфолипазами  $A_1$ ,  $A_2$ , C и D. Продуктами переваривания являются глицерол, жирные кислоты, фосфорная кислота и азотистые спирты (холин, этаноламин, серин, инозитол). Эфиры холестерина (ЭХЛ) расщепляются панкреатической холестеролэстеразой на холестерол (ХЛ) и жирные кислоты. Активность фермента проявляется в присутствии желчных кислот.

Всасывание липидов происходит в проксимальной части тонкого кишечника. 3-10% жиров пищи всасывается без гидролиза в виде триацилглицеролов. Основная же часть липидов всасывается лишь в виде продуктов расщепления. Всасывание гидрофильных продуктов переваривания (глицерол, жирные кислоты с числом углеродных атомов менее 12, фосфорная кислота, холин, серин, этаноламин и др.) происходит самостоятельно, а гидрофобные (ХЛ, длинноцепочечные жирные кислоты, ди- и моноглицеролы) всасываются в составе мицелл. Главную роль в образовании мицелл играют желчные кислоты. Мицелла – это сферический комплекс, в центре которого находятся транспортируемые гидрофобные продукты переваривания, окруженные желчными кислотами. Мицеллы сближаются со щеточной каймой клеток слизистой оболочки кишечника, и липидные компоненты мицелл диффундируют через мембраны внутрь клеток. Вместе с продуктами гидролиза липидов всасываются жирорастворимые витамины и соли желчных кислот. Желчные кислоты далее по воротной вене

возвращаются в печень, а липидные компоненты включаются в процесс *ресинтеза*. В ресинтезе ТАГ участвуют не только жирные кислоты, всосавшиеся из кишечника, но и жирные кислоты, синтезированные в организме, поэтому по составу ресинтезированные жиры отличаются от полученных с пищей. Однако возможности адаптировать в процессе ресинтеза состав пищевых жиров к составу жиров организма человека ограничены, поэтому при поступлении жиров с необычными жирными кислотами в адипоцитах появляются жиры, содержащие такие кислоты. В клетках слизистой оболочки кишечника происходит синтез ФЛ, а также образование эфиров холестерина, катализируемое ацилхолестеролацилтрансферазой.

### **Нарушения переваривания и всасывания липидов**

Поступившие с пищей жиры, если они приняты в умеренном количестве (не более 100-150 г), усваиваются почти полностью, и при нормальном пищеварении кал содержит не более 5% жиров. Остатки жировой пищи выделяются преимущественно в виде мыл. При нарушениях переваривания и всасывания липидов наблюдается избыток липидов в кале – стеаторея (жирный стул). Различают 3 типа стеаторей.

**Панкреатогенная стеаторея** возникает при дефиците панкреатической липазы. Причинами такого состояния могут быть хронический панкреатит, врожденная гипоплазия поджелудочной железы, врожденный или приобретенный дефицит панкреатической липазы, а также муковисцидоз, когда наряду с другими железами повреждается и поджелудочная. В этом случае в кале содержатся желчные пигменты, понижено содержание свободных жирных кислот и повышено ТАГ.

**Гепатогенная стеаторея** вызывается закупоркой желчных протоков. Это происходит при врожденной атрезии желчных путей, в результате сужения желчного протока желчными камнями, или сдавления его опухолью, развивающейся в окружающих тканях. Уменьшение секреции жёлчи приводит к нарушению эмульгирования пищевых жиров, и, следовательно, к ухудшению их переваривания. В кале больных отсутствуют желчные пигменты, высоко содержание ТАГ, жирных кислот и мыл.

**Энтерогенная стеаторея** отмечается при интестинальной липодистрофии, амилоидозе, обширной резекции тонкого кишечника, то есть процессах, сопровождающихся снижением метаболической активности слизистой оболочки кишечника. Для этой патологии характерен сдвиг рН кала в кислую сторону, рост содержания в кале жирных кислот.

Всасывание жиров из кишечника происходит по лимфатическим путям при активной сократительной деятельности ворсинок, поэтому жировой стул может наблюдаться также при нарушении лимфооттока в случае паралича *tunicae muscularis mucosae*, а также при туберкулезе и опухолях мезентериальных лимфатических узлов, находящихся на пути оттока лимфы. Ускоренное продвижение пищевого химуса по тонкому кишечнику также может быть причиной нарушения всасывания жира.

### **Транспорт липидов**

Липиды в водной среде нерастворимы, поэтому для их транспорта в организме образуются комплексы липидов с белками – липопротеины (ЛП). Различают экзо- и эндогенный транспорт липидов. К экзогенному относят транспорт липидов, поступивших с пищей, а к эндогенному – перемещение липидов, синтезированных в организме.

Существует несколько типов ЛП, но все они имеют сходное строение – гидрофобное ядро и гидрофильный слой на поверхности (Табл. 20.1).

Гидрофильный слой ЛП образован белками, которые называют *апопротеинами*, и амфифильными молекулами липидов – фосфолипидами и холестерином. Гидрофильные группы этих молекул обращены к водной фазе, а гидрофобные – к ядру, в котором находятся транспортируемые липиды.

**Апопротеины** выполняют несколько функций:

- формируют структуру липопротеинов (например, В-48 – основной белок ХМ, В-100 – основной белок ЛПОНП, ЛППП, ЛПНП);
- взаимодействуют с рецепторами на поверхности клеток, определяя, какими тканями будет захватываться данный тип

- липопротеинов (апопротеин В-100, Е);
- являются ферментами или активаторами ферментов, действующих на липопротеины (С-II – активатор ЛП-липазы, А-I – активатор лецитин:холестеролацил-трансферазы).

Таблица 20.1. - Характеристика и состав липопротеинов

Типы ЛП	ХМ	ЛПОНП	ЛППП	ЛПНП	ЛПВП
Состав, %					
белки	2	10	11	22	50
ФЛ	3	18	23	21	27
ХС	2	7	8	8	4
ЭХС	3	10	30	42	16
ТАГ	85	55	26	7	3
Функции	Перенос экзо-генных липидов	Перенос эндо-генных липидов	Предшес-твенник ЛПНП	Перенос ХС в ткани	Перенос ХС из тканей, донор апопротеинов А, С-II
Место синтеза	Кишечник	Печень	Кровь	Кровь	Печень
Диаметр, нм	> 120	30-100		21-100	7-15
Основные апопротеины	В-48 С-II Е	В-100 С-II Е	В-100 Е	В-100	А-I С-II Е

При экзогенном транспорте ресинтезированные в энтероцитах ТАГ вместе с фосфолипидами, холестерином и белками образуют ХМ, и в таком виде секретируются сначала в лимфу, а затем попадают в кровь. В лимфе и крови с ЛПВП на ХМ переносятся апопротеины Е (апоЕ) и С-II (апоС-II), таким образом ХМ превращаются в «зрелые». ХМ имеют довольно большой размер, поэтому после приема жирной пищи они придают плазме крови опалесцирующий, похожий на молоко, вид. Попадая в систему кровообращения, ХМ быстро подвергаются катаболизму, и исчезают в течение нескольких часов. Время разрушения ХМ зависит от гидролиза ТАГ под

действием липопротеинлипазы (ЛПЛ). Этот фермент синтезируется и секретируется жировой и мышечной тканями, клетками молочных желез. Секретируемая ЛПЛ связывается с поверхностью эндотелиальных клеток капилляров тех тканей, где она синтезировалась. Регуляция секреции имеет тканевую специфичность. В жировой ткани синтез ЛПЛ стимулируется инсулином. Тем самым обеспечивается поступление жирных кислот для синтеза и хранения в виде ТАГ. При сахарном диабете, когда отмечается дефицит инсулина, уровень ЛПЛ снижается. В результате в крови накапливается большое количество ЛП. В мышцах, где ЛПЛ участвует в поставке жирных кислот для окисления между приемами пищи, инсулин подавляет образование этого фермента.

На поверхности ХМ различают 2 фактора, необходимых для активности ЛПЛ – апоС-II и фосфолипиды. АпоС-II активирует этот фермент, а фосфолипиды участвуют в связывании фермента с поверхностью ХМ. В результате действия ЛПЛ на молекулы ТАГ образуются жирные кислоты и глицерол. Основная масса жирных кислот проникает в ткани, где может депонироваться в виде ТАГ (жировая ткань) или использоваться в качестве источника энергии (мышцы). Глицерол транспортируется кровью в печень, где в абсорбтивный период может быть использован для синтеза жиров.

В результате действия ЛПЛ количество нейтральных жиров в ХМ снижается на 90%, уменьшаются размеры частиц, апоС-II переносится обратно на ЛПВП. Образовавшиеся частицы называются остаточными ХМ (ремнантами). Они содержат ФЛ, ХС, жирорастворимые витамины, апоВ-48 и апоЕ. Остаточные ХМ захватываются гепатоцитами, которые имеют рецепторы, взаимодействующие с этими апопротеинами. Под действием ферментов лизосом белки и липиды гидролизуются, а затем утилизируются. Жирорастворимые витамины и экзогенный ХС используются в печени или транспортируются в другие органы.

При эндогенном транспорте ресинтезированные в печени ТАГ и ФЛ включаются в состав ЛПОНП, куда входят апоВ100 и апоС. ЛПОНП представляют собой основную транспортную форму для эндогенных ТАГ. Попав в кровь, ЛПОНП получают апоС-II и апоЕ от ЛПВП и подвергаются действию ЛПЛ. В ходе

этого процесса ЛПОНП сначала превращаются в ЛППП, а затем в ЛПНП. Основным липидом ЛПНП становится ХС, который в их составе переносится к клеткам всех тканей. Образовавшиеся в ходе гидролиза жирные кислоты поступают в ткани, а глицерол кровью транспортируется в печень, где опять может использоваться для синтеза ТАГ.

Все изменения содержания ЛП в плазме крови, характеризующиеся их повышением, снижением или полным отсутствием, объединяют под названием дислиппротеинемий. Дислиппротеинемия может быть либо специфическим первичным проявлением нарушений в обмене липидов и липопротеинов, либо сопутствующим синдромом при некоторых заболеваниях внутренних органов (вторичные дислиппротеинемии). При успешном лечении основного заболевания они исчезают.

К **гиполиппротеинемиям** относят следующие состояния.

1. *Абеталипопротеинемия* возникает при редком наследственном заболевании – дефекте гена апопротеина В, когда нарушается синтез белков апоВ-100 в печени и апоВ-48 в кишечнике. В результате в клетках слизистой оболочки кишечника не формируются ХМ, а в печени – ЛПОНП, и в клетках этих органов накапливаются капельки жира.
2. *Семейная гипобеталипопротеинемия*: концентрация ЛП, содержащих апоВ, составляет лишь 10-15% нормального уровня, но организм способен образовывать ХМ.
3. *Семейная недостаточность  $\alpha$ -ЛП (болезнь Тангира)*: в плазме крови практически не обнаруживаются ЛПВП, а в тканях накапливается большое количество эфиров ХС, у пациентов отсутствует апоС-II, являющийся активатором ЛПЛ, что ведет к характерному для данного состояния повышению концентрации ТАГ в плазме крови.

Среди **гиперлиппротеинемий** различают следующие.

*Тип I - гиперхиломикронемия*. Скорость удаления ХМ из кровотока зависит от активности ЛПЛ, присутствия ЛПВП, поставляющих апопротеины С-II и Е для ХМ, активности переноса апоС-II и апоЕ на ХМ. Генетические дефекты любого из белков, участвующих в метаболизме ХМ, приводят к развитию семейной гиперхиломикронемии – накоплению ХМ в крови.

Заболевание проявляется в раннем детстве, характеризуется гепатоспленомегалией, панкреатитом, абдоминальными болями. Как вторичный признак, наблюдается у больных сахарным диабетом, нефротическим синдромом, гипотиреозом, а также при злоупотреблении алкоголем. Лечение: диета с низким содержанием липидов (до 30 г/сут) и высоким содержанием углеводов.

*Тип II – семейная гиперхолестеролемиа (гипер- $\beta$ -липопротеинемия).* Этот тип делят на 2 подтипа: IIa, характеризующийся высоким содержанием в крови ЛПНП, и IIb – с повышенным уровнем как ЛПНП, так и ЛПОНП. Заболевание связано с нарушением рецепции и катаболизма ЛПНП (дефект клеточных рецепторов для ЛПНП или изменение структуры ЛПНП), сопровождается усилением биосинтеза холестерина, апо-В и ЛПНП. Это наиболее серьезная патология в обмене ЛП: степень риска развития ИБС у пациентов с этим типом нарушения возрастает в 10-20 раз по сравнению со здоровыми лицами. Как вторичное явление гиперлипопротеинемия II типа может развиваться при гипотиреозе, нефротическом синдроме. Лечение: диета с низким содержанием холестерина и насыщенных жиров.

*Тип III – дис- $\beta$ -липопротеинемия (широкополосная бета-липопротеинемия)* обусловлена аномальным составом ЛПОНП. Они обогащены свободным ХС и дефектным апо-Е, тормозящим активность печеночной ТАГ-липазы. Это ведет к нарушениям катаболизма ХМ и ЛПОНП. Заболевание проявляется в возрасте 30-50 лет. Состояние характеризуется высоким содержанием остатков ЛПОНП, гиперхолестеролемией и триацилглицеролемией, наблюдаются ксантомы, атеросклеротические поражения периферических и коронарных сосудов. Лечение: диетотерапия, направленная на снижение веса.

*Тип IV – гиперпре- $\beta$ -липопротеинемия (гипертриацилглицеролемиа).* Первичный вариант обусловлен уменьшением активности ЛПЛ, повышение уровня ТАГ в плазме крови происходит за счет фракции ЛПОНП, аккумуляции ХМ при этом не наблюдается. Встречается только у взрослых, характеризуется развитием атеросклероза сначала коронарных, затем периферических артерий. Заболевание часто сопровождается

понижением толерантности к глюкозе. Как вторичное проявление встречается при панкреатите, алкоголизме. Лечение: диетотерапия, направленная на снижение веса.

*Тип V – гиперпре-β-липопротеинемия с гиперхиломикронемией.* При этом типе патологии изменения фракций ЛП крови носят сложный характер: повышено содержание ХМ и ЛПОНП, выраженность фракций ЛПНП и ЛПВП уменьшена. Больные часто имеют избыточную массу тела, возможно развитие гепатоспленомегалии, панкреатита, атеросклероз развивается не во всех случаях. Как вторичное явление, гиперлипопротеинемия V типа может наблюдаться при инсулинзависимом сахарном диабете, гипотиреозе, панкреатите, алкоголизме, гликогенозе I типа. Лечение: диетотерапия, направленная на снижение веса, диета с невысоким содержанием углеводов и жиров.



## ГЛАВА 21

### ОБМЕН ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ И ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Приём пищи человеком происходит иногда со значительными интервалами, поэтому в организме выработались механизмы депонирования энергии. ТАГ (нейтральные жиры) – наиболее выгодная и основная форма депонирования энергии. Депонированный жир может обеспечивать организм энергией при голодании в течение длительного времени (до 7-8 недель).

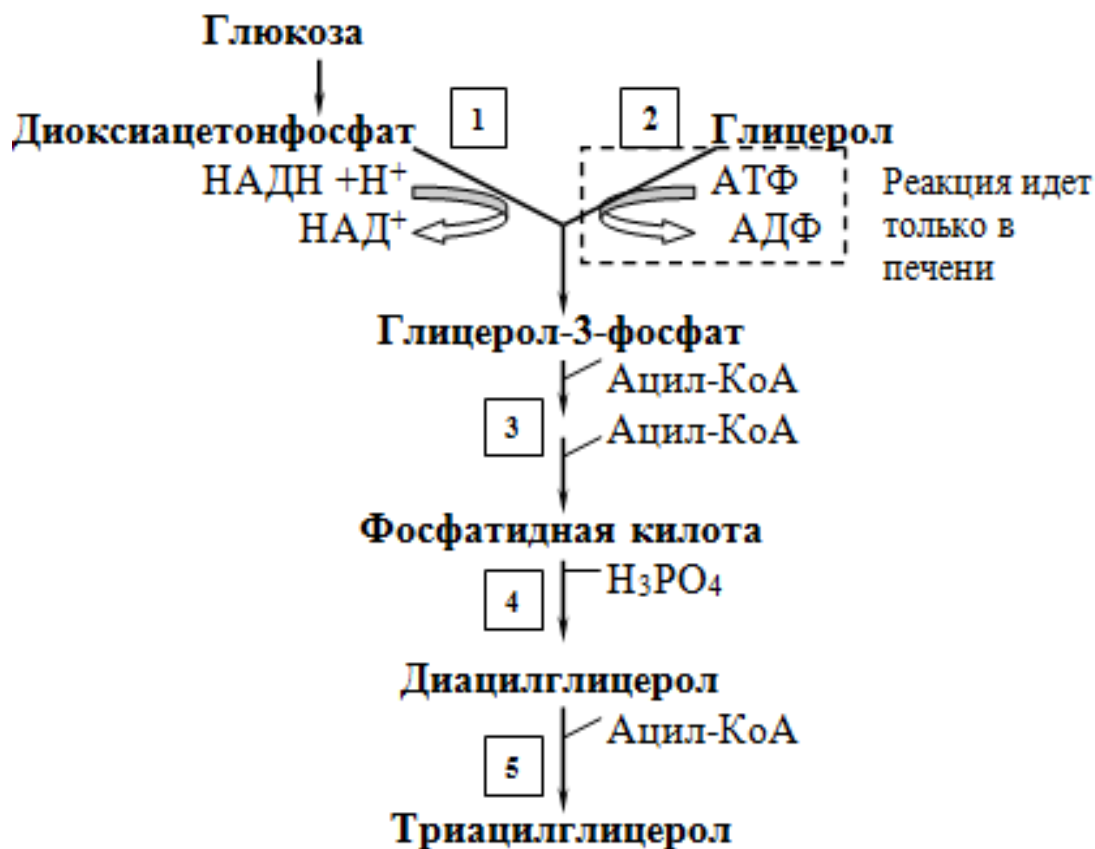
#### **Синтез триацилглицеролов**

Синтез ТАГ происходит в абсорбтивный период в печени и жировой ткани. Субстратами в синтезе нейтральных жиров являются ацил-КоА и глицерол-3-фосфат. Метаболический путь синтеза ТАГ в печени и жировой ткани одинаков, за исключением разных путей образования глицерол-3-фосфата (Рис.21.1).

Печень – основной орган, где синтез жирных кислот идет из продуктов гликолиза. В гладком эндоплазматическом ретикулу-мепатоцитов жирные кислоты активируются и сразу же используются для синтеза ТАГ, взаимодействуя с глицерол-3-фосфатом. Синтезированные липиды упаковываются в ЛПОНП, секретируются в кровь и доставляются в другие ткани..

В жировой ткани для синтеза ТАГ используются в основном жирные кислоты, освободившиеся при гидролизе нейтральных жиров, содержащихся в ХМ и ЛПОНП. Жирные кислоты поступают в адипоциты, превращаются в ацил-КоА и взаимодействуют с глицерол-3-фосфатом. Кроме жирных кислот, поступающих в адипоциты из крови, в этих клетках идет и синтез жирных кислот из продуктов распада глюкозы. Молекулы ТАГ в адипоцитах объединяются в крупные жировые капли, не содержащие воды, и поэтому являются наиболее компактной формой хранения топливных молекул.

**Регуляция синтеза триацилглицеролов.** В абсорбтивный период при увеличении соотношения инсулин/глюкагон активируется синтез ТАГ в печени. В жировой ткани индуцируется синтез липопротенлипазы (ЛПЛ), то есть в этот период активируется



**Рисунок 21.1. – Синтез ТАГ в печени и жировой ткани**

1 – глицеролкиназа, 2 – глицеролфосфатдегидрогеназа, 3 – глицеролфосфат-ацетилтрансфераза, 4 – фосфатидатфосфатаза, 5 – диацилглицерол-ацилтрансфераза

поступление жирных кислот в адипоциты. Одновременно инсулин активирует белки-переносчики глюкозы – ГЛЮТ-4, что ведет к увеличению поступления глюкозы в адипоциты и активации там гликолиза. В результате образуются необходимые для синтеза нейтральных жиров глицерол-3-фосфат и активированные жирные кислоты. В печени в результате действия инсулина увеличивается количество и активность регуляторных ферментов гликолиза, пируватдегидрогеназного комплекса, а также ферментов, участвующих в синтезе жирных кислот из ацетил-КоА. Итогом этих изменений является увеличение синтеза ТАГ и секреция их в кровь в составе ЛПОНП. ЛПОНП доставляют нейтральные жиры в капилляры жировой ткани, где действие ЛПЛ обеспечивает быстрое поступление жирных кислот в адипоциты, где они депонируются в составе ТАГ.

### Мобилизации триацилглицеролов

Мобилизация нейтральных жиров, то есть гидролиз до глицерола и жирных кислот, происходит в постабсорбтивный период, при голодании и активной физической работе. Процесс осуществляется под действием гормончувствительной ТАГ-липазы. Этот фермент отщепляет одну жирную кислоту у первого углеродного атома глицерола с образованием диацилглицерола, а затем другие липазы гидролизуют его до глицерола и жирных кислот, которые поступают в кровь. Глицерол как водорастворимое вещество транспортируется кровью в свободном виде, а жирные кислоты – в комплексе с белком плазмы альбумином.

**Регуляция мобилизации триацилглицеролов.** Мобилизация ТАГ стимулируется глюкагоном и адреналином (Табл. 21.1), а также, но в гораздо меньшей степени, соматотропным гормоном и кортизолом.

Таблица 21.1 - Влияние некоторых факторов на гидролиз ТАГ в жировой ткани

Фактор	Характер действия	Предполагаемый механизм действия
Катехоламины	Усиление (↑)	Активация аденилатциклазы
Глюкагон	↑	тот же
Тироксин	↑	тот же
Глюкокортикоиды	↑	Активация синтеза протеинкиназы
Гормон роста	↑	Активация синтеза аденилатциклазы
АКТГ	↑	тот же
Стресс	↑	Повышение секреции катехоламинов и снижение секреции инсулина
Физическая нагрузка	↑	тот же
Голодание	↑	тот же
Охлаждение	↑	тот же
Инсулин	Угнетение (↓)	Активация фосфодиэстеразы
Простагландины	↓	Снижение активности аденилатциклазы

В постабсорбтивный период и при голодании глюкагон, действуя на адипоциты через аденилатциклазную систему, активирует гормончувствительную липазу, что инициирует липолиз и выделение жирных кислот и глицерола в кровь. При физической активности увеличивается секреция адреналина, который также через аденилатциклазную систему активирует липолиз. В настоящее время предполагается, что действие адреналина двойко: при низких концентрациях в крови преобладает его антилиполитическое действие через  $\alpha_2$ -рецепторы, а при высокой – преобладает липолитическое действие через  $\beta$ -рецепторы.

В результате мобилизации ТАГ концентрация жирных кислот в крови увеличивается приблизительно в 2 раза, но они достаточно быстро утилизируются. Для мышц, сердца, почек, печени при голодании или физической работе жирные кислоты становятся важным источником энергии.

Печень перерабатывает часть жирных кислот в кетоновые тела, используемые мозгом, нервной и некоторыми другими тканями как источники энергии. Когда постабсорбтивный период сменяется абсорбтивным, инсулин через промежуточные механизмы подавляет активность гормончувствительной липазы и распад жиров останавливается.

### **Ожирение**

Состояние, когда масса тела на 20% превышает идеальную для данного индивидуума, считают ожирением. Оно развивается, когда в жировой ткани преобладают процессы липогенеза. Образование адипоцитов происходит во внутриутробном состоянии, начиная с последнего триместра беременности, и заканчивается в препубертатный период. После этого жировые клетки могут увеличиваться в размерах при ожирении или уменьшаться при похудении, но их количество не изменяется в течение жизни. Одна из классификаций ожирения основана на размерах и количестве адипоцитов. При повышении общего числа этих клеток говорят о *гиперпластическом* ожирении (развивающемся в младенческом возрасте, наследственном); увеличение размеров адипоцитов ведет к *гипертрофическому* ожирению. Согласно другой классификации, выделяют первичное и вторичное ожирение.

**Первичное ожирение** развивается в результате алиментар-

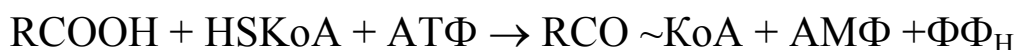
ного дисбаланса – избыточной калорийности питания по сравнению с расходами энергии. Причинами этого в 80% случаев являются генетические нарушения, далее в списке причин следуют состав и количество потребляемой пищи, уровень физической активности и психологические факторы. Метаболические различия между тучными и худыми людьми до настоящего времени не могут быть определены однозначно. Среди причин, объясняющих эти различия, называют то, что у людей, склонных к ожирению, более эффективный метаболизм, разное соотношение аэробного и анаэробного гликолиза, различия в активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы. Установлено, что у человека и животных есть ген ожирения – *obesegene*. Продуктом экспрессии этого гена является белок лептин, который синтезируется и секретируется адипоцитами и взаимодействует с рецепторами гипоталамуса. В результате его действия снижается секреция нейропептида Y, стимулирующего потребление пищи. У большей части больных ожирением имеется генетический дефект рецепторов лептина в гипоталамусе, у некоторых дефектен сам ген. Но в итоге секреция нейропептида Y продолжается, что ведет к увеличению аппетита и, соответственно, к увеличению массы тела.

**Вторичное ожирение** – ожирение, развивающееся в результате какого-либо заболевания, чаще всего эндокринного. Например, к развитию ожирения приводят гипотиреоз, синдром Иценко-Кушинга и гипогонадизм.

### Обмен жирных кислот

Высвобождающиеся при липолизе жирные кислоты поступают в кровоток и транспортируются в связанном с сывороточными альбуминами состоянии. Поступление СЖК сопровождается появлением в плазме также и глицерола. Глицерол может участвовать в глюконеогенезе или включаться в гликолитический путь с предварительным образованием глицерол-3-фосфата.

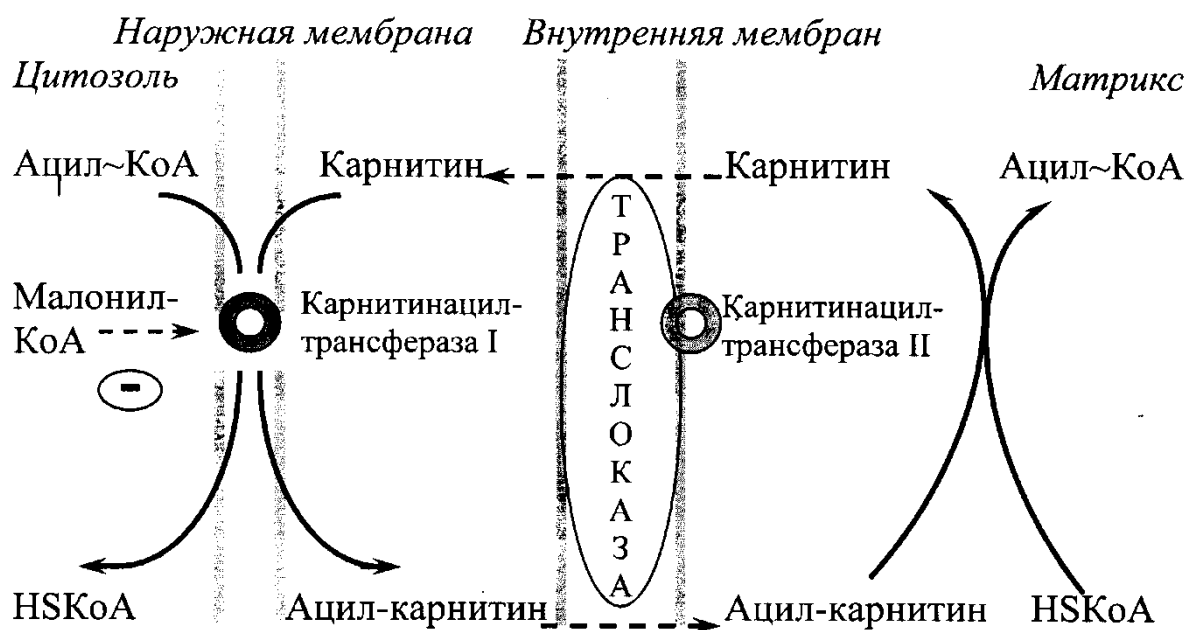
После того как жирные кислоты поступают в клетку, они активируются путем образования КоА-производных:



Реакцию катализируют ферменты ацил-КоА-синтетазы. Они

находятся как в цитозоле, так и в матриксе митохондрий и отличаются по специфичности к жирным кислотам с различной длиной углеводородной цепи. Жирные кислоты с длиной цепи от 2 до 4 атомов углерода могут проникать в матрикс митохондрий путем диффузии. Активация таких кислот происходит в матриксе митохондрий. Жирные кислоты с длинной цепью, которые преобладают в организме человека, активируются ацил-КоА-синтетазами, расположенными на внешней мембране митохондрий.

$\beta$ -Окисление жирных кислот происходит в матриксе митохондрий, поэтому после активации эти субстраты должны транспортироваться внутрь митохондрий. Этот процесс осуществляется с помощью карнитина, который поступает с пищей или синтезируется из незаменимых аминокислот лизина и метионина. В наружной мембране митохондрий (Рис. 21.2) находится фермент карнитинацилтрансфераза I, катализирующий реакцию с образованием ацилкарнитина.



**Рисунок 21.2. – Перенос длинноцепочечных жирных кислот через мембраны митохондрии**

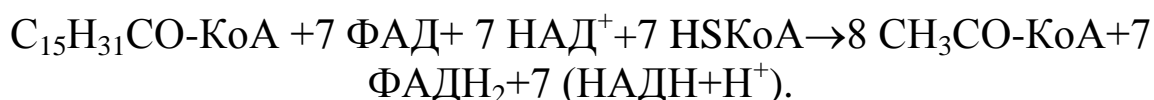
Образовавшийся ацил-карнитин проходит через межмембранное пространство к наружной стороне внутренней мембраны и транспортируется с помощью карнитин ацилкарнитин-транслоказы на внутреннюю поверхность внутренней мембраны

митохондрий, где фермент карнитинацилтрансфераза II катализирует перенос ацила на внутримитохондриальный КоА. После этого ацил-КоА включается в реакции β-окисления. Свободный карнитин возвращается в межмембранное пространство той же транслоказой.

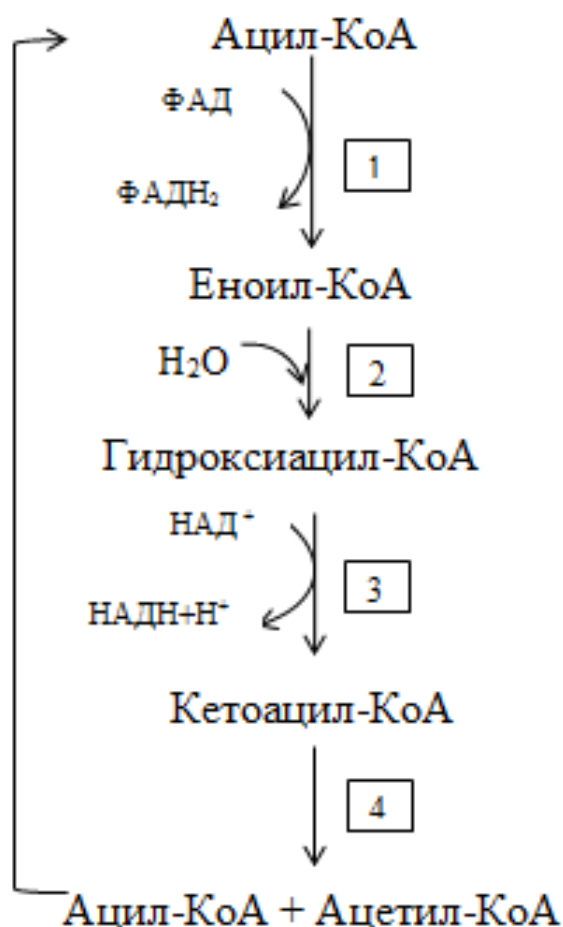
β-Окисление жирных кислот – специфический путь катаболизма жирных кислот, протекающий в матриксе митохондрий только в аэробных условиях и заканчивающийся образованием ацетил-КоА (Рис. 21.3).

Водород из реакций β-окисления поступает в ЦПЭ, а ацетил-КоА окисляется в цикле трикарбоновых кислот, также поставляющем водород для ЦПЭ. Поэтому β-окисление жирных кислот является важнейшим метаболическим путем, обеспечивающим синтез АТФ в дыхательной цепи.

Продуктами каждого цикла β-окисления являются ФАДН<sub>2</sub>, НАДН и ацетил-КоА. Остаток кислоты, который входит в каждый последующий цикл, короче на 2 углеродных атома. В последнем цикле, когда остаётся жирная кислота из 4 атомов углерода, образуются сразу 2 молекулы ацетил-КоА. Суммарное уравнение β-окисления пальмитоил-КоА может быть представлено так:



Энергетический выход в этом случае составляет 131 молекулу АТФ (21 АТФ образуется при окислении каждой из 7 молекул НАДН в ЦПЭ, 14 – при окислении каждой из 7 молекул ФАДН<sub>2</sub> в ЦПЭ, синтез 96 молекул АТФ обеспечивается окислением 8 молекул ацетил-КоА в ЦТК). С учетом расхода 1 молекулы АТФ, которая гидролизуется до АМФ, при активации жирной кислоты чистый энергетический выход окисления пальмитата составляет 129 АТФ. Окисление жирных кислот – важный источник энергии в тканях с высокой активностью ЦТК и цепи переноса электронов (скелетные и сердечная мышцы, почки). Эритроциты, в которых отсутствуют митохондрии, не могут окислять жирные кислоты. Эти соединения не служат источником энергии для головного мозга, так как жирные кислоты не проходят через гематоэнцефалический барьер.



**Рисунок 21.3. –  $\beta$ -окисление жирных кислот**  
 1 - ацил-КоА-дегидрогеназа, 2 -еноил-КоА-гидратаза, 3 - гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа, 4 -тиолаза

**Регуляция скорости  $\beta$ -окисления.** Скорость процесса регулируется потребностью клетки в энергии (соотношениями АТФ/АДФ, НАДН/НАД<sup>+</sup>). Скорость  $\beta$ -окисления зависит и от доступности субстрата, то есть от количества жирных кислот, поступающих в митохондрии. Концентрация СЖК в крови повышается при активации липолиза. В этих условиях жирные кислоты становятся преимущественным источником энергии для мышц и печени, так как в результате  $\beta$ -окисления образуются НАДН и ацетил-КоА, ингибирующие пируватдегидрогеназный комплекс. Таким образом, использование жирных кислот как основного источника энергии в мышечной ткани и печени сберегает глюкозу для нервной ткани и эритроцитов.



Скорость  $\beta$ -окисления зависит также от активности карнитинацилтрансферазы-I. В печени этот фермент ингибируется малонил-КоА, образующимся при биосинтезе жирных кислот. То есть, малонил-КоА ингибирует деградацию жирных кислот, чем способствует их использованию для синтеза жира.

Другие типы окисления жирных кислот.

*$\alpha$ -Окисление* представляет собой последовательное отщепление одноуглеродных фрагментов, выделяющихся в виде  $\text{CO}_2$  от карбоксильного конца молекулы. Такому типу окисления подвергаются жирные кислоты с цепью более 20 углеродных атомов (характерны для липидов нервной ткани), а также жирные кислоты с разветвленной углеродной цепью (поступают с пищей).

*$\omega$ -Окисление* жирных кислот в норме весьма незначительно, происходит оно в микросомах печени. Первоначальная стадия катализируется монооксигеназой, которая требует наличия НАДФН,  $\text{O}_2$  и цитохрома P-450. Группа  $-\text{CH}_3$  при этом превращается в  $-\text{CH}_2\text{OH}$ , затем окисляется до  $-\text{COOH}$ . Образовавшаяся дикарбоновая кислота может быть укорочена с любого конца путем реакций  $\beta$ -окисления.

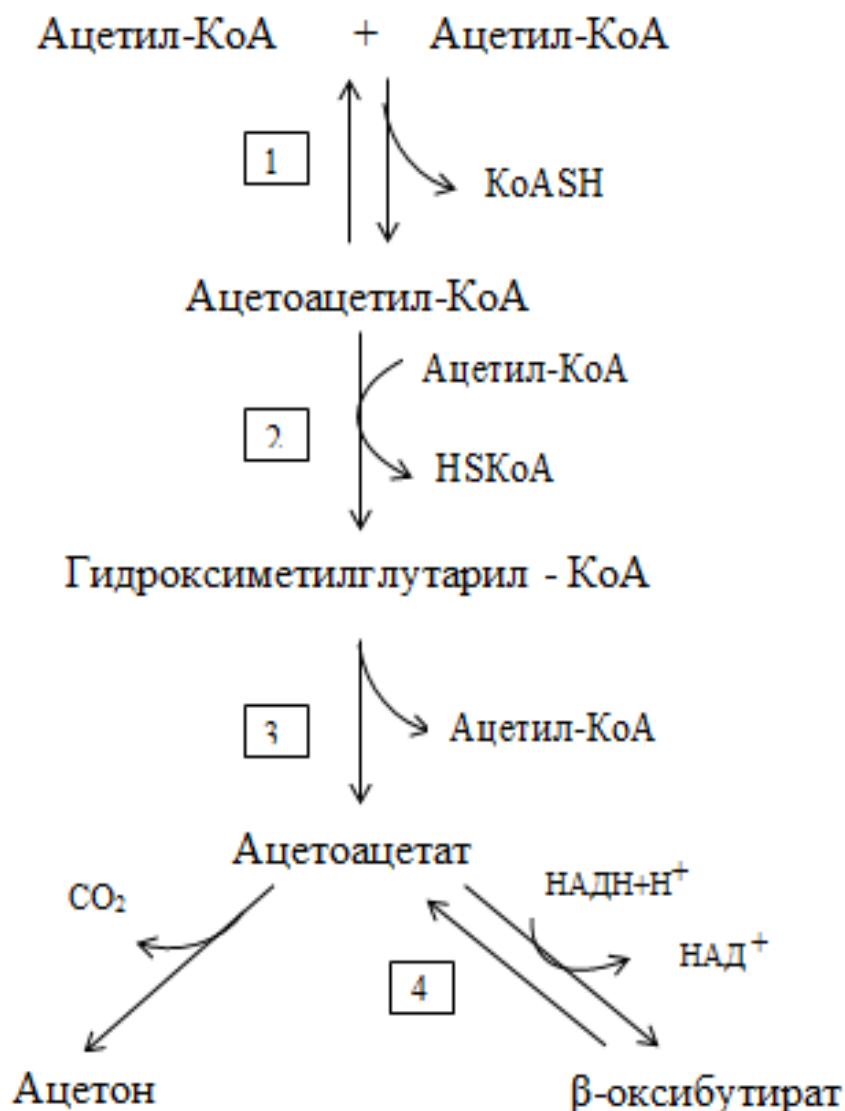
Окисление ненасыщенных жирных кислот идет обычным путем, до тех пор, пока двойная связь не окажется между третьим и четвертым атомами углерода. После этого фермент еноил-КоА-изомераза перемещает двойную связь из положения 3-4 в положение 2-3 и изменяет цис-конформацию двойной связи на транс-, которая требуется для  $\beta$ -окисления. В этом цикле  $\beta$ -окисления первая реакция дегидрирования не происходит, так как двойная связь в радикале жирной кислоты уже имеется. Далее циклы  $\beta$ -окисления продолжаются, не отличаясь от обычного пути.

Жирные кислоты с нечетным числом углеродных атомов на конечном этапе  $\beta$ -окисления образуют ацетил-КоА и пропионил-КоА. Трехуглеродный фрагмент в ходе трех реакций превращается в сукцинил-КоА – метаболит ЦТК.

Ацетил-КоА, образующийся при  $\beta$ -окислении жирных кислот, расщеплении кетогенных аминокислот и окислительном декарбоксилировании пирувата, служит исходным субстратом для ряда важнейших метаболических путей: 1) окисление в ЦТК, 2) образование кетоновых тел, 3) синтез холестерина, 4) синтез жирных кислот.

## Обмен кетоновых тел

К кетоновым телам относятся **ацетоацетат, ацетон и  $\beta$ -гидроксибутират**. Они синтезируются в печени (Рис 21.4).



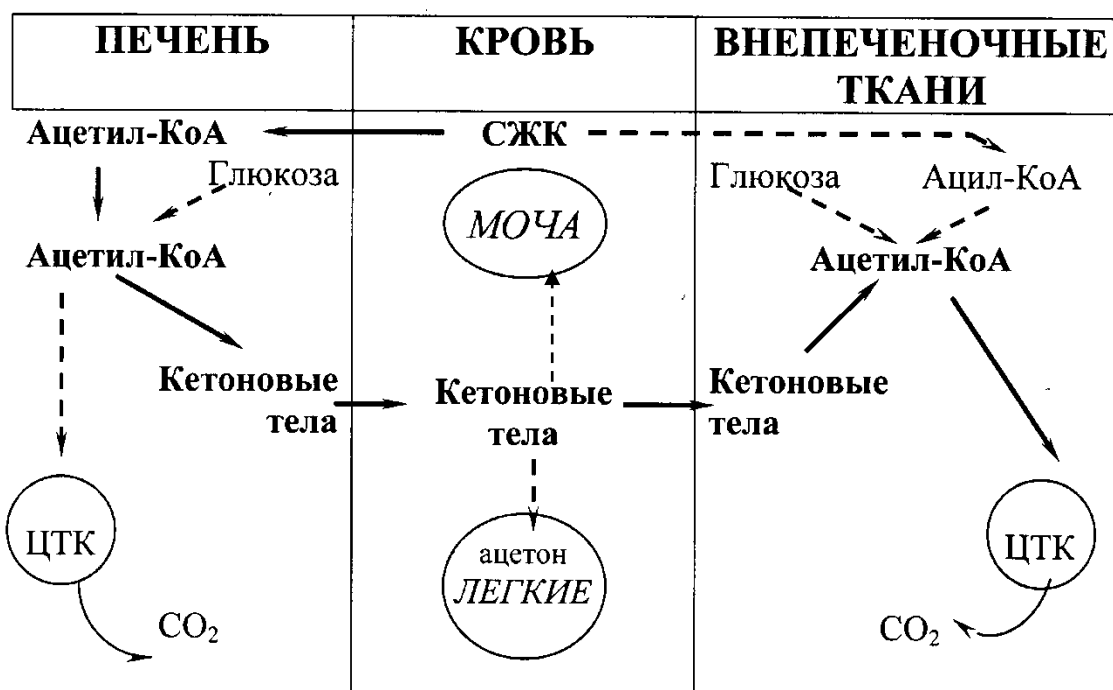
**Рисунок 21.4. – Синтез кетоновых тел**

*1 - тиолаза, 2-ГМГ-КоА-синтаза, 3- ГМГ-КоА-лиаза,  
4- $\beta$ -оксибутиратдегидрогеназа*

Скорость синтеза кетоновых тел зависит от активности 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-синтазы (ГМГ-КоА-синтазы). Это индуцируемый фермент, его синтез увеличивается при повышении концентрации жирных кислот в крови. ГМГ-КоА-синтаза ингибируется высокими концентрациями КоА. В норме образуется небольшое количество кетоновых тел (их содержание



клетках печени при активном  $\beta$ -окислении создается высокая концентрация  $\text{НАДН} + \text{H}^+$ . Это способствует превращению большей части ацетоацетата в  $\beta$ -гидроксибутират, поэтому основное кетоновое тело крови – именно  $\beta$ -гидроксибутират. При высокой концентрации ацетоацетата часть его неферментативнодекарбоксилируется, превращаясь в ацетон. Ацетон не утилизируется тканями, но выделяется с выдыхаемым воздухом и мочой. Таким путем организм удаляет избыточное количество кетоновых тел, которые не успевают окисляться, и вызывают ацидоз, так как являются кислотами. Содержание кетоновых тел в крови увеличивается тогда, когда основным источником энергии для организма служат жирные кислоты – при длительной мышечной работе, голодании, сахарном диабете.



**Рисунок 21.6. – Образование, утилизация и выведение кетоновых тел (главный путь показан непрерывными стрелками)**

Увеличение концентрации кетоновых тел в крови называют *кетонемией*, выделение кетоновых тел с мочой – *кетонурией*. Накопление кетоновых тел в организме приводит к кетоацидозу: уменьшению щелочного резерва, а в тяжелых случаях – к сдвигу рН, так как  $\beta$ -гидроксибутират и ацетоацетат являются водорастворимыми органическими кислотами, способными к диссоциа-

ции. Ацидоз достигает опасных величин при сахарном диабете. Содержание кетоновых тел в крови при этом заболевании увеличивается в 100 и более раз, достигая концентрации 4-5 г/л. Тяжелая форма ацидоза – одна из основных причин смерти при сахарном диабете.

### Синтез жирных кислот

Синтез жирных кислот происходит в основном в печени, в меньшей степени – в жировой ткани и лактирующей молочной железе. Гликолиз и последующее окислительное декарбоксилирование пирувата способствуют увеличению концентрации ацетил-КоА в матриксе митохондрий. Синтез же жирных кислот происходит в цитозоле, куда и должен быть транспортирован субстрат. Для этого в матриксе митохондрий ацетил-КоА конденсируется со ЩУК с образованием цитрата. Затем транслоказа переносит цитрат в цитоплазму. Это происходит только при увеличении количества цитрата в митохондриях, когда изоцитратдегидрогеназа и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа ингибированы высокими концентрациями НАДН и АТФ. Такая ситуация создается в абсорбтивном периоде, когда клетка печени получает достаточное количество источников энергии. В цитоплазме цитрат расщепляется до ЩУК и ацетил-КоА. Последний служит исходным субстратом для синтеза жирных кислот, а ЩУК под действием малатдегидрогеназы превращается в малат, который при участии малик-фермента образует пируват. Пируват транспортируется обратно в матрикс митохондрий.

Первая реакция синтеза жирных кислот – превращение ацетил-КоА в малонил-КоА, осуществляемое ацетил-КоА-карбоксилазой, определяет скорость всех последующих реакций синтеза жирных кислот.

Далее синтез жирных кислот продолжается на мультиферментном комплексе – синтазе жирных кислот. Этот фермент состоит из 2 идентичных протомеров, каждый из которых имеет доменное строение и, соответственно, 7 центров, обладающих разными каталитическими активностями.

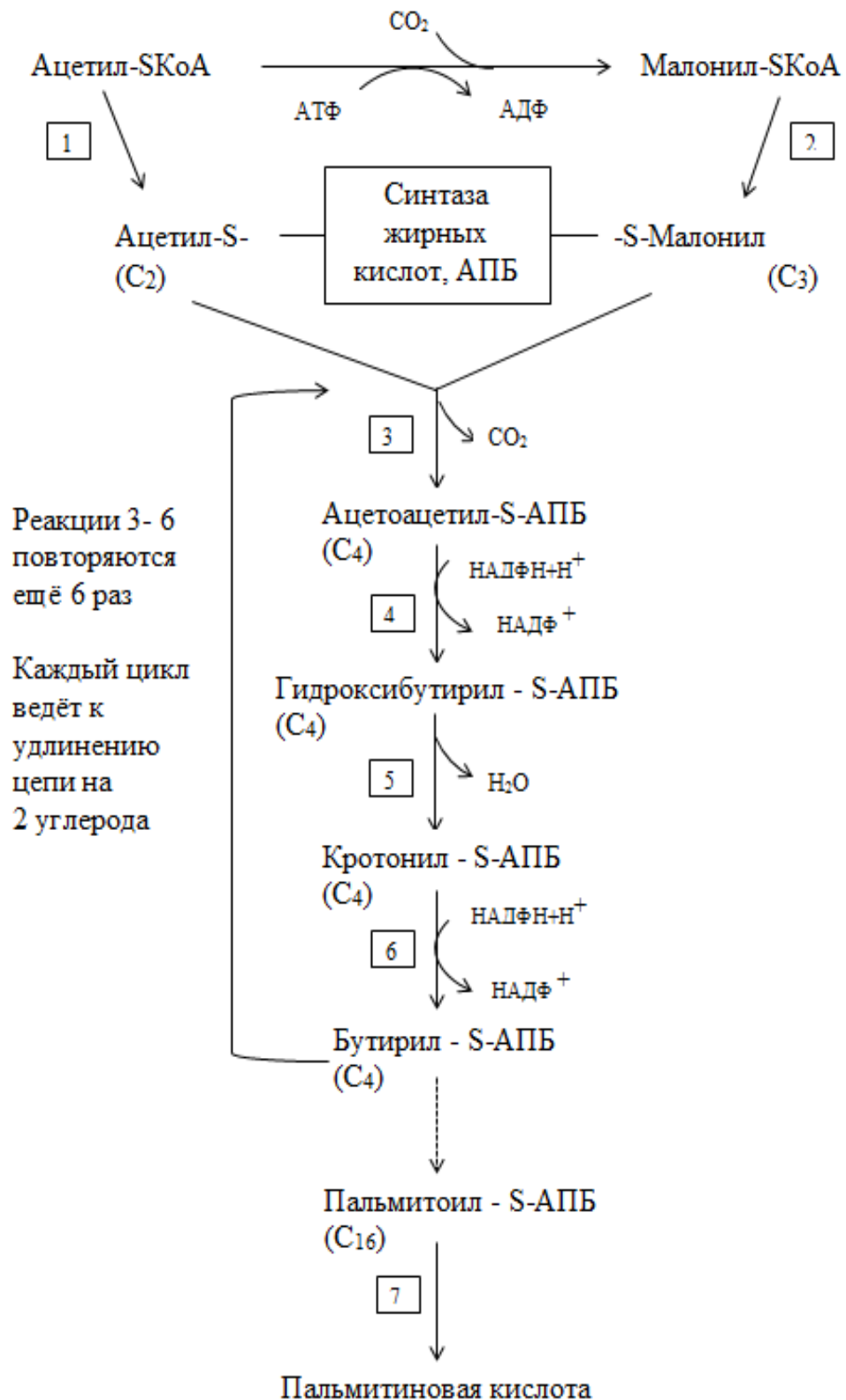
Это ацетилтрансацилаза, малонилтрансацилаза, кетоацилсинтаза, кетоацилредуктаза, гидратаза, еноил-редуктаза, тиоэсте-

раза и ацилпереносящий белок (АПБ). АПБ не является ферментом, его функция связана только с переносом ацильных радикалов. В процессе синтеза важную роль играют SH-группы. Одна из них принадлежит 4-фосфопантетеину, входящему в состав АПБ, вторая – цистеину кетоацилсинтазы. Протомеры синтазы жирных кислот расположены «голова к хвосту». Несмотря на то, что каждый мономер содержит все активные центры, функционально активен комплекс из двух протомеров. Поэтому реально синтезируются одновременно 2 жирных кислоты (в схемах для упрощения изображают синтез только одной молекулы).

Этот комплекс последовательно удлиняет радикал жирной кислоты на 2 углеродных атома, донором которых служит малонил-КоА. Циклы реакций повторяются до тех пор, пока не образуется радикал пальмитиновой кислоты (Рис. 21.7), который под действием тиоэстеразы (деацилазы) гидролитически отделяется от ферментного комплекса, превращаясь в свободную пальмитиновую кислоту. В каждом цикле биосинтеза пальмитиновой кислоты проходят 2 реакции восстановления, донором водорода в которых служит НАДФН. Его источниками являются пентозофосфатный путь, НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа и малик-фермент (НАДФ-зависимая декарбоксилирующая малатдегидрогеназа).

**Регуляция синтеза жирных кислот.** Регуляторный фермент синтеза жирных кислот – ацетил-КоА-карбоксилаза. Его активность регулируется двумя способами.

1. **Ассоциация/диссоциация комплексов субъединиц.** В неактивной форме ацетил-КоА-карбоксилаза представляет собой отдельные комплексы, каждый из которых состоит из 4 субъединиц. Активатор фермента – цитрат – стимулирует объединение комплексов, ингибитор – пальмитоил-КоА – вызывает их диссоциацию.



**Рисунок 21.7. – Синтез пальмитиновой кислоты**

1 - АПБ-ацетилтрансфераза, 2 - АПБ-малонилтрансфераза,  
 3 - β-кетоацил-АПБ-синтаза, 4 - β-кетоацил-АПБ-редуктаза, 5 -  
 β-оксиацил-АПБ-дегидратаза, 6 - еноил-АПБ-редуктаза,  
 7 - тиоэстераза (деацилаза)

2. **Фосфорилирование/дефосфорилирование ацетил-КоА-карбоксилазы.** В постабсорбтивном состоянии или при физической работе глюкагон или адреналин через аденилатциклязную систему активируют протеинкиназу А и стимулируют фосфорилирование субъединиц ацетил-КоА-карбоксилазы. Фосфорилированный фермент неактивен. В абсорбтивный период инсулин активирует фосфатазу, и ацетил-КоА-карбоксилаза переходит в дефосфорилированное состояние. Затем под действием цитрата происходит полимеризация протомеров фермента, и он становится активным.

Ещё одним способом усиления синтеза жирных кислот является индукция синтеза ферментов этого метаболического пути. Это происходит при длительном потреблении богатой углеводами, когда инсулин стимулирует индукцию синтеза ацетил-КоА-карбоксилазы, синтазы жирных кислот, цитратлиазы и изоцитратдегидрогеназы.

Из пальмитиновой кислоты могут синтезироваться более длинные, а также ненасыщенные жирные кислоты. Удлинение пальмитиновой кислоты может происходить:

а) в митохондриях за счет присоединения ацетил-КоА с использованием НАДФН;

б) в микросомах за счет малонил-КоА и НАДФН.

Введение двойных связей в структуру жирных кислот происходит также в микросомах с помощью оксидаз, при этом используются НАДФН и  $O_2$ . В организме человека синтезируются жирные кислоты, которые содержат лишь 1 двойную связь (пальмитоолеиновая и олеиновая), поэтому жирные кислоты с 2 и более двойными связями являются незаменимыми компонентами пищи.



## ГЛАВА 22

### ОБМЕН СЛОЖНЫХ ЛИПИДОВ

К сложным липидам относят такие соединения, которые, помимо липидного, содержат и нелипидный компонент (белок, углевод или фосфат). Соответственно, существуют **протеолипиды, гликолипиды и фосфолипиды**. Сложные липиды выполняют пластические функции и используются главным образом как структурные компоненты биологических мембран. Протеолипиды являются структурными компонентами в миелиновых оболочках нервных клеток, в синаптических мембранах и внутренних мембранах митохондрий. Гликолипиды участвуют в функционировании мембран: вовлечены в процессы рецепции, участвуют в контроле и регуляции межклеточных контактов, обладают высокой тканевой специфичностью и выступают в роли антигенов клеточной поверхности. Фосфолипиды (ФЛ) играют важную роль в структуре и функционировании клеточных мембран, активации мембранных и лизосомальных ферментов, в проведении нервных импульсов, свертывании крови, иммунологических реакциях, процессах клеточной пролиферации и регенерации тканей, в переносе электронов в ЦПЭ.

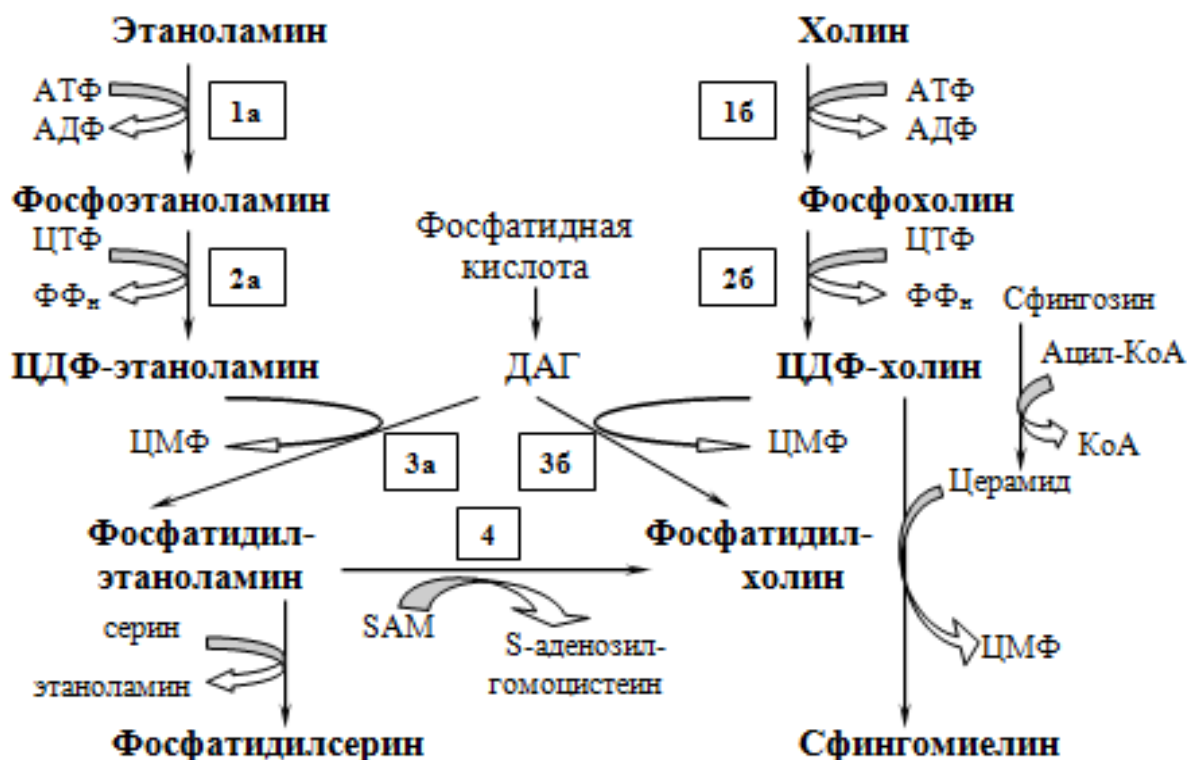
**Образование ФЛ** наиболее интенсивно происходит в печени, стенке кишечника, семенниках, яичниках и молочной железе. Синтез ФЛ, содержащих холин и этаноламин, начинается с активации азотистых оснований при участии АТФ и соответствующих киназ (Рис. 22.1).

При синтезе фосфатидилинозитола на первом этапе происходит взаимодействие фосфатидной кислоты с ЦТФ, ведущее к образованию цитидиндифосфатдиацилглицерола, который реагирует с инозитолом, образуя фосфатидилинозитол.

Помимо путей синтеза индивидуальных ФЛ, имеются пути их взаимопревращений.

Для синтеза фосфатидилхолинов, и сфингомиелинов нужны холин или метионин, потребность в которых в основном покрывается за счет пищевых источников. При длительном недостатке в пище холина и метионина наблюдается развитие **жировой инфильтрации печени**, при которой содержание липидов, главным

образом ТАГ, может достигать в расчете на сухую массу ткани 45 %, против 7-14% в норме.



**Рисунок 22.1. – Схема синтеза фосфолипидов.**

*1а – этаноламинкиназа, 2а – фосфоэтаноламин-цитидилтрансфераза, 3а – диацилглицерол-фосфоэтаноламин-трансфераза, 4а – фосфатидилэтаноламин-метилтрансфераза, 1б – холинкиназа, 2б – фосфохолин-цитидилтрансфераза, 3б – диацилглицерол-фосфохолинтрансфераза*

Механизм развития жировой инфильтрации печени связан с недостаточным синтезом фосфатидилхолинов и сфингомиелинов, необходимых для формирования в этом органе ЛП. На образование последних, наряду с ФЛ, используются значительные количества ТАГ и холестерина. Сформированные в печени ЛП, в частности богатые триацилглицеролами ЛПОНП, поступают в кровяное русло. Следовательно, образование ЛП можно рассматривать как важнейший путь утилизации печеночных липидов. Поэтому недостаточный синтез в печени содержащих холин ФЛ нарушает образование ЛП и ведет к накоплению в этом органе ТАГ и ХС. По этой причине холин, метионин, а также фосфатидилхо-

лин относятся к группе **липотропных веществ**, прием которых с пищей предотвращает развитие жировой инфильтрации печени.

**Распад фосфолипидов** может происходить при участии нескольких ферментов, каждый из которых катализирует гидролитический разрыв строго определенной связи. Гидролиз некоторых ФЛ под действием фосфолипаз имеет значение не только как путь катаболизма, но и как путь образования эйкозаноидов. Кроме того, фосфолипазы  $A_1$  и  $A_2$  участвуют в изменении состава жирных кислот в ФЛ, например при синтезе в эмбриональном периоде дипальмитоилфосфатидилхолина – компонента сурфактанта.

Для **образования сфинголипидов** требуется синтез самого сфингозина. Это происходит путем конденсации пальмитоил-КоА с серином при участии пиридоксальфосфата и ионов марганца. Сфингозин подвергается ацилированию, в результате образуется **церамид**, из которого могут синтезироваться цереброзиды, ганглиозиды, сульфатиды и сфингомиелин.

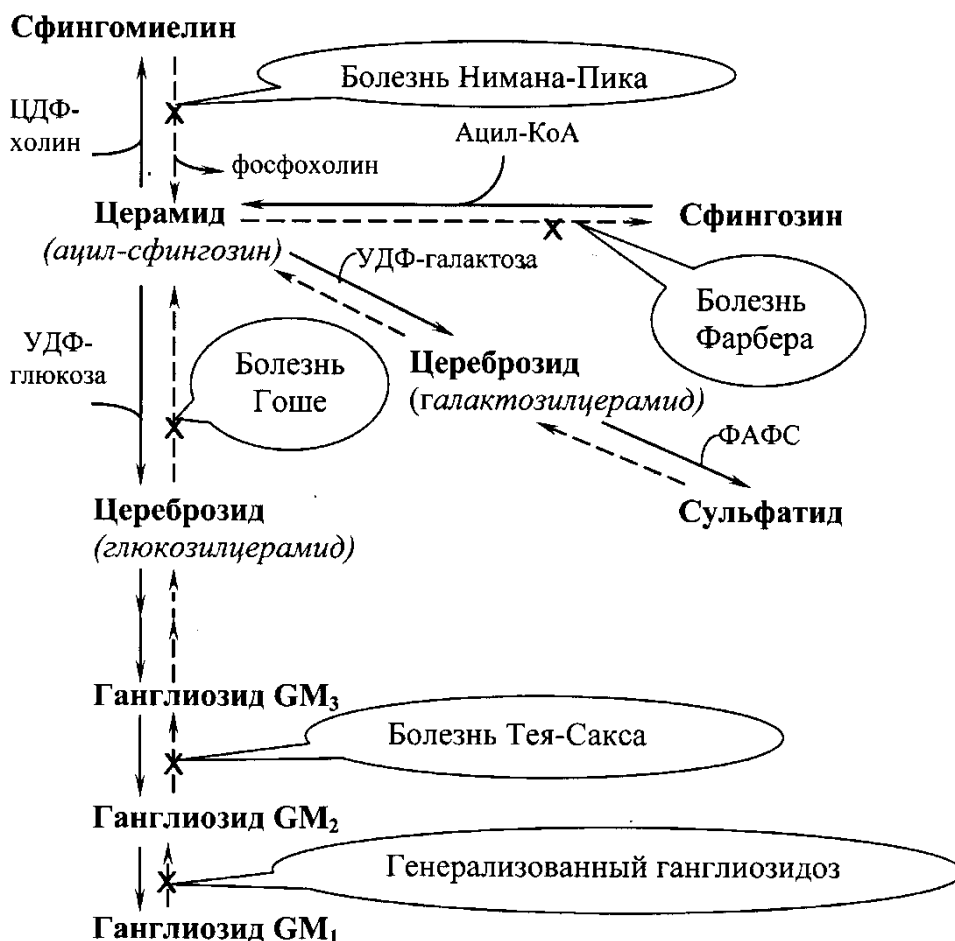
**Катаболизм сфингомиелинов и гликолипидов** происходит в лизосомах. Исключительно важный аспект этого процесса заключается в существовании более десяти специфических лизосомных болезней накопления – сфинголипидозов. Сфинголипидозы обычно являются причиной умственной отсталости и ведут к смерти в раннем возрасте, так как происходит поражение клеток нервной ткани, где сконцентрированы гликолипиды.

В распаде сфингомиелинов (Рис. 22.2) участвует сфингомиелиназа, отщепляющая фосфохолин. Генетический дефект сфингомиелиназы – причина *болезни Нимана-Пика*. Дети с таким дефектом погибают в раннем возрасте. Симптомы болезни: накопление сфингомиелина в лизосомах, умственная отсталость, гепатоспленомегалия.

Молекулы гликолипидов расщепляются в результате последовательных реакций гидролиза до глюкозы, галактозы, церамида и других метаболитов. Генетические дефекты любого из ферментов, обеспечивающих катаболизм этого класса липидов, ведут к развитию заболеваний, среди которых можно назвать:

- *болезнь Гоше* – следствие дефекта  $\beta$ -глюкозидазы, при которой наблюдаются гепатоспленомегалия и умственная отсталость;

- *болезнь Тея-Сакса* – следствие дефекта  $\beta$ -гексозаминидазы, для которой характерны умственная отсталость и слепота;
- *генерализованный ганглиозидоз*, вызываемый снижением активности  $\beta$ -галактозидазы, также ведущий к умственной отсталости.



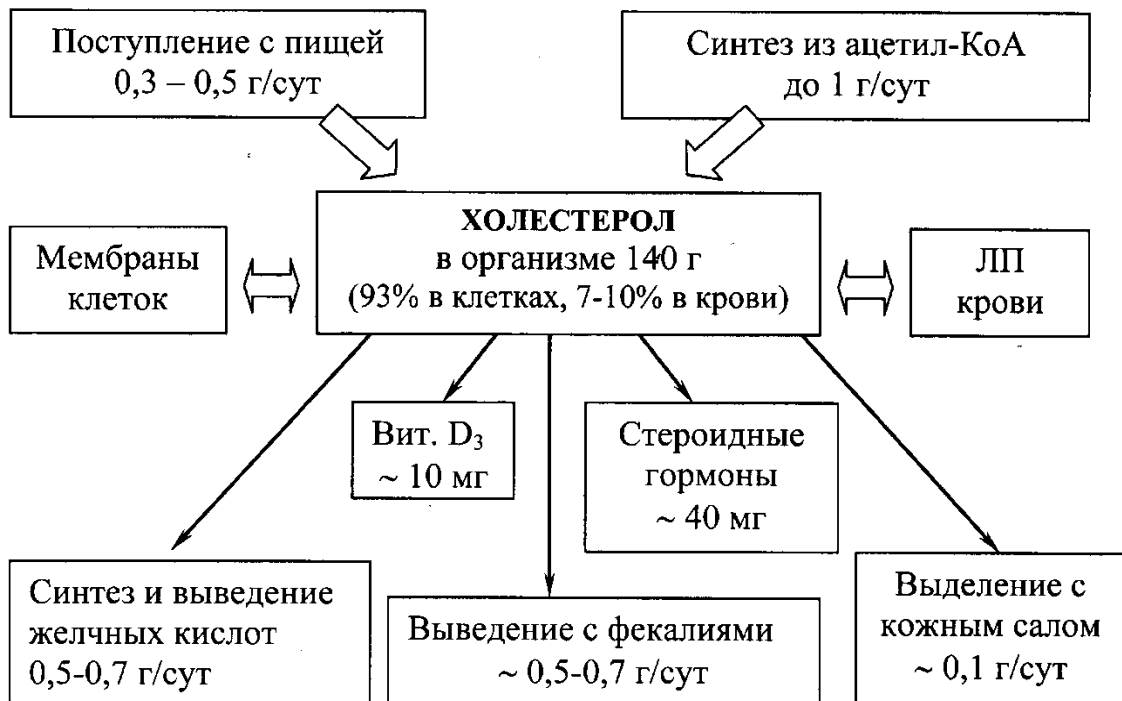
**Рисунок 22.2. – Биосинтез ( —→ ) и распад ( - - -> ) сфинголипидов с указанием биохимических нарушений при сфинголипидозах**

Расщепление церамида до сфингозина и жирной кислоты осуществляется церамидазой. Генетический дефект этого фермента приводит к развитию *болезни Фарбера* с летальным исходом в раннем возрасте. При данной патологии в лизосомах накапливается церамид, наблюдается гепатоспленомегалия, умственная отсталость и поражение суставов.

## ГЛАВА 23

## МЕТАБОЛИЗМ ХОЛЕСТЕРОЛА. БИОХИМИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Холестерол – стероид, характерный только для животных организмов. Основное место его образования в организме человека – печень, где синтезируется 50% холестерина, в тонком кишечнике его образуется 15-20%, остальное количество синтезируется в коже, коре надпочечников и половых железах. Источники формирования фонда холестерина и пути его расходования представлены на рис 23.1.



*Рисунок 23.1. – Формирование и распределение фонда холестерина в организме*

Холестерол организма человека (суммарное количество около 140г) условно можно разделить на три пула:

**пул А** (~ 30г), быстро обменивающийся, состоит из ХС кишечной стенки, плазмы крови, печени и других паренхиматозных органов, обновление происходит за 30 сут (1 г/сут);

**пул Б** (~ 50 г), медленно обменивающийся ХС остальных органов и тканей;

пул **В** (~ 60 г), очень медленно обменивающийся ХС спинного и головного мозга, соединительной ткани, скорость обновления исчисляется годами.

**Транспорт холестерина** кровью осуществляется в составе ЛП. ЛП обеспечивают поступление в ткани экзогенного ХС, определяют его потоки между органами и выведение из организма. Экзогенный ХС доставляется в печень в составе остаточных ХМ. Там вместе с синтезированным эндогенным ХС он формирует общий фонд. В гепатоцитах ТАГ и ХС упаковываются в ЛПОНП, и в таком виде секретируются в кровь. В крови ЛПОНП под действием ЛП-липазы, гидролизующей ТАГ до глицерола и жирных кислот, превращаются сначала в ЛППП, а затем и в ЛПНП, содержащие до 55% ХС и его эфиров. ЛПНП – основная транспортная форма ХС, в которой он доставляется в ткани (70% ХС и его эфиров в крови находится в составе ЛПНП). Из крови ЛПНП поступают в печень (до 75%) и другие ткани, которые имеют на своей поверхности рецепторы ЛПНП.

Если количество ХС, поступающего в клетку, превышает её потребность, то синтез рецепторов ЛПНП подавляется, что уменьшает поток ХС из крови. При снижении концентрации свободного ХС в клетке, наоборот, синтез рецепторов активизируется. В регуляции синтеза рецепторов ЛПНП участвуют гормоны: инсулин, трийодтиронин и половые гормоны увеличивают образование рецепторов, а глюкокортикоиды – уменьшают.

В так называемом «обратном транспорте холестерина», то есть пути, обеспечивающем возвращение ХС в печень, основную роль играют ЛПВП. Они синтезируются в печени в виде незрелых предшественников, которые практически не содержат ХС и ТАГ. В крови предшественники ЛПВП насыщаются ХС, получая его из других ЛП и мембран клеток. В переносе ХС в ЛПВП участвует фермент ЛХАТ (лецитин:холестеролацилтрансфераза), находящийся на их поверхности. Этот фермент присоединяет остаток жирной кислоты от фосфатидилхолина (лецитина) к ХС. В результате образуется гидрофобная молекула эфира холестерина, которая перемещается внутрь ЛПВП. Таким образом, незрелые ЛПВП, обогащаясь ХС, превращаются в ЛПВП<sub>3</sub> – зрелые и более крупные по размерам частицы. ЛПВП<sub>3</sub> обменивают эфиры холе-

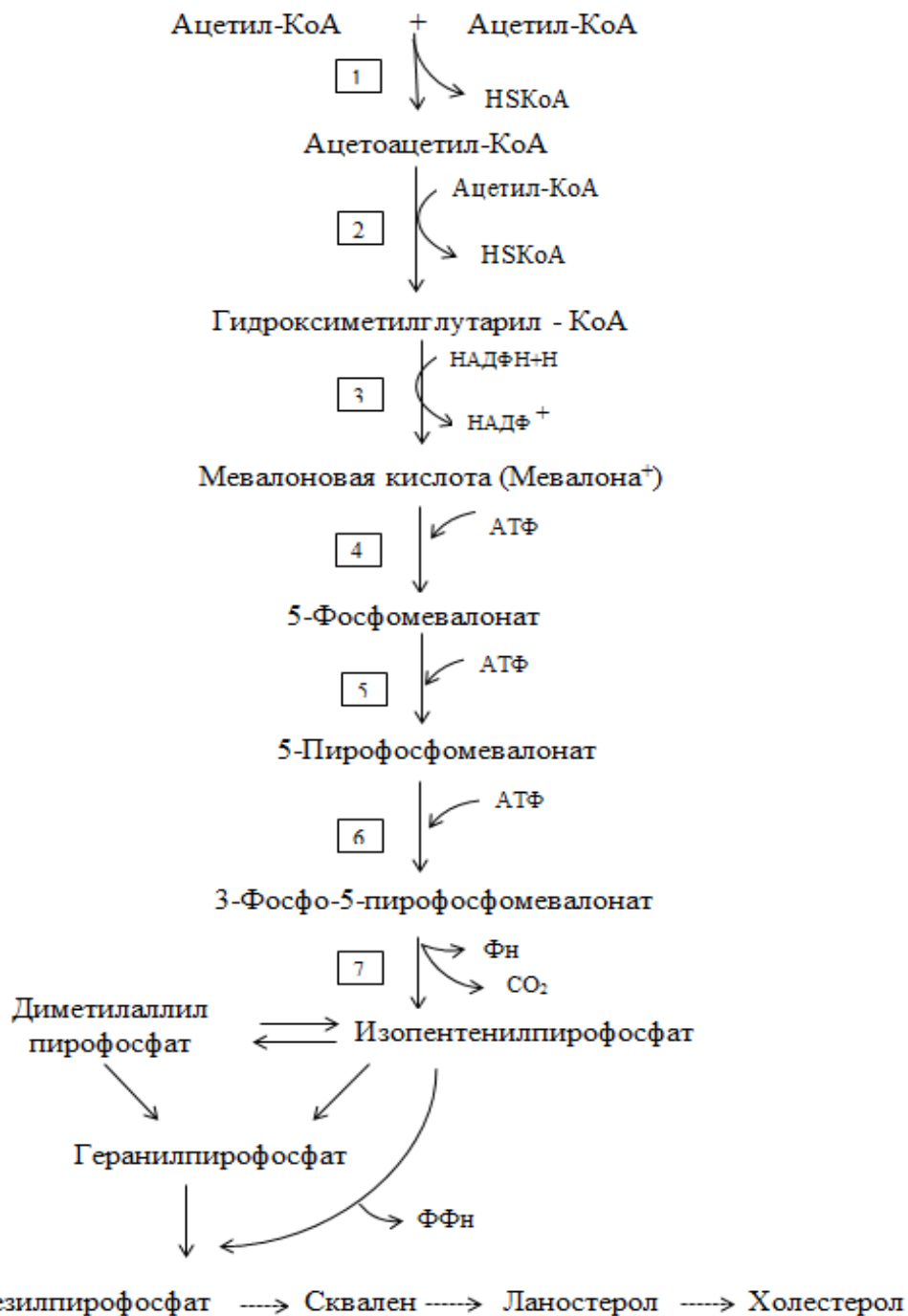
стерола на ТАГ, содержащиеся в ЛПОНП и ЛППП при участии специфического белка, переносящего эфиры холестерина между липопротеинами. При этом ЛПВП<sub>3</sub> превращаются в ЛПВП<sub>2</sub>, размер которых увеличивается за счет накопления ТАГ. ЛПОНП и ЛППП под действием ЛП-липазы превращаются в ЛПНП, которые в основном и доставляют ХС в печень. Небольшая часть ХС доставляется в печень ЛПВП<sub>2</sub> и ЛППП.

**Синтез холестерина** происходит в цитозоле клеток. Это один из самых длинных метаболических путей в организме человека. Он проходит в 3 этапа: первый заканчивается образованием мевалоновой кислоты, второй – образованием сквалена (углеводород линейной структуры, состоящий из 30 углеродных атомов). В ходе третьего этапа сквален превращается в молекулу ланостерола, далее происходит 20 последовательных реакций, превращающих ланостерол в холестерол (Рис. 23.2)

В некоторых тканях гидроксильная группа холестерина этерифицируется с образованием эфиров. Реакция катализируется внутриклеточным ферментом АХАТ (ацилКоА: холестеролацил-трансферазой). Реакция этерификации происходит также в крови в ЛПВП, где находится фермент ЛХАТ. Эфиры холестерина – форма, в которой он транспортируется кровью или депонируется в клетках. В крови около 75% ХС находится в виде эфиров.

**Регуляция синтеза холестерина** осуществляется путем влияния на активность и количество ключевого фермента процесса – 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктазы (ГМГ-КоА-редуктазы). Это достигается двумя способами:

1. Фосфорилирование/дефосфорилирование ГМГ-КоА-редуктазы. Инсулин стимулирует дефосфорилирование ГМГ-КоА-редуктазы, переводя её тем самым в активное состояние. Следовательно, в абсорбтивный период синтез ХС увеличивается. В этот период увеличивается и доступность исходного субстрата для синтеза – ацетил-КоА. Глюкагон оказывает противоположное действие: через протеинкиназу А стимулирует фосфорилирование ГМГ-КоА-редуктазы, переводя её в неактивное состояние. В результате синтез ХС в постабсорбтивном периоде и при голодании ингибируется.



**Рисунок 23.2. – Синтез холестерина**

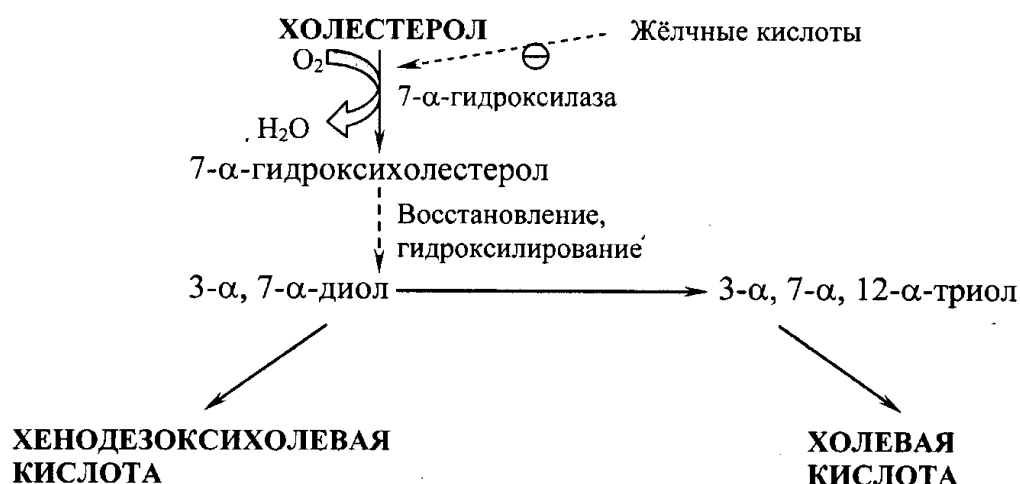
1 – тиолаза, 2 – ГМГ-КоА-синтаза, 3 – ГМГ-КоА-редуктаза, 4- мевалонаткиназа, 5 – фосфомевалонаткиназа, 6 – пирофосфомевалонаткиназа, 7 – 3-фосфо-5-пирофосфомевалонат декарбоксилаза

2. Ингибирование синтеза ГМГ-КоА-редуктазы. ХС (конечный продукт метаболического пути) снижает скорость транскрипции гена ГМГ-КоА-редуктазы, подавляя таким образом соб-



ственный синтез, аналогичный эффект вызывают и жёлчные кислоты.

**Синтез желчных кислот.** В печени из ХС синтезируется 500-700 мг жёлчных кислот в сутки. Их образование включает реакции введения гидроксильных групп при участии гидроксилаз и реакции частичного окисления боковой цепи ХС (Рис. 23.3):



**Рисунок 23.3. – Схема образования жёлчных кислот**

Первая реакция синтеза – образование 7-α-гидроксихолестерола – является регуляторной. Активность фермента, катализирующего эту реакцию, ингибируется конечным продуктом пути – жёлчными кислотами. Еще одним механизмом регуляции является фосфорилирование/дефосфорилирование фермента (активна фосфорилированная форма 7-α-гидроксилазы). Возможна и регуляция путем изменения количества фермента: ХС индуцирует транскрипцию гена 7-α-гидроксилазы, а жёлчные кислоты репрессируют. Тиреоидные гормоны индуцируют синтез 7-α-гидроксилазы, а эстрогены – репрессируют. Такое влияние эстрогенов на синтез жёлчных кислот объясняет, почему желчнокаменная болезнь встречается у женщин в 3-4 раза чаще, чем у мужчин.

Образовавшиеся из ХС холевую и хенодезоксихолевую кислоты называют «первичными жёлчными кислотами». Основная масса этих кислот подвергается конъюгации – присоединению

молекул глицина или таурина к карбоксильной группе жёлчной кислоты. Конъюгация начинается с образования активной формы желчных кислот – производных КоА, затем присоединяются таурин или глицин, и в результате образуется 4 варианта конъюгатов: таурохолевая и таурохенодезоксихолевая, гликохолевая и гликохенодезоксихолевая кислоты. Они являются значительно более сильными эмульгаторами, чем исходные жёлчные кислоты. Конъюгатов с глицином образуется в 3 раза больше, чем с таурином, так как количество таурина в организме ограничено. В кишечнике небольшое количество конъюгатов первичных жёлчных кислот под действием ферментов бактерий превращаются во вторичные жёлчные кислоты. Дезоксихолевая кислота, образующаяся из холевой, и литохолевая, образующаяся из дезоксихолевой, хуже растворимы и медленнее всасываются в кишечнике.

Около 95% жёлчных кислот, попавших в кишечник, возвращаются в печень через воротную вену, затем опять секретятся в жёлчь и повторно используются в эмульгировании жиров. Этот путь жёлчных кислот называется **энтерогепатической циркуляцией**. С фекалиями в основном удаляются вторичные жёлчные кислоты.

**Желчнокаменная болезнь (ЖКБ)** – патологический процесс, при котором в жёлчном пузыре образуются камни, основу которых составляет ХС.

Выделение ХС в жёлчь должно сопровождаться пропорциональным выделением жёлчных кислот и фосфолипидов, удерживающих гидрофобные молекулы ХС в мицеллярном состоянии. Причинами, приводящими к изменению соотношения жёлчных кислот и ХС в жёлчи являются: пища, богатая ХС, высококалорийное питание, застой жёлчи в жёлчном пузыре, нарушение энтерогепатической циркуляции, нарушения синтеза жёлчных кислот, инфекции жёлчного пузыря.

У большинства больных ЖКБ синтез ХС увеличен, а синтез жёлчных кислот из него замедлен, что приводит к диспропорции количества ХС и жёлчных кислот, секретлируемых в жёлчь. В итоге ХС начинает осаждаться в жёлчном пузыре, образуя вязкий осадок, который постепенно затвердевает. Иногда он пропитывается билирубином, белками и солями кальция. Камни могут со-

стоять только из ХС (холестериновые камни) или из смеси ХС, билирубина, белков и кальция. Холестериновые камни обычно белого цвета, а смешанные – коричневые разных оттенков.

В начальной стадии образования камней можно применять в качестве лекарства хенодезоксихолевую кислоту. Попадая в жёлчный пузырь, она постепенно растворяет холестериновые камни, однако это медленный процесс, длящийся несколько месяцев.

### **Биохимия атеросклероза**

Атеросклероз – это патология, характеризующаяся появлением атерогенных бляшек на внутренней поверхности сосудистой стенки. Одна из основных причин развития такой патологии – нарушение баланса между поступлением холестерина с пищей, его синтезом и выведением из организма. У пациентов, страдающих атеросклерозом, повышены концентрации ЛПНП и ЛПОНП. Существует обратная зависимость между концентрацией ЛПВП и вероятностью развития атеросклероза. Это согласуется с представлениями о функционировании ЛПНП как переносчиков ХС в ткани, а ЛПВП – из тканей.

Базовой метаболической «предпосылкой» развития атеросклероза является гиперхолестеролемиа (повышенное содержание холестерина в крови). Гиперхолестеролемиа развивается:

- вследствие избыточного поступления ХС, углеводов и жиров;
- генетической предрасположенности, заключающейся в наследственных дефектах структуры рецепторов ЛПНП или апоВ-100, а также в повышенном синтезе или секреции апоВ-100 (в случае семейной комбинированной гиперлипидемии, при которой в крови повышены концентрации и ХС и ТАГ).

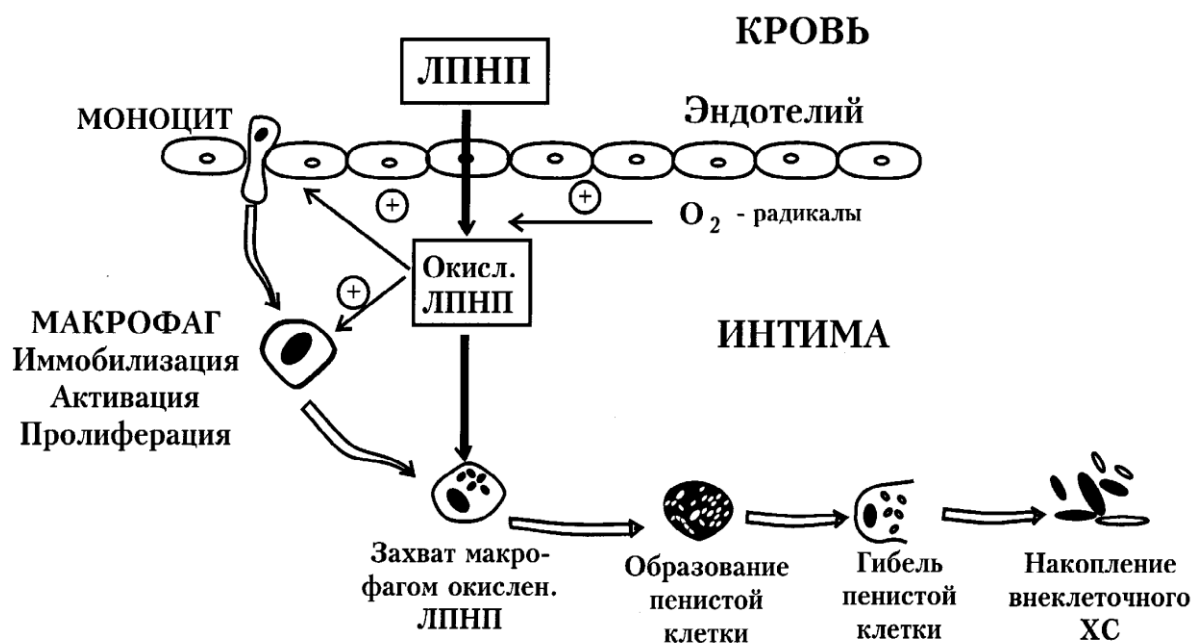
Важную роль в механизмах развития атеросклероза играет модифицирование ЛП. Изменение нормальной структуры липидов и белков в составе ЛПНП делает их чужеродными для организма и поэтому более доступными для захвата фагоцитами. Модифицирование ЛП может происходить по нескольким механизмам:

- гликозилирование белков, происходящее при увеличении кон-

центрации глюкозы в крови;

- перекисная модификация, приводящая к изменениям липидов в липопротеинах и структуры апоВ-100;
- формирование аутоиммунных комплексов ЛП-антитело (изменённые ЛП могут становиться причиной образования аутоантител).

Модифицированные ЛПНП поглощаются макрофагами. Этот процесс не регулируется количеством поглощенного ХС, как в случае его поступления в клетки через специфические рецепторы, поэтому макрофаги перегружаются ХС и превращаются в «пенистые клетки», которые проникают в субэндотелиальное пространство (Рис. 23.3). Это приводит к формированию липидных пятен или полосок в стенке кровеносных сосудов.



*Рисунок 23.4. – Механизм развития атеросклероза*

На этой стадии эндотелий сосудов может сохранять свою структуру. При увеличении количества пенистых клеток происходит повреждение эндотелия. Повреждение способствует активации тромбоцитов. В результате они секретируют тромбоксан, который стимулирует агрегацию тромбоцитов, а также начинают продуцировать тромбоцитарный фактор роста, стимулирующий пролиферацию гладкомышечных клеток. Последние мигрируют из медиального во внутренний слой артериальной стенки, спо-

собствуя таким образом росту бляшки. Далее происходит прорастание бляшки фиброзной тканью, клетки под фиброзной оболочкой некротизируются, а ХС откладывается в межклеточном пространстве (Рис. 23.5). На последних стадиях развития бляшка пропитывается солями кальция и становится очень плотной. В области бляшки часто образуются тромбы, перекрывающие просвет сосуда, что приводит к острому нарушению кровообращения в соответствующем участке ткани и развитию инфаркта.



*Рисунок 23.5. – Этапы развития атеросклероза*

**Биохимические основы лечения атеросклероза.** Важным лечебным фактором, снижающим риск развития гиперхолестеролемии и атеросклероза, является гипокалорийная и гипохолестериновая диета. Поступление ХС с пищей не должно превышать 300 мг/сут. К лечебным и профилактическим факторам относят обогащение пищи полиеновыми жирными кислотами, уменьшающими риск тромбообразования и способствующими выведению ХС из организма. Витамины С, Е, А, обладающие антиоксидантными свойствами, ингибируют ПОЛ, поддерживая тем самым нормальную структуру ЛПНП и их метаболизм.

Меры по коррекции диеты недостаточны при лечении вы-

раженной гиперхолестеролемии и атеросклерозе. В этом случае лечение, как правило, комплексное. Один из принципов лечения – размыкание цикла энтерогепатической циркуляции жёлчных кислот. Для этого используют лекарства типа холистерамина – полимера, который в кишечнике адсорбирует жёлчные кислоты и выводится с фекалиями, уменьшая, таким образом, возврат жёлчных кислот в печень. В печени при этом увеличивается захват ХС из крови для синтеза новых жёлчных кислот.

Наиболее эффективные препараты, применяемые при лечении атеросклероза, – ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы. Такие препараты могут практически полностью подавить синтез собственного ХС в организме. В этих условиях печень также увеличивает захват ХС из крови.

Лекарственные препараты – фибраты – ускоряют катаболизм ЛПОНП, активируя ЛП-липазу. Эти препараты усиливают также окисление жирных кислот в печени, уменьшая тем самым синтез ТАГ и эфиров холестерина и, как следствие, секрецию ЛПОНП печенью. Клофибрат индуцирует синтез ферментов пероксисом, способных окислять жирные кислоты. Фибраты обычно применяют при сочетании гипертриглицеролемии и гиперхолестеролемии. Для эффективного лечения атеросклероза применяют, как правило, комбинированное воздействие нескольких лекарственных препаратов.

## ГЛАВА 24

### ГОРМОНЫ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ

**Гормоны** (от греческого *hormao* – побуждаю) – это биологически активные вещества, которые выделяются эндокринными клетками в кровь или лимфу и регулируют в клетках-мишенях биохимические и физиологические процессы.

В настоящее время предложено расширить определение гормонов: **гормоны – это специализированные межклеточные регуляторы рецепторного действия.**

В этом определении слова «специализированные регуляторы» подчеркивают, что регуляторная – главная функция гормонов; слово «межклеточные» означает, что гормоны вырабатываются одними клетками и извне действуют на другие клетки; рецепторное действие – первый этап в эффектах любого гормона.

**Роль гормонов.** Гормоны регулируют многие жизненные процессы – метаболизма, функции клеток и органов, матричные синтезы (транскрипцию, трансляцию) и другие процессы, определяемые геномом (пролиферацию, рост, дифференцировку, адаптацию, клеточный шок, апоптоз и др.)

Эндокринная система функционирует в тесной взаимосвязи с нервной системой как нейроэндокринная (рис. 24.1).

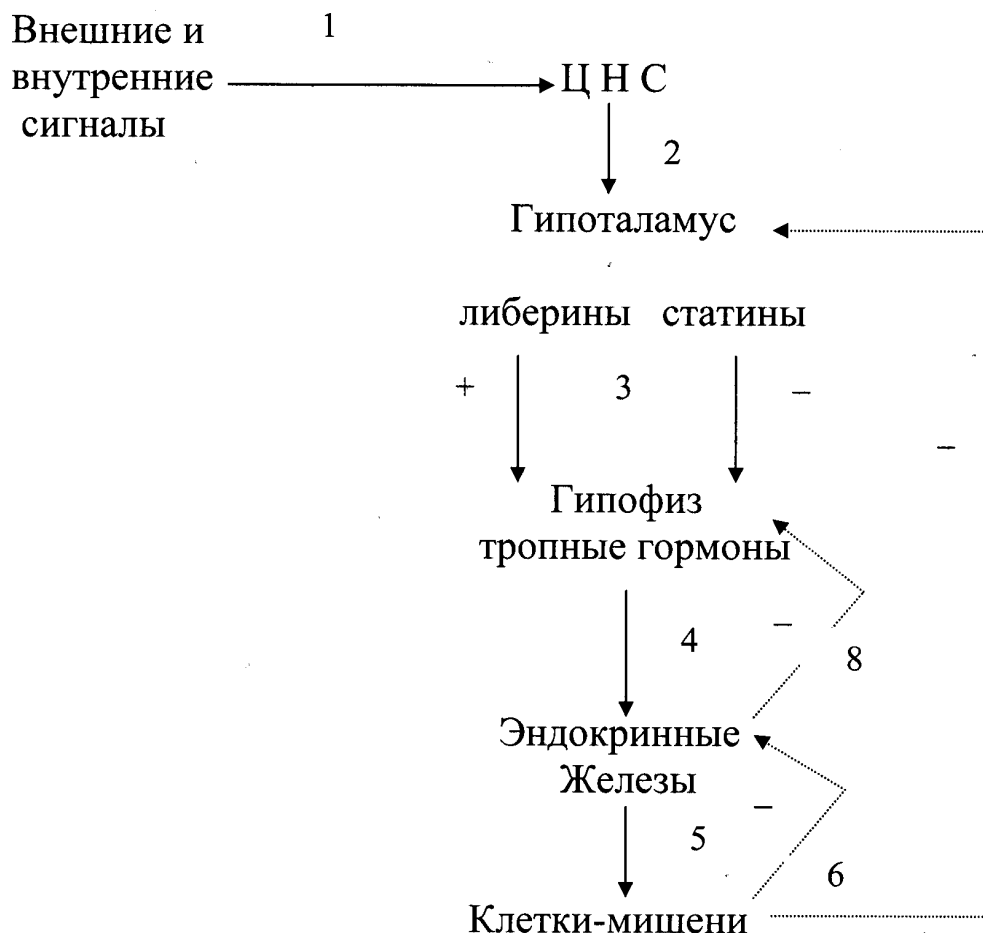
1. Синтез и секреция гормонов стимулируются внешними и внутренними сигналами, поступающими в ЦНС.

2 – 3. Эти сигналы по нейронам поступают в гипоталамус, где стимулируют синтез пептидных релизинг-гормонов (либеринов и статинов), которые стимулируют или ингибируют синтез и секрецию гормонов передней доли гипофиза.

4 – 5. Гормоны передней доли гипофиза (тропные гормоны) стимулируют образование и секрецию гормонов периферических эндокринных желез, которые поступают в кровь и взаимодействуют с клетками-мишенями.

Уровень гормонов в крови поддерживается благодаря механизмам саморегуляции (регуляция по принципу обратной связи). Изменение концентрации метаболитов в клетках-мишенях модулирует синтез гормонов в эндокринной железе или в гипоталамусе.

се (6, 7). Синтез и секреция тропных гормонов подавляется гормонами эндокринных желез (8).



*Рисунок 24.1. – Схема взаимосвязи регуляторных систем организма*

### Классификация гормонов

Гормоны классифицируются по химическому строению, биологическим функциям, месту образования и механизму действия.

**Классификация по химическому строению** (табл. 24.1).

По химическому строению гормоны делят:

- на пептидные или белковые;
- на производные аминокислот;
- на стероидные;
- на производные арахидоновой кислоты – эйкозаноиды.



Таблица 24.1. – Классификация гормонов по химическому строению

Пептидные (белковые)	Производные аминокислот	Стероиды
Кортикотропин Соматотропин Тиреотропин Пролактин Лютропин Лютеинизирующий гормон Фолликулостимули- рующий гормон Меланоцитстимули- рующий гормон Вазопрессин Окситоцин Паратгормон Кальцитонин Инсулин Глюкагон	Адреналин  Норадреналин  Трийодтиронин (Т <sub>3</sub> ) Тироксин (Т <sub>4</sub> )	Глюкокортикоиды  Минералокорти- коиды Андрогены Эстрогены Прогестины Кальцитриол

Клетки некоторых органов, не относящихся к железам внутренней секреции (клетки ЖКТ, клетки почек, эндотелия и др.), также выделяют гормоноподобные вещества (эйкозаноиды), которые действуют в местах их образования.

### **Классификация гормонов по биологическим функциям**

По биологическим функциям гормоны можно разделить на несколько групп (табл. 24.2).

Эта классификация условна, поскольку одни и те же гормоны могут выполнять разные функции. Например, адреналин участвует в регуляции обмена липидов и углеводов и, кроме этого, регулирует артериальное давление, частоту сердечных сокращений, сокращение гладких мышц. Эстрогены регулируют не только репродуктивную функцию, но и оказывают влияние на обмен липидов, индуцируют синтез факторов свертывания крови.

### **Классификация по месту образования**

По месту образования гормоны делятся на гормоны гипоталамуса, гипофиза, щитовидной железы, паращитовидных желез, поджелудочной железы, надпочечников, половых желез.

Таблица 24.2. – Классификация гормонов по биологическим функциям

Регулируемые процессы	Гормоны
Обмен углеводов, липидов, аминокислот	Инсулин, глюкагон, адреналин, кортизол, тироксин, соматотропин
Водно-солевой обмен	Альдостерон, вазопрессин.
Обмен кальция и фосфатов	Паратгормон, кальцитонин, кальцитриол
Репродуктивная функция	Эстрогены, андрогены, гонадотропные гормоны
Синтез и секреция гормонов эндокринных желез	Тропные гормоны гипофиза, либерины и статины гипоталамуса

### Классификация по механизму действия

По механизму действия гормоны можно разделить на 3 группы:

1. Гормоны, не проникающие в клетку и взаимодействующие с мембранными рецепторами (пептидные, белковые гормоны, адреналин). Сигнал передается внутрь клетки с помощью внутриклеточных посредников (вторичные мессенджеры). Основным конечным эффектом – **изменение активности ферментов.**

2. Гормоны, проникающие в клетку (стероидные гормоны, тиреоидные гормоны). Их рецепторы находятся внутри клеток. Основным конечным эффектом – **изменение количества белков-ферментов через экспрессию генов.**

3. Гормоны мембранного действия (инсулин, тиреоидные гормоны). Гормон является аллостерическим эффектором транспортных систем мембран. Связывание гормона с мембранным рецептором приводит к **изменению проводимости ионных каналов мембраны.**

### Основные свойства и особенности действия гормонов

**1. Высокая биологическая активность.** Гормоны регулируют метаболизм в очень малых концентрациях –  $10^{-8}$ - $10^{-11}$ М.

**2. Дистантность действия.** Гормоны синтезируются в эндокринных железах, а биологические эффекты оказывают в других тканях-мишенях.

**3. Обратимость действия.** Обеспечивается адекватным си-

туации дозированным освобождением и последующими механизмами инактивации гормонов. Время действия гормонов различно:

- пептидные гормоны: секунды – минуты;
- белковые гормоны: минуты – часы;
- стероидные гормоны: часы;
- йодтиронины: сутки.

#### **4. Специфичность биологического действия.**

**5. Плейотропность (многообразие) действия.** Например, катехоламины рассматривались как краткосрочные гормоны стресса. Затем было выявлено, что они участвуют в регуляции матричных синтезов и процессов, определяемых геномом: памяти, обучения, роста, деления, дифференциации клеток.

**6. Дуализм регуляций (двойственность).** Так, адреналин как суживает, так и расширяет сосуды. Йодтиронины в больших дозах увеличивают катаболизм белков, в малых – стимулируют анаболизм.

### **Рецепторы гормонов**

Биологическое действие гормонов проявляется через их взаимодействие с рецепторами клеток-мишеней. Клетки, наиболее чувствительные к влиянию определенного гормона, называют **клеткой-мишенью**. Специфичность гормонов по отношению к клеткам-мишеням обусловлена наличием у клеток специфических рецепторов, которые входят в состав плазматических мембран.

**Рецепторы** – это специфические структуры клетки, обладающие высоким сродством по отношению к одному определенному гормону.

Рецепторы по химической природе являются сложными белками (гликопротеинами). Рецепторы пептидных гормонов и адреналина располагаются на поверхности мембраны и содержат три домена. Первый домен расположен на внешней стороне клеточной мембраны, содержит гликозилированные участки и обеспечивает узнавание и связывание гормона. Второй домен – трансмембранный. Третий (цитоплазматический) домен создает химический сигнал в клетке.

Рецепторы стероидных и тиреоидных гормонов находятся внутри клетки (локализованы в цитозоле или в ядре клетки). Они содержат три функциональные области:

- домен узнавания и связывания гормона;
- домен связывания с ДНК;
- домен, отвечающий за связывание с другими белками, вместе с которыми участвует в регуляции транскрипции.

### **Механизм передачи гормональных сигналов через мембранные рецепторы**

Гормоны (первичные посредники) связываются с рецепторами на поверхности клеточной мембраны и образуют комплекс гормон-рецептор. Этот комплекс трансформирует сигнал первичного посредника путем изменения концентрации внутри клетки вторичных посредников. Вторичными посредниками являются: циклический АМФ (цАМФ), цГМФ, инозитолтрифосфат (ИФ<sub>3</sub>), диацилглицерол (ДАГ); Ca<sup>2+</sup>, NO (оксид азота II).

#### **1. Аденилатциклазная система**

Гормоны, взаимодействие которых с рецептором клетки-мишени приводит к образованию цАМФ, действуют через систему, включающую: белок-рецептор, G-белок и фермент аденилатциклазу.

Известно более 200 различных G-белков. В отсутствие гормона G-белок связан с ГДФ и неактивен. Образование комплекса гормон-рецептор приводит к конформационным изменениям G-белка, замене ГДФ на ГТФ и активации G-белка. Существуют G<sub>S</sub>-стимулирующий и G<sub>I</sub>-ингибирующий аденилатциклазу белки.

Последовательность событий, приводящих к изменению активности аденилатциклазы:

- связывание гормона с рецептором;
- комплекс гормон-рецептор взаимодействует с G-белком, изменяя его конформацию;
- вследствие изменения конформации G-белка происходит замена ГДФ на ГТФ;
- комплекс G<sub>S</sub>-белок • ГТФ активирует аденилатциклазу (комплекс G<sub>I</sub>-белок • ГТФ ингибирует аденилатциклазу);
- активация аденилатциклазы приводит к увеличению скорости образования цАМФ из АТФ.

Далее образовавшийся под действием аденилатциклазы

цАМФ активирует протеинкиназу А. Активированная протеинкиназа А фосфорилирует ферменты и другие белки, что сопровождается **изменением функциональной активности белков-ферментов** (активацией или ингибированием).

Протеинкиназа – это внутриклеточный фермент, который может существовать в двух формах. В отсутствие цАМФ протеинкиназа представлена тетрамером, состоящим из двух каталитических (2С) и двух регуляторных (2R) субъединиц (неактивный фермент). В присутствии цАМФ протеинкиназный комплекс обратимо диссоциирует на одну 2R-субъединицу и две свободные каталитические субъединицы С. Субъединицы С обладают ферментативной активностью.

## 2. Гуанилатциклазная система

Эта система, генерирующая цГМФ как вторичный посредник, сопряжена с гуанилатциклазой. Этот фермент катализирует реакцию образования цГМФ из ГТФ (подобно аденилатциклазе). Молекулы цГМФ могут активировать транспортные системы мембран клеток или активируют цГМФ-зависимую протеинкиназу G, которая участвует в фосфорилировании других белков в клетке.

Циклические нуклеотиды запускают каскады реакций аденилатциклазного или гуанилатциклазного механизмов регуляции активности ферментов. Одна молекула гормона, активирующая рецептор, может «включать» несколько G-белков. Каждый из них, в свою очередь, активирует несколько молекул аденилатциклазы с образованием тысяч молекул цАМФ или цГМФ. Образующийся вторичный посредник усиливает сигнал в тысячу раз. Суммарное усиление сигнала равно  $10^6 - 10^7$  раз.

Снятие гормонального сигнала достигается уменьшением концентрации вторичного посредника. Реакции превращения цАМФ или цГМФ в неактивные метаболиты АМФ или ГМФ катализируют ферменты фосфодиэстеразы.

## 3. Оксид азота (NO)

Оксид азота образуется из аминокислоты аргинина при участии сложной  $Ca^{2+}$ -зависимой ферментной системы (NO-синтазы), которая присутствует в нервной ткани, эндотелии сосудов, тромбоцитах и других тканях. В клетках-мишенях NO взаимодействует

гуанилатциклазой и способствует быстрому образованию цГМФ. Образовавшийся цГМФ вызывает расслабление гладкой мускулатуры сосудов. Действие NO кратковременно, и составляет несколько секунд. Подобный эффект, но более длительный, оказывает нитроглицерин, который медленнее освобождает NO.

#### **4. Ca<sup>2+</sup> - мессенджерная система**

Ионам Ca<sup>2+</sup> принадлежит центральная роль в регуляции многих клеточных функций: регуляция метаболизма, сократительная и секреторная активность, адгезия и клеточный рост. Содержание ионов Ca<sup>2+</sup> в клетке в 5000-10000 раз ниже, чем во внеклеточной жидкости, и этот Ca<sup>2+</sup> связан с митохондриями или эндоплазматическим ретикулумом. Гормональный сигнал приводит к резкому повышению концентрации Ca<sup>2+</sup>, поступающего через мембраны из внеклеточной жидкости или из внутриклеточных источников (митохондрии и ЭПР). Ca<sup>2+</sup> связывается с внутриклеточным регуляторным белком кальмодулином, имеющим 4 центра для связывания Ca<sup>2+</sup>. Комплекс Ca<sup>2+</sup>-кальмодулин, активирует специфическую Ca<sup>2+</sup>-кальмодулинзависимую протеинкиназу, которая фосфорилирует ферменты и регулирует их активность. Отмена эффектов, опосредованных ионами Ca<sup>2+</sup>, осуществляется с помощью кальцийсвязывающих белков типа кальциневрина.

#### **5. Инозитолтрифосфатная система**

Функционирование инозитолтрифосфатной системы передачи гормонального сигнала обеспечивают: рецептор, фосфолипаза C, белки и ферменты мембран и цитозоля:

связывание гормона с рецептором приводит к активации фосфолипазы C;

фосфолипаза C катализирует расщепление мембранного фосфатидинозитол-4,5-бифосфата на два вторичных посредника – диацилглицерол и инозитолтрифосфат (ИФ<sub>3</sub>);

ИФ<sub>3</sub> усиливает поступление Ca<sup>2+</sup> в цитозоль и обеспечивает его регуляторные эффекты (см. главу 4);

диацилглицерол активирует протеинкиназу C;

конечный эффект обоих посредников – фосфорилирование внутриклеточных белков и ферментов и **изменение их активности.**

## **Механизм передачи гормонального сигнала через внутриклеточные рецепторы**

Передача сигнала гормонов с липофильными свойствами (стероидные гормоны) и тироксина возможна при прохождении их через плазматическую мембрану клеток-мишеней. Рецепторы гормонов находятся в цитозоле или ядре. Ядерные и цитозольные рецепторы содержат ДНК – связывающий домен.

**Последовательность** событий, приводящих к активации транскрипции:

- проникновение гормона через липидный бислой мембраны в клетку;

- образуется комплекс гормон-рецептор, который перемещается в ядро клетки и взаимодействует с регуляторным участком: ДНК-энхансером или сайленсером;

- при взаимодействии с энхансером увеличивается (при взаимодействии с сайленсером – уменьшается) доступность промотора для РНК-полимеразы;

- соответственно, увеличивается (уменьшается) скорость транскрипции структурных генов и скорость трансляции;

- **изменяется количество белков** (в том числе ферментов), которые влияют на метаболизм и функциональное состояние клетки.

Эффекты гормонов, которые передают сигнал посредством внутриклеточных рецепторов, реализуются через определенный промежуток времени, так как на протекание матричных процессов (транскрипция и трансляция) требуется несколько часов.

## **Передача сигналов через рецепторы, сопряженные с ионными каналами**

Рецепторы, сопряженные с ионными каналами, являются интегральными мембранными белками, состоящими из нескольких субъединиц. Они действуют одновременно как ионные каналы и как рецепторы, которые способны специфически связывать с внешней стороны эффектор, изменяющий их **ионную проводимость**. Эффекторами такого типа могут быть гормоны (например, инсулин) и нейромедиаторы (ацетилхолин и др.).

## ГЛАВА 25

# ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ

### Гормоны гипоталамуса и гипофиза

ЦНС оказывает регулирующее действие на эндокринную систему через гипоталамус. В клетках нейронов гипоталамуса синтезируются пептидные гормоны двух типов. Одни через систему гипоталамо-гипофизарных сосудов поступают в переднюю долю гипофиза, где стимулируют (**либерины**) или ингибируют (**статины**) синтез тропных гормонов гипофиза. Другие (окситоцин, вазопрессин) поступают через аксоны нервных клеток в заднюю долю гипофиза, где они хранятся и секретируются в кровь в ответ на соответствующие сигналы. В настоящее время известно 7 либеринов и 3 статина.

Таблица 25.1. – Гормоны гипоталамуса и гипофиза

Либерины	Статины	Тропные гормоны гипофиза
Тиреолиберин	-	Тиреотропин
Кортиколиберин	-	Кортикотропин
Соматолиберин	Соматостатин	Соматотропин
Люлиберин	-	Лютропин
Фоллилиберин	-	Фоллитропин
Пролактолиберин	Пролактостатин	Пролактин
Меланолиберин	Меланостатин	Меланотропин

По химическому строению гормоны гипоталамуса являются низкомолекулярными пептидами. Они освобождают тропные гормоны гипофиза через аденилатциклазный механизм и быстро инактивируются в крови (время полужизни 2-4 мин). Синтез и секреция гормонов гипоталамуса подавляется гормонами эндокринных периферических желёз по принципу отрицательной обратной связи.



## Гормоны гипофиза

**В передней доле гипофиза (аденогипофизе)** синтезируются тропные гормоны, стимулирующие синтез и секрецию гормонов периферических эндокринных желёз. По химическому строению гормоны гипофиза являются пептидами или гликопротеинами.

**Кортикотропин** (АКТГ, адренкортикотропный гормон). Полипептид из 39 аминокислотных остатков. Стимулирует синтез и секрецию гормонов коры надпочечников путем активации превращения холестерина в прегненолон. Мишенями действия АКТГ являются также клетки жировой ткани (активация липолиза) и клетки нейрогипофиза (активация образования меланотропинов).

**Тиреотропин** (ТТГ, тиреотропный гормон). Гликопротеид, состоящий из двух субъединиц. Стимулирует синтез и секрецию йодтиронинов ( $T_3$  и  $T_4$ ) в щитовидной железе:

- ускоряет поглощение йода из крови;
- увеличивает включение йода в тиреоглобулин;
- ускоряет протеолиз тиреоглобулина, т. е. высвобождение  $T_3$  и  $T_4$  и их секрецию.

**Пролактин** (лактотропный гормон). Белок, состоящий из 199 аминокислотных остатков. Стимулирует развитие молочных желёз и лактацию, стимулирует секрецию желтого тела и материнский инстинкт. В жировой ткани пролактин активирует липогенез (синтез триацилглицеролов).

**Фоллитропин** (фоликулостимулирующий гормон) и **лютропин** (лютеинизирующий гормон) образуют группу гонадотропных гормонов. Оба гормона являются гликопротеинами, состоят из двух субъединиц. Фоллитропин регулирует созревание фолликулов у женщин и сперматогенез у мужчин. Лютропин стимулирует секрецию эстрогенов и прогестерона, созревание фолликула, овуляцию и образование желтого тела у женщин; стимулирует образование тестостерона и рост интерстициальных клеток в семенниках у мужчин.

**Соматотропин** (СТГ, соматотропный гормон) – гормон роста. Пептид, состоящий из 191 аминокислотного остатка. Единственный гормон, обладающий видовой специфичностью.

Рецепторы гормона роста находятся в плазматической мембране клеток печени, жировой ткани, скелетных мышцах, хрящевой ткани, мозге, легких, поджелудочной железе, кишечнике, сердце, почках.

Основное действие соматотропина – **ростстимулирующее**.

1. Регуляция **обмена белков** и процессов, связанных с ростом и развитием организма:

- стимулирование синтеза белка в костях, хрящах, мышцах и других внутренних органах;
- усиление транспорта аминокислот в клетки мышц;
- увеличение общего количества РНК, ДНК и общего количества клеток;
- увеличение ширины и толщины костей;
- ускорение роста соединительной ткани, мышц, внутренних органов.

2. Регуляция **обмена липидов**:

- усиление липолиза в жировой ткани;
- увеличение концентрации жирных кислот в крови;
- активация  $\beta$ -окисления в клетках (выделяющаяся энергия используется на анаболические процессы);
- увеличение содержания кетоновых тел в крови (при недостаточности инсулина).

3. Регуляция **обмена углеводов**:

- увеличение содержания гликогена в мышцах;
- активация глюконеогенеза в печени и повышение уровня глюкозы в крови (диабетогенный эффект).

Под влиянием различных факторов (стресс, физические упражнения, голодание, белковая пища) уровень гормона роста может возрастать даже у нерастущих взрослых людей.

**Гиперсекреция соматотропина** (при опухолях гипофиза):

- у детей и подростков – **гигантизм** – пропорциональное увеличение костей, мягких тканей и органов, высокий рост;
- у взрослых – **акромегалия** – диспропорциональное увеличение размеров лица, черепа, кистей рук, стоп, увеличение размеров внутренних органов;
- **соматотропный** диабет – в крови повышается концентрация глюкозы (гипергликемия).

**Гипосекреция соматотропина** (при врожденном недоразвитии гипофиза) – **наннизм** или **карликовость** – пропорциональное недоразвитие всего тела, низкий рост, отклонений в развитии психической деятельности не наблюдается.

**β-липотропин** содержит 93 аминокислотных остатка. Он является предшественником природных опиатов эндофинов. β-липотропин оказывает липолитическое действие.

**В промежуточной доле гипофиза** синтезируется **меланоцитстимулирующий** гормон. Этот гормон стимулирует биосинтез кожного пигмента меланина.

**В задней доле гипофиза** накапливаются в гранулах и секретуются в кровь вазопрессин и окситоцин. Это циклические пептиды, состоящие из девяти аминокислотных остатков.

**Вазопрессин** (АДГ, антидиуретический гормон) синтезируется в супраоптическом ядре гипоталамуса. Вазопрессин контролирует осмотическое давление плазмы крови и водный баланс организма человека. Основное биологическое действие гормона заключается в повышении реабсорбции воды в дистальных канальцах и собирательных трубочках почек (антидиуретическое действие). Кроме этого вазопрессин стимулирует сокращение гладких мышечных волокон сосудов и сужение просвета сосудов, что сопровождается повышением артериального давления. При недостатке вазопрессина развивается **несахарный диабет** – заболевание, характеризующееся выделением 4-10 л мочи низкой плотности в сутки (полиурия) и жаждой. В отличие от сахарного диабета отсутствует глюкозурия.

**Окситоцин** синтезируется в паравентрикулярном ядре гипоталамуса. Биологическое действие гормона:

– стимулирует сокращение гладких мышц матки (используется для стимуляции родов);

– усиливает синтез белка в молочной железе и секрецию молока (за счет сокращения мышечных волокон вокруг альвеол молочных желёз).

## **Гормоны щитовидной железы**

Основные гормоны щитовидной железы – **тироксин** (тетрайодтиронин,  $T_4$ ) и **трийодтиронин** ( $T_3$ ), которые являются йо-

дированными производными тирозина.

Биологическое действие.

Клетки-мишени йодтиронинов имеют 2 типа рецепторов:

– внутриклеточные рецепторы, связанные с ДНК; в отсутствие гормона они ингибируют экспрессию генов, с которыми они связаны; при связывании с гормоном они активируют транскрипцию;

– рецепторы, расположенные в плазматической мембране клеток.

Действие физиологических концентраций йодтиронинов:

### **1. Рост:**

– ускорение белкового синтеза в результате активации транскрипции в клетках-мишенях;

– стимуляция процессов роста (являются синергистами гормона роста) и клеточной дифференцировки;

– ускорение транскрипции гена гормона роста.

### **2. Основной обмен:**

– повышение основного обмена и потребления кислорода клетками во всех органах кроме мозга и гонад;

– повышение теплообразования при охлаждении организма за счет разобщения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования;

– активация АТФ-зависимых процессов; в частности, йодтиронины стимулируют работу  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, на что затрачивается около 50% энергии, накапливающейся в виде АТФ в процессе тканевого дыхания.

### **3. Центральная нервная система:**

– йодтиронины необходимы для структурного и функционального созревания мозга;

– усиления процессов возбуждения в коре больших полушарий;

### **4. Метаболизм:**

– ускорение в печени гликолиза, синтеза холестерина и желчных кислот;

– мобилизация гликогена в печени;

– увеличение потребления глюкозы в мышцах;

– стимуляция синтеза белков и увеличение мышечной

ткани;

- повышение чувствительности клеток печени, жировой и мышечной ткани к действию адреналина;
- стимуляция липолиза в жировой ткани.

### **Гиперфункция щитовидной железы**

**Диффузный токсический зоб** (Базедова болезнь, болезнь Грейвса) – наиболее распространенное заболевание щитовидной железы. Концентрация йодтиронинов увеличивается в 2-5 раз, развивается тиреотоксикоз.

Характерные признаки заболевания:

- увеличение размеров щитовидной железы (зоб);
- пучеглазие (экзофтальм);
- увеличение числа сердечных сокращений (тахикардия);
- увеличение основного обмена, усиленный распад тканевых белков, снижение массы тела (при повышенном аппетите);
- повышение температуры тела, потливость;
- повышенная возбудимость, тремор, высокая утомляемость;
- мышечная слабость.

Эти симптомы отражают стимуляцию высокими дозами йодтиронинов основного обмена, разобщения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, катаболизма углеводов, липидов и белков.

### **Гипофункция щитовидной железы**

– Гипотиреоз у новорожденных приводит к развитию **кретинизма**:

- необратимая задержка умственного развития;
- остановка роста;
- резкое снижение скорости обменных процессов.

Гипотиреоз у взрослых сопровождается развитием **микседемы**:

- слизистый отек кожи и подкожной клетчатки;
- снижение частоты сердечных сокращений (брадикардия);
- снижение основного обмена и как следствие – патологическое ожирение;
- снижение теплопродукции ( $t^{\circ}$  тела ниже  $36^{\circ}$ ), холодная и

сухая кожа; непереносимость холода;

– мозговые нарушения и психические расстройства.

При недостаточном поступлении йода в организм возникает **эндемический зоб** (нетоксический зоб). Происходит компенсаторное увеличение размеров щитовидной железы (гиперплазия), но продукция йодтиронинов при этом не увеличивается.

## ГОРМОНЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Поджелудочная железа является железой смешанной секреции. Эндокринная часть поджелудочной железы – совокупность островков Лангерганса (1-2% от всего объема железы). В островках различают несколько типов эндокринных клеток, синтезирующих и секретирующих в просвет капилляров инсулин ( $\beta$ -клетки), глюкагон ( $\alpha$ -клетки), соматостатин и панкреатический полипептид.

### Инсулин

#### Биологическое действие

Ткани организма по чувствительности к инсулину делятся на два типа:

1) **инсулинзависимые** – жировая, мышцы; в меньшей степени чувствительна к инсулину ткань печени;

2) **инсулиннезависимые** – нервная ткань, эритроциты, эпителий кишечника, почечные каналы, семенники.

Метаболические эффекты инсулина разнообразны – регуляция обмена углеводов, липидов и белков. В норме инсулин выделяется в кровь после приема пищи и ускоряет **анаболические процессы**: синтез белков и веществ, являющихся резервом энергии (гликоген, липиды). Это единственный гормон, снижающий концентрацию глюкозы в крови.

#### Влияние инсулина на углеводный обмен:

– увеличивает проницаемость клеточных мембран для глюкозы;

– индуцирует синтез глюкокиназы, тем самым ускоряет фосфорилирование глюкозы в клетке;

– повышает активность и количество ключевых ферментов гликолиза (фосфофруктокиназы, пируваткиназы);

– стимулирует синтез гликогена за счет активации гликогенсинтазы и уменьшает распад гликогена;

– ингибирует глюконеогенез, подавляя синтез ключевых ферментов глюконеогенеза;

– повышает активность пентозофосфатного пути.

Общий результат стимуляции этих процессов – снижение концентрации глюкозы в крови. Около 50% глюкозы используется в процессе гликолиза, 30-40% превращается в липиды и около 10% накапливается в форме гликогена.

#### **Влияние инсулина на метаболизм липидов:**

– ингибирует липолиз (распад триацилглицеролов) в жировой ткани и печени;

– стимулирует синтез триацилглицеролов в жировой ткани;

– активирует синтез жирных кислот;

– в печени ингибирует синтез кетонных тел.

#### **Влияние инсулина на метаболизм белков:**

– стимулирует транспорт аминокислот в клетки мышц, печени;

– активирует синтез белков в печени, мышцах, сердце и уменьшает их распад;

– стимулирует пролиферацию и число клеток в культуре и, вероятно, может участвовать в регуляции роста *in vivo*.

#### **Гипофункция поджелудочной железы**

При недостаточной секреции инсулина развивается **сахарный диабет**. Выделяют два типа сахарного диабета: инсулинзависимый (тип I) и инсулиннезависимый (тип II).

**Инсулинзависимый сахарный диабет** (у 10% пациентов) – заболевание, вызываемое разрушением  $\beta$ -клеток островков Лангерганса. Характеризуется абсолютным дефицитом инсулина.

**Инсулиннезависимый сахарный диабет** (у 90% пациентов) развивается чаще всего у тучных людей. Основная причина – снижение чувствительности рецепторов к инсулину, повышенная скорость катаболизма инсулина, нарушение регуляции секреции гормона. При этом уровень инсулина в крови – в норме. Факторы риска развития заболевания – генетическая предрасположенность, ожирение, гиподинамия, стресс.

Симптомы сахарного диабета: **гипергликемия** – повышение концентрации глюкозы в крови; **глюкозурия** – выведение глюкозы с мочой; **кетонемия** – повышение в крови концентрации кетоновых тел; **кетонурия** – выведение кетоновых тел с мочой; **полиурия** – возрастает суточный диурез (в среднем до 3-4 л).

Накопление кетоновых тел снижает буферную емкость крови, что приводит к **ацидозу**. Активируются катаболические процессы: распад белков, липидов, гликогена; повышается концентрация в крови аминокислот, жирных кислот, липопротеинов.

### **Гиперфункция поджелудочной железы**

**Инсулинома** – опухоль  $\beta$ -клеток островков Лангерганса, сопровождается повышенной выработкой инсулина, выраженной гипогликемией, судорогами, потерей сознания. При крайней степени гипогликемии может наступить смертельный исход. Устранить гиперинсулинизм можно введением глюкозы и гормонами, повышающими уровень глюкозы (глюкагон, адреналин).

### **Глюкагон**

**Глюкагон** – одноцепочечный полипептид, состоящий из 29 аминокислотных остатков. Синтезируется в  $\alpha$ -клетках островков Лангерганса, в нейроэндокринных клетках кишечника. Эффекты глюкагона в основном противоположны эффектам инсулина.

Основные клетки-мишени глюкагона – печень, жировая ткань, корковое вещество почек.

**В печени** гормон ускоряет мобилизацию гликогена, вызывает торможение гликолиза, стимулирует глюконеогенез, активирует синтез кетоновых тел. Глюкагон угнетает в печени синтез белков и облегчает их катаболизм. Образующиеся аминокислоты используются в синтезе глюкозы (глюконеогенез).

**В жировой ткани** глюкагон ускоряет мобилизацию триацилглицеролов, что приводит к повышению уровня жирных кислот и глицерола в крови.

**В корковом веществе почек** глюкагон активирует глюконеогенез.

Главный эффект – повышение содержания глюкозы в крови – обеспечивают два механизма: быстрый (распад гликогена) и медленный (глюконеогенез).



**Глюкагонома** – опухоль  $\alpha$ -клеток островков Лангерганса. Основной симптом – гипергликемия.

### **Регуляция обмена ионов кальция и фосфатов**

Кальций и фосфаты являются структурными компонентами костной ткани. Ионы кальция участвуют в свертывании крови, мышечном сокращении, проведении нервного импульса, влияют на работу ионных насосов, способствуют секреции гормонов, являются посредниками во внутриклеточной передаче гормональных сигналов.

Основными регуляторами обмена  $\text{Ca}^{2+}$  и P в крови являются паратгормон, кальцитонин и кальцитриол (производное витамина D).

**Паратгормон** – белок, состоящий из 84 аминокислотных остатков, синтезируется в паращитовидных железах. Секреция регулируется уровнем ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в крови: гормон секретруется в ответ на снижение концентрации ионизированного  $\text{Ca}^{2+}$  в плазме крови. Паратгормон **повышает уровень  $\text{Ca}^{2+}$  и снижает содержание P в крови**. Органы-мишени: кости, почки, кишечник.

Действие на **костную ткань** характеризуется тремя основными эффектами:

- торможение синтеза коллагена в активных остеобластах;
- активация остеолиза остеокластами;
- ускорение созревания клеток – предшественников остеобластов и остеокластов.

Следствие этих эффектов – мобилизация  $\text{Ca}^{2+}$  и P из кости в кровь.

Действие на **почки**: увеличение канальцевой реабсорбции  $\text{Ca}^{2+}$ , снижение реабсорбции P. Кроме того гормон повышает способность почечной ткани синтезировать активную форму витамина D – кальцитриол.

Действие на **кишечник**: усиливает всасывание  $\text{Ca}^{2+}$  и P (косвенное действие через образование кальцитриола в почках).

### **Гиперфункция паращитовидной железы (гиперпаратиреоз)**

Причины повышенного образования паратгормона – опухоли паращитовидных желез (80 %), диффузная гиперплазия

желез, в некоторых случаях – рак паращитовидной железы (2%).

Избыточная секреция паратгормона приводит к повышению мобилизации  $\text{Ca}^{2+}$  и P из костной ткани, усилению реабсорбции  $\text{Ca}^{2+}$  и выведению P в почках. Возникает гиперкальцемия, результатом которой являются:

– снижение нервно-мышечной возбудимости и мышечная гипотония (общая и мышечная слабость, быстрая утомляемость, боли в отдельных группах мышц);

– остеопороз, увеличение риска переломов позвоночника, бедренных костей и костей предплечья;

– кальциноз сосудов и нефрокальциноз (образование в почках камней).

### **Гипофункция паращитовидных желез (гипопаратиреоз)**

Основной симптом гипопаратиреоза, обусловленный недостаточностью паращитовидных желез, – гипокальциемия. В результате этого повышается нервно-мышечная возбудимость, что проявляется приступами тонических судорог, спазмофилией (судороги дыхательных мышц). Могут возникать неврологические нарушения и нарушения сердечно-сосудистой системы.

**Кальцитонин** – полипептид, состоящий из 32 аминокислотных остатка. Синтезируется в парафолликулярных клетках щитовидной железы или в клетках паращитовидных желез. Секреция кальцитонина возрастает при увеличении концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  и уменьшается при понижении концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в крови.

Кальцитонин – антагонист паратгормона. Органы-мишени: кости, почки, кишечник. Эффекты кальцитонина:

– ингибирует высвобождение  $\text{Ca}^{2+}$  из кости, снижая активность остеокластов;

– способствует поступлению фосфата в клетки костей;

– стимулирует экскрецию  $\text{Ca}^{2+}$  почками с мочой.

Скорость секреции кальцитонина у женщин зависит от уровня эстрогенов. При недостатке эстрогенов секреция кальцитонина снижается, что приводит к развитию остеопороза.

**Кальцитриол** (1,25-дигидроксиголекальциферол) – стероидный гормон, синтезируется в почках из малоактивного предшественника 25-гидроксиголекальциферола. Органы-мишени: кишечник, кости, почки. Эффекты кальцитриола:

- способствует всасыванию  $\text{Ca}^{2+}$  в **кишечнике**, стимулируя синтез кальцийсвязывающего белка;
  - в **костях** стимулирует разрушение старых клеток остеокластами и активирует захват  $\text{Ca}^{2+}$  молодыми костными клетками;
  - увеличивает реабсорбцию  $\text{Ca}^{2+}$  и P в **почках**.
- Конечный эффект – **повышение уровня  $\text{Ca}^{2+}$  в крови**.

## **ГОРМОНЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ**

### **Гормоны мозгового вещества надпочечников**

В мозговом веществе надпочечников в хромоаффинных клетках синтезируются **катехоламины** – дофамин, адреналин и норадреналин. Непосредственным предшественником катехоламинов является тирозин. Норадреналин образуется также в нервных окончаниях симпатической нервной ткани (80% от общего количества). Катехоламины запасаются в гранулах клеток мозгового слоя надпочечников. Повышенная секреция адреналина происходит при стрессе и понижении концентрации глюкозы в крови.

Адреналин является преимущественно гормоном, норадреналин и дофамин – медиаторами симпатического звена вегетативной нервной системы.

### **Биологическое действие**

Биологические эффекты адреналина и норадреналина затрагивают практически все функции организма и заключаются в стимуляции процессов, необходимых для противостояния организма чрезвычайным ситуациям. Адреналин выделяется из клеток мозгового вещества надпочечников в ответ на сигналы нервной системы, идущие из мозга при возникновении экстремальных ситуаций (например, борьба или бегство), требующих активной мышечной деятельности. Он должен мгновенно обеспечить мышцы и мозг источником энергии. Органы-мишени – мышцы, печень, жировая ткань и сердечно-сосудистая система.

В клетках-мишенях имеется два типа рецепторов, от которых зависит эффект адреналина. Связывание адреналина с  $\beta$ -адренорецепторами активирует аденилатциклазу и вызывает изменения в обмене, характерные для цАМФ. Связывание гормона с  $\alpha$ -адренорецепторами стимулирует гуанилатциклазный путь

передачи сигнала.

**В печени** адреналин активирует распад гликогена, в результате чего резко повышается концентрация глюкозы в крови (гипергликемический эффект). Глюкоза используется тканями (в основном мозгом и мышцами) в качестве источника энергии.

**В мышцах** адреналин стимулирует мобилизацию гликогена с образованием глюкозо-6-фосфата и распад глюкозо-6-фосфата до молочной кислоты с образованием АТФ.

**В жировой ткани** гормон стимулирует мобилизацию триацилглицеролов. В крови повышается концентрация свободных жирных кислот, холестерина и фосфолипидов. Для мышц, сердца, почек, печени жирные кислоты являются важным источником энергии.

Таким образом, адреналин оказывает **катаболическое** действие.

Адреналин действует на **сердечно-сосудистую систему**, повышая силу и частоту сердечных сокращений, артериальное давление, расширяя мелкие артериолы.

### **Гиперфункция мозгового вещества надпочечников**

Основная патология – **феохромочитома**, опухоль, образованная хромаффинными клетками и продуцирующая катехоламины. Клинически феохромоцитома проявляется повторяющимися приступами головной боли, сердцебиения, повышенного артериального давления. Характерные изменения метаболизма:

- содержание адреналина в крови может превышать норму в 500 раз;
- возрастает концентрация глюкозы и жирных кислот в крови;
- в моче определяется глюкоза, адреналин.

### **Гормоны коры надпочечников (кортикостероиды)**

В коре надпочечников синтезируются более 40 различных стероидов, различающихся по структуре и биологической активности. Биологически активные кортикостероиды объединяются в 3 основных класса:

- **глюкокортикоиды**, оказывающие влияние на обмен углеводов, жиров, белков и нуклеиновых кислот;

- **минералокортикоиды**, оказывающие влияние на водно-минеральный обмен;
- **половые гормоны** (андрогены и эстрогены).

### **Глюкокортикоиды**

Надпочечники человека скретируют глюкокортикоиды: **кортизол** (гидрокортизон), **кортизон** и **кортикостерон**.

Ткани-мишени: печень, почки, лимфоидная, соединительная и жировая ткани, мышцы.

Секреция глюкокортикоидов находится под контролем АКТГ. Скорость синтеза и секреции гормонов стимулируются в ответ на стресс, травму, инфекцию, понижение уровня глюкозы в крови.

### **Биологическое действие**

Влияние глюкокортикоидов на метаболизм связано с их способностью координированно воздействовать на разные ткани и разные процессы как **анаболические** (в печени), так и **катаболические** (в других тканях-мишенях).

#### **Влияние на углеводный обмен:**

- в печени стимулируют синтез гликогена и глюконеогенез (синтез глюкозы из аминокислот);
- в почках стимулируют глюконеогенез;
- в периферических тканях тормозят потребление глюкозы и гликолиз.

#### **Влияние на обмен липидов:**

- активируют синтез триацилглицеролов в печени;
- стимулируют распад жира на конечностях и отложение жира в других частях тела (лицо, туловище); при избытке глюкокортикоидов развивается «паукообразное» ожирение;
- образующийся при распаде жира глицерол используется в глюконеогенезе, а жирные кислоты – для синтеза кетоновых тел.

#### **Влияние на обмен белков и нуклеиновых кислот:**

- в печени глюкокортикоиды стимулируют синтез белков и нуклеиновых кислот;
- в мышцах, лимфоидной и жировой ткани, коже и костях тормозят синтез белков, РНК и ДНК, стимулируют распад РНК и

белков.

При **высокой концентрации** глюкокортикоиды оказывают следующие эффекты:

– в лимфоидной ткани подавляют иммунные реакции, вызывая гибель лимфоцитов и инволюцию лимфоидной ткани;

– уменьшают состояние сенсибилизации (повышенной чувствительности) к чужеродным веществам, препятствуют развитию последующих аллергических реакций;

– подавляют воспалительную реакцию, уменьшая число лейкоцитов и снижая синтез медиаторов воспаления (простагландинов и лейкотриенов);

– вызывают торможение роста и деления фибробластов, синтеза коллагена в соединительной ткани.

Глюкокортикоиды участвуют в физиологическом ответе на стресс, связанный с травмой, инфекцией или хирургическим вмешательством. В этом ответе в первую очередь участвуют катехоламины, и для проявления их максимальной активности необходимо участие глюкокортикоидов.

### Минералокортикоиды

**Альдостерон** – наиболее активный минералокортикоид. Синтез и секреция альдостерона клетками клубочковой зоны надпочечников стимулируются низкой концентрацией  $\text{Na}^+$  и высокой концентрацией  $\text{K}^+$  в плазме крови. На секрецию альдостерона влияют АКТГ и ренин-ангиотензиновая система.

Ткани-мишени: клетки эпителия дистальных канальцев почек, потовые и слюнные железы.

### Биологическое действие

Основной биологический эффект альдостерона – **увеличение реабсорбции  $\text{Na}^+$**  в тканях-мишенях и **возрастание экскреции  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$**  с мочой и потом. Этот эффект реализуется за счет индукции синтеза:

– белков-транспортёров  $\text{Na}^+$  из просвета канальца в эпителиальную клетку почечного канальца;

–  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, обеспечивающей удаление  $\text{Na}^+$  из клетки почечного канальца в межклеточное пространство и  $\text{K}^+$  –

в обратном направлении;

– белков-транспортёров  $K^+$  из клеток почечного канальца в первичную мочу;

– ферментов ЦТК, стимулирующих синтез молекул АТФ, необходимых для активного транспорта ионов.

### **Гиперфункция коры надпочечников**

**I. Гиперкортицизм** может быть следствием:

– повышенного уровня АКТГ при опухолях гипофиза – **болезнь Иценко-Кушинга**;

– избыточного синтеза кортизола при опухолях коры надпочечников – **синдром Иценко-Кушинга**.

Симптомы гиперкортицизма: «стероидный диабет» (гипергликемия, обусловленная стимуляцией глюконеогенеза; глюкозурия, кетонемия и кетонурия); усиление катаболизма белков и как следствие – атрофия подкожной соединительной ткани (истончение кожи) и уменьшение мышечной массы, остеопороз, инволюция лимфоидной ткани.

**II. Андрогенитальный синдром** развивается при врожденной гиперплазии надпочечников. Сопровождается гиперсекрецией андрогенов, что ведет к усилению роста тела, раннему половому созреванию у мальчиков и развитию мужских половых признаков у девочек.

**III. Гиперальдостеронизм (болезнь Конна)** сопровождается избыточной секрецией преимущественно альдостерона. Симптомы: отеки (вследствие задержки воды с ионами  $Na^+$ ), повышение кровяного давления, повышенная возбудимость миокарда (вследствие избыточного выведения  $K^+$  с мочой).

### **Гипофункция коры надпочечников**

**Гипокортицизм (болезнь Аддисона)** развивается в результате поражения коры надпочечников туберкулёзным или аутоиммунным процессом. Симптомы: снижение массы тела, общая слабость, тошнота, рвота, снижение артериального давления, характерная гиперпигментация кожи («бронзовая болезнь»).

# ГОРМОНЫ ПОЛОВЫХ ЖЕЛЁЗ

## Мужские половые гормоны

Мужские половые гормоны – **андрогены** (от греч. *andros* – мужской) – **тестостерон, дигидротестостерон, андростерон**. Синтезируются в клетках Лейдига семенников, предстательной железе, коре надпочечников. Небольшое количество андрогенов образуется у женщин в яичниках. Их предшественник – холестерол.

**Мишени андрогенов** – половые органы (предстательная железа, семенные пузырьки) и неполовые органы (мышцы, мозг, кости, почки, хрящи, гортань, кожа, жировая ткань).

### Биологическое действие

Физиологическое действие андрогенов различно в разные периоды жизни организма:

- **пренатальный период**: под действием андрогенов происходит дифференциация соматического пола (трансформация вольфовых протоков в семенные пузырьки и семявыносящие протоки; формирование наружных половых органов), маскулинизация мозга, половая дифференцировка гипоталамуса;

- **период полового созревания**: стимулируют развитие половых органов, добавочных половых желез (простаты, семенных пузырьков, придатков яичка); индукция сперматогенеза; приводят к скачкообразному увеличению линейных размеров тела, увеличению скелетных мышц, росту костей, но одновременно способствуют и остановке роста, так как стимулируют закрытие эпифизарных зон роста костей; андрогены вызывают изменение структуры кожи и волос (рост волос по мужскому типу), снижение тембра голоса вследствие утолщения голосовых связок и увеличения объема гортани, стимулируют секрецию сальных желез; действуя на мозг, андрогены вызывают формирование мужского типа сексуальной ориентации и мужской психики;

- **у взрослых мужчин**: андрогены обеспечивают сперматогенез и нормальную функцию половых органов; положительный азотистый баланс; ренотропный эффект (увеличение размеров, массы, кровоснабжения почек); активацию эритропоэза.

Андрогены обладают значительным **анаболическим** действием, выражающимся в стимуляции синтеза белка во всех тканях, особенно в мышцах.



## **Анаболические стероиды**

Анаболические стероиды – синтетические вещества, близкие по структуре к андрогенам, обладающие высокой анаболической и низкой андрогенной активностью. Действие анаболических стероидов проявляется в нарастании мышечной массы, ускорении роста, отложении фосфорно-кальциевых солей в костях. Эти соединения стимулируют синтез структурных белков и ферментов, активируют процессы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, способствуют накоплению энергии. Анаболики повышают содержание белка в плазме, стимулируют эритропоэз.

Основными показаниями к применению анаболических стероидов являются нарушения синтеза белков при кахексии, астении, после тяжелых травм, операций, ожогов; инфекционные и другие заболевания, сопровождающиеся потерей белка; остеопороз; для сращивания костей при переломах. Детям анаболические стероиды назначают короткими курсами, так как эти соединения ускоряют созревание скелета с возможным прекращением роста ребенка. Спортсмены используют анаболические стероиды для улучшения спортивных результатов, для быстрого наращивания мышечной массы (культуристы). Длительное применение анаболических стероидов может вызвать поражение печени, опухоли и проблемы с половой функцией.

### **Нарушение андрогенной функции**

При снижении синтеза тестостерона развивается **гипогонадизм**. Характерные признаки: недоразвитие половых органов и вторичных половых признаков, отсутствие полового влечения, позднее окостенение эпифизарных зон роста костей (длинные конечности, высокий рост), атрофия скелетной мускулатуры, чрезмерное отложение жира в подкожной клетчатке и внутренних органах.

Повышенный синтез андрогенов в период полового созревания может привести к раннему заращиванию эпифизарных зон роста, что приводит к остановке роста.

## Женские половые гормоны

К ним относят **эстрогены** (C<sub>18</sub>-стероиды) и **прогестины** (C<sub>21</sub>-стероиды). Эстрогены образуются путем ароматизации андрогенов. В яичниках из тестостерона образуется **эстрадиол**; в коре надпочечников из андростендиона синтезируется **эстрон**; в печени и плаценте эстрон может превращаться в **эстриол**.

Наиболее активный прогестин – **прогестерон** – синтезируется в яичниках, семенниках и надпочечниках. У женщин в лютеиновую фазу менструального цикла желтое тело секретирует основное количество прогестерона. Во время беременности прогестерон секретирует фетоплацентарным комплексом.

Эстрадиол в небольших количествах синтезируется в организме мужчин в результате метаболизма тестостерона в печени, жировой ткани и в яичках.

**Мишени женских половых гормонов:** половые органы (тело матки, маточные трубы, яичники, влагалище, молочные железы) и неполовые органы (мозг, кости, хрящи, гортань, кожа, почки, жировая ткань).

### Биологическое действие на половые органы

Женские половые гормоны ответственны за формирование вторичных половых признаков во время полового созревания и поддерживают функции женской репродуктивной системы. Эстрогены стимулируют развитие тканей, участвующих в размножении:

- в матке увеличивают рост миометрия и пролиферацию эндометрия, повышают ее тонус;
- во влагалище увеличивают число слоев клеток и ороговение эпителия;
- вызывают рост эпителия и мышечной ткани маточных труб;
- в молочных железах вызывают пролиферацию молочных протоков.

### Действие на неполовые органы

Действуя на **мозг**, эстрогены обеспечивают формирование полового инстинкта и психического статуса женщины.

Эстрогены оказывают **анаболическое действие** (стимули-

руют синтез белка в тканях-мишенях) и обеспечивают положительный азотистый баланс.

**В эпифизах костей** эстрогены обеспечивают синтез коллагена и отложение кальция и фосфора у девочек. В период полового созревания способствуют окостенению эпифизарных зон роста костей, формированию характерного «женского» скелета, развитию хрящей гортани и формированию женского тембра голоса. Обеспечивают рост волос по женскому типу.

**В печени** индуцируют синтез специфических белков:

- транспортных белков тиреоидных и половых гормонов;
- факторов свертывания крови (II, VII, IX и X) (при этом уменьшают концентрацию антитромбина III);
- липопротеинов высокой плотности (при этом тормозят образование липопротеинов низкой плотности), что приводит к снижению содержания холестерина в крови; в связи с этим у женщин реже, чем у мужчин, развивается атеросклероз.

**Прогестерон** действует только в период функционирования желтого тела. Он обеспечивает:

- торможение сокращений матки и маточных труб;
- подготовку стимулированного эстрогенами эндометрия к имплантации оплодотворенной яйцеклетки;
- лактацию;
- снижает сексуальное влечение.

Прогестерон может оказывать действие и на ЦНС, вызывая особенности поведения в предменструальный период.

### **Нарушения гормональных функций яичников**

Дефицит эстрогенов до периода полового созревания приводит к задержке развития первичных и вторичных половых признаков, задержке окостенения эпифизов (высокий рост), к нарушению половых циклов, к отрицательному азотистому балансу.

Дефицит прогестерона нарушает течение половых циклов, приводит к выкидышам.

## **ЭЙКОЗАНОИДЫ**

Эйкозаноиды – биологически активные вещества, синтезируемые большинством клеток из полиеновых жирных кислот, со-

державших 20 углеродных атомов («эйкоза» – по гречески означает 20).

Эйкозаноиды, включающие в себя **простагландины, тромбосаны, простаглицлины, лейкотриены** – высокоактивные регуляторы клеточных функций.

Эйкозаноиды – **гормоны местного действия** по ряду признаков:

– образуются во всех клетках и тканях человека за исключением эритроцитов;

– оказывают биологический эффект по месту своего образования;

– концентрация в крови меньше, чем необходимо, чтобы вызвать ответ в других (удаленных) клетках-мишенях.

Эйкозаноиды участвуют во многих процессах: регулируют тонус гладкой мускулатуры (а следовательно, артериальное давление), состояние бронхов, кишечника, матки, секреторную функцию желудка, гемодинамику почек, жировой, водно-солевой обмены, влияют на образование тромбов. Разные типы эйкозаноидов участвуют в развитии воспалительного процесса, происходящего после повреждения тканей или инфекции.

### **Синтез эйкозаноидов**

Главный субстрат для синтеза эйкозаноидов – арахидоновая кислота. Под действием фосфолипазы  $A_2$  или C арахидоновая кислота освобождается из биомембран и может превращаться по двум путям – циклооксигеназному и липоксигеназному.

### **Номенклатура эйкозаноидов**

**Простаглицлины** –  $PGI_2, PGI_3$ .

Простаглицлин  $PGI_2$  синтезируется в эндотелии сосудов, сердечной мышце, ткани матки и слизистой желудка. Он расширяет сосуды, снижая артериальное давление, вызывает дезагрегацию тромбоцитов (препятствует образованию тромбов).

**Тромбосаны** –  $A_2, A_3, B_2$  – продукт катаболизма  $A_2$  (активностью не обладает). Синтезируются в тромбоцитах, ткани мозга, легких, почек. Вызывают агрегацию тромбоцитов (способствуют образованию тромбов), оказывают мощное сосудосуживающее действие.

**Лейкотриены** – A, B, C, D.

Участвуют в воспалительных процессах, аллергических и иммунных реакциях, способствуют сокращению гладкой мускулатуры дыхательных путей, пищеварительного тракта, оказывают сосудосуживающее действие.

**Простагландины** – PGE, PGD, PGF; делятся на подклассы (PGE, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>1</sub>, PGF<sub>2</sub> и т. д.).

Синтезируются во всех клетках, кроме эритроцитов. Действуют на гладкие мышцы пищеварительного тракта, репродуктивные и респираторные ткани, на тонус сосудов, модулируют активность других гормонов, регулируют нервное возбуждение, скорость почечного кровотока, являются медиаторами воспаления.

**Биологические эффекты простагландинов E:**

- расширяют сосуды, снижают артериальное давление;
- расширяют бронхи;
- тормозят секрецию желудочного сока и HCl (препятствуют развитию язв в слизистой желудка и кишечника);
- медиаторы воспаления: расширяют капилляры и увеличивают их проницаемость, в результате развивается покраснение и отечность воспалительного очага; вызывают повышение температуры тела, действуя на терморегулирующие центры гипоталамуса. Противовоспалительное действие оказывают глюкокортикоиды (ингибируют фосфолипазу A<sub>2</sub> и снижают образование простагландинов) и аспирин (ингибирует циклооксигеназу);
- увеличивают выделение мочи и Na<sup>+</sup> в почках, препятствуя развитию гипертонии.

**Биологические эффекты простагландинов F:**

- стимулируют сокращение матки и маточных труб, применяются для стимуляции родов или прерывания беременности;
- усиливают секрецию желудочного сока и HCl;
- сужают кровеносные сосуды, повышают артериальное давление;
- сужают бронхи;
- усиливают перистальтику кишечника.

## Применение гормонов в медицине

1. Гормоны применяют для **восполнения их дефицита** в организме при гипофункции эндокринных желез (заместительная терапия):

- инсулин – при сахарном диабете;
- тироксин – при гипофункции щитовидной железы;
- соматотропин – при гипофизарной карликовости;
- дезоксикортикостерон – для лечения гипокортицизма;
- минералокортикоиды – при болезни Аддисона, гипокортицизме;
- эстрогенные препараты – при патологических состояниях, связанных с недостаточной функцией яичников, для восстановления нарушенных половых циклов;
- андрогенные препараты – при гипофункции семенников, функциональных нарушениях в половой системе.

2. Использование свойств гормонов для **лечения конкретных заболеваний**:

- глюкокортикоиды (кортизон, гидрокортизон) и их аналоги (преднизалон, дексаметазон и др.) применяют для лечения аллергических и аутоиммунных заболеваний (ревматоидный артрит, ревматизм, коллагенозы, бронхиальная астма, дерматиты), как противовоспалительные и иммунодепрессивные средства (для подавления отторжения пересаженных органов); для профилактики и лечения шока;
- вазопрессин – при несахарном диабете;
- окситоцин – для стимуляции родовой деятельности;
- кальцитонин – при остеопорозе, замедленном срастании переломов, парадонтозе;
- паратгормон – при гипокальцемии, обусловленной послеоперационным гипопаратиреозом;
- глюкагон – при гипогликемии;
- эстрогенные препараты и их комбинации с прогестинами – при климактерическом синдроме;
- простагландины E – при гипертонии, бронхиальной астме, язве желудка, простагландины F – для прерывания беременности, стимуляции родов;

– препараты с активностью пролактина (лактин) – при недостаточной лактации в послеродовом периоде.

3. Использование **синтетических аналогов гормонов**:

– аналоги глюкокортикоидов (см. пункт 2);

– аналоги женских половых гормонов – пероральные контрацептивы;

– синтетические эстрогены (диэтилстильбэстрол и синэстрол) – для лечения опухоли предстательной железы;

– синтетический аналог тестостерона (тестостерон – пропионат) – для лечения опухоли молочной железы;

– анаболические стероиды – метиландростендиол, нероболил, ретаболил и др. (см. выше).

## ГЛАВА 26

### ОСНОВЫ ВИТАМИНОЛОГИИ

**Витамины** – это незаменимые компоненты пищи, которые, присутствуя в небольших количествах в пище, обеспечивают нормальное протекание биохимически и физиологических процессов путем участия в регуляции обмена веществ в организме.

Витамины обладают высокой биологической активностью и требуются организму в очень небольших количествах – от нескольких микрограммов до нескольких десятков миллиграммов в день. В отличие от других незаменимых факторов питания (аминокислоты, жирные кислоты и др.), витамины не являются пластическим материалом или источником энергии.

#### Биологические функции витаминов

Большинство витаминов являются предшественниками коферментов и простетических групп ферментов, катализирующих биохимические реакции в организме. Некоторые витамины выполняют функцию индуктора синтеза белков (витамин А); проявляют гормональную активность (витамин D); оказывают антиоксидантное действие (витамины А, Е, С). Кроме того, каждому витамину присуща специфическая функция в организме.

#### Классификация витаминов

По **физико-химическим свойствам** (в частности, растворимости) витамины делятся на две группы: **водорастворимые** и **жирорастворимые**. Для обозначения каждого витамина существует буквенный символ, химическое название и название с учетом лечиваемого витамином заболевания с приставкой «анти».

##### **Жирорастворимые витамины** (табл. 26.1):

1. Витамин А; ретинол (антиксерофтальмический).
2. Витамин D; кальциферолы (антирахитический).
3. Витамин Е; токоферолы (антистерильный, витамин размножения).
4. Витамин К; нафтохиноны (антигеморрагический).



Таблица 26.1. – Основные характеристики жирорастворимых витаминов

Название	Суточная потребность, мг	Биологические функции	Характерные признаки авитаминозов
А (ретинол)	1-2,5	Участвует в акте зрения, регулирует рост и дифференцировку клеток	Гемалопия (куриная слепота), ксерофтальмия, кератомалиция, гиперкератоз эпителиальных клеток
Д (кальциферол)	0,012-0,025	Регуляция обмена фосфора и кальция в организме	Рахит
Е (токоферол)	5	Антиоксидант; регулирует интенсивность свободнорадикальных реакций в клетке	Недостаточно изучены; известно положительное влияние на развитие беременности и при лечении бесплодия
К (нафтохинон)	1-2	Участвует в активации факторов свёртывания крови: II, VII, IX, XI	Нарушение свёртывающей системы крови

**Водорастворимые витамины (табл. 26.2):**

1. Витамин В<sub>1</sub>; тиамин (антиневритный).
2. Витамин В<sub>2</sub>; рибофлавин (витамин роста).
3. Витамин В<sub>5</sub>; пантотеновая кислота (антидерматитный).
4. Витамин В<sub>6</sub>; пиридоксин (антидерматитный).
5. Витамин В<sub>12</sub>; цианокобаламин (антианемический; В<sub>9</sub>).
6. Витамин РР; никотинамид, никотиновая кислота, ниацин (антипеллагрический).
7. Витамин В<sub>с</sub>; фолиевая кислота (антианемический).
8. Витамин Н; биотин (антисеборейный).
9. Витамин С; аскорбиновая кислота (антискорбутный).
10. Витамин Р; рутин (капилляроукрепляющий).

Таблица 26.2. – Основные характеристики водорастворимых витаминов

Название	Суточная потребность, мг	Коферментная форма	Биологические функции	Характерные признаки авитаминозов
В <sub>1</sub> (тиамин)	2-3	ТДФ	Декарбоксилирование α-кетокислот, перенос активного альдегида (транскетолаза)	Полиневрит
В <sub>2</sub> (рибофлавин)	1,8-2,6	ФАД ФМН	В составе дыхательных ферментов, перенос водорода	Поражение глаз (кератиты, катаракта)
В <sub>5</sub> (пантотеновая кислота)	10-12	КоА-SH	Транспорт ацильных групп	Дистрофические изменения в надпочечниках и нервной ткани
В <sub>6</sub> (пиридоксин)	2-3	ПФ (пиридоксальфосфат)	Обмен аминокислот (трансаминирование, декарбоксилирование)	Повышенная возбудимость нервной системы, дерматиты
РР (ниацин)	15-25	НАД НАДФ	Акцепторы и переносчики водорода	Симметричный дерматит на открытых участках тела, деменция и диарея
Н (биотин)	0,01-0,02	Биотин	Активация CO <sub>2</sub> , реакции карбоксилирования (например, пирувата и ацетил-КоА)	Дерматиты, сопровождающиеся усиленной деятельностью слюнных желез
В <sub>с</sub> (фолиевая кислота)	0,05-0,4	Тетрагидрофолиевая кислота	Транспорт одноуглеродных групп	Нарушения кроветворения (анемия, лейкопении)
В <sub>12</sub> (кобаламин)	0,001-0,002	Дезоксиаденозил- и метилкобаламин	Транспорт метильных групп	Макроцитарная анемия

Название	Суточная потребность, мг	Коферментная форма	Биологические функции	Характерные признаки авитаминозов
С (аскорбиновая кислота)	50-75	-	Гидроксирование пролина, лизина (синтез коллагена), антиоксидант	Кровоточивость дёсен, расшатывание зубов, подкожные кровоизлияния, отёки
Р (рутин)	Не установлена	-	Вместе с витамином С участвует в окислительно-восстановительных процессах, тормозит действие гиалуронидазы	Кровоточивость дёсен и точечные кровоизлияния

**Витаминоподобные вещества:** группа химических веществ, некоторые из которых частично синтезируются в организме, но обладают витаминными свойствами.

1. В<sub>4</sub>; холин (липотропный фактор).
2. В<sub>8</sub>; инозит (липотропный фактор).
3. В<sub>13</sub>; оротовая кислота (фактор роста).
4. В<sub>15</sub>; пангамовая кислота (антианоксический).
5. В<sub>т</sub>; карнитин.
6. N; липоевая кислота (липотропный фактор).
7. U; (противоязвенный).
8. ПАБК; парааминобензойная кислота (витамин для микроорганизмов).
9. F; линолевая, линоленовая и арахидоновая кислоты.
10. Кофермент Q.

Раскрытие молекулярных механизмов действия водо- и жирорастворимых витаминов позволило отойти от их разделения по физико-химическому признаку и предложить систему **функциональной классификации** по характеру их специфических функций в процессах жизнедеятельности.

В соответствии с этой системой витамины делятся на три группы:

– **витамины-коферменты**, из которых в организме образуются коферменты различных ферментов (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, РР, К, С, фолиевая кислота, биотин и др.);

– **витамины-прогормоны**, активные формы которых обладают гормональной активностью (D; А, гормональной формой которого является ретиноевая кислота, играющая важную роль в процессах роста и дифференцировки эпителиальных тканей);

– **витамины-антиоксиданты** (С, Е, β-каротин и другие каротиноиды, биофлавоноиды).

Некоторая условность этой классификации связана с полифункциональным характером ряда витаминов. Так, витамин С, наряду с антиоксидантным действием, участвует в качестве кофактора в процессах ферментативного гидроксилирования.

### **Обмен витаминов**

Большинство витаминов не осуществляет свои функции в обмене веществ в том виде, в котором он поступает с пищей. Этапы обмена витаминов:

– всасывание в кишечнике с участием специальных транспортных систем;

– транспорт к местам утилизации или депонирования с помощью транспортных белков;

– превращение витаминов в коферментные формы с помощью специальных ферментных систем;

– кооперация коферментов с соответствующими апоферментами.

### **Обеспеченность организма витаминами**

Источником витаминов для человека служит пища. Важная роль в образовании витаминов принадлежит кишечным бактериям, которые синтезируют ряд витаминов. Водорастворимые витамины в тканях не накапливаются (за исключением витамина В<sub>12</sub>), поэтому должны поступать в организм ежедневно. Жирорастворимые витамины способны накапливаться в тканях. Их недостаточность встречается реже. Нарушение баланса витаминов в организме проявляется как в виде недостатка, так и избытка.

Недостаточное поступление витаминов с пищей вызывает заболевания, называемые **гиповитаминозами**. При полном отсутствии в пище витамина развивается **авитаминоз**.

Избыточный прием или избыточное накопление в тканях витамина, сопровождающееся клиническими и биохимическими признаками нарушений, называется **гипервитаминозом**. Это явление характерно для жирорастворимых витаминов. Некоторые витамины поступают в организм с пищей в виде неактивных предшественников – **провитамин**ов, которые в тканях превращаются в биологически активные формы витаминов.

### **Гиповитаминозы**

Потребность человека в витаминах зависит от пола, возраста, физиологического состояния и интенсивности труда. Существенное влияние на потребность человека в витаминах оказывает характер пищи (преобладание углеводов или белков в диете, количество и качество жиров), а также климатические условия.

В медицинской практике чаще всего встречаются гиповитаминозы. Гиповитаминоз может протекать скрыто, либо иметь ярко выраженный характер, проявляясь соответствующим заболеванием. Недостаточное потребление витаминов отрицательно сказывается на росте и развитии детей, снижает выносливость, физическую и умственную работоспособность, снижает устойчивость организма к действию неблагоприятных экологических факторов. Витаминный дефицит снижает активность иммунной системы, ускоряет старение организма.

Основные причины гиповитаминозов:

- недостаточное поступление витаминов с пищей;
- нарушение всасывания в ЖКТ;
- усиленный расход и повышенная потребность в витаминах (стресс, физические нагрузки, курение, алкоголь);
- врожденные дефекты ферментов, участвующих в превращении витаминов в коферменты;
- действие структурных аналогов витаминов (антивитаминов).

### **Гипервитаминозы**

Болезни, возникающие вследствие избыточного приёма водорастворимых витаминов, не описаны. Физиологически необходимая часть витаминов, поступающих в организм, используется, а излишки экскретируются с мочой.

Причиной гипервитаминозов жирорастворимых витаминов (А и D) является избыточное потребление этих витаминов в составе препаратов, либо с экзотической пищей (печень акулы и белого медведя). Гипервитаминоз проявляется общими симптомами: потеря аппетита, расстройство моторной функции желудочно-кишечного тракта, головные боли, выпадение волос, шелушение кожи, повышенная возбудимость нервной системы и некоторые специфические признаки, свойственные данному витамину. Гипервитаминоз может закончиться смертельным исходом.

### **Методы оценки обеспеченности организма человека витаминами**

В настоящее время почти для каждого из витаминов разработаны методы, позволяющие оценить обеспеченность им организма как по содержанию этого витамина или продуктов его обмена в крови и моче (прямые методы), так и по активности ферментативных процессов, в осуществлении которых данный витамин принимает непосредственное участие (функциональные методы). В этих целях широко используют методы высокоэффективной жидкостной хроматографии, радиоиммунного анализа, методы, основанные на определении активации витаминзависимых ферментов при добавлении соответствующих коферментов. Биохимические тесты позволяют установить ранние, доклинические стадии недостаточной обеспеченности витаминами, характеризующиеся возникновением начальных метаболических нарушений.

### **Применение витаминов в клинической практике**

Применение витаминов в профилактических и лечебных целях можно систематизировать следующим образом.

#### **В профилактических целях:**

1. Профилактика первичных гиповитаминозов, обусловленных:

- недостаточным поступлением витаминов с пищей;
- усиленным расходом и повышенной потребностью в витаминах (стресс, физические и умственные нагрузки,

воздействие вредных экологических и экстремальных факторов, беременность, роды).

2. Повышение защитных сил организма, снижение риска простудных, сердечно-сосудистых, онкологических и других заболеваний.

**В лечебных целях:**

1. Лечение первичных авитаминозов.

2. Профилактика и (или) лечение вторичных нарушений обмена и функции витаминов, обусловленных:

- патологическими процессами;
- хирургическими вмешательствами;
- лекарственной и физиотерапией;
- диетическими ограничениями.

3. Коррекция врожденных нарушений обмена и функций витаминов.

4. Использование высоких доз витаминов в терапии различных заболеваний.

Недостаточная обеспеченность организма витаминами усугубляется при болезнях желудочно-кишечного тракта, печени и почек, при которых нарушается всасывание и утилизация витаминов. Лекарственная терапия (антибиотики и др.), диеты, хирургические вмешательства, стрессы усугубляют витаминную недостаточность. Витаминный дефицит, в свою очередь, нарушает обмен веществ и препятствует успешному лечению любого заболевания. Поэтому обоснованным является включение в комплексную терапию различных заболеваний поливитаминных препаратов, продуктов лечебно-профилактического питания, обогащенных витаминами.

Использование витаминов в дозах, превышающих физиологическую потребность, в терапии различных заболеваний:

1. Витамин А – профилактика бесплодия, усиление регенерации тканей, для стимуляции роста и развития детей.

2. Витамин D – лечение рахита и заболеваний кожи.

3. Витамин К – при кровотечениях, связанных с понижением свертывания крови.

4. Витамин Е – профилактика невынашивания беременности и угрозы прерывания беременности, заболевания печени, атрофия мышц, врожденные нарушения мембран эритроцитов у

новорожденных.

5. Витамин В<sub>1</sub> – при сахарном диабете (с целью улучшения усвоения углеводов), при воспалении периферических нервов и поражениях нервной системы, при дистрофиях сердца и скелетных мышц.

6. Витамин В<sub>2</sub> – при дерматитах, плохо заживающих ранах и язвах, кератитах, конъюнктивитах, поражениях печени.

7. Пантотеновая кислота – при заболеваниях кожи и волос, поражении печени, дистрофии сердечной мышцы.

8. Витамин РР – при дерматитах, поражениях периферических нервов, дистрофии сердечной мышцы.

9. Витамин В<sub>6</sub> – при полиневритах, дерматитах, токсикозах беременности, нарушениях функции печени.

### **Поливитаминовые препараты**

Медицинская промышленность разных стран выпускает:

1) **поливитаминовые препараты** – готовые лекарственные формы (таблетки, растворимые таблетки, жевательные таблетки, драже, капсулы, сиропы и др.), включающие набор различных витаминов (в дозах, близких к суточной потребности);

2) **витамино-минеральные комплексы**, включающие, наряду с витаминами, макроэлементы (калий, кальций, магний, фосфор) и микроэлементы (железо, медь, цинк, фтор, йод, марганец, молибден, селен, кобальт и др.);

3) **витамино-минеральные комплексы «третьего поколения»**, включающие, наряду с витаминами, макро- и микроэлементами, другие биологически активные вещества природного происхождения, предназначенные:

– для разных возрастных и половых групп;

– для поддержания функциональной активности отдельных органов и систем человеческого организма.

Поливитаминовые препараты: «Витус», «Гексавит», «Гендевит», «Антиоксикапс», «Аэровит», «Крепыш».

Витамино-минеральные комплексы: «Гравитус», «Витрум», «Кальций-Д<sub>3</sub> Никомед», «Магне В<sub>6</sub>», «Мульти-табс», «Центрум», «Пиковит», «Юникап».

Витамино-минеральные комплексы с биологически актив-



ными добавками: «Гериаатрикс», «Алфавит», «Доктор Тайсс Геровитал», «Компливит», «Лизивит-С».

### Антивитамины

Антивитамины – вещества, вызывающие снижение или полную потерю биологической активности витаминов (табл. 26.3).

Таблица 26.3. – Антивитамины

Витамин	Антивита-мин	Механизм действия антивитамина	Применение антивитамина
1. Пара-амино-бензой-ная ки-слота (ПАБК)	Сульфа-нил-амиды (стрепто-цид, нор-сульфазол, фталазол)	Сульфаниламиды – структур-ные аналоги ПАБК. Они ин-гибируют фермент путем вы-теснения ПАБК из комплекса с ферментом, синтезирующим фолиевую кислоту, что ведет к торможению роста бактерий	Для лечения инфекционных заболеваний
2. Фо-лиевая кислота	Птеридины (аминопте-рин, метот-рексат)	Встраиваются в активный центр фолатзависимых фер-ментов и блокирует синтез нуклеиновых кислот (цито-статическое действие), угне-тается деление клеток	Для лечения острых лейко-зов, некоторых форм злокаче-ственных опу-холей
3. Вита-мин К	Кумарины (дикума-рин, вар-фарин, тромексан)	Кумарины блокируют обра-зование протромбина, про-конвертина и др. факторов свертывания крови в печени (оказывают противосверты-вающее действие)	Для профилак-тики и лечения тромбозов (сте-нокардия, тром-бофлебиты, кар-диосклероз и др.)
4. Вита-мин РР	Гидразид изоникоти-новой кисло-ты (изониа-зид) и его производные (тубазид, фтивазид, метозид)	Антивитамины включаются в структуры НАД <sup>+</sup> и НАДФ <sup>+</sup> , образуя ложные коферменты, которые не способны участво-вать в окислительно-восстано-вительных и других реакциях. Биохимические систе-мы микобактерий туберкуле-за наиболее чувствительны к этим антивитаминам	Для лечения туберкулеза

Антивитамины можно разделить на две основные группы:

1) антивитамины, которые инактивируют витамин путем его разрушения или связывания его молекул в неактивные формы;

2) антивитамины, замещающие коферменты (производные витаминов) в активных центрах ферментов.

Примеры действия антивитаминов первой группы:

а) яичный белок **авидин** связывается с биотином и образуется авидин-биотиновый комплекс, в котором биотин лишен активности, не растворим в воде, не всасывается из кишечника и не может быть использован как кофермент;

б) фермент **аскорбатоксидаза** окисляет аскорбиновую кислоту;

в) фермент **тиаминаза** разрушает тиамин ( $B_1$ );

г) фермент **липооксидаза** путём окисления разрушает провитамин А – каротин.

Ко второй группе относятся вещества, являющиеся структурными аналогами витаминов. Они взаимодействуют с апоферментом и образуют неактивный ферментный комплекс по типу конкурентного ингибирования. Структурные аналоги витаминов могут оказывать существенное влияние на процессы обмена в организме. Большинство из них применяются:

а) как лечебные средства, специфично действующие на определенные биохимические и физиологические процессы;

б) для создания экспериментальных авитаминозов у животных.

Антивитамины нашли широкое применение в клинической практике в качестве антибактериальных и противоопухолевых средств, тормозящих синтез белков и нуклеиновых кислот в бактериальных и опухолевых клетках.

## ГЛАВА 27

### БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ

**Нутрициология** (от греч. *нутрицио* – питание), или **наука о питании**, – это наука о пище, пищевых веществах и других компонентах, содержащихся в продуктах питания, их взаимодействии, роли в поддержании здоровья или возникновении заболеваний, о процессах их потребления, усвоения, переноса, утилизации (расходования) и выведения из организма.

В основе жизнедеятельности лежат процессы обмена веществ. Из внешней среды в организм поступают органические и неорганические вещества, которые подвергаются различным химическим превращениям. Питательные вещества используются для обновления составных частей клеток тканей и органов, для роста организма, а также для энергетических целей. Все нутриенты делятся на 6 главных групп – углеводы, белки, жиры, витамины, минеральные вещества и вода.

При окислительном распаде органических веществ пищи освобождается химическая энергия, которая используется для жизнедеятельности. Потребность в пище определяется физиологическим состоянием организма.

К основным вопросам, с которыми сталкивается биохимия питания, можно отнести:

1. Какие вещества и в каком количестве необходимы организму для жизнедеятельности?
2. Какова биофункция каждого из питательных веществ?
3. К каким последствиям приводит потребление питательных веществ в избыточном или недостаточном количестве?

Питание обеспечивает следующие **функции**:

- пластическая роль – рост, развитие и обновление тканей организма;
- энергетическое обеспечение клетки;
- поступление с пищей незаменимых веществ.

Для удовлетворения всех этих функций пищевой рацион должен быть полноценным и удовлетворять принципам **рационального питания**, а именно:

1. Калорийность пищи должна обеспечивать энергетические

затраты организма, которые зависят от возраста, пола, типа физической или умственной активности (для студентов составляет 2200-3000 ккал/сутки).

2. Рациональное отношение белков, жиров и углеводов, которое для усредненного человека составляет 1:1,5:4. Большую часть пищи составляют углеводы, в основном растительного происхождения. Обычный суточный рацион содержит 400-500 г углеводов, из которых 60-80% составляют полисахариды (в основном, крахмал, в меньшем количестве – гликоген и пищевые волокна – клетчатка), 20-30% олигосахариды (сахароза, лактоза, мальтоза), остальное количество – моносахариды (глюкоза, фруктоза и пентозы). Приблизительно в равных соотношениях среди пищевых жиров (100 г/сутки) должны присутствовать насыщенные, моновенасыщенные и полиненасыщенные жирные кислоты. Норма белка в питании от 80 до 100 г/сутки и она должна обеспечиваться белками как растительного происхождения, так и животного (в равных долях).

3. Наличие в пище незаменимых компонентов, многие из которых присутствуют в минимальных количествах (минорные вещества): незаменимые аминокислоты, незаменимые жирные кислоты (линолевая, линоленовая, арахидоновая), витамины, микроэлементы, клетчатка, ароматические компоненты, эфирные масла, а также вода.

4. Режим приема пищи, который включает кратность приема и распределение дневного рациона утро-обед-вечер.

5. Соответствие пищевого рациона физиологическому (или патологическому) статусу организма (ограничение углеводов при сахарном диабете, белков – при патологии почек, липидов – при атеросклерозе).

6. Пища должна быть подвергнута кулинарной обработке для улучшения органолептических свойств и обеспечения безопасности для организма.

Основные нарушения структуры питания сводятся к следующим:

- избыточное потребление животных жиров;
- дефицит полиненасыщенных жирных кислот;
- дефицит полноценных (животных) белков;
- дефицит большинства витаминов;

- дефицит минеральных элементов – кальций, железо;
- дефицит микроэлементов – иод, фтор, селен;
- выраженный дефицит пищевых волокон.

В настоящее время для коррекции структуры питания предлагается широкое применение **биологически активных добавок (БАД)** к пище. БАД – это концентраты натуральных или идентичных натуральным биологически активных веществ, предназначенные для непосредственного приема или введения в состав пищевых продуктов.

Использование БАД позволяет ликвидировать дефицит эссенциальных пищевых веществ, индивидуализировать конкретного здорового или больного человека в зависимости от потребностей и физиологического состояния, повысить неспецифическую резистентность организма, ускорить связывание и выведение ксенобиотиков из организма, а также направленно изменить обмен веществ.

## **Общая характеристика основных компонентов пищи**

### **Белки**

Пищевая ценность белка обеспечивается наличием незаменимых аминокислот, углеводородные скелеты которых не могут синтезироваться в организме человека, и они, соответственно, должны поступать с пищей. Они также являются основными источниками азота. Суточная потребность в белках – 80-100 г, половина из которых должна быть животного происхождения. Потребность в белке – это количество белка, которое обеспечивает все метаболические потребности организма. При этом обязательно учитывается физиологическое состояние организма, с одной стороны, а с другой стороны, свойства самих пищевых белков и пищевого рациона в целом. От свойств компонентов пищевого рациона зависит переваривание, всасывание и метаболическая утилизация аминокислот.

Потребность в белке состоит из двух компонентов. Первый должен удовлетворить потребность в общем азоте, обеспечивающем биосинтез заменимых аминокислот и других азотсодержащих эндогенных биологически активных веществ. Собственно потребность в общем азоте и есть потребность в белке.

Второй компонент определяется потребностью организма человека в незаменимых аминокислотах, которые не синтезируются в организме. Это специфическая часть потребности в белке, которая количественно входит в первый компонент, но предполагает потребление белка определенного качества, т. е. носителем общего азота должны быть белки, содержащие незаменимые аминокислоты в определенном количестве.

Белки животного происхождения содержат полный набор незаменимых аминокислот. Однако, наряду с целым рядом преимуществ, белки имеют и недостатки, главными из которых являются достаточно токсичные продукты катаболизма (аммиак, продукты гниения белков в толстом кишечнике) и довольно сложные пути метаболизма.

### **Углеводы**

Основными углеводами пищи являются моносахариды, олигосахариды и полисахариды, которые должны поступать в количестве 400-500 г в сутки. Углеводы пищи являются основным энергетическим материалом клетки, обеспечивают 60-70% суточного энергопотребления. Для обмена углеводов характерны простые метаболические пути и для их окисления необходимо незначительное количество кислорода. Конечные продукты их катаболизма являются индифферентными веществами. Однако имеется ряд недостатков углеводов: они содержат незначительное количество незаменимых компонентов и довольно часто встречаются нарушения их метаболизма с развитием болезни.

Клетчатка, поступающая с пищей в ЖКТ, не переваривается, однако она стимулирует перистальтику кишечника и удаляет из него токсические продукты распада. Поэтому она должна также присутствовать в пищевом рационе.

### **Липиды**

Основные липиды пищи – триацилглицеролы (нейтральные жиры), фосфолипиды, холестерол и высшие жирные кислоты. Суточная потребность – 100 г. Они являются источниками энергии (при их разрушении образуется 9,3 ккал/г, в то время как при сгорании белков и углеводов – 4,1 ккал/г). Высшие жирные кислоты являются компонентами фосфолипидов мембран и триацилглицеролов жировой ткани, предшественниками гормонов.

Среди высших жирных кислот присутствуют так называемые незаменимые высшие жирные кислоты, к которым относят линолевую, линоленовую и арахидоновую жирные кислоты. Их в совокупности называют «витамином F».

Фосфолипиды пищи являются источниками холина, инозитола, используемых для синтеза нейромедиаторов, сложных липидов клеточной мембраны. Холестерол (1,5 г/сутки) также входит в состав мембран, является предшественником стероидных гормонов, желчных кислот и витамина D.

Основным недостатком липидов пищи является то, что для их окисления необходимо большое количество кислорода. А также при переедании часто развивается ожирение и жировая инфильтрация внутренних органов (жировая дистрофия).

## ГЛАВА 28

### БИОХИМИЯ КРОВИ

Кровь – жидкая подвижная ткань, перемещающаяся по сосудам. Выполняет роль транспортного и коммуникативного средства, интегрирующего обмен веществ в различных органах и тканях в единую систему.

#### Общая характеристика

Общий объем крови у взрослого человека составляет у женщин – 4 л, у мужчин – 5,2 л (примерно 8% от массы тела). В норме рН крови – 7,36 – 7,4. Относительная плотность цельной крови – 1,050 – 1,065, плазмы – 1,024 – 1,030. Вязкость крови в 4-5 раз выше вязкости воды благодаря высокому содержанию белка и эритроцитов. Осмотическое давление плазмы крови при температуре 37° ~ 7,6 атм.

#### Функции крови

Кровь осуществляет транспорт различных химических веществ по кровеносным сосудам.

1. Дыхательная функция – перенос кислорода из легких в ткани и СО<sub>2</sub> из тканей в легкие.

2. Трофическая функция – транспорт питательных веществ: глюкозы и кетоновых тел, липидов, жирных кислот, аминокислот и т. д.

3. Выделительная функция – транспорт конечных продуктов обмена из тканей в выделительные органы: мочевины из печени в почки, билирубина из тканей в печень.

4. Регуляторная функция – транспорт сигнальных молекул (гормонов, регуляторных пептидов и др.) от органов внутренней секреции к тканям-мишеням.

5. Защитная функция обусловлена следующими факторами:  
– клеточные (лейкоциты, лимфоциты, макрофаги) и гуморальные (антитела) элементы иммунной защиты;  
– факторы свертывания крови.

6. Регуляция осмоса – белки крови поддерживают коллоидно-осмотическое давление и тем самым обеспечивают постоянный объем крови.



## 7. Регуляция кислотно-основного равновесия.

Кислотно-щелочное равновесие обеспечивается буферными системами крови:

а) **бикарбонатная** (на её долю приходится ~10% всей буферной емкости крови) представлена сопряженной кислотно-основной парой, состоящей из молекул угольной кислоты  $\text{H}_2\text{CO}_3$  (донор протона) и бикарбонат-иона  $\text{HCO}_3^-$  (акцептор протона);

б) **фосфатная** (составляет 1% буферной емкости крови) – сопряженная кислотно-основная пара: ион  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  (донор  $\text{H}^+$ ) и ион  $\text{HPO}_4^{2-}$  (акцептор  $\text{H}^+$ ):

в) **гемоглобиновая** самая мощная система – обеспечивает 75% буферной емкости крови, состоит из неионизированного оксиHb ( $\text{HHbO}_2$ ) и калиевой соли оксиHb ( $\text{KHbO}_2$ );

г) **белковая** имеет меньшее значение;

белки образуют буферные системы благодаря наличию кислотно-основных групп в молекуле.

8. **Терморегуляторная** функция – кровь поддерживает постоянство температуры тела в разных его частях.

## Особенности метаболизма в форменных элементах крови

### Эритроциты:

1. Зрелые эритроциты лишены ядра, поэтому в клетке не синтезируются белки. Эритроцит почти целиком заполнен гемоглобином.

2. Эритроциты не имеют митохондрий, поэтому в клетке не протекают реакции ЦТК,  $\beta$ -окисления жирных кислот. Не функционирует ЦПЭ.

3. Глюкоза является единственным источником энергии.

4. Основной путь получения энергии – гликолиз, 90% глюкозы в эритроцитах распадается в процессе анаэробного гликолиза.

5. Энергия, поставляемая гликолизом, обеспечивает поддержание целостности плазматической мембраны и работу  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы.

6. Особенностью гликолиза в эритроцитах является наличие шунта, приводящего к образованию 2,3-дифосфоглицерата – одного из регуляторов переноса кислорода. При связывании его с гемоглобином уменьшается сродство гемоглобина к кислороду и

облегчается освобождение кислорода из эритроцитов в тканях.

Реакция образования 2,3-дифосфоглицерата, отсутствующая в «классическом» гликолизе, называется шунт Раппопорта.

7. 10% глюкозы распадается в эритроците в пентозофосфатном пути. Образующийся при этом НАДФН обеспечивает восстановление глутатиона и поддерживает его оптимальную концентрацию. Восстановленный глутатион необходим для поддержания в восстановленной форме SH-групп белков; препятствует окислению гемоглобина; предотвращает перекисное окисление липидов мембран. При снижении концентрации восстановленного глутатиона эритроцит быстро «стареет».

Таким образом, зрелые эритроциты обладают упрощенным метаболизмом, который обеспечивает сохранение структуры и функции гемоглобина, целостность мембраны и образование энергии для работы  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы.

### **Лейкоциты:**

1. Лейкоциты являются полноценными клетками с большим ядром, митохондриями и высоким содержанием нуклеиновых кислот.

2. В лейкоцитах активно протекают процессы биосинтеза нуклеиновых кислот и белков.

3. Основной путь получения энергии – аэробный гликолиз. АТФ образуется также в реакциях  $\beta$ -окисления жирных кислот.

4. В лейкоцитах сосредоточен весь гликоген крови, который является источником энергии при недостаточном её поступлении.

5. В лизосомах лейкоцитов локализована мощная система протеолитических ферментов – протеазы, фосфатазы, эстеразы, ДНК-азы, РНК-азы, что обеспечивает участие этих клеток в защитных реакциях организма. В результате действия этих ферментов разрушаются полимерные молекулы микроорганизмов и образуются мономеры (моносахариды, аминокислоты, нуклеотиды), которые поступают в цитозоль и могут использоваться клеткой.

6. Поглощение бактерий лейкоцитами в процессе фагоцитоза сопровождается резким увеличением потребления кислорода с образованием супероксидного аниона и пероксида водорода (см. лекцию № 11), которые оказывают бактерицидное действие. Это явление называется «респираторным взрывом».

## **Лимфоциты**

1. Продуцируются в лимфатической ткани.
2. Одной из особенностей их внутриклеточного обмена является наличие мощного аппарата синтеза белков, который по своим возможностям превосходит не только все другие клетки крови, но многие клетки других органов и тканей.
3. Интенсивный синтез белков и  $\gamma$ -глобулинов в этих клетках обуславливает важную роль лимфоцитов в иммунных процессах (образование антител).
4. Внутриклеточный метаболизм лимфоцитов регулируется широким набором ферментов и это обеспечивает возможность выполнения клетками многообразных специфических функций.
5. В лимфоцитах протекают реакции гликолиза, пентозофосфатного пути, цикла Кребса, трансаминирования и окислительного дезаминирования и др.

## **Тромбоциты – кровяные пластинки**

1. Тромбоциты не могут считаться полноценными клетками, поскольку не содержат ядра.
2. В тромбоцитах протекают основные биохимические процессы: реакции обмена углеводов и липидов, окислительное фосфорилирование.
3. Основная функция тромбоцитов – участие в процессе свертывания крови – обусловлена наличием тромбоцитарных факторов свертывания.

## **Гемоглобин человека**

Гемоглобин – сложный железосодержащий белок, относится к классу гемопротеинов. Выполняет две важные функции:

- перенос кислорода из легких к периферическим тканям;
- участие в переносе  $\text{CO}_2$  и протонов из периферических тканей в легкие.

## **Производные гемоглобина**

Молекула гемоглобина взаимодействует с различными лигандами, образуя **производные** гемоглобина.

1. **Дезоксигемоглобин** –  $\text{Hb}$  – не связанный с кислородом

и содержащий гем с двухвалентным железом  $Fe^{2+}$ .

2. **Оксигемоглобин** –  $HbO_2$  – полностью оксигенированный гемоглобин, связанный с четырьмя молекулами кислорода.

3. **Карбгемоглобин** –  $HbCO_2$  – гемоглобин, связанный с  $CO_2$ . Выполняет функцию выведения  $CO_2$  из тканей к легким. Соединение нестойкое, легко диссоциирует в легочных капиллярах. Этим путем выводится до 10-15%  $CO_2$ .

4. **Карбоксигемоглобин** –  $HbCO$  – образуется при отравлении оксидом углерода (II). Сродство гемоглобина к  $CO$  примерно в 300 раз выше, чем к кислороду, при этом гемоглобин теряет способность связывать кислород и наступает смерть от удушья.

5. **Метгемоглобин** –  $MetHb$  – образуется при действии окислителей (нитрит натрия, нитробензол). Содержит железо в трехвалентной форме  $Fe^{3+}$  и теряет способность к переносу кислорода. В норме образуется небольшое количество метгемоглобина – примерно 0,5% в сутки.

### Варианты гемоглобина в онтогенезе

Количество и состав фракций гемоглобина изменяется в процессе онтогенеза. Все гемоглобины представляют собой тетрамеры, построенные из разного набора субъединиц ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) и преимущественно образуются на разных этапах развития организма человека – от эмбрионального до взрослого состояния. Различают следующие физиологические типы гемоглобинов: примитивный гемоглобин  $HbP$ , фетальный гемоглобин  $HbF$  (fetus – плод), гемоглобин взрослых  $HbA$ ,  $HbA_2$ ,  $HbA_3$  (adultus – взрослый).

**Примитивный гемоглобин** – синтезируется в эмбриональном желточном мешке через несколько недель после оплодотворения. Состоит из двух  $\alpha$ - и двух  $\epsilon$ -цепей ( $2\alpha$ ,  $2\epsilon$ ). Через две недели после формирования печени плода в ней начинает синтезироваться  $HbF$ , который к шести месяцам полностью замещает  $HbP$ .

**Фетальный гемоглобин** – синтезируется в печени и костном мозге плода до периода его рождения. Состоит из двух  $\alpha$ - и двух  $\gamma$ -цепей ( $2\alpha$ ,  $2\gamma$ ). Характеризуется более высоким сродством к кислороду и обеспечивает эффективную доставку кислорода к эмбриону из системы кровообращения матери.  $HbF$  является

главным типом гемоглобина плода. Кровь новорожденного содержит до 80% HbF, но к концу 1-го года жизни он почти целиком заменяется на HbA. В крови взрослого человека присутствует в минимальном количестве до 1,5% от общего количества гемоглобина.

**Гемоглобин А** – основной гемоглобин взрослого человека (96% от общего количества). Начинает синтезироваться в клетках костного мозга уже на 8-м месяце развития плода. HbA состоит из двух  $\alpha$ - и двух  $\beta$ -цепей.

**Минорные гемоглобины:**

1) HbA<sub>2</sub> – 2 $\alpha$  2 $\delta$ , в крови взрослого человека примерно 2,6% HbA<sub>2</sub>; обладает большим сродством к кислороду;

2) HbA<sub>3</sub> – 2 $\alpha$  2 $\beta$ , однако имеются изменения в строении  $\beta$ -цепей по сравнению с HbA; появляется в крови в небольших количествах при старении.

### **Гемоглобинопатии**

Все структурные аномалии белковой части гемоглобина называют **гемоглобинозами**. Различают:

- гемоглобинопатии;
- талассемии.

**Гемоглобинопатии** – наследственные изменения структуры какой-либо цепи нормального гемоглобина вследствие точечных мутаций генов. Известно около 300 вариантов HbA, имеющих в первичной структуре  $\alpha$ - или  $\beta$ -цепи незначительные изменения. Некоторые из них практически не влияют на функции белка и здоровье человека, другие – вызывают значительные нарушения функции HbA и развитие заболеваний различной степени тяжести.

В аномальных гемоглобинах изменения могут затрагивать аминокислоты:

- находящиеся на поверхности белка;
- участвующие в формировании активного центра;
- аминокислоты, замена которых нарушает трехмерную конформацию молекулы;
- аминокислоты, замена которых изменяет четвертичную структуру белка и его регуляторные свойства.

Аномальные гемоглобины отличаются от HbA по первичной

структуре, форме, величине заряда. При этом изменяются такие свойства, как сродство к кислороду, растворимость, устойчивость к денатурации и др.

Примеры.

1. **Серповидноклеточная анемия.** Наследственное заболевание, связанное с заменой глутаминовой кислоты в 6-м положении (с N-конца) на валин в  $\beta$ -цепях молекулы гемоглобина S. Растворимость дезоксигемоглобина S значительно снижена. Его молекулы начинают «слипаться», образуя волокнистый осадок, который деформирует эритроцит, придавая ему форму серпа (полумесяца). Такие эритроциты плохо проходят через капилляры тканей, закупоривают сосуды и создают локальную гипоксию. Они быстро разрушаются и возникает гемолитическая анемия. Дети, гомозиготные по мутантному гену, часто умирают в раннем возрасте. Болезнь распространена в странах Южной Америки, Африки и Юго-Восточной Азии.

2. **Гемоглобин М** – в результате мутации в гене происходит замена в  $\alpha$ - или  $\beta$ -цепи гистидина (в 7-м или 8-м положении) на тирозин. В результате этого  $Fe^{2+}$  окисляется в  $Fe^{3+}$  и образуется метгемоглобин, не способный связывать кислород. Развивается цианоз и гипоксия тканей.

**Талассемии** – наследственные заболевания, связанные с нарушением синтеза  $\alpha$ - или  $\beta$ -цепей. Талассемия распространена в Африке, Средней Азии и странах Средиземноморья

**$\alpha$ -талассемии** возникают при нарушении синтеза  $\alpha$ -цепей. При полном отсутствии  $\alpha$ -цепей наступает внутриутробная гибель плода, так как не образуется HbF, а тетрамеры  $\gamma_4$  обладают высоким сродством к кислороду и не способны выполнять транспортную функцию, что ведет к развитию тканевой гипоксии и к смерти вскоре после рождения.

**$\beta$ -талассемии** развиваются в результате снижения синтеза  $\beta$ -цепей. Проявляется после рождения, при этом в крови наряду с HbA появляется до 15% HbA<sub>2</sub> и 15-60% HbF. Болезнь характеризуется гиперплазией и разрушением костного мозга, поражением печени, селезенки и сопровождается гемолитической анемией. Основным методом лечения пациентов с  $\beta$ -талассемией является переливание донорских эритроцитов для поддержания уровня гемоглобина.

## Обмен железа

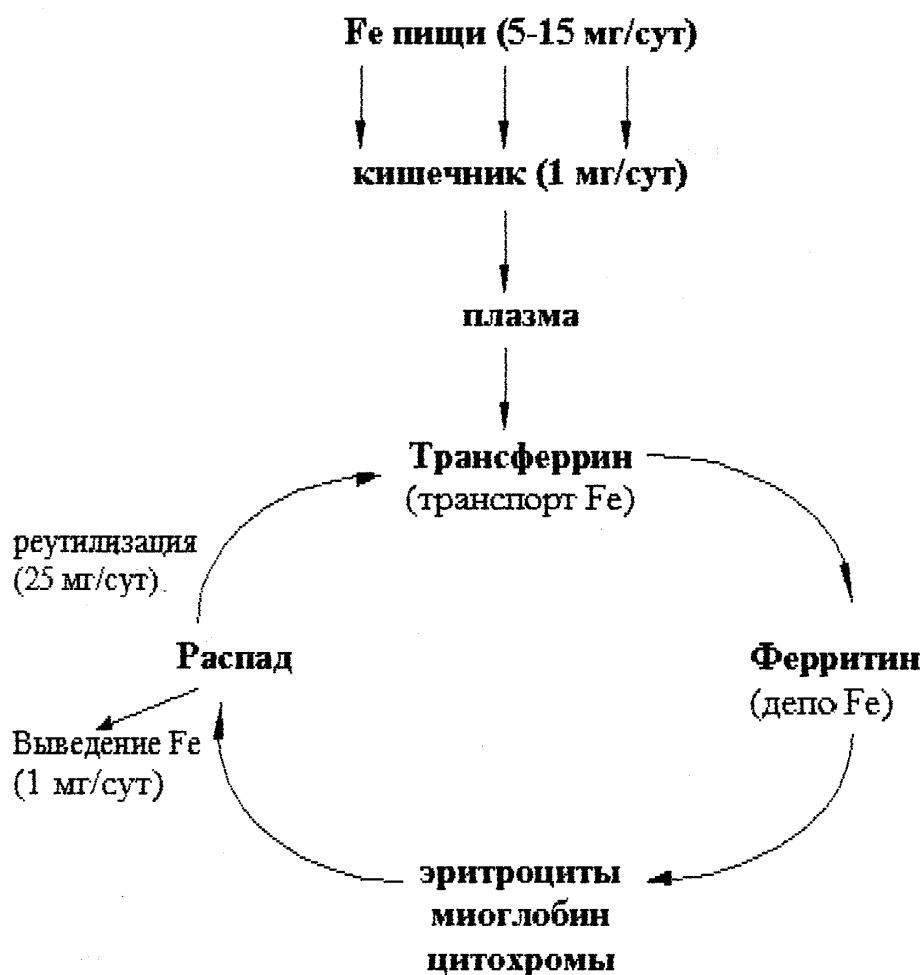
Железо – наиболее распространенный микроэлемент, который обеспечивает нормальное функционирование клеток организма. Железо участвует в различных биохимических процессах в организме: является составным компонентом гемоглобина, миоглобина и железосодержащих ферментов; участвует в тканевом дыхании; участвует в процессах деления клеток, биосинтезе ДНК. Нормальный уровень железа в организме способствует полноценному функционированию факторов неспецифической защиты, клеточного, гуморального и местного иммунитета.

В организме взрослого человека содержится 3-4 г железа, из этого количества около 3,5 г находится в плазме крови. Гемоглобин эритроцитов содержит примерно 68 % всего железа организма, ферритин – 27% (резервное железо печени, селезенки, костного мозга), миоглобин (в мышцах) – 4%, трансферрин (в плазме крови) – 0,1. На долю всех содержащих железо ферментов приходится примерно 1% железа, имеющегося в организме.

В организм человека железо поступает с пищей (рис. 28.1). Суточная потребность в железе следующая: дети – от 4 до 18 мг, взрослые мужчины – 10 мг, взрослые женщины – 18 мг, беременные женщины – 33 мг.

В пище железо содержится в форме  $Fe^{3+}$ , связанной с белками или органическими кислотами. В желудке под действием HCl железо освобождается из пищи. В присутствии аскорбиновой кислоты  $Fe^{3+}$  восстанавливается до  $Fe^{2+}$ . Наибольшее количество железа всасывается в двенадцатиперстной кишке около 1–2 мг сутки. В клетки слизистой оболочки кишечника поступает только  $Fe^{2+}$ . Фосфаты (молоко, сыр), оксалаты или фитаты (овощи), танины (чай) образуют нерасворимые комплексы железа и снижают его всасывание. В энтероцитах железо связывается с **апоферритином**, затем поступает в кровоток и связывается со специфическим белком **трансферрином**.

В составе трансферрина железо поступает через систему воротной вены в печень, где часть железа остается в гепатоцитах и хранится в виде запасного фонда, преимущественно внутриклеточно в составе **ферритина**.



*Рисунок 28.1. – Обмен железа в организме человека*

Печень располагает наиболее значительными запасами железа, которое при необходимости может быстро освобождаться для метаболических процессов. Большая часть железа транспортируется в костный мозг – к месту синтеза гемоглобина. Меньшая часть железа доставляется другим клеткам-потребителям, имеющим рецепторы для трансферрина. В основном это – активно пролиферирующие клетки с высокой потребностью в железе. Железо, освобождающееся в результате распада гема, реутилизируется в количестве 25 мг в сутки. Физиологические потери железа с мочой, потом, калом, волосами, ногтями независимо от возраста и пола составляют около 1 мг в сутки.

В обмене железа принимает участие ряд белков.

**Апоферритин.** Белок связывает железо в энтероцитах и превращается в ферритин, который остается в энтероцитах.



Таким способом регулируется поступление железа в капилляры крови из клеток кишечника. Когда организм насыщен железом, скорость синтеза апоферритина повышается. При недостатке железа в организме апоферритин в энтероцитах почти не синтезируется. Если содержание железа в организме избыточно, железо задерживается в энтероцитах и в дальнейшем удаляется из организма вместе со слущивающимся эпителием.

**Трансферрин.** Это транспортный белок, относится к гликопротеинам, синтезируется в печени. Он имеет два центра связывания железа. Трансферрин транспортирует железо с током крови к местам депонирования и использования. В норме трансферрин насыщен железом приблизительно на 33%.

**Ферритин.** Олигомерный белок с молекулярной массой 450 кДа. Он состоит из 24 идентичных протомеров, образующих полую сферу, внутри которой может содеожаться до 4500 ионов  $Fe^{3+}$ . Железо депонируется в ферритине в виде гидроксифосфата. Содержание железа в молекуле ферритина непостоянно. Функция ферритина – депонирование железа. Ферритин содержится почти во всех тканях, но в наибольшем количестве в печени, селезенке, костном мозге.

### **Железодефицитные анемии**

Железодефицитные анемии развиваются в результате нарушения обмена железа. Встречаются чаще других форм анемий.

**Основные причины:**

- хронические кровопотери;
- нарушения всасывания железа в ЖКТ (язвы, опухоли после операций на ЖКТ);
- повышенная потребность организма в железе (при беременности, у детей);
- недостаток железа в пище (как правило, у детей, получающих мало мясной пищи).

**Характерные признаки железодефицитных анемий:**

- понижение концентрации гемоглобина (в единице объема крови) и числа эритроцитов в периферической крови;
- снижение уровня сывороточного железа;
- снижение насыщения трансферрина железом;
- снижение концентрации ферритина;

– повышение железосвязывающей способности сыворотки крови.

Железодефицитные анемии сопровождаются задержкой роста и развития (у детей), слабостью, повышенной утомляемостью, снижением работоспособности, нарушением пищеварения, плохим аппетитом, восприимчивостью к инфекциям.

### **Белки плазмы крови**

Из 10% сухого остатка плазмы крови на долю белков приходится около 7%. Плазма крови, лишенная фибриногена, называется сывороткой. Содержание белков в сыворотке крови в норме составляет 65-85 г/л.

Белки плазмы крови выполняют множество **функций**.

1. **Транспортная** (альбумины, трансферрин, церулоплазмин, транскортин, липопротеины и др.).

2. **Защитная:**

– белки системы свертывания крови способствуют сохранению постоянного количества крови в сосудистом русле при повреждениях;

–  $\gamma$ -глобулины обеспечивают иммунную защиту;

– белки системы комплемента.

3. Поддержание **онкотического** (коллоидно-осмотического) **давления** крови (альбумины).

4. Регуляция **кислотно-основного равновесия** (белковая буферная система).

5. Белки плазмы крови являются **резервом аминокислот** для организма.

### **Характеристика белков сыворотки крови**

**Белки системы комплемента** – к этой системе относятся 20 белков, циркулирующих в крови в форме неактивных предшественников. Их активация происходит под действием специфических веществ, обладающих протеолитической активностью. Продукты протеолиза обладают высокой биологической активностью.

**Биологическая роль белков системы комплемента:**

– защитная функция, обеспечивают лизис бактериальных клеток;

- регуляция проницаемости и тонуса сосудов;
- обеспечивают хемотаксис клеток;
- обеспечивают взаимодействие между клетками (реакции агрегации тромбоцитов).

Существует два пути активации белков системы комплемента:

- классический – инициируется иммуноглобулинами и их комплексами с антигенами;
- альтернативный – инициируется микробными полисахаридами и липополисахаридами бактериальных клеток.

**Белки кининовой системы** – кинины, биологически активные пептиды, сходные по происхождению, строению и биологическим свойствам. К ним относятся **брадикинин** и **каллидин**. Кинины образуются в тканях и в крови из неактивных белков-предшественников **кининогенов**, которые синтезируются в печени. Кининогены подвергаются ферментативному расщеплению под действием **калликреинов**, которые имеются в плазме, клетках крови и во многих органах. Тканевые калликреины освобождают из кининогенов каллидин (10 аминокислотных остатков), а плазменные калликреины – брадикинин (9 аминокислотных остатков).

**Биологическая роль белков кининовой системы:**

- расслабляют гладкие мышцы кровеносных сосудов (сосудорасширяющее действие);
- снижают артериальное давление;
- повышают проницаемость капилляров;
- стимулируют сокращения сердца;
- вызывают сокращение гладких мышц бронхов, матки, кишечника;
- раздражают болевые рецепторы;
- участвуют в развитии воспалительных реакций.

**Белки-ингибиторы протеолиза** – способны ингибировать трипсин и другие протеолитические ферменты. Основным представителем  $\alpha_1$ -антитрипсин. Содержание в норме 2,0-2,5 г/л, при воспалительных процессах в организме их содержание увеличивается.

**Белки острой фазы.** Содержание некоторых белков в плазме крови может резко увеличиваться при острых воспалительных

процессах и некоторых других патологических состояниях (травмы, ожоги, инфаркт миокарда). Такие белки называют белками острой фазы, так как они принимают участие в развитии воспалительной реакции организма. Основной индуктор синтеза большинства белков острой фазы в гепатоцитах – полипептид интерлейкин, освобождающийся из мононуклеарных фагоцитов.

К белкам острой фазы относят **С-реактивный белок, гаптоглобин, кислый гликопротеин,  $\alpha_1$ -антитрипсин.**

**С-реактивный белок**, соединяясь с бактериальными полисахаридами или фосфолипидами поврежденных тканей, может активировать систему комплемента. В здоровом организме С-реактивный белок отсутствует, но он обнаруживается при многих патологических состояниях, сопровождающихся воспалением и некрозом тканей в острый период болезни. Так, при обострении ревматоидного артрита его концентрация может возрасти в 30 раз по сравнению с нормой. С переходом в хроническую фазу заболевания С-реактивный белок исчезает из крови.

**Гаптоглобин** составляет примерно четверть всех  $\alpha_2$ -глобулинов. Гаптоглобин при внутрисосудистом гемолизе эритроцитов образует комплекс с гемоглобином, который разрушается в клетках РЭС. Образование такого комплекса предотвращает потери организмом железа, содержащегося в гемоглобине. Гаптоглобин также относят к белкам острой фазы, его содержание в крови повышается при острых воспалительных заболеваниях. Определение содержания гаптоглобина в крови имеет диагностическое значение. Например, снижение концентрации гаптоглобина в крови наблюдают при гемолитической анемии.

## Свертывание крови

При повреждении кровеносного сосуда инициируется каскад ферментативных реакций, в результате которых образуется сгусток крови – **тромб**. Кровотечение останавливается – происходит **гемостаз**. Различают:

### 1) **Сосудисто-тромбоцитарный (первичный) гемостаз.**

**Первичный гемостаз** обеспечивается сосудистой стенкой и тромбоцитами. Ему принадлежит ведущая роль в начальной остановке кровотечения, при этом происходит образование

**тромбоцитарной пробки (белого тромба)** в месте повреждения сосуда.

## 2) Коагуляционный (вторичный) гемостаз.

**Вторичный** гемостаз – многоэтапный ферментативный процесс, в котором участвуют ферментативные и неферментативные белки плазмы и тканей, ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , надмолекулярные образования (фибрин). В результате этого процесса происходит формирование **фибринового сгустка**, который повышает плотность тромба и закрепляет его на сосудистой стенке в месте повреждения.

Компоненты плазмы крови, тромбоцитов и ткани участвующие в свертывании крови, называют **факторами свертывания**.

**Факторы плазмы крови.** Белковые факторы плазмы синтезируются в основном в печени и клетках крови в виде неактивных предшественников, обозначаются римскими цифрами (имеют и тривиальные названия). Эти белки активируются в каскаде ферментативных реакций свертывания крови.

Фактор I – фибриноген

Фактор II – протромбин

Фактор III – тканевой тромбопластин

Фактор IV – ионы  $\text{Ca}^{2+}$

Фактор V – проакцелерин

Фактор VII – проконвертин

Фактор VIII – антигемофильный глобулин А.

Фактор IX – антигемофильный глобулин В, кристмас-фактор

Фактор X – фактор Прауэра-Стюарта

Фактор XI – фактор Розенталя

Фактор XII – фактор Хагемана

Фактор XIII – фибринстабилизирующий фактор

Номера факторов указывают на порядок, в котором они были открыты.

Кроме факторов плазмы в гемостазе принимают участие факторы тромбоцитов. Их роль в гемостазе определяют следующие особенности:

– способность тромбоцитов прилипать к поврежденной поверхности сосуда (адгезия);

– способность тромбоцитов прилипать друг к другу (агрегация);

– способность связываться с фибрином, образуя тромбоцитарный тромб, и секретировать в месте повреждения сосуда гемостатические факторы.

Известно около 10 факторов тромбоцитов. Некоторые из них:

**фактор 1** – проакцелерин, адсорбированный на поверхности тромбоцитов;

**фактор 3** – необходим для образования тромбина из протромбина;

**фактор 8** – тромбостенин, участвует в ретракции фибрина, обладает АТФазной активностью.

Свертывание крови представляет собой последовательные реакции превращения неактивных проферментов в активные ферменты, т. е. имеет место **каскадный механизм активации ферментов**. Непосредственно тромбообразовательным процессом является превращение фибриногена в фибрин. Фибриноген – гликопротеин, синтезируется в печени, содержится в плазме крови в концентрации 2-4 г/л. Молекула фибриногена состоит из трех пар полипептидных цепей ( $A_{\alpha 2}$ ,  $B_{\beta 2}$ ,  $\gamma_2$ ), которые соединены дисульфидными связями. В образовании фибринового тромба можно выделить 4 этапа.

### **1. Превращение фибриногена в фибрин-мономер.**

Превращение фибриногена в фибрин катализирует фермент **тромбин**, который отщепляет от  $\alpha$  и  $\beta$ -цепей молекулы фибриногена фрагменты А и В. В результате этой реакции образуются мономеры фибрина.

### **2. Образование нерастворимого геля фибрина.**

Происходит агрегация молекул фибрина в результате взаимодействия центров связывания одной молекулы с комплементарными участками других молекул. Путем самосборки образуются крупные удлиненные агрегаты молекул, нерастворимые в плазме крови, – **гель фибрина или тромб**. Образовавшийся гель фибрина непрочен, так как молекулы фибрина в нем связаны между собой нековалентными связями.

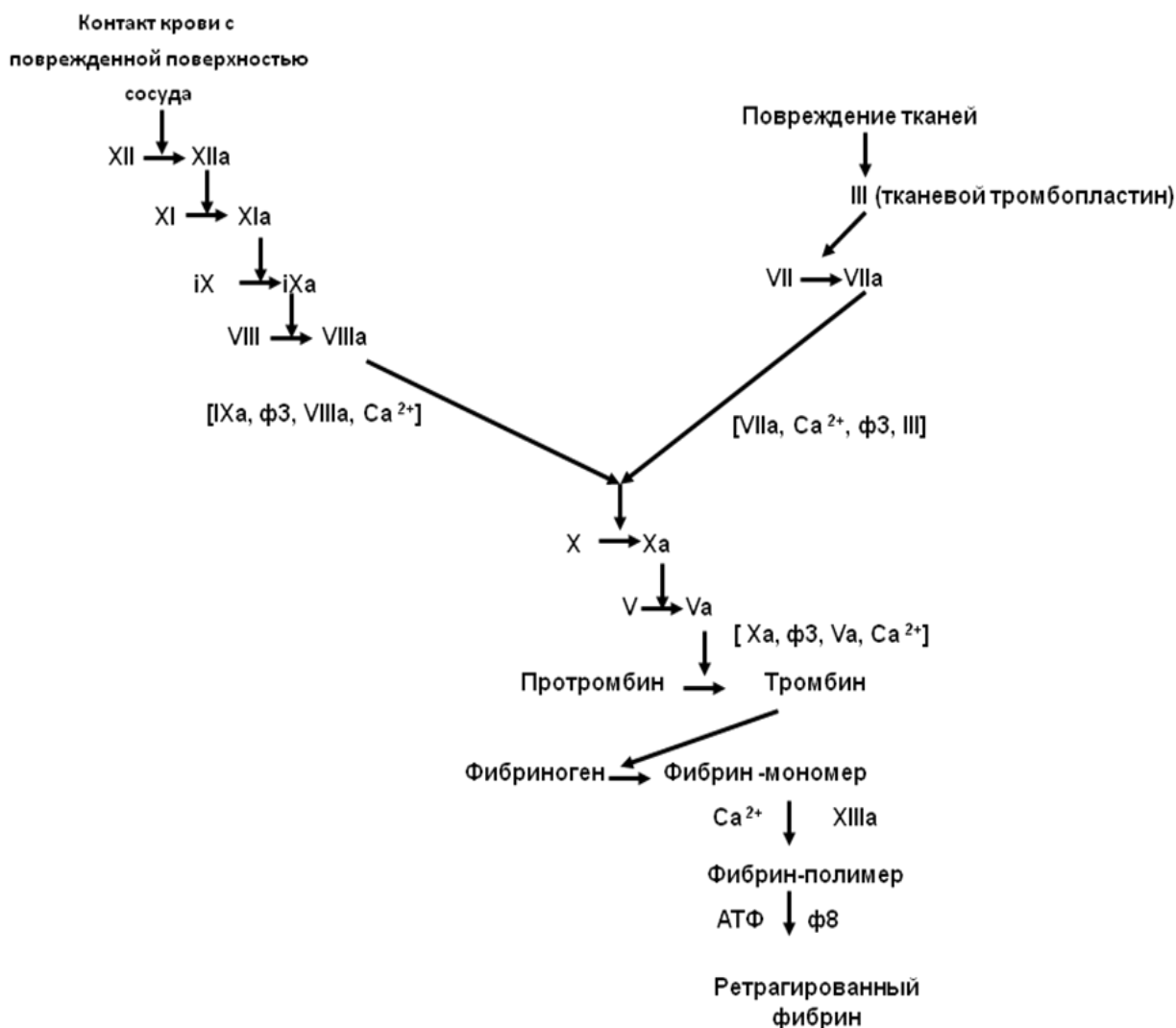
### **3. Стабилизация геля фибрина.**

Этот процесс происходит при участии фермента **трансглутаминазы**, который катализирует образование ковалентных связей между молекулами фибрина, гель фибрина стабилизируется. Трансглутаминаза также образует амидные связи

между фибрином и фибронектином (гликопротеин межклеточного матрикса и плазмы крови). Тромб фиксируется в месте повреждения сосуда.

#### 4. Ретракция фибринового сгустка.

Сжатие (ретракцию) тромба обеспечивает актомиозин тромбоцитов – сократительный белок **тромбостенин**, обладающий АТФ-азной активностью. Ретракция кровяного сгустка предупреждает полную закупорку сосуда, создает возможность восстановления кровотока.



*Рисунок 28.2. – Внешний и внутренний пути свертывания крови*

**Внутренняя и внешняя системы свертывания крови.** Свертывание крови может осуществляться с помощью двух механизмов – **внешнего и внутреннего** путей свертывания (рис.

28.2).

**Внешний (прокоагулянтный)** путь свертывания активируется в ответ на повреждение ткани. Способствует быстрому образованию прочного тромба, препятствующего потере крови. При повреждении сосуда «включается» каскадный механизм активации ферментов – факторов свертывания. Каскад ферментативных реакций завершается образованием мономеров фибрина и последующим формированием тромба.

**Внутренний (контактный)** путь свертывания активируется при контакте крови с поврежденной или измененной (вследствие атеросклероза, интоксикации) эндотелиальной поверхностью сосудистой стенки. Внутренний путь свертывания крови – медленный процесс, так как в нем участвует большое число факторов свертывания.

### **Противосвертывающая система крови**

Поддержание крови в жидком состоянии во время циркуляции ее в кровеносном русле обеспечивает **противосвертывающая система крови**. В ее образовании участвует ряд факторов плазмы крови, тромбоцитов и тканей. К ним относят физиологические **ингибиторы ферментов свертывания крови**. Они инактивируют активные ферменты системы свертывания крови и ограничивают распространение тромба местом повреждения сосуда, т. е. оказывают антикоагулянтное действие.

Физиологические антикоагулянты:

– антитромбин III – наиболее сильный ингибитор свертывания крови. Ингибирует активность тромбина, факторов IXa, Xa, XIIa, плазмина, урокиназы. При наследственном дефиците антитромбина III в молодом возрасте возникают тромбозы и эмболии сосудов, опасные для жизни;

–  $\alpha_2$  – макроглобулин – на его долю приходится около 3,5% антитромбинового потенциала крови;

– антиконвертин – тканевой ингибитор внешнего пути свертывания;

–  $\alpha_1$  – антитрипсин – ингибирует тромбин, фактор XIa;

– гепарин – гетерополисахарид, синтезируется в тучных клетках. В результате взаимодействия с гепарином антитромбин



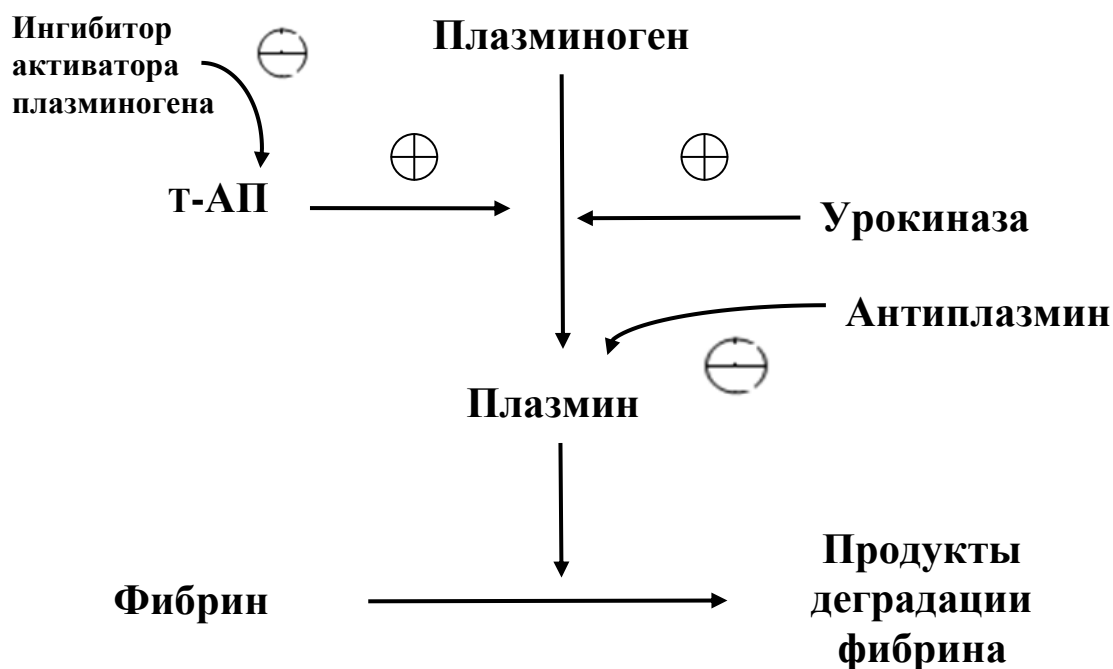
III изменяет конформацию, при этом ингибирующая активность антитромбина значительно повышается.

Искусственные антикоагулянты (дикумарин, неодикумарин, синкумар и др.) применяют для профилактики тромбообразования. Антикоагулянтное действие этих препаратов основано на их антагонизме с витамином К.

### Фибринолиз

**Фибринолиз** – ферментативное расщепление волокон фибрина с образованием растворимых пептидов. Разрушение фибрина происходит под действием протеолитического фермента плазмы крови – **плазмина**.

Неактивный предшественник плазмина **плазминоген** синтезируется в печени, почках и костном мозге. Плазмин образуется из плазминогена под действием активаторов тканей и крови (рис. 28.3).



*Рисунок 28.3. – Схема фибринолиза*

Тканевые активаторы плазминогена:

– тканевой активатор плазминогена (т-АП) – синтезируется эндотелиальными клетками кровеносных сосудов;

– урокиназа – продуцируется почечной тканью и эпителием мочевыводящих путей.

Тканевые активаторы плазминогена имеют низкую каталитическую активность в отсутствие фибрина и активируются при связывании с ним.

Кровяные активаторы плазминогена:

– фактор XIIa;

– калликреин;

– стрептокиназа – неферментный белок  $\beta$ -гемолитического стрептококка, образующий комплекс с плазминогеном, в котором плазминоген аутокаталитически превращается в плазмин. При стрептококковой инфекции возможно образование стрептокиназы в большом количестве, что может приводить к развитию геморрагического диатеза.

Растворение фибринового сгустка происходит при специфическом взаимодействии фибрина, плазминогена и его активаторов. Образующийся из плазминогена под действием активаторов плазмин гидролизует фибрин на растворимые пептидные фрагменты (**продукты деградации фибрина**).

Снижение фибринолитической активности крови сопровождается тромбозами. Урокиназу, стрептокиназу, т-АП используют в качестве фибринолитических препаратов при инфаркте миокарда, тромбозах вен и артерий, гемодиализе.

Наряду с фибринолитической системой крови имеется и **антифибринолитическая система** (рис. 31.3). Она состоит из ингибиторов плазмина (антиплазминов) и ингибиторов активаторов плазминогена (антиактиваторов).

## Патологии системы свертывания крови.

### Гемофилии

**Гемофилии** – наследственные заболевания, обусловленные отсутствием определенных факторов свертывания крови. Гемофилия А связана с дефицитом фактора VIII, гемофилия В (болезнь Кристмаса) – фактора IX, гемофилия С – фактора XI. Наиболее часто встречается гемофилия А. Ген фактора VIII локализован в X-хромосоме. Повреждение этого гена проявляется как рецессивный признак, поэтому у женщин, в геноме которых две

X-хромосомы, гемофилии А не бывает. Заболевание может проявляться сразу после рождения и только у лиц мужского пола. Характерные признаки заболевания: медленное заживление пупочной ранки и кровотечения из нее в первые три недели жизни, кровоизлияния в мозг и мозговые оболочки в течение первого года жизни, подкожные, внутрисуставные кровоизлияния, желудочно-кишечные и спонтанные кровотечения. Частая потеря крови приводит к развитию железодефицитной анемии.

### **Диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС-синдром)**

ДВС-синдром представляет собой общепатологический процесс, вызванный проникновением в кровоток активаторов свертывания крови и агрегации тромбоцитов. Это приводит к одновременной активации и последующему истощению системы свертывания крови и фибринолитической системы. Вследствие этой активации образуется **тромбин** (в капиллярах возникают мелкие тромбы за счет полимеризации фибрина) и **плазмин**, гидролизующий фибриноген. Коагуляция (процессы тромбообразования) сопровождается геморрагическими явлениями (обильными кровотечениями).

Причины возникновения ДВС-синдрома разнообразны: инфекции, гипоксия, ацидоз, тяжелые травмы, деструкция тканей, новообразования, иммунные заболевания, аллергические реакции, лечение препаратами, вызывающими агрегацию тромбоцитов, антикоагулянтами и фибринолитиками.

## ГЛАВА 29

### БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ

Печень занимает центральное место в обмене веществ и выполняет многообразные функции:

1. **Гомеостатическая** – регулирует содержание в крови веществ, поступающих в организм с пищей, что обеспечивает постоянство внутренней среды организма.

2. **Биосинтетическая** – осуществляет биосинтез веществ «на экспорт» (белки плазмы крови, глюкоза, липиды, кетоновые тела и др.).

3. **Обезвреживающая** – в печени происходит обезвреживание токсических продуктов метаболизма (аммиак, продукты гниения белков в кишечнике, билирубина и др.), чужеродных соединений и лекарственных веществ.

4. **Пищеварительная** – связана с синтезом желчных кислот, образованием и секрецией желчи.

5. **Выделительная (эксреторная)** – обеспечивает выделение некоторых продуктов метаболизма (холестерол, желчные пигменты) с желчью в кишечник.

6. **Инактивация гормонов, витаминов.**

Большое значение печени определяется ее анатомическим положением. Это промежуточный орган между кишечником и системой общего кровотока. Именно печень поддерживает в крови относительно стабильное содержание веществ, поступающих в организм с пищей (глюкоза, аминокислоты и др.).

Масса печени у взрослого человека – 1,2-2 кг, что составляет 2-3% от веса тела. Химический состав подвержен изменениям, в особенности при патологических состояниях. Для осуществления обменных функций печень получает от 1/4 до 1/3 минутного объема крови, что составляет около 1,5 литра в минуту. 70% крови поступает в печень по воротной вене, 30% – по печеночной артерии.

#### **Роль печени в углеводном обмене**

Основная роль печени в углеводном обмене заключается в поддержании нормального содержания глюкозы в крови – т. е. в

регуляции **нормогликемии**. Это достигается за счет нескольких механизмов.

**1. Наличие в печени фермента глюкокиназы.** Глюкокиназа, подобно гексокиназе, фосфорилирует глюкозу до глюкозо-6-фосфата. Следует отметить, что глюкокиназа, в отличие от гексокиназы, содержится только в печени и  $\beta$ -клетках островков Лангерганса. Активность глюкокиназы в печени в 10 раз превышает активность гексокиназы. Кроме того, глюкокиназа в противоположность гексокиназе имеет более высокое значение  $K_m$  для глюкозы (т. е. меньшее сродство к глюкозе).

После приема пищи содержание глюкозы в воротной вене резко возрастает и достигает 10 ммоль/л и более. Повышение концентрации глюкозы в печени вызывает существенное увеличение активности глюкокиназы и увеличивает поглощение глюкозы печенью. Благодаря синхронной работе гексокиназы и глюкокиназы, печень быстро и эффективно фосфорилирует глюкозу до глюкозо-6-фосфата, обеспечивая нормогликемию в системе общего кровотока. Далее глюкозо-6-фосфат может метаболизироваться по нескольким направлениям: в реакциях гликолиза, пентозофосфатного пути, или превращаться в гликоген.

**2. Синтез и распад гликогена.** Гликоген печени выполняет функцию депо глюкозы в организме. После приема пищи избыток углеводов откладывается в печени в виде гликогена, уровень которого составляет примерно 6% от массы печени (100-150 г). В промежутках между приемами пищи, а также в период «ночного голодания» пополнения пула глюкозы в крови за счет всасывания из кишечника не происходит. В этих условиях активируется распад гликогена до глюкозы, что поддерживает уровень гликемии. Запасы гликогена истощаются к концу первых суток голодания.

**3. В печени активно протекает глюконеогенез** – синтез глюкозы из неуглеводных предшественников (лактат, пируват, глицерол, гликогенные аминокислоты). Благодаря глюконеогенезу в организме взрослого человека образуется примерно 8 г глюкозы в сутки. Активность глюконеогенеза резко возрастает при голодании на 2-е сутки, когда запасы гликогена в печени исчерпаны.

Благодаря глюконеогенезу печень участвует в цикле Кори –

процессе превращения молочной кислоты, образующейся в мышцах, в глюкозу.

4. В печени осуществляется **превращение фруктозы и галактозы в глюкозу.**

5. В печени происходит **синтез глюкуроновой кислоты.**

### **Роль печени в липидном обмене**

Печень участвует во всех этапах липидного обмена, начиная с переваривания липидов и заканчивая специфическими метаболическими превращениями отдельных липидных фракций:

- синтез желчных кислот и образование желчи;
- $\beta$ -окисление жирных кислот;
- биосинтез жирных кислот;
- образование кетонных тел;
- распад и синтез фосфолипидов;
- синтез холестерина и образование его эфиров; соотношение эфиры холестерина/свободный холестерол в норме составляет примерно 0,5-0,7%; снижение этого коэффициента до 0,3-0,4% наблюдается при поражениях печени и является неблагоприятным признаком;
- основное место синтеза липопротеинов очень низкой плотности и липопротеинов высокой плотности;
- гидроксирование витамина D.

### **Роль печени в обмене аминокислот и белков**

Печень играет центральную роль в обмене белков и других азотсодержащих соединений. Она выполняет следующие функции:

- синтез специфических белков плазмы: в печени синтезируется 100% альбуминов, 75-90%  $\alpha$ -глобулинов, 50%  $\beta$ -глобулинов, белки свертывающей системы крови – протромбин, фибриноген, проконвертин, проакцелерин;
- активно протекают реакции трансаминирования и дезаминирования аминокислот;
- биосинтез мочевины происходит исключительно в печени;
- образование мочевой кислоты происходит в основном в печени, так как здесь много фермента ксантиноксидазы, при участии которого продукты распада пуриновых оснований (гипоксантин и ксантин) превращаются в мочевую кислоту;

– синтез креатина и холина.

### **Обезвреживающая функция печени**

Печень является главным органом, где происходит обезвреживание естественных метаболитов (билирубин, гормоны, аммиак) и чужеродных веществ. Чужеродными веществами, или ксенобиотиками, называют вещества, поступающие в организм из окружающей среды, и не используемые им для построения тканей или в качестве источников энергии. К ним относят лекарственные препараты, продукты хозяйственной деятельности человека, вещества бытовой химии и пищевой промышленности (консерванты, красители).

### **Обезвреживание нормальных метаболитов**

#### **1. Обезвреживание пигментов**

В клетках ретикулоэндотелиальной системы печени протекает катаболизм гема до билирубина, конъюгация билирубина с глюкуроновой кислотой в гепатоцитах и распад в гепатоцитах поступающего из кишечника уробилиногена до непигментных продуктов.

#### **2. Обезвреживание аммиака**

Аммиак – высокотоксичное соединение, особо опасное для мозга. Основным механизмом обезвреживания аммиака в организме является биосинтез мочевины в печени. Мочевина – малотоксичное соединение и легко выводится из организма с мочой.

#### **3. Инактивация гормонов**

Печени принадлежит значительная роль в инактивации гормонов. Многие пептидные гормоны гидролизуются в печени при участии протеолитических ферментов. Например, фермент инсулиназа гидролизует пептидные цепи А и В инсулина. Катаболизм адреналина и норадреналина происходит в печени путем дезаминирования моноаминоксидазой, метилирования и конъюгации с серной и глюкуроновой кислотами. Продукты метаболизма выводятся с мочой.

### **Обезвреживание ксенобиотиков**

Обезвреживание большинства ксенобиотиков происходит в 2 фазы:

**I – фаза химической модификации;**

## **II – фаза конъюгации.**

**Химическая модификация** – это процесс ферментативной модификации исходной структуры ксенобиотика, в результате которой происходит:

- разрыв внутримолекулярных связей;
- присоединение к молекуле дополнительных функциональных групп (-CH<sub>3</sub>, -OH, -NH<sub>2</sub>),
- удаление функциональных групп путем гидролиза.

### **Типы модификаций:**

- окисление (микросомальное, пероксисомальное);
- восстановление;
- изомеризация;
- ацетилирование, метилирование, гидроксילирование;
- гидролиз и другие реакции.

Система обезвреживания включает множество разнообразных ферментов (оксидоредуктазы, изомеразы, лиазы, гидролазы), под действием которых практически любой ксенобиотик может быть модифицирован. Наиболее активны ферменты метаболизма ксенобиотиков в печени.

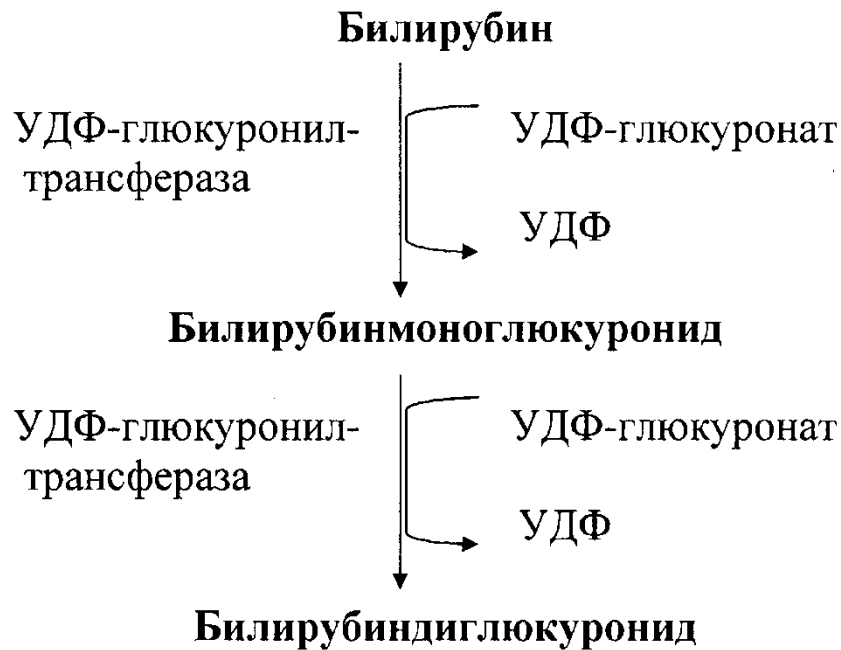
В результате химической модификации, как правило, ксенобиотики становятся более гидрофильными, повышается их растворимость, и они легче выделяются из организма с мочой. Кроме этого, дополнительные функциональные группы необходимы, чтобы вещество вступило в фазу конъюгации.

**Конъюгация** – процесс образования ковалентных связей между ксенобиотиком и эндогенным субстратом. Образование связей происходит, как правило, по OH- или NH<sub>2</sub>-группе ксенобиотика. Образовавшийся конъюгат малотоксичен и легко выводится из организма с мочой.

Выделяют **глюкуронидную, сульфатную, тиосульфатную, ацетильную конъюгации**. В них принимают участие эндогенные соединения, образующиеся в организме с затратой энергии: **УДФ-глюкуронат, тиосульфат, ацетил-КоА**.

Примером реакции конъюгации является образование **билирубин диглюкуронида (прямого билирубина)** из непрямого билирубина с использованием макроэргического соединения – УДФ-глюкуроновой кислоты (рис. 29.1).





*Рисунок 29.1. – Конъюгирование непрямого билирубина с УДФ-глюкуроновой кислотой с образованием прямого билирубина*

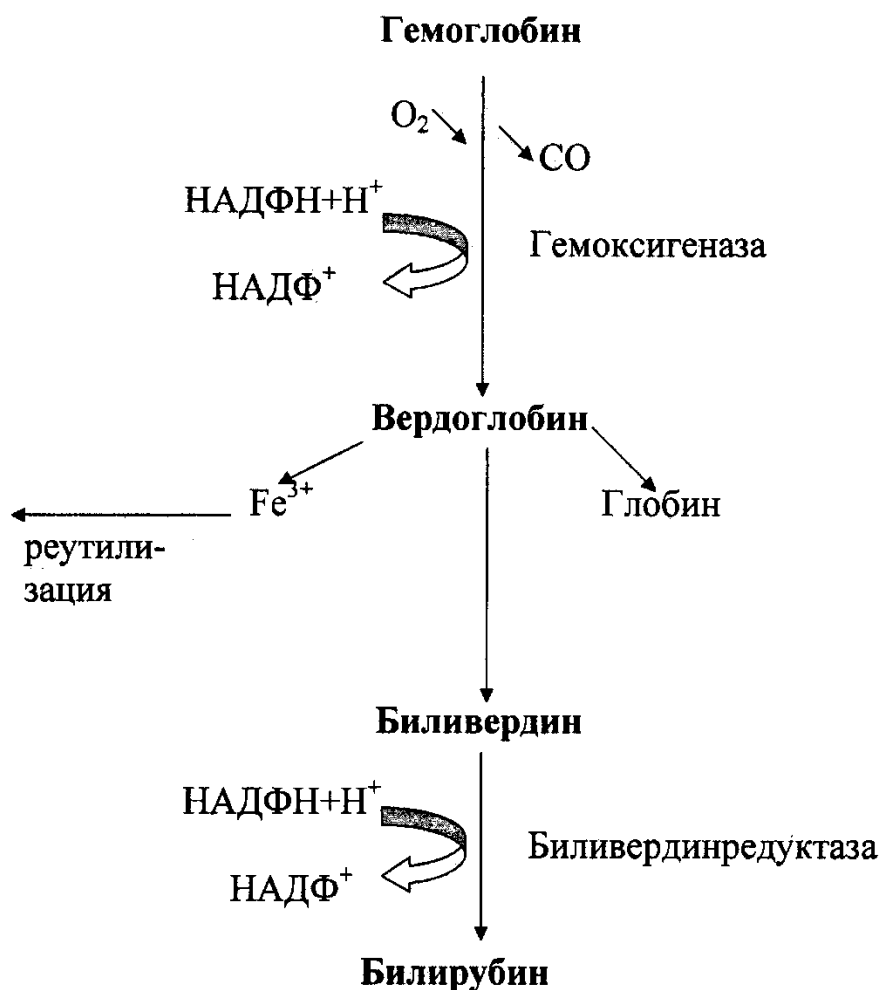
При сульфатной конъюгации происходит присоединение к субстрату сульфатной группы посредством активированной формы серной кислоты - **3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфата (ФАФС)**. При этом образуется сульфированное соединение и **фосфоаденозин-5'-фосфат (ФАФ)**.

### Распад гемоглобина и образование билирубина

Билирубин образуется при распаде гемоглобина (рис. 29.2 и 29.3). Этот процесс протекает **в клетках ретикулоэндотелиальной системы (РЭС) – печени, селезенки и костного мозга**. Билирубин является основным желчным пигментом у человека. При распаде 1 г гемоглобина образуется 35 мг билирубина, а в сутки у взрослого человека – примерно 250-350 мг. Дальнейший метаболизм билирубина происходит в печени.

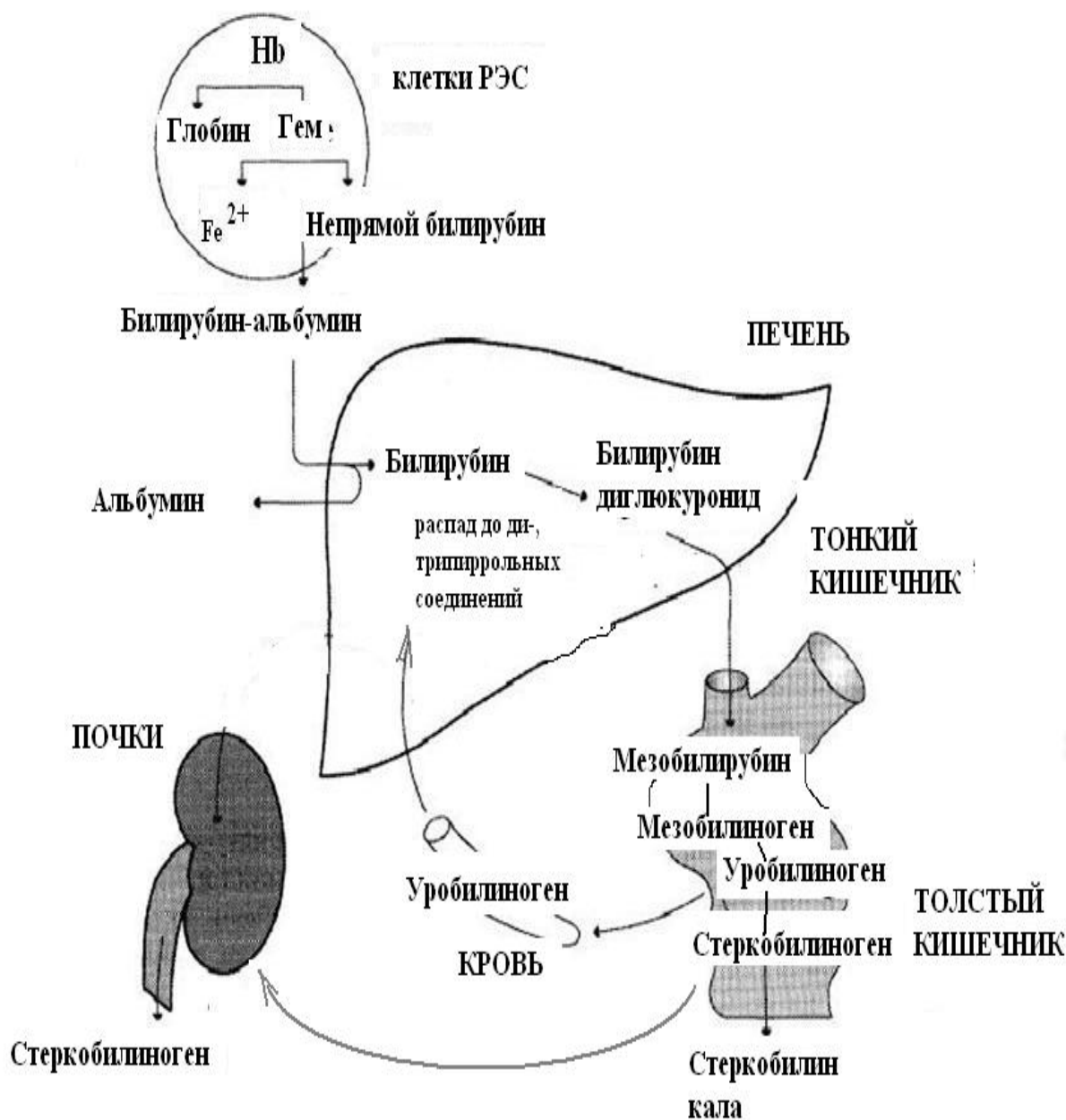
Билирубин, образованный в клетках РЭС, называется **свободным (неконъюгированным)** или **непрямым**, поскольку вследствие плохой растворимости в воде он легко адсорбируется на белках плазмы крови (альбуминах) и для его определения в крови необходимо предварительное осаждение белков спиртом

(рис. 29.2). После этого билирубин определяют реакцией с диазо-реактивом Эрлиха. Свободный (непрямой) билирубин не проходит через почечный барьер и в моче не попадает.



**Рисунок 29.2. – Распад гемоглобина в клетках РЭС**

Каждая молекула альбумина связывает 2 (или 3) молекулы билирубина. При низком содержании альбумина в крови, а также при вытеснении билирубина из центров связывания на поверхности альбумина высокими концентрациями жирных кислот, лекарственных веществ (например, сульфаниламиды) увеличивается количество билирубина, не связанного с альбуминами. Он может проникать в клетки мозга и повреждать их.



*Рисунок 29.3. – Общая схема обмена билирубина и желчных пигментов в норме*

Комплекс альбумин-билирубин с током крови попадает в печень, где происходит его превращение в **прямой билирубин** путем конъюгации с глюкуроновой кислотой. Реакцию катализирует фермент **УДФ-глюкуронилтрансфераза** (рис. 29.1). Образующийся билирубин диглюкуронид получил название **прямого (конъюгированного) билирубина**, или **связанного**. Он растворим в воде, и дает прямую реакцию с диазореактивом Эрлиха.

**Прямой билирубин** – это нормальный компонент желчи, попадающий в кровь в незначительном количестве. Он может проходить через почечный барьер, но в крови в норме его мало, поэтому в моче обычными лабораторными методами он не определяется.

Вместе с желчью прямой билирубин выводится в **тонкий кишечник** (рис. 29.3). В кишечнике билирубинглюкурониды гидролизуются специфическими бактериальными ферментами ***β-глюкурони-дазами***. Освободившийся билирубин под действием кишечной микрофлоры восстанавливается с образованием сначала **мезобилирубина**, а затем **мезобилиногена (уробилиногена)**. Небольшая часть уробилиногенов, всасываясь в тонком кишечнике и верхнем отделе толстого, через систему воротной вены попадает в печень, где практически полностью разрушается до **ди- и трипиррольных соединений**. Уробилиноген при этом в общий кровоток не поступает и в моче не определяется.

Основная часть **уробилиногена** поступает в **толстый кишечник**, где под влиянием микрофлоры подвергается дальнейшему восстановлению с образованием **стеркобилиногена**. Образовавшийся стеркобилиноген почти полностью выделяется с калом. На воздухе он окисляется и превращается в **стеркобилин**, являющийся одним из пигментов кала. Небольшая часть стеркобилиногена попадает путем всасывания через слизистую толстого кишечника в систему нижней полой вены (через геморроидальные вены), доставляется в почки и выводится с мочой (4 мг/сутки).

Содержание желчных пигментов в норме:

**кровь: общий билирубин – 5,0-20,5 мкмоль/л; непрямой билирубин – 1,7-17,1 мкмоль/л; прямой билирубин – 1,0-7,5 мкмоль/л;**

**моча; стеркобилиноген – 4 мг/сутки;**

**кал: стеркобилин – до 250 мг/сутки.**

### **Желтухи. Дифференциальная диагностика**

Желтуха – это заболевание, характеризующееся желтой окраской кожи и слизистых в результате накопления билирубина. Основная причина этого явления – гипербилирубинемия. Причи-

нами гипербилирубинемии могут быть:

- усиление гемолиза эритроцитов и увеличение образования билирубина, превышающее способность печени экскретировать его;

- поражение клеток печени, приводящее к нарушению секреции билирубина в желчь;

- закупорка желчевыводящих протоков печени.

Во всех случаях содержание билирубина в крови повышается. При достижении определенной концентрации (выше 50 мкмоль/л) он диффундирует в ткани, окрашивая их в желтый цвет.

Определение билирубина и других желчных пигментов в крови и в моче имеет важное значение для дифференциальной диагностики желтух различной этиологии.

### **Гемолитическая (надпеченочная) желтуха**

Гемолитическая желтуха развивается вследствие интенсивного гемолиза эритроцитов при гемолитических анемиях, вызванных сепсисом, лучевой болезнью, переливанием несовместимых групп крови, отравлением сульфаниламидами и т. д. Усиленный гемолиз эритроцитов приводит к интенсивному образованию в клетках РЭС непрямого билирубина. Печень не способна утилизировать за короткое время весь образующийся непрямой билирубин, поэтому он накапливается в крови и тканях. Так как печень обезвреживает повышенное количество непрямого билирубина, в больших количествах образуется прямой билирубин в печени. Поступление значительных количеств билирубина в кишечник ведет к усиленному образованию и выделению с калом и мочой стеркобилиногена. Кал приобретает более интенсивную окраску.

Характерные признаки гемолитической желтухи:

- кровь – повышение общего билирубина и непрямого билирубина; концентрация прямого билирубина – в норме;

- моча – отсутствие билирубина и положительная реакция на стеркобилиноген (который в больших количествах, чем обычно, поступает в почки из толстого кишечника);

- кал – повышение количества стеркобилиногена (темная окраска).

## **Паренхиматозная (печёночная) желтуха**

Паренхиматозная желтуха обусловлена повреждением гепатоцитов при острых вирусных инфекциях, хроническом и токсическом гепатитах. Причина повышения концентрации билирубина – нарушение функций и некроз части печеночных клеток.

### *Биохимические нарушения*

1. В результате некроза гепатоцитов прямой билирубин частично попадает в кровь, его концентрация увеличивается. Прямой билирубин хорошо растворим в воде и экскретируется с мочой.

2. Экскреция жёлчи нарушена, в кишечник попадает меньше билирубина, чем в норме, поэтому количество образующегося в толстом кишечнике стеркобилиногена также снижена. Кал гипохолчный.

3. При прогрессирующем гепатите нарушаются процессы конъюгации билирубина в печени, вследствие этого в крови накапливается непрямой билирубин.

4. Нарушается процесс разрушения уробилиногена, поступающего в печень из кишечника по воротной вене. Он попадает в общий кровоток и экскретируется с мочой (в норме в моче отсутствует).

Характерные признаки паренхиматозной желтухи:

– кровь – повышение общего билирубина, прямого и непрямого билирубина;

– моча – положительная реакция на билирубин и уробилиноген, интенсивная окраска;

– кал – снижение количества стеркобилиногена, гипохолчный кал.

## **Механическая или обтурационная (подпеченочная) желтуха**

Механическая желтуха развивается при нарушении желчевыделения в двенадцатиперстную кишку. Основная причина – частичная или полная закупорка желчных протоков, например, при жёлчнокаменной болезни, опухолях поджелудочной железы, желчного пузыря, печени. Так как нормальные пути экскреции конъюгированного билирубина заблокированы, происходит его поступление в кровь. В крови увеличивается содержание прямого билирубина, он выводится с мочой, придавая ей насыщенный оранжево-коричневый цвет. При полной закупорке общего желч-

ного протока желчь не попадает в кишечник, не происходит образования стеркобилиногена, кал обесцвечен и в моче отсутствует уробилиноген.

Характерные признаки механической желтухи:

– кровь – повышение общего билирубина, прямого билирубина; при тяжелых формах механической желтухи может нарушаться детоксикационная функция печени и уровень непрямого билирубина в крови также повышается; однако прямого билирубина оказывается всегда больше, чем непрямого;

– моча – положительная реакция на билирубин, уробилиноген отсутствует, интенсивная окраска;

– кал – резкое снижение или отсутствие стеркобилиногена, ахоличный кал.

Проявления обтурационной и паренхиматозной желтухи очень сходны. Критерием для дифференцированного диагноза является наличие **уробилиногена в моче** (при паренхиматозной желтухе) и резкое увеличение **прямого билирубина в крови** (при обтурационной).

Кроме вышеуказанных вторичных (приобретенных) желтух имеется группа заболеваний, связанная с генетическими дефектами пигментного обмена. Они носят название **наследственных (врожденных, первичных) желтух** и проявляются сразу после рождения:

– синдром Криглер-Наджара – отсутствие глюкуронилтрансферазы

– синдром Жильбера – отсутствие в печени лигандина, который участвует в поглощении непрямого билирубина из плазмы гепатоцитами.

### **Желтуха новорожденных**

Разновидность гемолитической желтухи новорожденных – «физиологическая желтуха». Наблюдается в первые дни жизни ребенка. Причинами повышения концентрации непрямого билирубина в крови являются:

– усиленный гемолиз эритроцитов, содержащих фетальный гемоглобин;

– недостаточный синтез в печени УДФ-глюкуроната;

– недостаточность функции белков и ферментов печени, от-

ветственных за поглощение, конъюгацию и секрецию прямого билирубина, в частности, значительно снижена активность УДФ-глюкуронилтрансферазы.

У детей в течение первых двух недель жизни конъюгирующая способность печени составляет 1/5 по сравнению с таковой у взрослых.

В тяжелых случаях желтухи новорожденных, когда концентрация билирубина в крови превышает 340 мкмоль/л, он проходит через гематоэнцефалический барьер головного мозга и вызывает его поражение (билирубиновая энцефалопатия). Легкая форма послеродовой гипербилирубинемии встречается практически у всех новорожденных.

### Синтез гема

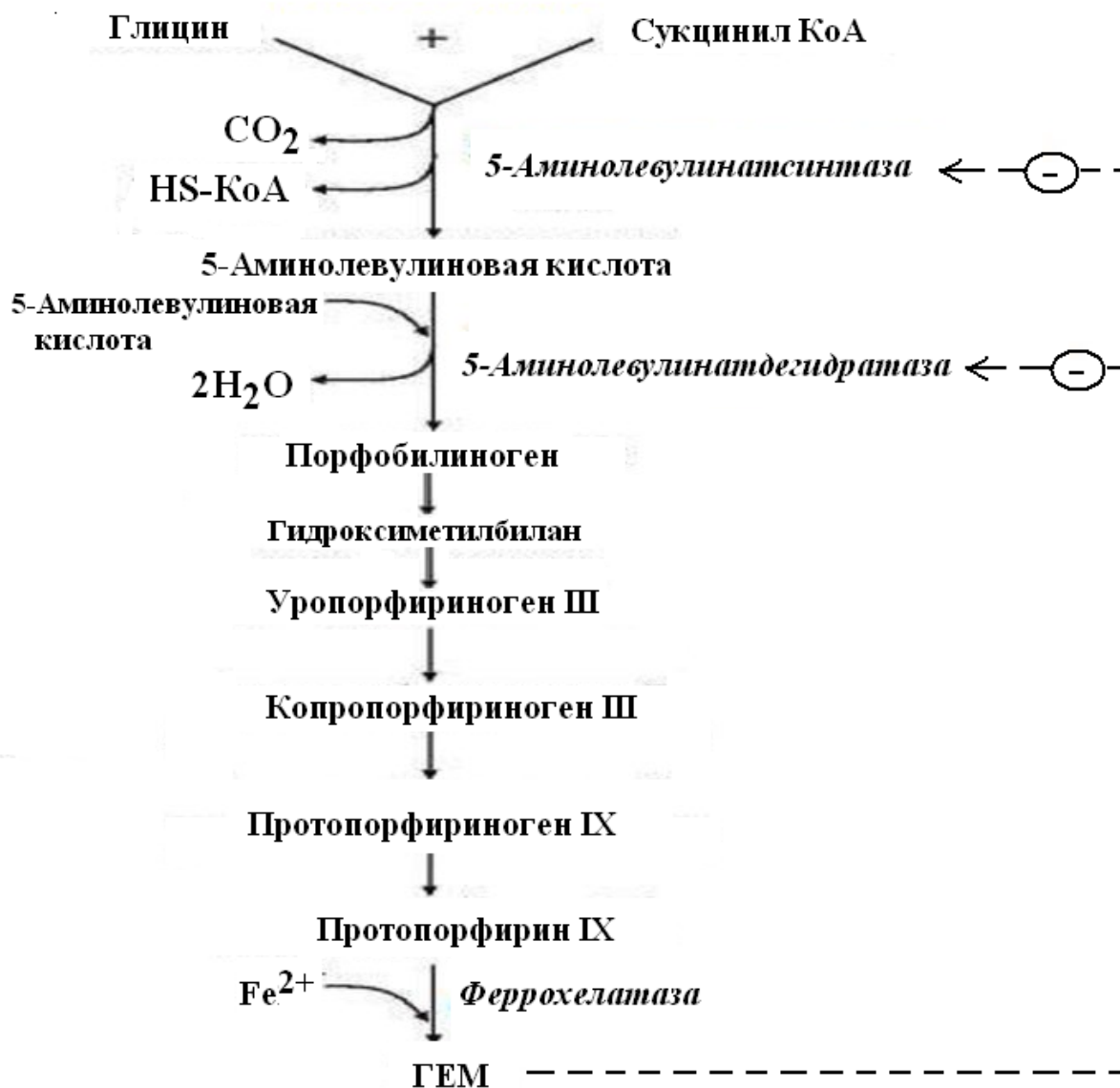
Синтез гема происходит практически во всех тканях, но в большей степени – костном мозге и печени (рис. 29.4). В костном мозге гемм используется для синтеза гемоглобина, в печени – для образования цитохрома P<sub>450</sub>.

Первая реакция синтеза гема – образование **5-аминолевуленовой кислоты** из глицина и сукцинил-КоА, происходит в митохондриях. Реакцию катализирует пиридоксаль-зависимая **5-аминолевуленатсинтаза**.

Затем **5-аминолевуленовая кислота** переносится из митохондрии в цитозоль, где происходят остальные этапы синтеза гема. Сначала происходит соединение 2 молекул **5-аминолевуленовой кислоты** с образованием 1 молекулы **порфобилиногена**. Эта реакция катализируется **5-аминолевуленатдегидратазой**, с выделением 2 молекул воды.

В дальнейшем идет превращение **порфобилиногена** с последовательным образованием **гидроксиметилбилана**, **уропорфобилиногена III**, **копропорфириногена III**. **Копропорфириноген III** из цитоплазмы переносится в митохондрию, где происходят заключительные этапы синтеза гема.





**Рисунок 29.4. – Регуляция синтеза гема**

**Регуляция синтеза гема:** Фермент **5-аминолевуленатсинтаза** регулируется аллостерически и на уровне трансляции. Ингибитором активности фермента является гем. Вторым регуляторным ферментом является **5-аминолевуленатдегидратаза**, которая также аллостерически ингибируется гемом. Активность **5-аминолевуленатдегидратазы** почти в 80 раз превышает активность **5-аминолевуленатсинтазы**, поэтому активность 2-го фермента синтеза гема не играет существенной роли.

## **Биохимические механизмы развития печеночной недостаточности**

**Печеночная недостаточность** – состояние, объединяющее различные нарушения функции печени, которые могут в дальнейшем полностью компенсироваться, прогрессировать или длительно стабилизироваться. В тяжелых случаях печеночная недостаточность заканчивается **печеночной комой**.

Причиной печеночной недостаточности является целый ряд заболеваний и токсические агенты, вызывающие повреждения паренхимы печени:

- острый гепатит;
- алкогольный цирроз или цирроз другой этиологии;
- опухоли печени;
- обширные травмы или ожоги;
- сепсис;
- отравление гепатотропными ядами и лекарственными препаратами.

При печеночной недостаточности происходит снижение функций этого органа, которое и определяет клиническую картину в каждом конкретном случае. Естественно, что при печеночной недостаточности происходит не изолированное снижение какой-либо одной функции печени, а ряд этих функций изменяется в определенной степени. Наиболее важным фактором, определяющим тяжесть состояния, является нарушение **белоксинтезирующей** и **обезвреживающей** функций печени.

Признаки печеночной недостаточности:

- низкий уровень общего белка и альбуминов;
- снижение концентрации факторов свертывания крови, синтезируемых в печени (вначале снижается синтез VII фактора, затем – II, IX, X); удлинение протромбинового времени и развитие геморрагических проявлений;
- гипербилирубинемия;
- снижение концентрации мочевины в плазме крови и накопление аммиака;
- тяжелые нарушения обмена электролитов – гипокалиемия, гипонатриемия, гипокальциемия, развивается гипокалиемический внеклеточный алкалоз в сочетании с внутриклеточным

ацидозом, что усиливает токсическое действие аммиака;

– увеличение содержания в крови фенолов и производных индола, ароматических и серосодержащих аминокислот, низкомолекулярных жирных кислот (масляная, валерьяновая, капроновая и др.); эти соединения обладают церебротоксическим действием.

Повреждение печени обычно обратимо вследствие высокой регенеративной способности данного органа, но метаболические нарушения при печеночной недостаточности достаточно тяжелые. Накопление токсических веществ, в первую очередь аммиака, билирубина и чужеродных соединений, является основной причиной развития энцефалопатии и наступления печеночной комы.

### **Биохимические методы диагностики поражений печени**

Биохимические лабораторные тесты могут быть высокочувствительными индикаторами повреждения печени. Результаты биохимических анализов указывают на природу болезни печени, позволяют оценить степень тяжести патологического процесса и гораздо реже дают основания для постановки специфического диагноза.

Для оценки функционального состояния печени при разных заболеваниях (острый и хронический гепатит, цирроз, холестаз, опухоли) используют **комплекс** биохимических показателей и тестов.

- Исследование пигментного обмена – определение в крови и моче **билирубина** и продуктов его биотрансформации.

- Определение **альбумина** и других белков сыворотки крови позволяет оценить белоксинтезирующую функцию печени. Выраженность изменений зависит от тяжести и длительности заболевания (концентрация альбумина снижается только при хронических заболеваниях печени).

- Определение активности ряда **ферментов**:

- **АсАТ и АлАТ** – активность трансаминаз увеличивается при повреждении гепатоцитов;

- **γ-глутамилтрансфераза (ГГТ)**, активность фермента является очень чувствительным, но не специфичным показателем

заболеваний печени, ее изолированное повышение может быть следствием злоупотребления алкоголем;

– **щелочная фосфатаза**, её активность повышена при внутри- и внепеченочном холестазае.

• Определение активности органоспецифических ферментов печени: фруктозо-1-фосфатаальдолаза; сорбитолдегидрогеназа; орнитинкарбамойлтрансфераза; ЛДГ<sub>5</sub>.

Изменение активности этих ферментов специфично для повреждений печени и может быть использовано для тонкой диагностики заболеваний данного органа.

• **Осадочные пробы** – представляют группу методов, основанных на взаимодействии разных реагентов с коллоидной системой белков сыворотки крови, при котором развивается преципитационное помутнение или осаждение. Устойчивость коллоидной системы крови нарушается главным образом из-за диспротеинемии, развивающейся при хронических диффузных заболеваниях печени: тимоловая проба – один из самых надежных тестов оценки функционального состояния печени; цинк-сульфатная проба; коагуляционная проба Вельтмана.

## ГЛАВА 30

# ВОДНО-ЭЛЕКТРОЛИТНЫЙ ОБМЕН

### Распределение жидкости в организме

Для выполнения специфических функций клеткам необходима устойчивая среда обитания, включая стабильное обеспечение питательными веществами и постоянное выведение продуктов обмена. Основу внутренней среды организма составляют жидкости. На них приходится 60-70% массы тела. Все жидкости организма распределяются между двумя главными жидкостными компартментами: внутриклеточным и внеклеточным.

Внутриклеточная жидкость – жидкость, содержащаяся внутри клеток. У взрослых на внутриклеточную жидкость приходится  $\frac{2}{3}$  всей жидкости (30-40% массы тела). Внеклеточная жидкость – жидкость, находящаяся вне клеток. У взрослых на внеклеточную жидкость приходится  $\frac{1}{3}$  всей жидкости, (20-25% массы тела). Внеклеточная жидкость подразделяется на несколько типов:

1. Интерстициальная (межклеточная) жидкость – жидкость, окружающая клетки. Лимфа является интерстициальной жидкостью.

2. Внутрисосудистая жидкость – жидкость, находящаяся внутри сосудистого русла (плазма крови).

3. Трансцеллюлярная жидкость – жидкость, содержащаяся в специализированных полостях тела. К трансцеллюлярным жидкостям относятся спинномозговая, перикардальная, плевральная, синовиальная, внутриглазная, а также пищеварительные соки.

В отдельных тканях и органах организма содержание воды различно: в цельной крови содержится в среднем 80% воды, в мышцах — 75%, в жировой ткани — 25-30%, в костной ткани — 20-40%, в почках — 80%, в печени — 74%, в коже — 70%.

### Состав жидкостей

Все жидкости состоят из воды и растворенных в ней веществ.

## Вода

Вода является основным компонентом человеческого организма. У взрослых мужчин вода составляет 60-65%, а у женщин – 55-60% массы тела. К факторам, влияющим на количество воды в организме, относятся:

1. Возраст. Как правило, количество воды в организме с возрастом уменьшается. У новорожденного количество воды составляет 70% массы тела, в возрасте 6-12 месяцев – 60%, у пожилого человека 45-55%. Снижение количества воды с возрастом происходит вследствие уменьшения мышечной массы.

2. Жировые клетки. Содержат мало воды, поэтому количество воды в организме снижается с увеличением содержания жира.

3. Пол. Женский организм имеет относительно меньше воды, так как содержит относительно больше жира.

## Растворенные вещества

В жидкостях организма содержатся два типа растворенных веществ – неэлектролиты и электролиты.

1. *Неэлектролиты.* К клинически важным неэлектролитам относятся глюкоза, мочеви́на, креатинин, билирубин.

2. *Электролиты.* Электролитный состав жидкостей представлен в таблице 30.1.

Таблица 30.1. – Основные электролиты жидкостных компартментов организма (приведены средние значения)

Содержание электролитов, мг-экв/л	Внеклеточная жидкость		Внутриклеточная жидкость
	плазма	интерстициальная жидкость	
Na <sup>+</sup>	140	140	10
K <sup>+</sup>	4	4	150
Ca <sup>2+</sup>	5	2,5	0
Cl <sup>-</sup>	105	115	2
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	2	2	35
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	27	30	10

Основными внеклеточными катионами являются Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, а внутриклеточными – K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>. Вне клетки преобладают анионы Cl<sup>-</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, а главным анионом клетки является PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>. Внутрисосудистая и интерстициальная жидкости имеют одинаковый состав, так как эндотелий капилляров свободно проницаем для ионов и воды. Различие состава внеклеточной и внутриклеточной

точной жидкостей обусловлено:

- 1) непроницаемостью клеточной мембраны для ионов;
- 2) функционированием транспортных систем и ионных каналов.

### **Характеристики жидкостей**

Кроме состава, важное значение имеют общие характеристики (параметры) жидкостей. К ним относятся: объем, осмоляльность и рН.

#### **Объем жидкостей**

Объем жидкости зависит от количества воды, которая присутствует в данный момент в конкретном пространстве. Однако вода переходит пассивно, в основном за счет  $\text{Na}^+$ .

Жидкости взрослого организма имеют объем:

внутриклеточная жидкость – 27 л;

внеклеточная жидкость – 15 л;

в том числе:

интерстициальная жидкость – 11 л;

плазма – 3 л;

трансцеллюлярная жидкость – 1 л.

### **Вода, биологическая роль, обмен воды**

Вода играет важную роль, являясь универсальной средой биохимических процессов в организме, в которой значительная часть органических и неорганических соединений находится в растворенном состоянии.

Вода в организме находится в трех состояниях:

1. Конституционная (прочно связанная) вода. Входит в структуру белков, жиров, углеводов.

2. Слабосвязанная вода диффузионных слоев и внешних гидратных оболочек биомолекул.

3. Свободная, мобильная вода. Является средой, в которой растворяются электролиты и неэлектролиты.

Между связанной и свободной водой существует состояние динамического равновесия. Так, синтез 1 г гликогена или белка требует 3 г  $\text{H}_2\text{O}$ , которая переходит из свободного состояния в связанное.

Вода в организме выполняет следующие **биологические функции**:

1. Растворитель биологических молекул.
2. Метаболическая – участие в биохимических реакциях (гидролиз, гидратация, дегидратация и др.).
3. Структурная – обеспечение структурной прослойки между полярными группами в биологических мембранах.
4. Механическая – способствует сохранению внутриклеточного давления, формы клеток (тургор).
5. Регулятор теплового баланса (сохранение, распределение, отдача тепла).
6. Транспортная – обеспечение переноса растворенных веществ.

### Обмен воды

Суточная потребность в воде для взрослого человека составляет около 40 мл на 1 кг массы или около 2500 мл. Время пребывания молекулы воды в организме взрослого человека составляет около 15 дней, в организме грудного ребенка – до 5 дней. В норме имеется постоянный баланс между поступлением и потерей воды (рис. 30.1).



**Рисунок 30.1. – Водный баланс (внешний водный обмен) организма**

Водный баланс организма зависит от многих факторов:

- характера питания;
- физической активности;
- климатических условий;
- физиологического состояния (например, при лактации вы-



ведение воды из организма увеличивается);

– действия патологических факторов (при кровотечениях, рвоте, диарее водный баланс нарушается за счет дополнительной автономной потери воды).

### **Регуляция объема внеклеточной жидкости**

Значительные колебания объема интерстициальной части внеклеточной жидкости могут наблюдаться без выраженного влияния на функции организма. Сосудистая часть внеклеточной жидкости менее устойчива к изменениям и должна тщательно контролироваться, чтобы ткани адекватно снабжались питательными веществами при одновременном непрерывном удалении продуктов метаболизма. Объем внеклеточной жидкости зависит от количества натрия в организме, поэтому регуляция объема внеклеточной жидкости связана с регуляцией обмена натрия. Центральное место в этой регуляции занимает альдостерон.

#### **Альдостерон**

**Альдостерон** – стероидный гормон, синтезирующийся из холестерина в клетках клубочкового слоя коры надпочечников – это основной минералокортикоид. Клетками-мишенями гормона являются дистальные каналцы и собирательные трубочки почек.

Альдостерон участвует в регуляции баланса электролитов, поддержании объёма крови и артериального давления. Альдостерон связывается с внутриклеточными рецепторами, стимулирует транскрипцию генов и синтез белков, которые открывают натриевые каналы в апикальной мембране. В результате повышенное количество натрия входит в главные клетки и активирует  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазу базолатеральной мембраны. Усиленный транспорт  $\text{Na}^+$  в клетку приводит к повышенной секреции  $\text{K}^+$  через калиевые каналы в просвет каналца.

Конечным результатом действия альдостерона является **увеличение объёма циркулирующей крови и повышение артериального давления**. В патологических случаях гиперальдостеронизма это приводит к развитию отёков, гипернатриемии, гипокалиемии, гиперволемии, артериаль-

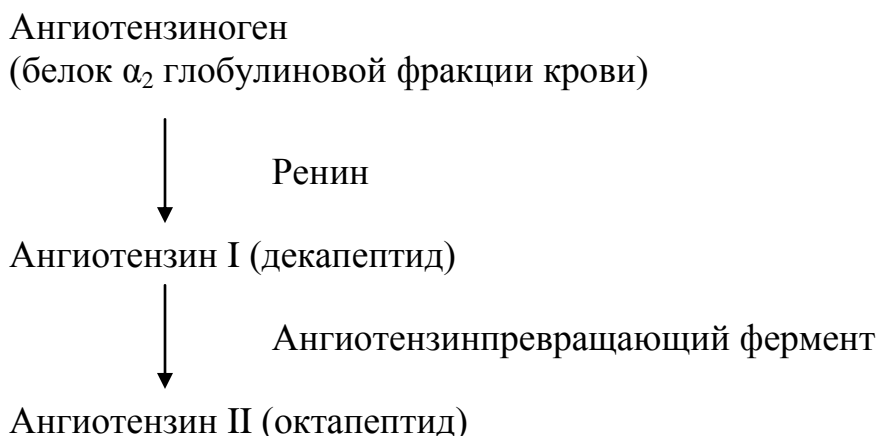
ной гипертензии и иногда застойной сердечной недостаточности. Регуляция синтеза и секреции альдостерона осуществляется преимущественно **ангиотензином-II**.

### Роль системы ренин-ангиотензин

Система ренин-ангиотензин играет важную роль в регуляции осмоляльности и объема внеклеточной жидкости.

#### Активация системы

При снижении артериального давления или концентрации ионов  $\text{Na}^+$  в приносящих артериолах почек в гранулярных клетках юкстагломерулярного аппарата почек синтезируется и секретируется в кровь протеолитический фермент – **ренин**. Ренин катализирует превращение **ангиотензиногена** (белок  $\alpha_2$ -глобулиновой фракции, синтезируется в печени) в малоактивный **ангиотензин I**. От ангиотензина I под действием ангиотензинпревращающего фермента отделяется дипептид, и образуется **ангиотензин II** (рис. 30.2).



**Рисунок 30.2. – Активация системы ренин-ангиотензин**

Ангиотензин II взаимодействует с мембранными рецепторами почек, головного мозга, гипофиза, коры надпочечников, стенок кровеносных сосудов и сердца. Благодаря выраженному сосудосуживающему действию он повышает кровяное давление, в почках способствует уменьшению экскреции ионов  $\text{Na}^+$  и воды, активирует центр жажды в гипоталамусе. В гипофизе он стимулирует секрецию вазопрессина. В коре надпочечников ангиотензин II стимулирует биосинтез и секрецию альдостерона,

который в почках способствует уменьшению экскреции натрия и воды. Разнообразное действие ангиотензина II прямо или косвенно ведёт к **повышению кровяного давления и уменьшению выведения из организма натрия и воды.**

### **Вазопрессин (антидиуретический гормон, АДГ)**

**Вазопрессин** синтезируется в гипоталамусе, накапливается в задней доле гипофиза. Секрецию вазопрессина стимулирует увеличение осмоляльности крови, которое воспринимается осморецепторами мозга, или уменьшение её объёма, которое воспринимается барорецепторами кровеносных сосудов. Гормон секретируется в кровь, связывается с рецепторами собирательных трубочек нефрона. После взаимодействия вазопрессина с рецепторами в клетках почечных канальцев увеличивается концентрация цАМФ, этот вторичный посредник активирует протеинкиназу А, и в апикальную мембрану встраиваются водные каналы - аквапорин 2.

Результатом действия вазопрессина является **увеличение проницаемости эпителия собирательных трубочек для воды, что ведёт к усилению её реабсорбции.** Помимо антидиуретического гормон оказывает **сосудосуживающее (вазопрессорное) действие.**

### **Предсердный натрийуретический фактор**

Предсердный натрийуретический фактор (ПНФ) синтезируется в основном правым предсердием. ПНФ является пептидом и выделяется в ответ на любые события, приводящие к увеличению объема предсердия. ПНФ, в отличие от ангиотензина II и альдостерона, **снижает объем циркулирующей крови и артериальное давление.** Гормон обладает следующими биологическими эффектами:

1. Повышает экскрецию почками натрия и воды (за счет усиления фильтрации).
2. Уменьшает синтез ренина и выброс альдостерона.
3. Снижает выброс АДГ.
4. Вызывает прямую вазодилатацию.

## Нарушения водно-электролитного обмена и кислотно-основного равновесия

### Обезвоживание

Обезвоживание (дегидратация) организма — это патологическое состояние, обусловленное уменьшением содержания воды в организме. Обезвоживание ведет к уменьшению объема внеклеточной жидкости – гиповолемии. Развивается вследствие:

1. Аномальной потери жидкости через кожу, желудочно-кишечный тракт (рвота, диарея).
2. Снижения поступления воды.
3. Полиурии (при сахарном и несахарном диабете, некоторых болезнях почек, аддисоновой болезни, неправильном применении мочегонных средств).
4. Перемещения жидкости в третье пространство (например, в плевральную полость; полость брюшины с образованием асцита; абсцессы различного генеза).

Выраженное снижение объема внеклеточной жидкости может привести к гиповолемическому шоку. Продолжительная гиповолемия может вызвать развитие почечной недостаточности. Различают 3 типа обезвоживания:

1. Изотоническое – равномерная потеря  $\text{Na}^+$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .
2. Гипертоническое – потеря воды превышает потерю солей (при диарее, рвоте, обильном потоотделении).
3. Гипотоническое – недостаток жидкости с превалированием недостатка  $\text{Na}^+$ .

В зависимости от типа потери жидкости дегидратация сопровождается снижением или повышением показателей осмоляльности, КОР, уровня  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ . Потеря воды, соответствующая снижению массы тела на 10—20%, опасна для жизни.

### Отеки

Отеки – одно из наиболее тяжелых нарушений водно-электролитного обмена, характеризующееся усиленным выходом жидкости из сосудистого микроциркуляторного русла в интерстициальное пространство или клеточные элементы различных органов и тканей. При этом происходит набухание основного вещества соединительной ткани. Отечная жидкость образуется из плазмы

крови вследствие действия следующих факторов:

1. Снижение концентрации альбуминов в плазме крови.
2. Повышение уровня АДГ, альдостерона, вызывающее задержку воды, натрия.
3. Увеличение проницаемости капилляров.
4. Повышение капиллярного гидростатического давления крови.
5. Избыток или перераспределение натрия в организме.
6. Нарушение циркуляции крови (например, сердечная недостаточность).

### **Нарушения кислотно-основного равновесия (КОР)**

Нарушения наступают при неспособности механизмов поддержания КОР предотвращать сдвиги. Могут наблюдаться два крайних состояния. **Ацидоз** – повышение концентрации ионов водорода или потеря оснований, приводящие к уменьшению рН. **Алкалоз** – возрастание концентрации оснований или снижение концентрации ионов водорода, вызывающее увеличение рН.

Изменения рН крови ниже 7,0 или выше 8,8 вызывают смерть организма.

К нарушению КОР приводят следующие патологические состояния:

- 1) нарушение выведения углекислого газа легкими;
- 2) избыточная продукция кислых продуктов тканями;
- 3) нарушения выведения оснований с мочой, фекалиями.

С точки зрения механизмов развития различают несколько типов нарушений КОР.

**Дыхательный ацидоз** – вызывается повышением  $p\text{CO}_2$  выше 40 мм рт. ст. за счет гиповентиляции при заболеваниях легких, ЦНС, сердца.

**Дыхательный алкалоз** – характеризуется снижением  $p\text{CO}_2$  менее 40 мм рт. ст., является результатом повышения альвеолярной вентиляции и наблюдается при психическом возбуждении, заболеваниях легких (пневмонии).

**Метаболический ацидоз** – следствие первичного снижения концентрации бикарбонатов в плазме крови, что наблюдается при накоплении нелетучих кислот (кетоацидоз, лактоацидоз), потере

оснований, снижении экскреции кислот почками.

**Метаболический алкалоз** – возникает при увеличении уровня бикарбонатов плазмы крови и наблюдается при рвоте, использовании диуретиков.

### **Минеральные компоненты тканей, биологические функции**

В организме человека обнаружено большинство элементов, встречающихся в природе. С точки зрения количественного содержания в организме, их можно разделить на 3 группы:

1. Макроэлементы – содержание в организме более  $10^{-2}$  %. К ним относятся – натрий, калий, кальций, хлор, магний, фосфор.

2. Микроэлементы – содержание в организме от  $10^{-2}$  % до  $10^{-5}$  %. К ним относятся – цинк, молибден, иод, медь и др.

3. Ультрамикроэлементы – содержание в организме менее  $10^{-5}$  %, например, серебро, алюминий и др.

В клетках минеральные вещества находятся в виде ионов.

### **Основные биологические функции**

1. Структурная – участие в формировании пространственных структур биополимеров и других веществ.

2. Кофакторная – участие в образовании активных центров ферментов.

3. Осмотическая – поддержание осмоляльности и объема жидкостей.

4. Биоэлектрическая – генерация мембранного потенциала.

5. Регуляторная – ингибирование или активирование ферментов.

6. Транспортная – участие в переносе кислорода, электронов.

### **Натрий: биологическая роль, обмен, регуляция**

*Биологическая роль:*

- поддержание водного баланса и осмоляльности внеклеточной жидкости;

- поддержание осмотического давления, объема внеклеточной жидкости;

- регуляция кислотно-основного равновесия;
- обеспечение нервно-мышечного возбуждения;
- передача нервного импульса;
- вторично активный транспорт веществ через биологические мембраны.

#### *Обмен*

В организме человека содержится около 100 г натрия, который распределен преимущественно во внеклеточной жидкости. Натрий поступает с пищей в количестве 4-5 г в сутки и всасывается в проксимальном отделе тонкой кишки.  $T_{1/2}$  (время полуобмена) для взрослых 11-13 суток. Выделяется натрий из организма с мочой (3,3 г/сут), потом (0,9 г/сут), калом (0,1 г/сут).

#### *Регуляция обмена*

Основная регуляция обмена осуществляется на уровне почек. Они отвечают за реабсорбцию избытка натрия и способствуют его сохранению при недостатке. Почечную реабсорбцию:

- усиливают: ангиотензин II, альдостерон;
- уменьшает ПНФ.

## **Калий, биологическая роль, обмен, регуляция**

#### *Биологическая роль:*

- участие в поддержании осмотического давления;
- участие в поддержании кислотно-основного равновесия;
- проведение нервного импульса;
- обеспечение нервно-мышечного возбуждения;
- участие в сокращении мышц;
- активация ферментов.

#### *Обмен*

Калий – основной внутриклеточный катион. В организме человека содержится 140 г калия. С пищей ежедневно поступает около 3-4 г калия, который всасывается в проксимальном отделе тонкой кишки.  $T_{1/2}$  калия – около 30 суток. Выводится с мочой (3 г/сут), калом (0,4 г/сут), потом (0,1 г/сут).

#### *Регуляция обмена*

Несмотря на небольшое содержание  $K^+$  в плазме, его концентрация регулируется очень строго. Поступление  $K^+$  в клетки усиливают адреналин, альдостерон, инсулин. Общий баланс  $K^+$

регулируется на уровне почек. Альдостерон усиливает выделение  $K^+$  за счет стимуляции секреции в почечных канальцах. При гипокалиемии регуляторные возможности почек ограничены.

## **Кальций, биологическая роль, обмен, регуляция**

### *Биологическая роль:*

- структурный компонент костной ткани, зубов;
- участие в сокращении мышц;
- обеспечение нервно-мышечного возбуждения;
- внутриклеточный посредник гормонов;
- фактор системы свертывания крови;
- активация ферментов (амилаза, липаза);
- секреторная активность железистых клеток.

### *Обмен*

В организме содержится около 1 кг кальция: в костях – около 1 кг, в мягких тканях, преимущественно внеклеточно – около 14 г. С пищей поступает 1 г в сутки, а всасывается 0,3 г/сутки.  $T_{1/2}$  для кальция, содержащегося в организме, около 6 лет, для кальция костей скелета – 20 лет. В плазме крови кальций содержится в двух видах:

1. Недиффундируемый, связанный с белками (альбумином), биологически неактивный – 40%.
2. Диффундируемый, состоящий из 2-х фракций:
  - ионизированный (свободный) – 50%;
  - комплексный, связанный с анионами: фосфатом, цитратом, карбонатом – 10%.

Все формы кальция находятся в динамическом обратимом равновесии. Физиологической активностью обладает только ионизированный кальций. Кальций выделяется из организма: с калом – 0,7 г/сутки; с мочой 0,2 г/сутки; с потом 0,03 г/сутки.

### *Регуляция обмена*

В регуляции обмена  $Ca^{2+}$  имеют значение 3 фактора:

1. Паратгормон – увеличивает выход кальция из костной ткани, стимулирует его реабсорбцию в почках, а также активирует превращение витамина D в его активную форму  $D_3$  и повышает всасывание кальция в кишечнике.

2. Кальцитонин – уменьшает выход  $Ca^{2+}$  из костной ткани.



3. Активная форма витамина D – 1,25-дигидроксихолекальциферол стимулирует всасывание кальция в кишечнике.

В конечном итоге действие паратгормона и витамина D<sub>3</sub> направлено на повышение концентрации Ca<sup>2+</sup> во внеклеточной жидкости, в том числе в плазме, а действие кальцитонина – на понижение этой концентрации.

### **Фосфор, биологическая роль, обмен, регуляция**

#### *Биологическая роль:*

- структурный компонент костной ткани;
- входит в состав ДНК, РНК, фосфолипидов, коферментов;
- образование макроэргов;
- фосфорилирование (активация) субстратов;
- поддержание кислотно-основного равновесия;
- регуляция метаболизма (фосфорилирование, дефосфорилирование белков, ферментов).

#### *Обмен*

В организме содержится 650 г фосфора, из них в скелете – 8,5%, в клетках мягких тканей – 14%, во внеклеточной жидкости – 1%. Поступает около 2 г в сутки, из которых всасывается до 70%. T<sub>1/2</sub> кальция мягких тканей – 20 суток, скелета – 4 года. Выводится фосфор: с мочой – 1,5 г/сутки, с калом – 0,5 г/сутки, с потом – около 1 мг/сутки.

#### *Регуляция обмена*

Паратгормон усиливает выход фосфора из костной ткани и выведение его с мочой, а также увеличивает всасывание в кишечнике. Обычно концентрация кальция и фосфора в плазме крови изменяются противоположным образом. Однако при гиперпаратиреозе повышаются уровни обоих, а при рахите – снижаются.

### **Эссенциальные микроэлементы**

Эссенциальные микроэлементы – микроэлементы, без которых организм не может расти, развиваться и совершать свой ес-

тественный жизненный цикл. К эссенциальным элементам относятся: железо, медь, цинк, марганец, хром, селен, молибден, иод, кобальт. Для них установлены основные биохимические процессы, в которых они участвуют. Характеристика жизненно-важных микроэлементов приведена в таблице 30.2.

Таблица 30.2. – Эссенциальные микроэлементы, краткая характеристика

№ п/п	Микро-элемент	Содержание в организме (в среднем)	Основные функции
1.	Медь	100 мг	Компонент оксидаз (цитохромоксидаза), участие в синтезе гемоглобина, коллагена, иммунных процессах
2.	Железо	4,5 г	Компонент гем-содержащих ферментов и белков
3.	Иод	15 мг	Необходим для синтеза гормонов щитовидной железы
4.	Кобальт	1,5 мг	Компонент витамина В <sub>12</sub>
5.	Хром	15 мг	Участвует в связывании инсулина с рецепторами клеточных мембран, образует комплекс с инсулином и стимулирует проявление его активности
6.	Марганец	15 мг	Кофактор и активатор многих ферментов (пируваткиназа, декарбоксилаза), участие в синтезе гликопротеинов и протеогликанов, антиоксидантное действие
7.	Молибден	10 мг	Кофактор и активатор оксидаз (ксантиноксидаза, сериноксидаза)
8.	Селен	15 мг	Входит в состав селенопротеинов, глутатионпероксидазы
9.	Цинк	1,5 г	Кофактор ферментов (ЛДГ, карбоангидраза, РНК и ДНК-полимеразы)

## ГЛАВА 31

### БИОХИМИЯ ПОЧЕК И МОЧИ

Почка – парный орган, основной структурной единицей которого является нефрон. Благодаря хорошему кровоснабжению, почки находятся в постоянном взаимодействии с другими тканями и органами и способны влиять на состояние внутренней среды всего организма.

#### **Функции** почек:

– мочеобразовательная и экскреторная: почками выводятся из организма конечные продукты катаболизма, продукты обезвреживания токсичных веществ, избыток веществ, всосавшихся в кишечнике или образовавшихся в процессе метаболизма, ксенобиотики;

– гомеостатическая: почками регулируются осмоляльность и объем внеклеточной жидкости, водно-солевой гомеостаз, кислотно-щелочное равновесие;

– эндокринная: в почках синтезируются простагландины, эритропоэтин, гормонально активная форма витамина D<sub>3</sub>, протеолитический фермент ренин;

– метаболическая: в почках происходит синтез некоторых факторов регуляции системы свертывания крови (урокиназа), системы комплемента, фибринолиза; почки участвуют и в катаболизме некоторых белков и пептидов, имеющих низкую молекулярную массу; к ним относятся гормоны и другие биологически активные вещества. В клетках канальцев под действием лизосомальных протеолитических ферментов эти белки и пептиды гидролизуются до аминокислот, которые поступают в кровь и утилизируются клетками других тканей.

#### **Особенности биохимических процессов в почечной ткани**

##### **Особенности энергетического обмена в почках**

Почки характеризуются самым высоким энергетическим обменом. АТФ образуется в почках в основном в реакциях аэробного окисления, интенсивность которых отражает потребление кислорода. При массе всего 0,5% от общей массы тела, почки по-

требляют 10% от всего поступившего в организм кислорода. Потребление энергии на единицу массы в почках больше, чем в любом другом органе. При этом, в корковом веществе почек выражен аэробный процесс, в мозговом преобладает анаэробный.

Основными субстратами для реакций аэробного окисления являются: жирные кислоты; кетоновые тела и глюкоза. Основной расход АТФ связан с процессами активного транспорта при реабсорбции, секреции, а также с биосинтезом белков.

### **Особенности обмена углеводов в почках**

Глюкоза обеспечивает до 10% энергопотребностей почек. Большая активность аэробного распада глюкозы связана с интенсивным энергообменом. НАДФН+Н<sup>+</sup>, синтезируемый в ходе окислительного этапа пентозофосфатного пути, используется в реакциях микросомального окисления.

В почках активно протекает глюконеогенез, в норме он составляет в кровь около 20% глюкозы, а при полном голодании или печеночной недостаточности – до 50%.

Ключевой фермент глюконеогенеза – почечная пируват-карбоксилаза, его активность повышается в кислой среде и снижается в щелочной. Это имеет большое значение для регуляции КОР: кислые лактат, пируват, аминокислоты превращаются в нейтральную глюкозу.

В почках синтезируется много гликозаминогликанов.

### **Особенности обмена липидов в почках**

В почках синтезируется много холестерина и фосфолипидов. В сосудистом эндотелии и эпителиальных клетках канальцев из арахидоновой кислоты синтезируются эйкозаноиды.

В почках образуется активная форма витамина Д<sub>3</sub>. Предшественник витамина Д<sub>3</sub> синтезируется в коже под действием ультрафиолетовых лучей из холестерина и затем в реакции микросомального окисления гидроксилируется: сначала в печени (в положении 25), а затем в почках (в положении 1).

В почках активно протекает β-окисление ЖК (на их окисление расходуется 80% кислорода, поступающего в почки).

### **Особенности обмена белков и аминокислот в почках**

Почки характеризуются высокой скоростью синтеза белков. В почках образуется большое количество ферментов (ЛДГ, АСТ, АЛТ, глутаматдегидрогеназа, глицин-аминотрансфераза), синтезируются отдельные компоненты системы свертывания, фибринолиза и системы комплемента крови.

В клетках юкстагломерулярного аппарата синтезируется протеолитический фермент ренин, который участвует в регуляции тонуса сосудистого тонуса, артериального давления и водно-солевого обмена.

В почках синтезируется кининоген – предшественник вазоактивных пептидов: брадикинина и каллидина. Брадикинин и каллидин обладают сосудорасширяющим действием.

В почках вырабатывается гликопротеин эритропоэтин, который стимулирует образование эритроцитов из стволовых клеток красного костного мозга.

В почках наблюдается высокая активность протеолитических ферментов. Они участвуют в катаболизме белков с низкой молекулярной массой (5-6 кДа) и пептидов, которые фильтруются в первичную мочу. В клетках канальцев, под действием лизосомальных протеолитических ферментов эти белки и пептиды гидролизуются до аминокислот, которые идут на глюконеогенез или поступают в кровь. При этом большое значение имеет гидролиз гормонов, например, инсулина и других биологически активных веществ белковой природы.

В почках наблюдается высокая активность фермента глутаминазы, который катализирует распад глутамина с образованием  $\text{NH}_3$  и тем самым участвует в поддержании кислотно-основного равновесия.

В почках происходит начальная реакция синтеза креатина.

### **Общие свойства мочи**

**Объем мочи.** Объем суточной мочи в норме колеблется от 1000 до 2500 мл. Индивидуальный объем мочи зависит от количества принятой воды и пищи, и от потерь с дыханием, потом и стулом. **Олигоурия** – уменьшение суточного количества мочи менее 400 мл – наблюдается при недостаточном приеме жидкости, лихорадочных состояниях, рвоте, диарее, остром нефрите и др.

**Анурия** – уменьшение суточного количества мочи менее 100

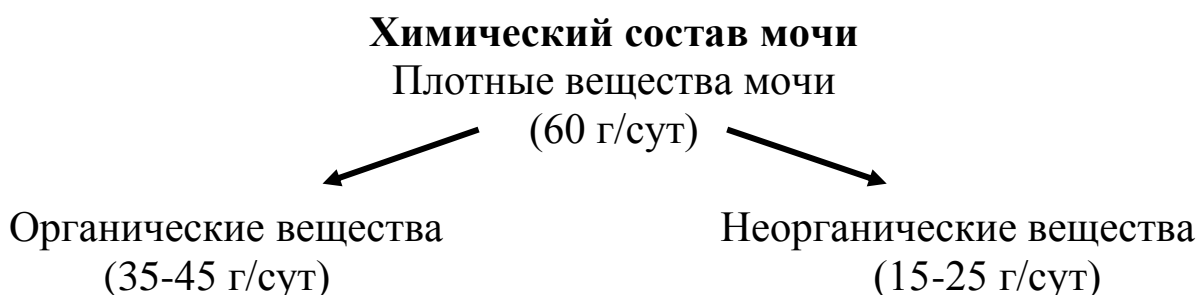
мл – наблюдается при закупорке мочеточников, сильном стрессе, при тяжелых поражениях почечной паренхимы, отравлениях свинцом, ртутью, мышьяком. **Полиурия** – увеличение суточного количества мочи более 2,1 л – наблюдается при сахарном и несахарном диабете, хронических нефритах, пиелонефритах, приеме больших количеств жидкости.

**Плотность мочи** в норме – 1,015-1,029 кг/л. Плотность мочи зависит от ее объема. Уменьшение плотности мочи наблюдается при хроническом нефрите и сморщенной почке (нарушается концентрационная функция почек), при несахарном диабете. Увеличение плотности мочи может наблюдаться при сахарном диабете (за счет присутствия глюкозы) и остром нефрите.

**Цвет мочи.** В норме цвет мочи желтый благодаря присутствию пигментов урохрома, уроэритрина, уробилина. Цвет мочи изменяется в зависимости от наличия в ней окрашенных компонентов: розово-красный – при гематурии и гемоглобинурии; коричневый – при высокой концентрации билирубина и уробилина; зеленый – при усилении процессов гниения белков в кишечнике; черный – при алкаптонурии.

**Прозрачность мочи.** В норме моча прозрачна. Мутность мочи может быть обусловлена присутствием солей, крови, слизи, эпителиальных клеток, бактерий.

**Реакция мочи.** В норме реакция мочи кислая – рН 5,3-6,5. Снижение рН мочи наблюдается при сахарном диабете, голодании за счет наличия кетоновых тел. Щелочная реакция мочи – при воспалительных процессах в мочевыводящих путях (циститы, пиелонефриты), приеме некоторых лекарственных препаратов.



Неорганические вещества:

ионы натрия, калия, магния, кальция, хлора, бикарбонаты,

фосфаты, сульфаты, аммонийные соли.

Органические вещества:

- мочевины (около 30 г/сут);
- мочевая кислота (около 0,7 г/сут);
- креатинин;
- креатин;
- аминокислоты (около 1,1 г/сут);
- безазотистые органические кислоты (щавелевая, молочная, янтарная, масляная и др.);
- пигменты (уроухром, уробилин);
- гормоны и продукты их распада (адреналин, ванилилминдальная кислота, 17-кетостероиды).

### Патологические компоненты мочи

Эти вещества в норме аналитическими методами в моче не определяются, так как находятся в крайне низких концентрациях. Обнаружение их в моче свидетельствует о патологии.

#### • Белок

В норме содержится в моче в минимальных количествах. Увеличение содержания белка в моче – протеинурия. Различают: 1) почечную протеинурию (при повреждении нефрона); 2) внепочечную (при повреждении мочевыводящих путей или предстательной железы).

• **Белок Бенс-Джонса** – парапротеин, выделяющийся с мочой при миеломной болезни, макроглобулинемии Вальденстрема.

#### • Глюкоза

В норме присутствует в следовых количествах (менее 0,02%). Появляется в моче (**глюкозурия**) при гипергликемии у пациентов с сахарным диабетом, тиреотоксикозом, при синдроме Иценко-Кушинга, остром панкреатите, стрессах, беременности, заболеваниях почек, связанных с нарушением реабсорбции глюкозы.

#### • Кетоновые тела

Нормальное содержание кетоновых тел в моче – 0,17-1,7 ммоль/сут. Повышение их содержания – **кетонурия** – наблюдается при сахарном диабете, голодании, тиреотоксикозе, кахексии, при эндогенной интоксикации.

- **Кровь**

**Гемоглобинурия** – выведение с мочой гемоглобина. Встречается при внутрисосудистом гемолизе эритроцитов; гемолитических анемиях; синдроме длительного сдавления тканей; отравлении сульфаниламидами, препаратами свинца, ядовитыми грибами и др. **Гематурия** – выведение с мочой эритроцитов. Гематурии бывают почечные (при острых нефритах) и внепочечные (при острых воспалительных процессах или травмах мочевыводящих путей).

- **Желчные пигменты**

В норме в моче содержится незначительное количество стеркобилина и отсутствует уробилиноген. Повышенное выделение с мочой билирубина – **билирубинурия** – наблюдается при паренхиматозной и обтурационной желтухе. Выделение с мочой уробилиногена наблюдается при паренхиматозной желтухе.



## ГЛАВА 32

### ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА В НЕРВНОЙ ТКАНИ

Человеческий мозг – это самая сложная из всех известных живых структур. Нервной системе и, в первую очередь, головному мозгу принадлежит важнейшая роль в координации поведенческих, биохимических, физиологических процессов в организме. С помощью нервной системы организм воспринимает изменения внешней среды и на них реагирует.

Нервная ткань состоит из нескольких типов клеток. Нейрон – это нервная клетка со всеми ее отростками. Для поддержания нормального функционирования нейрона существуют два механизма транспорта веществ:

1. Трансверсальный транспорт веществ – обмен веществами с внеклеточным пространством.
2. Лонгитудинальный транспорт – непрерывный обмен веществ между телом и отростками нейрона.

#### **Функции аксонального плазматического тока**

1. Непрерывное возмещение составных частей нейрона в норме и при патологии.
2. Освобождение веществ из нейрона в связи с синаптическим переносом, его трофическими и другими функциями.
3. Транспорт трофических веществ из целевого органа в тело нейрона.
4. Передача метаболической информации между отдельными участками нейрона.

В аксональном транспорте участвуют как внутриклеточные органоиды (митохондрии, лизосомы, синаптические пузырьки, нейрофиламенты), так и отдельные метаболиты (липиды, нуклеотиды, гликопротеины, свободные аминокислоты и др.).

Вторым типом клеток нервной ткани является глия. Нейроглия – система клеток, непосредственно окружающих нервные клетки головного и спинного мозга и прямо не участвующих в специфической функции нервной ткани. Популяция клеток глии в ЦНС более чем в 10 раз превышает количество нейронов. Нейрог-

лия специализируется на выполнении вспомогательных, в отношении нейронов, функций: опорной, трофической, изоляционной, секреторной, защитной, поглощения химических медиаторов, участия в восстановлении и регенерации (глиальные клетки сохраняют способность к делению в течение всей жизни организма).

#### **Методы биохимического анализа нейронов и глии:**

1. Метод микроманипуляций (1950-1960 гг. – Хиден и Эндстрем в Швеции, Лоури в США).
2. Метод количественной цитохимии – Касперсон, 30-е годы XX века.
3. Метод обогащения фракций – Rose, 1965 г.

### **Гемато-энцефалический барьер (ГЭБ)**

Большая часть стенок капилляров мозга (85-90%) покрыта выростами астроцитов, а остальная часть их поверхности окружена собственно телами глиальных клеток. Контакт между астроцитами и стенкой капилляров настолько тесен, что внешне поверхности мембран этих двух элементов как бы сливаются образуя двойную перегородку. Благодаря такой двойной перегородке, возникает барьер, через который с трудом проникают многие растворимые в крови вещества. Морфологическую основу ГЭБ составляют: эндотелий сосудов мозга, периваскулярная базальная мембрана и плазматическая мембрана глиальных клеток. Интенсивность проникновения в мозг ряда веществ через ГЭБ определяется не только состоянием ГЭБ, но и интенсивностью функционирования и метаболизма ЦНС. Уровень деятельности и метаболизма нервной ткани является фактором, регулирующим функцию ГЭБ. С одной стороны, ГЭБ играет роль в защите головного мозга от экзогенных и эндогенных токсинов, циркулирующих в крови, а с другой – препятствуют «ускользанию» нейромедиаторов и других активных соединений из интерстициальной жидкости в кровь. Однако наиболее важной функцией ГЭБ, по-видимому, является сохранение особой внутренней среды для головного мозга.

#### **Общие особенности метаболизма нервной ткани**

1. Высокая интенсивность в сравнении с другими тканями.

2. Высокий уровень обмена сохраняется при отсутствии большой функциональной активности – во время сна.
3. Метаболизм в периферических нервных волокнах отличается от обмена самих нервных клеток.
4. Общая интенсивность метаболизма в нервных волокнах низкая.

### **Обмен свободных аминокислот в головном мозге**

Аминокислоты играют важную роль в метаболизме и функционировании ЦНС. Это объясняется не только исключительной ролью аминокислот как источников синтеза большого числа биологически важных соединений, таких как белки, пептиды, некоторые липиды, ряд гормонов, витаминов, биологически активных аминов. Аминокислоты и их дериваты участвуют в синаптической передаче, в осуществлении межнейрональных связей в качестве нейротрансмиттеров и нейромодуляторов. Существенной является также их энергетическая значимость, ибо аминокислоты глутаминовой группы непосредственно связаны с циклом трикарбоновых кислот. Обобщая данные об обмене свободных аминокислот в головном мозге, можно сделать следующие выводы:

1. Большая способность нервной ткани поддерживать относительное постоянство уровней аминокислот.
2. Содержание свободных аминокислот в головном мозге в 8-10 раз выше, чем в плазме крови.
3. Существование высокого концентрационного градиента аминокислот между кровью и мозгом за счет избирательного активного переноса через ГЭБ.
4. Высокое содержание глутамата, глутамина, аспарагиновой, N-ацетиласпарагиновой кислот и ГАМК. Они составляют 75% пула свободных аминокислот головного мозга.
5. Выраженная региональность содержания аминокислот в разных отделах мозга.
6. Существование компартиментализированных фондов аминокислот в различных субклеточных структурах нервных клеток.
7. Ароматические аминокислоты имеют особое значение как предшественники катехоламинов и серотонина.

## **Нейропептиды**

В последнее время значительно увеличился интерес к управлению важнейшими функциями мозга с помощью пептидов. Открыто достаточно большое количество пептидов, способных в очень низких концентрациях воздействовать на нервную ткань, выступая в качестве модуляторов ряда функций, а также действия нейромедиаторов, гормонов, фармакологических средств. С учетом преимущественной локализации этих пептидов в ЦНС они получили название нейропептидов. По сравнению с другими системами межклеточной сигнализации пептидная система оказалась наиболее многочисленной (сейчас открыто свыше 600 природных нейропептидов) и полифункциональной.

Нейропептиды представляют собой малые и средние по размеру пептиды, как правило, линейные, содержащие от 2 до 40-50 аминокислотных остатков. Часть нейропептидов модифицирована по концевым аминокислотам. Нейропептиды – это межклеточные передатчики информации. Они выполняют, нередко одновременно, функции нейромедиаторов, нейромодуляторов и дистантных регуляторов. Нейропептиды (вместе с другими регуляторными соединениями) образуют функционально непрерывную систему. Каждый нейропептид обладает своеобразным комплексом биологических активностей. Нейропептиды синтезируются путем протеолиза больших пептидов-предшественников в нейронах и сосредотачиваются в везикулах нервных окончаний. Срок полураспада большинства нейропептидов варьирует от минут (для олигопептидов) до часов (для пептидов среднего размера). Существует сложная иерархическая система, в которой одни нейропептиды индуцируют или подавляют выход других нейропептидов. При этом сами нейропептиды-индукторы обладают, кроме того, способностью непосредственно вызывать ряд биохимических и физиологических эффектов.

### **Энергетический обмен в нервной ткани**

Характерными чертами энергетического обмена в ткани головного мозга являются:

1. Высокая его интенсивность в сравнении с другими тканями.
2. Большая скорость потребления кислорода и глюкозы из

крови. Головной мозг человека, на долю которого приходится 2% от массы тела, потребляет до 20% всего кислорода, используемого организмом в покое.

3. Потребление кислорода серым веществом на 30-50% выше, чем белым. Периферические нервы используют в 30 раз меньше кислорода, чем эквивалентное по массе количество ткани из ЦНС.

4. Разная скорость потребления кислорода отдельными регионами ЦНС: кора больших полушарий > мозжечок > промежуточный мозг > средний и продолговатый мозг > спинной мозг.

5. Нейроны отличаются более интенсивным дыханием, чем глиальные клетки. В коре больших полушарий 70% от общего поглощения кислорода приходится на нейроны и 30% на глиальные клетки.

6. Невозможность замены основного энергетического субстрата – глюкозы – другими соединениями, интенсивно окисляющимися в других тканях.

7. Приблизительно 70% всей производимой в мозге АТФ расходуется на поддержание ионных градиентов между содержимым нервных клеток и окружающей средой.

### **Особенности углеводного обмена в ткани головного мозга**

1. Функциональная активность мозга в наибольшей степени зависит от обмена углеводов.

2. Головной мозг в качестве энергетического материала использует почти исключительно глюкозу.

3. Доминирующим путем метаболизма глюкозы в нервной ткани является аэробный гликолиз.

4. Важная роль для метаболизма в мозге гексокиназы как основного фермента вовлечения глюкозы в гликолиз.

5. Существование единого функционального комплекса из двух ферментов гликолиза – гексокиназы и фосфофруктокиназы, синхронно регулируемых пулом адениловых нуклеотидов.

### **Липидный обмен в нервной ткани**

Липидный состав головного мозга уникален не только по высокой концентрации общих липидов, но и по содержанию здесь их отдельных фракций. Почти все липиды головного мозга

представлены тремя главными фракциями: глицерофосфолипидами, сфинголипидами и холестерином, который всегда обнаруживается в свободном, а не этерифицированном состоянии, характерном для большинства других тканей.

Обмен липидов в нервной ткани имеет следующие особенности

- 1) мозг обладает высокой способностью синтезировать жирные кислоты;
- 2) в мозге практически не происходит  $\beta$ -окисления жирных кислот;
- 3) скорость липогенеза в головном мозге неодинакова в различные сроки постнатального периода;
- 4) постоянство состава липидов в зрелом мозге подтверждает низкую скорость их обновления в целом;
- 5) фосфатидилхолин и фосфатидилинозитол обновляются в ткани мозга быстро;
- 6) скорость синтеза холестерина в мозге высока в период его формирования, с возрастом активность этого процесса уменьшается;
- 7) синтез цереброзидов и сульфатидов протекает наиболее активно в период миелинизации.
- 8) в зрелом мозге 90% всех цереброзидов находятся в миелиновых оболочках, тогда как ганглиозиды – типичные компоненты нейронов.

### **Роль медиаторов в передаче нервных импульсов**

Большинство синапсов в нервной системе млекопитающих является химическими. Процесс передачи сигнала в химическом синапсе осуществляется посредством освобождения нейромедиаторов из пресинаптических нервных окончаний. К нейромедиаторам относятся в настоящее время 4 группы веществ: моноамины, аминокислоты, пуриновые нуклеотиды, пептиды. В индивидуальном нейроне синтезируется, как правило, несколько нейромедиаторов различной химической природы. Кроме нейромедиаторов, существует обширный класс соединений – нейромодуляторов, регулирующих уровень синаптической передачи.

### **Механизм синаптической передачи.**

В головном и спинном мозге 60-80% всей нейрональной поверхности занято синапсами. Каждый нейрон находится в контакте с 3000-10000 других клеток. Различают 3 главных компонента ультраструктуры химических синапсов: 1. Пресинаптическая область. 2. Синаптическая щель. 3. Постсинаптическая область.

#### **Этапы синаптической передачи:**

1. Приход нервного импульса к области пресинаптической мембраны.
2. Деполяризация и изменение проницаемости для ионов пресинаптической мембраны.
3. Вход  $Ca^{2+}$  внутрь терминалей.
4.  $Ca$  – зависимая секреция синаптических пузырьков (медиатора) в синаптическую щель.
5. Диффузия медиатора к постсинаптической мембране и взаимодействие с рецептором.
6. Изменение ионных токов в области постсинаптической мембраны и генерация постсинаптического потенциала.
7. Инактивация отработанного нейромедиатора.
8. Репаративные изменения обмена в нервных окончаниях для возобновления секреции медиатора при повторной импульсации (синтез медиатора, его депонирование в синаптических пузырьках и т.д.).

### **Нейрохимические основы памяти**

Память – сложный и процесс, включающий фазы запечатления, хранения и извлечения поступающей информации. Все эти фазы тесно связаны между собой, и нередко их очень трудно разграничить при анализе функций памяти.

Виды биологической памяти:

- 1) генетическая
- 2) эпигенетическая
- 3) иммунологическая
- 4) неврологическая (психическая или индивидуальная)

В настоящее время в неврологической памяти выделяют три основных этапа формирования, которым соответствуют три вида памяти.

1. Кратковременная память (длительность от нескольких миллисекунд до нескольких минут).
2. Промежуточная (от нескольких секунд до нескольких часов).
3. Долговременная память (годы, десятилетия и в течение всей жизни).

Нейрологическая память обладает сложной системной организацией и не имеет строгой локализации в определенных участках мозга. По современным представлениям, следы памяти (энграммы) фиксируются в мозге в виде изменений состояния синаптического аппарата, в результате которых возникает предпочтительное проведение возбуждения по определенным нервным путям.

После восприятия информации, в процессе ее запечатления и фиксации в мозге протекает ряд последовательно сменяющихся нейрохимических процессов. На первых этапах в стадии кратковременной памяти происходят изменения «быстрых» функций синапса, связанных с выбросом и сдвигом концентрации «классических» и пептидных медиаторов. В дальнейшем, в течение периода от нескольких секунд до нескольких суток происходит вовлечение широкого спектра нейрохимических процессов, включающих изменения в составе и структуре нейроспецифических белков, в частности, изменения степени их фосфорилирования, а также модификацию синтеза РНК.

Для формирования пожизненной долговременной памяти необходим постоянный синтез новых биополимеров, который может быть осуществлен в случае устойчивых перестроек в функционировании участков генома. Последние могут происходить в результате либо структурных изменений ДНК, либо образования устойчивых циклов для постоянного синтеза репрессоров или дерепрессоров транскриптонов. Возможно также, что в формировании долговременной памяти принимают участие иммунологические механизмы, благодаря которым в мозге синтезируются антителоподобные соединения, способные в течение длительного времени модифицировать деятельность синапсов в определенных нервных путях. В механизмах формирования памяти принимают участие как «классические» медиаторы, так и большое число нейропептидов, выполняющих функции медиаторов и нейромодуляторов.



## Спинномозговая жидкость (ликвор или цереброспинальная жидкость)

Общее количество ликвора у взрослого человека составляет 100-150 мл, у детей 80-90 мл. Скорость образования ликвора колеблется в пределах 350-750 мл/сутки. Обновляется ликвор 3-7 раз в сутки.

Распределение ликвора:

- боковые желудочки – 20-30 мл
- 3 и 4 желудочки – 3-5 мл
- подпаутинное пространство головного мозга – 20-30 мл
- подпаутинное пространство спинного мозга – 50-70 мл

Функции спинномозговой жидкости:

1. Механическая защита мозга.
2. Экскреторная функция – выведение метаболитов из мозга.
3. Транспорт различных биологически активных веществ.
4. Контроль окружающей среды мозга:
  - буферная роль при быстрых изменениях состава крови;
  - регуляция оптимальной концентрации ионов и рН для обеспечения нормальной возбудимости ЦНС;
  - является специальным защитным иммунобиологическим барьером.

Таблица 32. 1. – Состав спинномозговой жидкости

Показатель	Концентрация
Количество	100-150 мл
Цвет, прозрачность	Бесцветная, прозрачная
Вода	99%
Плотный осадок	1% - 10 г/л
Органические в-ва	2-2,4 г/л
Белок общий	0,15-0,33 г/л
Альбумины	0,12-0,26 г/л
Глобулины	0,03-0,06 г/л
Глюкоза	2,50-4,15 ммоль/л
Неорганические в-ва	7,6-8,0 г/л
Натрий	135-150 ммоль/л
Калий	2,3-4,3 ммоль/л
Хлориды	120-130 ммоль/л
Кальций	1,2-1,6 ммоль/л

## ГЛАВА 33

### БИОХИМИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

Подвижность является характерным свойством всех форм жизни – расхождение хромосом в митотическом аппарате клеток, воздушно-винтовые движения жгутиков бактерий, крыльев птиц, точные движения человеческой руки, мощная работа мышц ног. Все это достигается работой мышц, обеспечивающих подвижность путем сокращения и последующего расслабления.

Принято различать три типа мышечной ткани:

- **скелетная (поперечно-полосатая);**
- **сердечная (миокард);**
- **гладкая.**

К поперечно-полосатым мышцам относятся мышцы языка и верхней трети пищевода, внешние мышцы глазного яблока, а также скелетные мышцы.

В морфологическом отношении миокард относится к поперечно-полосатой мышечной ткани, но по ряду других признаков он занимает промежуточное положение между гладкой и поперечно-полосатой мышечной тканью.

Гладкая мышечная ткань входит в состав мышц внутренних органов: желудочно-кишечного тракта, бронхов, мочевыводящих путей, кровеносных сосудов.

#### Белки мышечной ткани

Выделяют три группы белков:

- **миофибриллярные белки – 45%;**
- **саркоплазматические белки – 35%;**
- **белки стромы – 20%.**

#### Миофибриллярные белки

В поперечно-полосатой мышце в каждом мышечном волокне в саркоплазме располагаются **миофибриллы** - нитевидные структуры, состоящие из белков. Повторяющим элементом поперечно-полосатой миофибриллы является саркомер - участок миофибриллы, содержащей **миозин, актин**, регуляторные белки

(тропомиозин, тропонин) и структурные белки ( $\alpha$ - и  $\beta$ -актинины, небулин, титин, дистрофин).

**Миозин** – фибриллярный белок, состоящий из двух тяжелых и несколько легких полипептидных цепей. Тяжелые цепи образуют длинную закрученную альфа-спираль («хвост» молекулы), конец каждой тяжелой цепи совместно с легкими цепями создает глобулу («головка» молекулы), способную соединяться с актином. «Головка» миозина обладает АТФ-азной активностью, и используется в процессе сокращения мышцы.

**Актин.** Известны 2 формы актина: глобулярный актин (G-актин) и фибриллярный актин (F-актин). Глобулярный актин представляет собой одну полипептидную цепь, образующую глобулу. Фибриллярный актин составлен из множества глобул G-актина и образует вытянутую структуру.

**Актомиозин** образуется при соединении миозина с F-актином.

**Тропомиозин** - регуляторный белок, состоящий из двух альфа-спиралей, закрученных в форме стержня. Тропомиозин присоединяется к F-актину и предотвращает его связывание с миозином.

**Тропониновый комплекс** составлен из трех субъединиц – **Tn-I** (ингибирует взаимодействие актина и миозина), **Tn-T** (связывает тропомиозин) и **Tn-C** (связывает ионы  $Ca^{2+}$ ). Тропонин соединяется с тропомиозином и актином, и придает актомиозину скелетных мышц чувствительность к ионам  $Ca^{2+}$ .

Помимо вышеперечисленных белков в состав миофибрилл входят структурные белки -  $\alpha$ - и  $\beta$ -актинины, небулин, титин, дистрофин.

### **Саркоплазматические белки**

Характеризуются растворимостью в солевых растворах с низкой ионной силой. К числу саркоплазматических белков относятся: дыхательный пигмент **миоглобин**, разнообразные белки - **ферменты** (гликолиза, дыхания и окислительного фосфорилирования, азотистого и липидного обмена) и др.

### **Белки стромы**

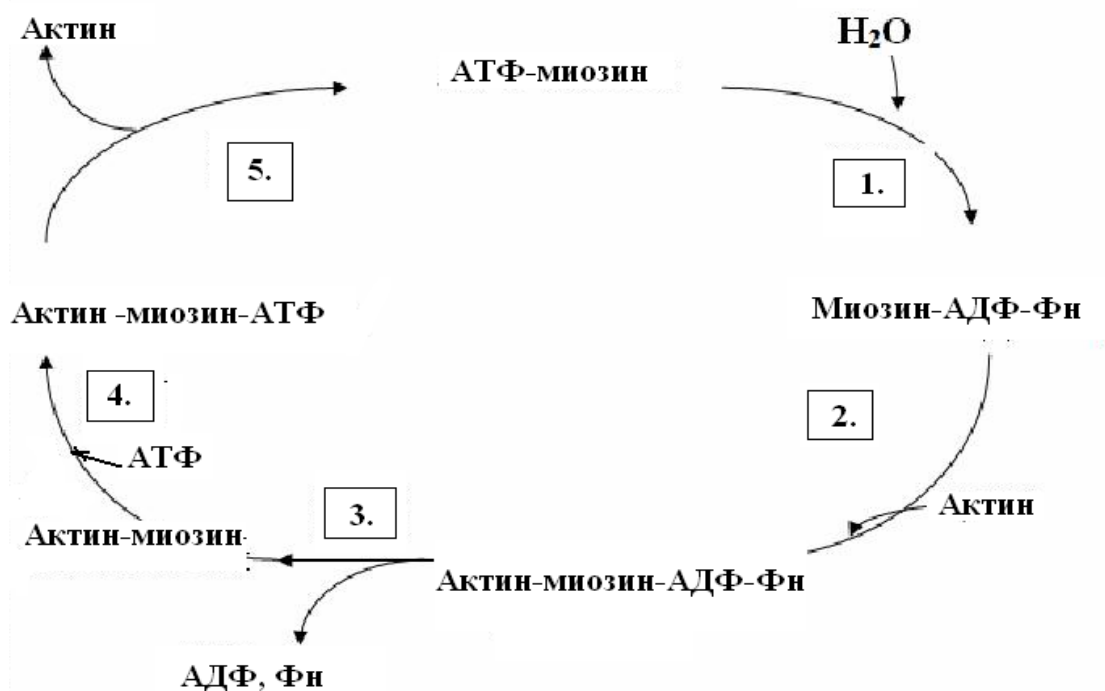
В основном представлены **коллагеном** и **эластином**. Белок **миостромин** участвует в образовании сарколеммы и линии Z.

### Экстрактивные вещества мышц:

- адениловые нуклеотиды (АТФ, АДФ, АМФ);
- гликоген – запасной источник энергии;
- креатин, креатинфосфат;
- свободные аминокислоты;
- карнозин, ансерин – специфические азотистые вещества; увеличивают амплитуду мышечного сокращения, сниженную утомлением;
- неорганические соли.

### Биохимические механизмы сокращения и расслабления мышц

Биохимический цикл мышечного сокращения состоит из 5 стадий: 1-2-3 – стадии сокращения; 4-5 – стадии расслабления (рис. 33.1).



*Рисунок 33.1. – Стадии мышечного сокращения*

**1 стадия** – в стадии покоя миозиновая «головка» образует комплекс с АТФ. Затем происходит гидролиз АТФ до АДФ и  $\text{F}_n$  без освобождения продуктов гидролиза. Образуется стабильный комплекс: миозин-АДФ- $\text{F}_n$ .

**2 стадия** – возбуждение двигательного нерва приводит к ос-

вобождению ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из саркоплазматического ретикулума мышечного волокна. Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  связываются **тропонином С (Тн-С)**. В результате этого взаимодействия изменяется конформация всей молекулы **тропонина**, а затем – **тропомиозина**. Вследствие этого в актине открываются центры связывания с миозином. Миозиновая «головка» связывается с F-актином, образуя с осью фибриллы угол около  $90^\circ$ .

**3 стадия** – присоединение актينا к миозину обеспечивает высвобождение АДФ и  $\Phi_n$  из актин-миозинового комплекса. Это приводит к изменению конформации данного комплекса и угол между актином и миозиновой «головкой» изменяется с  $90^\circ$  до  $45^\circ$ . В результате изменения угла филаменты актينا втягиваются между филаментами миозина, т. е. происходит их скольжение навстречу друг другу. Укорачиваются саркомеры, сокращаются мышечные волокна.

**4 стадия** – новая молекула АТФ связывается с комплексом актин-миозин.

**5 стадия** – комплекс миозин-АТФ обладает низким сродством к актину и поэтому происходит отделение миозиновой «головки» от F-актина. Филаменты возвращаются в исходное состояние, мышца расслабляется. Затем цикл возобновляется.

Движущая сила мышечного сокращения – энергия, освобождающаяся при гидролизе АТФ.

### **Роль ионов кальция в регуляции мышечного сокращения**

На 2-й и 3-й стадиях ключевая роль в регуляции мышечного сокращения принадлежит  $\text{Ca}^{2+}$ . Миофибриллы обладают способностью взаимодействовать с АТФ и сокращаться лишь при наличии в среде определенных концентраций ионов кальция. В покое мышца поддерживается ниже пороговой величины при участии  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой АТФазы. В состоянии покоя эта система активного транспорта накапливает кальций в цистернах саркоплазматического ретикулума и трубочках Т-системы.

Мышечное сокращение инициируется приходом потенциала действия на концевую пластинку двигательного нерва. В синапсе выделяется **ацетилхолин**, который связывается с постсинаптическими рецепторами мышечного волокна. Далее потенциал действия распространяется вдоль сарколеммы к поперечным трубоч-

кам Т-системы и происходит передача сигнала на цистерны саркоплазматического ретикулума.

Сигнал достигает специальных рецепторов на поверхности саркоплазматического ретикулума. Происходит открытие  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов в мембране саркоплазматического ретикулума и кальций выходит в сарколемму из области его высокой концентрации в область низкой концентрации ионов – в саркоплазму. Концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  внутри клетки увеличивается с  $10^{-7}$  до  $10^{-5}$  ммоль/л.

В саркоплазме ионы  $\text{Ca}^{2+}$  связываются с тропониновым комплексом, а именно с субъединицей Тп-С, что вызывает конформационные сдвиги, передающиеся на тропомиозин. Изменяется положение тропомиозина, который ранее препятствовал соединению актина с «головкой» миозина. Актин связывается с миозином, образуя комплекс «Актин-миозин-АДФ-Фн». Происходит мышечное сокращение.

После прекращения действия двигательного импульса кальций с помощью  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой АТФазы откачивается назад из саркоплазмы в цистерны саркоплазматического ретикулума. Уход кальция из комплекса с Тп-С приводит к смещению тропомиозина и закрытию активных центров актина. Миозиновая «головка» отсоединяется от актина. Мышца расслабляется.

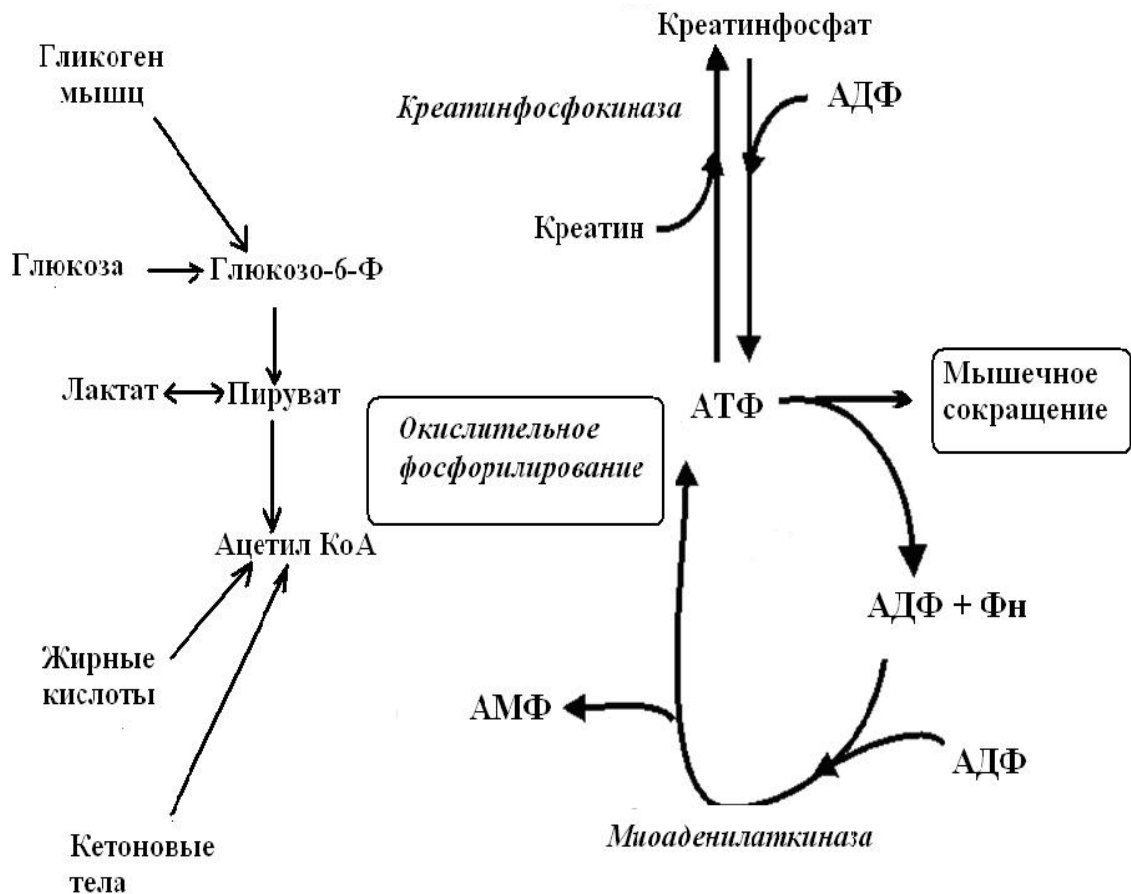
### **Источники энергии для мышечного сокращения**

Существует несколько типов энергетических субстратов для энергообеспечения мышечного сокращения в зависимости от интенсивности мышечной работы:

- 1) в состоянии покоя – свободные жирные кислоты и кетоновые тела;
- 2) при умеренной физической нагрузке – свободные жирные кислоты, кетоновые тела и глюкоза крови;
- 3) при максимальной физической нагрузке – свободные жирные кислоты, кетоновые тела, глюкоза крови и гликоген мышц.

Метаболизм АТФ в миоцитах изображен на рисунке 33.2.

В мышцах существует депо энергии, которое представлено макроэргом - **креатинфосфатом**, который образуется из **креатина** в реакции, катализируемой **креатинкиназой (креатинфосфаткиназой)**. Реакция является обратимой.



**Рисунок 33.2. – Источники АТФ при мышечном сокращении**

В условиях мышечного сокращения, когда запасы АТФ снижаются, реакция сдвигается в сторону образования АТФ из АДФ и креатинфосфата (субстратное фосфорилирование).

При расслаблении мышцы отсутствует необходимость синтеза молекул АТФ. В этих условиях реакция сдвигается вправо, и избыток АТФ используется для образования креатинфосфата.

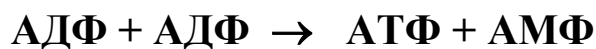
**Роль глюкозо-лактатного цикла (цикла Кори) в энергообеспечении мышцы во время интенсивной работы.**

Глюкозо-лактатный цикл объединяет реакции глюконеогенеза и анаэробного гликолиза. При интенсивной работе в мышечных клетках накапливается лактат, образующийся из глюкозы в анаэробном гликолизе. Избыток лактата поступает в кровеносное русло и переносится в печень, где превращается в глюкозу в реакциях глюконеогенеза. Глюкоза поступает в кровь и переносится в мышцы

**Миоаденилаткиназная система мышц.**

Длительная мышечная работа приводит к накоплению в

мышцах избыточных количеств АДФ. Фермент *миоаденилаткиназа* катализирует перенос фосфатной группы и одной макроэргической связи с одной молекулы АДФ на другую. В результате образуется АТФ и АМФ.



Длительное время этот путь рассматривался как аварийный механизм, обеспечивающий синтез АТФ в условиях, когда другие способы получения АТФ становятся неэффективными. Однако в настоящее время этой реакции отводят не энергетическую, а регуляторную роль. Это связано с тем, что АМФ является мощным активатором ферментов распада углеводов – фосфорилазы и фосфофруктокиназы, участвующих в регуляции гликолиза и распада гликогена.

### Биохимия мышечного утомления

**Утомление** – состояние организма, возникающее вследствие длительной мышечной нагрузки и характеризующееся временным снижением работоспособности. Центральная роль в развитии утомления принадлежит нервной системе. в состоянии утомления в нервных клетках снижается концентрация атф, нарушается синтез ацетилхолина в синапсах и передача двигательных импульсов к мышце.

Биохимические изменения при утомлении мышц:

- снижение содержания АТФ, креатинфосфата, гликогена;
- снижение активности  $\text{Ca}^{2+}$ -актомиозиновой АТФазы, что приводит к уменьшению скорости расщепления АТФ в миофибриллах и к уменьшению мощности выполняемой работы;
- снижение активности ферментов аэробного окисления субстратов и нарушение сопряжения реакций окисления с синтезом АТФ;
- усиление гликолиза, сопровождающееся накоплением молочной кислоты и снижением рН крови (до 7,25-7,15);
- закисление крови приводит к нарушению гомеостаза, появляются боли в мышцах, тошнота, головокружение;
- развитие внутриклеточного метаболического ацидоза и ингибирование ключевых ферментов гликолиза.

Утомление является защитной реакцией организма, предохраняющей его от функционального истощения.



## ГЛАВА 34

### БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Соединительная ткань составляет около половины от массы тела. Все разновидности соединительной ткани, несмотря на их морфологические различия, построены по общим принципам:

Соединительная ткань содержит мало клеток (адипоциты, макрофаги, тучные клетки, и др.) в сравнении с другими тканями. В результате **межклеточный матрикс** занимает большее место, чем клетки и имеет сложный химический состав.

Основные компоненты **межклеточного матрикса**:

1. Структурные белки (*коллаген и эластин*);
2. Неколлагеновые структурные белки (*фибронектин, ламинин, тенасцин, остеонектин и др.*);
3. Гликозаминогликаны;
4. Протеогликаны.

Эти компоненты образуют волокнистые структуры в межклеточном матриксе.

#### Коллаген

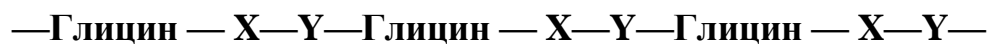
Коллаген обнаружен в большинстве разновидностей соединительной ткани, за исключением костей, связок, и некоторых других. Эти белки составляют до 25% всех белков млекопитающих. На настоящее время идентифицировано 25 разновидностей коллагена, образующих фибриллы из более 30 полипептидных цепей.

В межклеточном матриксе молекулы коллагена образуют полимеры, называемые **фибриллами коллагена**. Они обладают огромной прочностью и практически не растяжимы (они могут выдерживать нагрузку, в 10 000 раз превышающую их собственный вес).

Необычные механические свойства коллагена связаны с их первичной и пространственной структурами. Молекулы коллагена состоят из трех полипептидных цепей, называемых  $\alpha$ -цепями. Идентифицировано более 20  $\alpha$ -цепей, большинство из которых имеет в своем составе 1000 аминокислотных остатков, но цепи

несколько отличаются аминокислотной последовательностью. В состав коллагенов могут входить три одинаковые или разные цепи.

Первичная структура  $\alpha$ -цепей коллагена необычна, и представлена по схеме повторяющегося триплета:



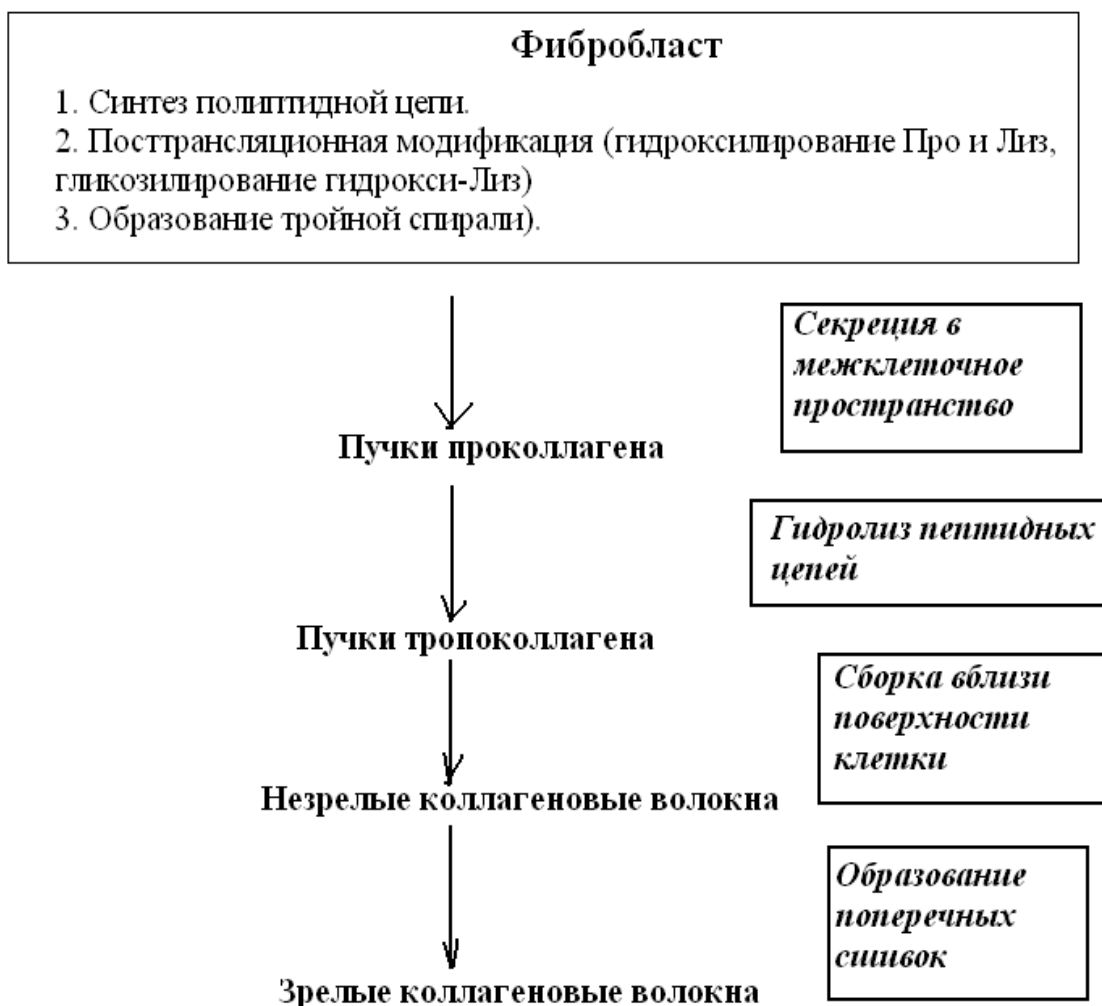
где позиции **X** и **Y** занимают другие аминокислоты. Причем позицию **X** часто занимает **пролин**, а **Y** – **5-гидроксилизин**. В составе первичной структуры  $\alpha$ -цепи коллагена в основном содержатся глицин до 25% всех аминокислот), **пролин**, **лизин**, **аланин**, и необычные аминокислоты - **4-гидроксипролин**. **5-гидроксилизин**. **Пролин** и **4-гидроксипролин** придают прочность структуре коллагена, стабилизируя изгибы полипептидных цепей.

### **Метаболизм коллагена**

Синтез первичных полипептидных  $\alpha$ -цепей происходит в фибробластах. В цистернах эндоплазматического ретикулума отдельные аминокислоты претерпевают посттрансляционную модификацию (гидроксилирование пролина и лизина, гликозилирование гидроксилизина). В ЭПР происходит закручивание трех  $\alpha$ -цепей сообразованием трех-цепочечной суперспиральных предшественников коллагеновых волокон – **проколлагенов**.

По завершении процессинга проколлагены секретируются в межклеточное пространство, где происходит дальнейшая модификация полипептидных цепей, с удалением последовательностей на концах полипептидных цепей, модификацией отдельных аминокислот с образованием дополнительных сшивок (**тропоколлаген**). Затем пучки **тропоколлагена** ковалентно соединяются поперечными сшивками, формируя **незрелые**, и **зрелые коллагеновые волокна** (рис. 34.1).

Как и любой белок, коллаген функционирует в организме определенное время. Его относят к медленно обменивающимся белкам, период его полураспада составляет около месяца. Разрушение коллагеновых волокон осуществляется ферментативно и с помощью активных форм кислорода.



**Рисунок 34.1. – Этапы формирования коллагенового волокна**

Нативный коллаген не гидролизуется обычными пептидо-гидролазами. Основной фермент его катаболизма – коллагеназа, которая расщепляет пептидные связи в определенных участках спирализованных областей коллагена. В норме она синтезируется клетками соединительной ткани, прежде всего фибробластами и макрофагами. Образующиеся фрагменты коллагена растворимы в воде, при температуре тела они спонтанно денатурируются и становятся доступными для действия других протеолитических ферментов.

Существует ряд заболеваний, связанных с нарушением структуры или синтеза коллагена. Они составляют целую группу заболеваний соединительной ткани, названных **коллагенозами**. Так как около 50% всех коллагеновых белков содержится в тканях скелета, около 40% – в коже и 10% – в строме внутренних органов, клиническая картина этих заболеваний будет крайне по-

лиморфной. При многих заболеваниях наблюдаются не только костно-суставная патология или изменения со стороны кожи, но и ярко выраженные висцеральные проявления (поражения кишечника, почек, легких, сердца). К наиболее распространенным и изученным коллагенозам относят **несовершенный остеогенез, синдром Элерс-Данлоса, синдром Марфана**, а также **цингу**.

### Эластин

В отличие от коллагена, образующего прочные фибриллы, эластин обладает резиноподобными свойствами. Нити эластина, содержащиеся в тканях легких, в стенках сосудов, в эластичных связках, могут быть растянуты в несколько раз по сравнению с их обычной длиной. Но после снятия нагрузки они возвращаются к свернутой конформации.

Эластин содержит в своем составе около 800 аминокислотных остатков, среди которых преобладают аминокислоты с неполярными радикалами: **глицин, валин, аланин**.

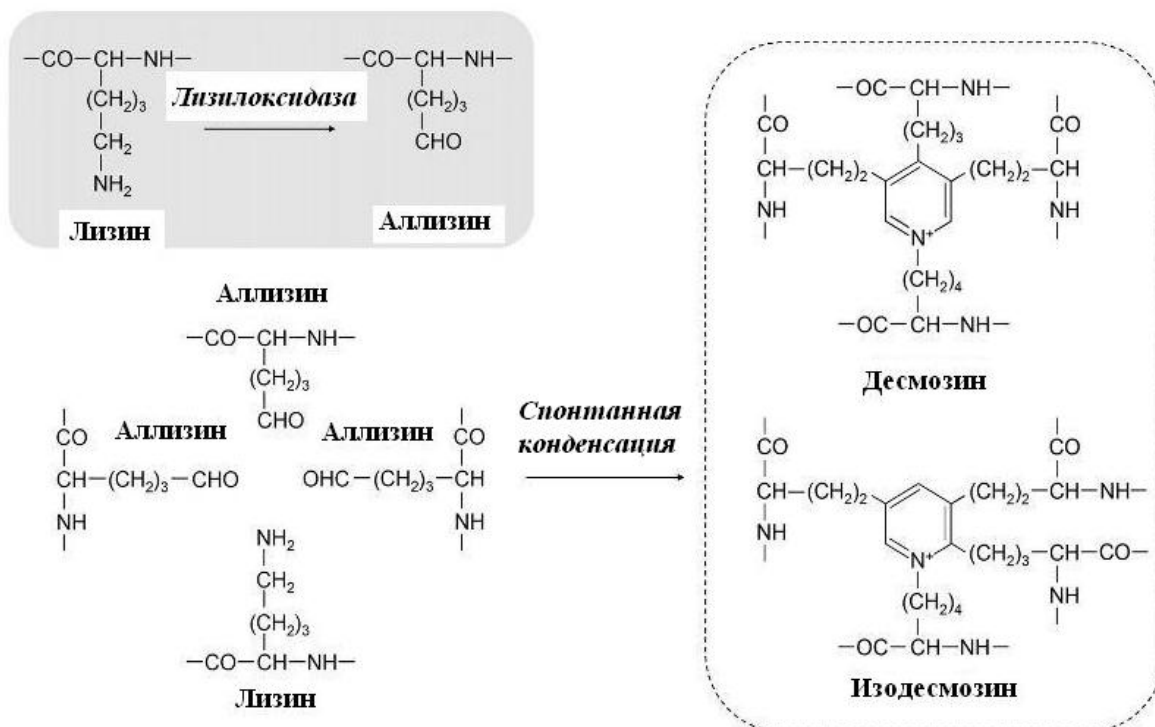
Эластин содержит довольно много **пролина** и **лизина**, но лишь немного **гидроксипролина** и полностью отсутствует **гидроксилизин**. Наличие большого количества гидрофобных радикалов препятствует созданию стабильной глобулы, в результате полипептидные цепи не формируют регулярные вторичную и третичную структуры, а принимают разные конфигурации. В соединительной ткани молекулы эластина образуют волокна и слои, в которых отдельные пептидные цепи связаны множеством жестких поперечных сшивок в разветвленную сеть. В образовании этих сшивок участвуют остатки лизина двух, трех или четырех пептидных цепей. Структуры, образующиеся при этом, называются **десмозинами** и **изодесмозинами**.

Этапы биосинтеза эластина:

1. Синтез линейной полипептидной последовательности - **тропоэластина**, состоящей из примерно 700 аминокислот (главным образом - глицина, аланина и валина).
2. **Тропоэластин** секретируется из клеток во внеклеточное пространство, где взаимодействует с фибрилином и внеклеточными ферментами.
3. Некоторые лизильные остатки полипептидных цепей тропо-

эластина подвергаются окислительному дезаминированию лизилоксидазой с образованием аллизиновых остатков.

4. Образование десмозиновых сшивок за счет реакции между 3 аллизиновыми остатками и 1 остатком лизина.



Наличие ковалентных сшивок между пептидными цепочками с неупорядоченной, случайной конформацией позволяет всей сети волокон эластина растягиваться и сжиматься в разных направлениях, придавая соответствующим тканям свойство эластичности. Следует отметить, что эластин синтезируется как растворимый мономер, который называется «тропоэластин». После образования поперечных сшивок эластин приобретает свою конечную форму, которая характеризуется нерастворимостью, высокой стабильностью и очень низкой скоростью обмена.

### Белково-углеводные комплексы соединительной ткани

К белково-углеводным комплексам соединительной ткани относят соединения, включающие в различных соотношениях в свой состав белковый и углеводный компоненты: **протеогликаны** и **гликопротеины**.

**Протеогликаны** – высокомолекулярные соединения, состоящие из так называемого **корового белка** (до 5-10% молекулы) с присоединенными одной или несколькими цепями гли-

**козаминогликанов** (90-95% молекулы). Они образуют основное вещество межклеточного матрикса.

**Гликозаминогликаны** – гетерополисахариды, состоящие из многократно повторяющихся дисахаридов, мономерами которых являются **уроновые кислоты** и **гексозамины**. Раньше их называли мукополисахаридами, так как они обнаруживались в слизистых секретах. Они связывают большие количества воды, в результате чего межклеточное вещество приобретает желеобразный характер.

Белки в протеогликанах представлены одной полипептидной цепью разной молекулярной массы. Белки протеогликанов называют **коровыми** или **сердцевинными** белками. Полисахаридные компоненты у разных протеогликанов разные.

Функции протеогликанов:

- структурные компоненты внеклеточного матрикса;
- обеспечивают тургор различных тканей;
- как полианионы связывают поликатионы и катионы;
- действуют как сита во внеклеточном матриксе (фильтрация в почках);
- влияют на клеточную миграцию;
- противостоят компрессионным силам;
- поддерживают прозрачность роговицы;
- выполняют структурную роль в склере;
- антикоагулянты;
- формируют рецепторы на поверхности клеток;
- образуют межклеточные контакты;
- входят в состав синаптических и других везикул клеток.

В настоящее время известна структура шести основных классов гликозаминогликанов.

1. **Гиалуроновая кислота** – находится во многих органах и тканях. В хряще она связана с белком и участвует в образовании протеогликановых агрегатов, в некоторых тканях (стекловидное тело, пупочный канатик, суставная жидкость) встречается в свободном виде. Повторяющаяся дисахаридная единица в гиалуроновой кислоте состоит из Д-глюкуроновой кислоты и Н-ацетилглюкозамина.

2. **Хондроитинсульфаты** – самые распространенные гликозаминогликаны в организме человека. Содержатся в хряще, сухожилиях, связках, артериях, роговице глаза. Хондроитинсульфаты являются важным компонентом агрекана – основного протеогликана хрящевого матрикса. В организме человека встречаются 2 вида хондроитинсульфатов: **хондроитин-4-сульфат** и **хондроитин-6-сульфат**. Они построены одинаковым образом: из D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-галактозамин-4-сульфата или N-ацетил-D-галактозамин-6-сульфата, соответственно.

3. **Кератансульфаты** – наиболее гетерогенные гликозаминогликаны. Отличаются друг от друга по суммарному содержанию углеводов и распределению в разных тканях. Они содержат остаток галактозы и N-ацетил-D-галактозамин-6-сульфат. Входят в состав роговицы глаза, хрящей, межпозвоночных дисков.

4. **Дерматансульфат** – характерен для кожи, кровеносных сосудов, сердечных клапанов, менисков, межпозвоночных дисков. Повторяющаяся дисахаридная единица – L-идуроновая кислота и N-ацетил-D-галактозамин-4-сульфат.

5. **Гепарин** – важный компонент противосвертывающей системы крови. Синтезируется тучными клетками. Наибольшие количества гепарина обнаруживаются в легких, печени и коже. Дисахаридная единица состоит из D-глюкуронат-2-сульфата и N-ацетилглюкозамин-6-сульфата.

6. **Гепарансульфат** – входит в состав протеогликанов базальных мембран. Структура дисахаридной единицы такая же, как и у гепарина, но содержит больше N-ацетильных групп.

В межклеточном матриксе присутствуют разные **протеогликаны**. Среди них есть очень крупные – например, **агрекан** и **ворсикан**. Кроме них в межклеточном матриксе имеется целый набор так называемых малых протеогликанов, которые широко распространены в разных видах соединительной ткани и выполняют там разнообразные функции. Эти протеогликаны имеют небольшой коровий белок, к которому присоединены одна или две цепи гликозаминогликанов. Наиболее изучены **декорин**, **бигликан**, **фибромодулин**, **люмикан**, **перлекан**.

**Гликопротеины**. Основным компонентом этих белков является белок. Гликопротеины содержат разветвленные, олигоса-

харидные цепи разной длины, ковалентно прикрепленные к полипептидной основе. Углеводный компонент гликопротеинов гораздо меньший по массе, чем у протеогликанов, и составляет не более 40% от общей массы.

Функции гликопротеинов:

- структурные молекулы;
- защитные (**муцины, иммуноглобулины, антигены гистосовместимости, комплимент, интерферон**);
- транспортные молекулы для витаминов, липидов, микроэлементов;
- гормоны: тиротропин, хорионический гонадотропин;
- ферменты (нуклеазы, факторы свертывания крови);
- осуществление межклеточных контактов.

### **Метаболизм протеогликанов и гликопротеинов**

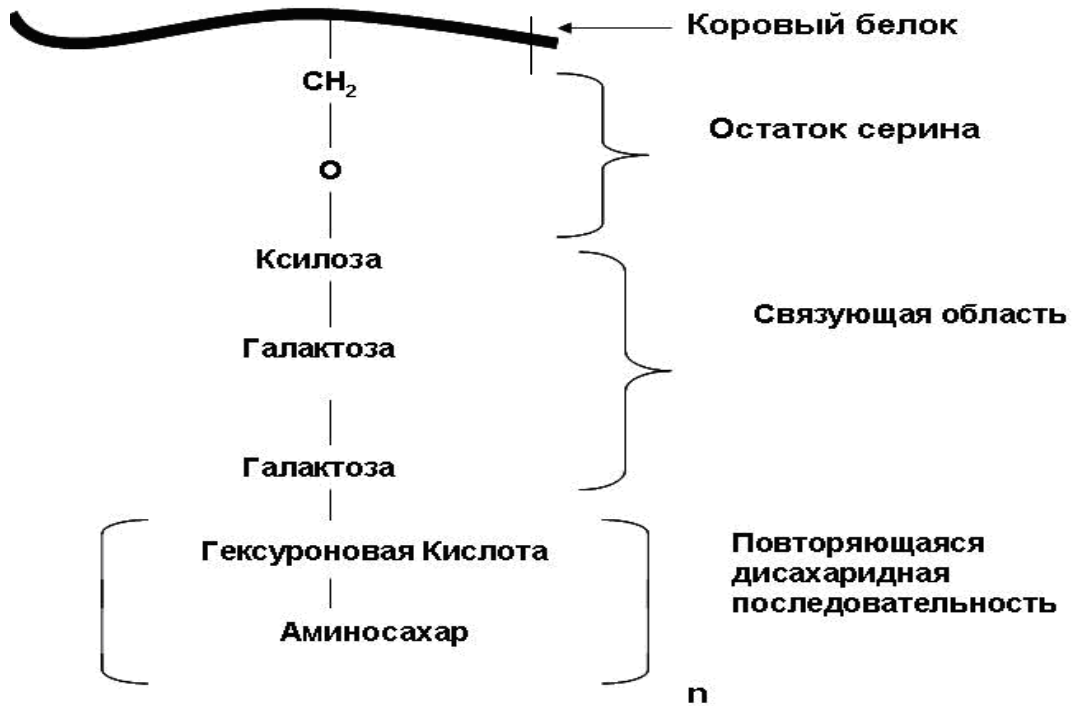
Метаболизм белково-углеводных комплексов соединительной ткани зависит от скорости их синтеза и распада. Их полипептидные цепи синтезируются на мембранно-связанных полирибосомах по матричному механизму синтеза. Полисахаридные цепи присоединяются к белку через связующую область, в состав которой чаще всего входит трисахарид галактоза-галактоза-ксилоза и соединяется с остатком серина корового белка (рис. 34.2).

Полисахаридные цепи синтезируются путем последовательного присоединения моносахаридов. Донорами моносахаридов обычно являются соответствующие нуклеотид-сахара. Реакции синтеза катализируются ферментами семейства трансфераз, обладающими абсолютной субстратной специфичностью. Эти трансферазы локализованы на мембранах аппарата Гольджи. Сюда по каналам эндоплазматической сети поступает коровый белок, к которому присоединяются моносахариды связующей области, и затем наращивается вся полисахаридная цепь. Сульфатирование углеводной части происходит с помощью ФАФС.

Разрушение полисахаридных цепей осуществляется экзо- и эндогликозидазами и сульфатазами, к которым относят гиалуронидазу, глюкуро니다зу, галактозидазу, нейраминидазу и другие лизосомальные гидролазы, обеспечивающие постепенное их расщепление до мономеров. Генетически детерминированный дефект указанных ферментов приводит к нарушению распада



белково-углеводных комплексов и накоплению их в лизосомах. Развиваются мукополисахаридозы, проявляющиеся значительными нарушениями в умственном развитии, поражениями сосудов, помутнением роговицы, деформациями скелета.



**Рисунок 34.2. – Общая схема строения протеогликанов**

### **Изменения соединительной ткани при старении**

Общим возрастным изменением, свойственным всем видам соединительной ткани, является уменьшение содержания воды и отношения основное вещество/волокна. Показатель этого соотношения уменьшается как за счет нарастания содержания коллагена, так и в результате снижения концентрации гликозаминогликанов. Значительно снижается содержание гиалуроновой кислоты. Наряду с уменьшением общего количества кислых гликозаминогликанов, изменяется и количественное соотношение отдельных гликанов. Одновременно происходит изменение свойств коллагена (увеличение числа и прочности внутри- и межмолекулярных поперечных связей, снижение эластичности и способности к набуханию, развитие резистентности к коллагеназе и т. д.), повышается структурная стабильность коллагеновых волокон (прогрессирование процесса «созревания» фибриллярных структур соединительной ткани).

## ГЛАВА 35

### РЕГУЛЯЦИЯ И ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕТАБОЛИЗМА

Для нормального функционирования организма должна осуществляться точная регуляция потока метаболитов по анаболическим и катаболическим путям. Все сопутствующие химические процессы должны протекать со скоростями, отвечающими требованиям организма как единого целого в условиях окружающей среды. Генерация АТФ, синтез макромолекул, транспорт, секреция, реабсорбция и другие процессы должны реагировать на изменения в окружении, в котором находится клетка, орган или весь организм. Клеточный метаболизм основан на принципе максимальной экономии. Клетка потребляет в каждый данный момент как раз такое количество питательных веществ, которое позволяет ей удовлетворять свои энергетические нужды. Такая высокая организация и скоординированность метаболизма достигается с помощью регуляторных механизмов. Эти механизмы достаточно разнообразны.

В многоклеточном организме при его нормальном функционировании необходима тесная взаимосвязь между отдельными клетками, тканями и органами. Эта связь реализуется посредством 4 основных систем регуляции:

1. Центральная и периферическая нервные системы (нервные импульсы, нейромедиаторы)
2. Эндокринная система (гормоны)
3. Паракринная и аутокринная системы (простагландины, гормоны ЖКТ, гистамин и др.)
4. Иммунная система (антитела, цитокины)

Системы регуляции метаболизма и функций в многоклеточном организме образуют 3 иерархических уровня:

1. Первый уровень – ЦНС (поступающие сигналы → нервный импульс → нейромедиаторы → изменение метаболизма в эффекторных клетках).
2. Второй уровень – эндокринная система (гипоталамус → гипофиз → периферические эндокринные железы → гормоны → регуляторный эффект).

### 3. Третий уровень – внутриклеточный.

Изменение метаболизма в пределах клетки или отдельного метаболического пути может реализоваться посредством изменения активности ферментов, изменения количества ферментов или изменения скорости транспорта веществ через мембраны клеток.

Различают несколько уровней регуляции метаболизма:

1. Организменный (осуществляется ЦНС и эндокринной системой).
2. Органный (тканевой).
3. Клеточный.
4. Молекулярный.

По времени достижения регуляторного эффекта различают быструю регуляцию (действующую в течение секунд и минут) и медленную регуляцию (в течение часов и суток).

**Основными регуляторными механизмами являются:**

1. Регуляция на уровне мембран.
2. Регуляция с участием циклических нуклеотидов и других вторичных посредников.
3. Регуляция количества ферментов.
4. Регуляция ферментативной активности.
5. Гормональная регуляция.

**Регуляция с участием мембран.**

С помощью мембран реализуются такие аспекты как: доступность субстратов; доступность кофакторов; удаление продуктов реакций; всасывание в ЖКТ; движение воды и ионов; генерация и проведение нервного импульса. Важными моментами являются: избирательная проницаемость мембран для отдельных молекул и ионов; способность мембран фиксировать гормоны с помощью рецепторов; ферментативная активность мембран.

**Регуляция с участием циклических нуклеотидов и других вторичных посредников.** К этой группе регуляторов относятся цАМФ, цГМФ, инозитолтрифосфат, диацилглицеролы, ионы кальция, оксид азота (NO). Гормоны (первичные посредники), связываясь с рецепторами на поверхности клеточной мембраны, образуют комплекс гормон-рецептор, который трансформирует сигнал первичного посредника в изменение внутри клетки концентрации вторичных посредников. Это, в свою очередь, запускает реализа-

цию биологических эффектов гормонов с помощью разных молекулярных механизмов в зависимости от типа вторичного посредника. Более подробная характеристика этих процессов представлена в главе 24.

**Регуляция количества ферментов.** Концентрация любого фермента определяется соотношением скоростей его синтеза и распада. Скорость синтеза белков-ферментов регулируется с помощью механизмов, общих для регуляции синтеза других белков. Влияние регуляторных факторов может интегрально проявляться в виде репрессии или индукции синтеза фермента. Данный механизм относится к медленному типу регуляции метаболизма.

**Регуляция активности ферментов.** Это один из наиболее разнообразных методов регуляции метаболизма. Он может реализовываться по целому ряду механизмов, которые подробно изложены в главе 4.

### **Аллостерическая регуляция метаболических путей**

Аллостерические регуляторы бывают, как правило, двух типов:

1. Конечные продукты цепей последовательных реакций, регулирующие свой синтез по принципу обратной связи.

2. АТФ, АДФ, АМФ, НАД<sup>+</sup> и НАДН+Н<sup>+</sup>. Эти соединения, хотя и не являются конечными продуктами самих метаболических путей, но образуются в результате их протекания и оказывают регуляторное влияние на поточную скорость. АТФ служит активатором ферментов, действующих в направлении синтеза биополимеров и аккумуляции энергии и является ингибитором реакций катаболизма. АДФ (иногда и АМФ) играют обратную роль – активируют пути катаболизма, обеспечивающие их превращение в АТФ и ингибируют процессы анаболизма, связанные с потреблением АТФ. НАД<sup>+</sup> в этом смысле ведет себя подобно АМФ, а НАДН+Н<sup>+</sup> выступает в том же качестве, что и АТФ.

Как правило, аллостерические ферменты занимают место в начале последовательности реакций и катализируют ту её стадию, которая лимитирует скорость всего процесса в целом. Обычно роль такой стадии играет практически необратимая реакция. В некоторых случаях аллостерический фермент одного метаболического пути специфическим образом реагирует на

промежуточные или конечные продукты другого. Благодаря этому достигается необходимая координация различных метаболических путей, направленная на обеспечение конкретных функций или процессов. Например, при мышечном сокращении возрастает скорость утилизации АТФ, необходимой для энергообеспечения этого процесса. При этом с помощью регуляторных механизмов компенсаторно увеличивается скорость гликолиза. В результате активации гликолиза возрастает скорость наработки ацетил-КоА, являющегося субстратом цикла трикарбоновых кислот. Активация цикла трикарбоновых кислот приводит к наработке повышенных количеств НАДН+Н<sup>+</sup>, который вовлекается в ЦПЭ, активность функционирования которой при этом также увеличивается. Это приводит к ресинтезу АТФ и пополнению её пула, сниженного в результате мышечного сокращения.

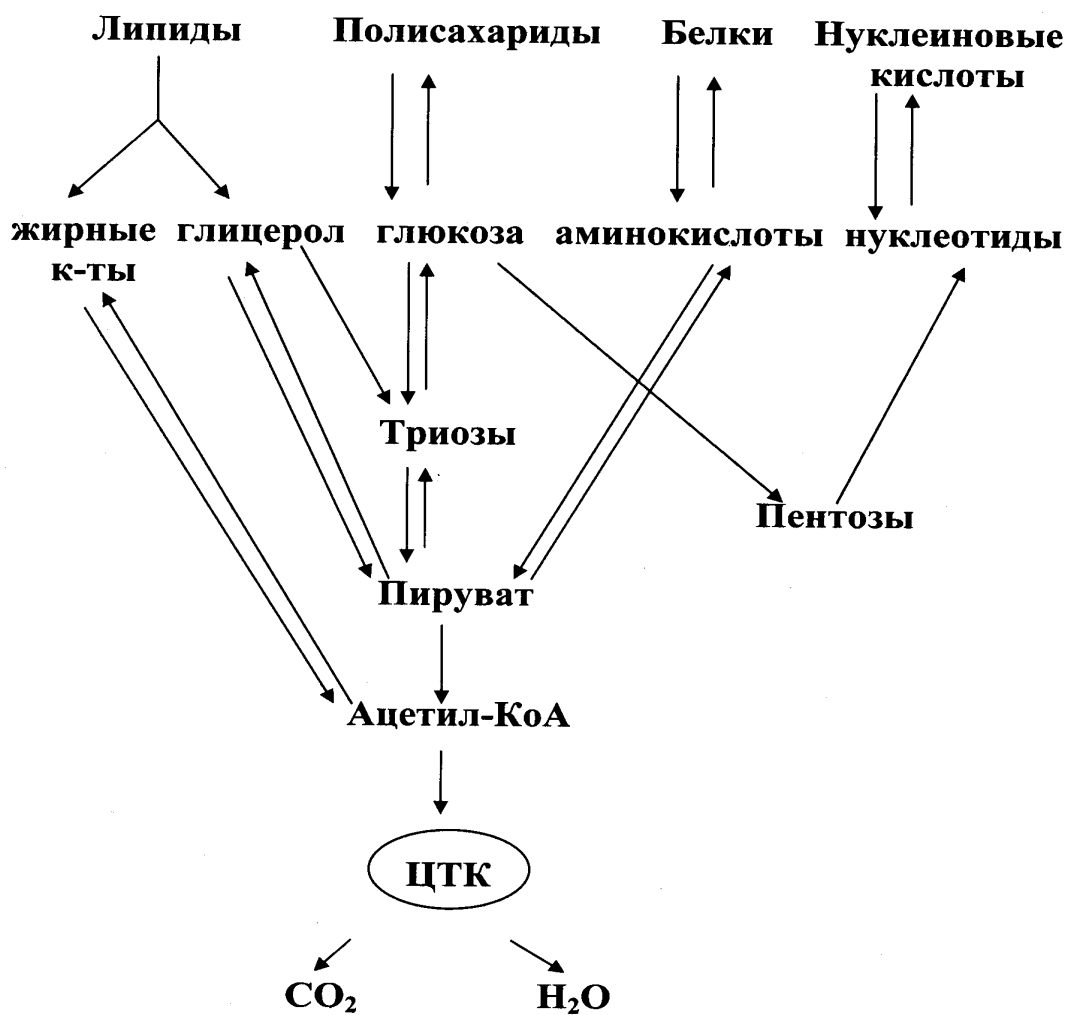
### **Взаимосвязь метаболизма**

Интеграция (взаимосвязь) метаболизма определяется рядом факторов:

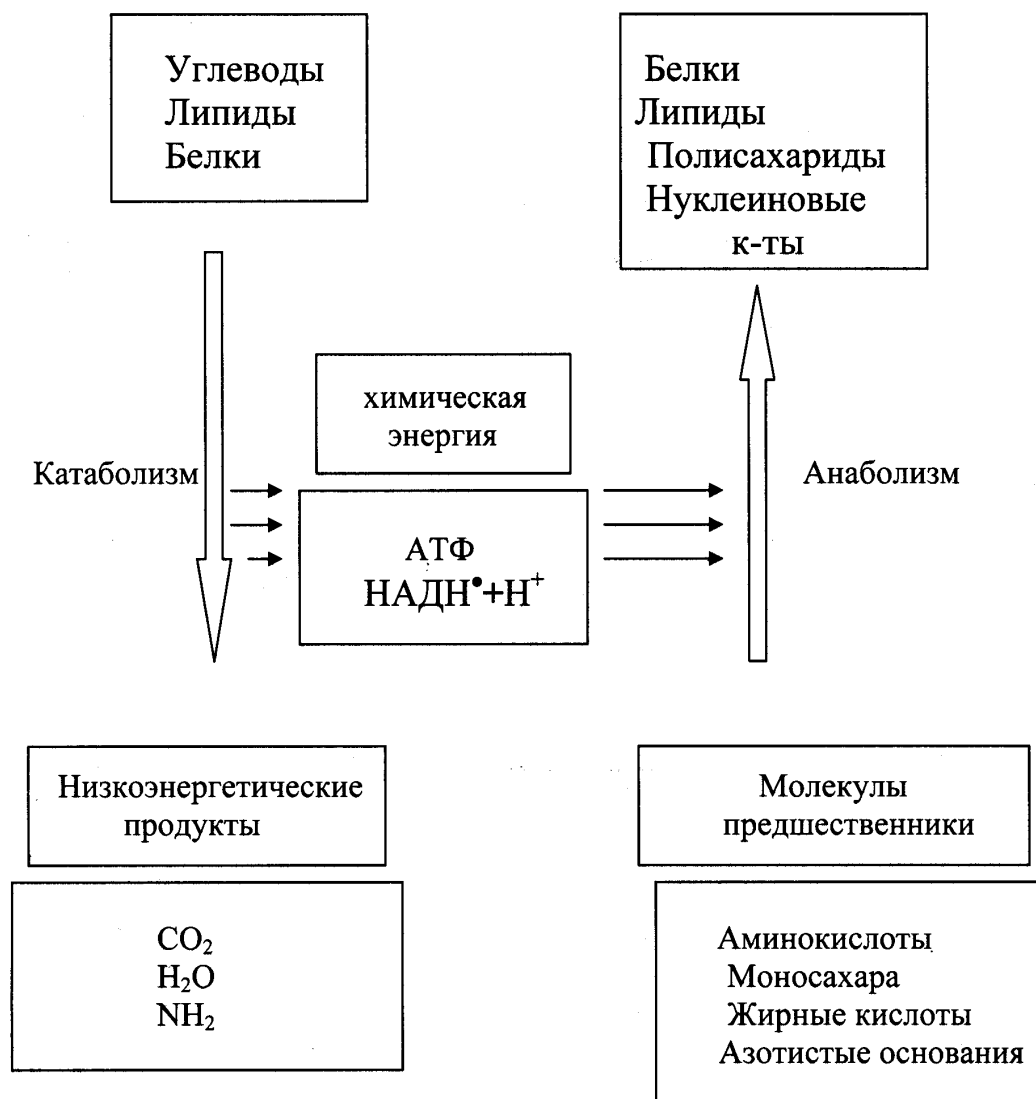
1. Наличие общих промежуточных продуктов в большей части метаболических путей.
2. Возможностью взаимопревращений через общие метаболиты.
3. Использование общих коферментов.
4. Наличие общего пути катаболизма (ЦТК) и единой системы освобождения энергии (ЦПЭ).
5. Наличие схожих механизмов регуляции.

Метаболизм в целом не следует понимать как сумму обменов белков, нуклеиновых кислот, углеводов и липидов. В результате взаимодействия обменов отдельных классов органических соединений возникает единая система метаболических процессов, представляющая собой качественно новое образование. Обмены важнейших структурных мономеров живых систем – аминокислот, моносахаридов (глюкозы), жирных кислот, мононуклеотидов тесно взаимосвязаны. Эта взаимосвязь осуществляется через ключевые метаболиты, которые служат общим звеном на путях распада или синтеза. Взаимосвязь обменов отдельных классов органических соединений особенно хорошо выражена в

процессах их взаимного превращения, хотя и не сводится только к этому. Примером такого взаимопревращения может являться прирост массы тела за счет отложения подкожного жирового слоя при избыточном потреблении углеводной пищи. К ключевым метаболитам, которые осуществляют взаимосвязь метаболизма, относятся пируват, глицерофосфат, ацетил-КоА, некоторые метаболиты цикла трикарбоновых кислот (рис. 35.1, 35.2).



*Рисунок 35.1. – Взаимосвязь метаболизма различных классов органических соединений*



**Рисунок 35.2. – Энергетические взаимосвязи между катаболическими и анаболическими путями**

**Ожирение** – пример существования взаимосвязи метаболических путей из различных обменов (липидного, углеводного, энергетического). Ожирение – это избыточное накопление жира (триацилглицеролов) в адипоцитах, когда масса тела превышает «идеальную» на 20% и более. При ожирении активируется синтез триацилглицеролов и их депонирование в жировой ткани. Первичное ожирение развивается в результате избыточной калорийности питания по сравнению с энергозатратами. Часто это имеет место за счет избыточного потребления углеводов, т.е. при ожирении из глюкозы синтезируются глицерол и жирные кислоты с последующим образованием триацилглицеролов.

Ещё одним примером существования взаимосвязи метаболизма является голодание. Голодание может быть кратковременным, в течение суток (I фаза), продолжаться в течение недели (II фаза) или нескольких недель (III фаза). При голодании происходит активация процессов катаболизма жиров, углеводов и белков на фоне общего снижения скорости метаболизма. Осуществляется обмен субстратами между печенью, жировой тканью, мышцами и головным мозгом с целью поддержания концентрации глюкозы в крови и обеспечения ею мозга, мобилизация источников энергии (липиды, белки) для энергообеспечения других тканей. В течение первых суток голодания профиль гликемии поддерживается за счет активации гликогенолиза в печени. Во II фазе голодания усиливается мобилизация жиров в подкожной жировой клетчатке, резко возрастает концентрация жирных кислот в крови, активизируется биосинтез кетоновых тел и глюконеогенез. Уровень инсулина в крови резко снижается, глюкоза в мышечные клетки не попадает, потребителем глюкозы остается инсулиннезависимая ткань – головной мозг. К концу первой недели голодания потребление кислорода снижается примерно на 40%, что сопровождается снижением интенсивности метаболизма. Кетоновые тела используются в основном мышечной тканью. В мышцах активизируется распад белков до аминокислот, часть из которых вовлекается в процесс глюконеогенеза. Во II и III фазах голодания часть энергетических потребностей мозга обеспечивается кетоновыми телами.



## ГЛАВА 36

# ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ

**Клиническая биохимия** – наука, в задачи которой входят разработка и использование стандартных методов биохимической диагностики, контроля за течением заболевания с позиции биохимии.



### **Клиническая биохимия:**

- облегчает научно-обоснованную постановку диагноза;
- оптимизирует выбор лечения и методы предупреждения заболеваний;
- изучает тактику и методологию биохимических исследований, то есть позволяет ответить на вопросы:
  - что исследовать?
  - зачем исследовать?
  - о чем говорят полученные результаты?

### **Биохимические исследования в клинике необходимы для:**

- установления причины заболевания;
- определения рационального лечения;
- оценки эффективности лечения, прогноза заболевания;
- мониторинга развития и течения заболевания;
- разработки скрининг-тестов для ранней диагностики заболеваний.

Биохимические исследования проводятся с целью ответа на клинический вопрос, возникший у врача в отношении пациента. В настоящее время в биохимических лабораториях выполняется около 400 различных тестов.

### **Методы клинической биохимии.**

Из большого разнообразия методов анализа в клеточной

биохимии чаще всего используются физико-химические методы. В зависимости от свойств исследуемой системы физико-химические методы подразделяются на:

1. Оптические.
2. Электрохимические.
3. Хроматографические.
4. Кинетические и др.

Среди оптических методов выделяют:

- рефрактометрию
- поляриметрию
- фотометрию

Фотометрия в свою очередь подразделяется на абсорбционную (спектрофотометрия, нефелометрия, атомно-абсорбционная фотометрия) эмиссионную (флюориметрия, пламенная фотометрия, атомно-эмиссионный спектральный анализ).

В работе клинико-диагностических лабораторий используются следующие виды оптических измерительных приборов: фотометры, спектрофотометры, денситометры, флюориметры, нефелометры.

Кроме оптических методов анализа широко используются методы фракционирования компонентов биологического материала (хроматография и электрофорез), а также иммунологические исследования (иммуноферментный, радиоиммунологический и иммунофлюоресцентный анализы).

**Основные биохимические показатели:**

- общий белок, альбумин;
- глюкоза;
- холестерол, триглицериды;
- билирубин;
- мочевины и креатинин;
- натрий, калий, хлориды;
- кальций, фосфаты;
- АЛТ, АСТ, ГГТП;
- креатинкиназа, амилаза;
- щелочная фосфатаза.

**Специальные исследования:**

- специфические белки;

- микроэлементы;
- гормоны;
- витамины;
- липопротеины;
- анализ ДНК;
- лекарственные вещества.

#### **Исследования при неотложных состояниях:**

- глюкоза;
- мочевины;
- электролиты;
- кальций;
- газы крови;
- амилаза.

#### **Порядок проведения биохимических исследований:**

1. Назначение исследования.
2. Подготовка обследуемого лица.
3. Взятие материала.
4. Хранение и доставка материала для исследований.
5. Регистрация анализа.
6. Выполнение анализа.
7. Трактовка полученных результатов.

#### **Подготовка обследуемых лиц**

Обследование пациента проводится в состоянии основного обмена (покоя) – чаще всего утром натощак. Накануне обследования нельзя допускать физических и эмоциональных перегрузок, употреблять спиртные напитки, курить.

#### **Взятие материала.**

Любой биологический материал для анализа должен быть взят по определенным правилам, с учетом суточных, месячных и других колебаний отдельных показателей. Должны четко соблюдаться условия его хранения и транспортировки.

#### **Образцы, используемые для биохимических исследований:**

- венозная кровь, сыворотка, плазма;
- артериальная кровь;
- капиллярная кровь;

- моча;
- кал;
- цереброспиральная жидкость;
- мокрота;
- слюна;
- ткани и клетки;
- аспираты:
  - плевральная жидкость
  - асцитная жидкость
  - синовиальная жидкость
  - кишечное содержимое;
- камни: почечные, желчные.

### **Способы выражения биохимических результатов:**

Моль	Сокращение	Значение, моль
миллимоль	ммоль	$10^{-3}$
микромоль	мкмоль	$10^{-6}$
наномоль	нмоль	$10^{-9}$
пикомоль	пмоль	$10^{-12}$
фентомоль	фмоль	$10^{-15}$

### **Вариабельность результатов исследований**

Биохимические измерения могут варьировать по двум причинам:

- аналитическим;
- биологическим.

Аналитические вариации определяются следующими факторами: точность, аккуратность; чувствительность метода и его специфичность.

Точность – это воспроизводимость аналитического метода.

Аккуратность – соответствие измеренных уровней реальным.

Чувствительность – наименьшее количество вещества, которое может быть идентифицировано.

Специфичность – способность метода определять исследуемое вещество при наличии похожих веществ.

**Референтные уровни** – это пределы значений определяемых показателей, выполненные на больших популяциях здоровых людей. Исследуемые показатели у 95% населения находятся в пределах  $M \pm 2\delta$ , где  $M$  – среднее значение;  $\delta$  – среднеквадра-

тичное отклонение.

**Ложнопозитивные** – пациенты с ненормальными результатами, не обнаруживающие признаков заболевания.

**Ложнонегативные** – пациенты, у которых определяются «нормальные» значения показателей.

**Учитываемые факторы биологической вариации:**

Физические факторы:

- этническая группа;
- пол (влияние беременности, менструального цикла, менопаузы);
- возраст;
- тип сложения;
- физическая активность;
- режим питания.

Факторы среды:

- температура, влажность;
- время суток;
- время года;
- географические факторы;
- диета (состав воды, почвы);
- социальная и бытовая среда.

**Регулируемые факторы ятрогенной и доаналитической вариации:**

- условия взятия пробы;
- время приема пищи;
- физическая нагрузка;
- положение тела;
- предшествующий отдых;
- стресс при взятии пробы;
- консерванты;
- посуда;
- температура, время хранения;
- этанол;
- кофеин;
- никотин;
- контрацептивы;

- седативные средства;
- психотропные средства;
- токсические и терапевтические факторы;
- профессиональные и бытовые токсические средства.

### **Биохимические исследования, проводимые вне лаборатории**

Показатель	Случаи применения
<i>Исследования крови</i>	
Глюкоза Холестерол Мочевина Билирубин	Сахарный диабет Риск ИБС Болезни почек Желтуха новорожденных
<i>Исследования мочи</i>	
Глюкоза Белок Кетоны Билирубин	Сахарный диабет Болезни почек Диабетический кетоацидоз Болезни печени, желтуха

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биологическая химия: учебник / А. Д. Таганович [и др.]; под общ. ред. А. Д. Тагановича. – Минск: Выш. шк., 2013. – 671 с. : ил.
2. Березов, Т.Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. – 3-е изд. – М.: Медицина, 2008. – 704 с.
3. Биологическая химия: учебник / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А. Д. Тагановича. – Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2009. – 688 с.
4. Биохимия: учебник / Л. В. Авдеева [и др.]; под ред. Е. С. Северина. – 5-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медицина, 2009. – 768 с.
5. Чиркин А. А. Биохимия: учебное руководство / А. А. Чиркин, Е. О. Данченко. – М.: Мед. лит., 2010. – 624 с.
6. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. – 3-е изд., переработ. – МИА, 2007. – 568 с.
7. Чиркин, А. А. Практикум по биохимии: учебное пособие / А. А. Чиркин. – Минск: Новые знания, 2002. – 512 с.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	3
ГЛАВА 1	
ВВЕДЕНИЕ В БИОЛОГИЧЕСКУЮ ХИМИЮ .....	5
ГЛАВА 2	
СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ .....	12
ГЛАВА 3	
ФЕРМЕНТЫ. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ.....	35
ГЛАВА 4	
РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ. МЕДИЦИНСКАЯ ЭНЗИМОЛОГИЯ .....	44
ГЛАВА 5	
ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ. ДИНАМИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВ ОРГАНИЗМА .....	59
ГЛАВА 6	
ОБРАЗОВАНИЕ И ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ АММИАКА В ОРГАНИЗМЕ .....	75
ГЛАВА 7	
МЕТАБОЛИЗМ ОТДЕЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ .....	82
ГЛАВА 8	
СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ .....	87
ГЛАВА 9	
ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ.....	96
ГЛАВА 10	
БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ.....	105
ГЛАВА 11	
БИОСИНТЕЗ БЕЛКА.....	162
ГЛАВА 12	
МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ .....	132
ГЛАВА 13	
ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ.....	147
ГЛАВА 14	
БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ.....	154
ГЛАВА 15	
ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ .....	162
ГЛАВА 16	
ТИПЫ ОКИСЛЕНИЯ. АНТИОКСИДАНТНЫЕ СИСТЕМЫ .....	175
ГЛАВА 17	
ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УГЛЕВОДОВ.....	186
ГЛАВА 18	
ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА ГЛЮКОЗЫ .....	195



ГЛАВА 19	
ОБМЕН ГЛИКОГЕНА .....	206
ГЛАВА 20	
ЛИПИДЫ ТКАНЕЙ, ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ТРАНСПОРТ ЛИПИДОВ .....	213
ГЛАВА 21	
ОБМЕН ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ И ЖИРНЫХ КИСЛОТ .....	225
ГЛАВА 22	
ОБМЕН СЛОЖНЫХ ЛИПИДОВ .....	241
ГЛАВА 23	
МЕТАБОЛИЗМ ХОЛЕСТЕРОЛА. БИОХИМИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА.....	245
ГЛАВА 24	
ГОРМОНЫ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ..	255
ГЛАВА 25	
ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ .....	264
ГЛАВА 26	
ОСНОВЫ ВИТАМИНОЛОГИИ.....	288
ГЛАВА 27	
БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ.....	299
ГЛАВА 28	
БИОХИМИЯ КРОВИ.....	304
ГЛАВА 29	
БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ .....	324
ГЛАВА 30	
ВОДНО-ЭЛЕКТРОЛИТНЫЙ ОБМЕН .....	341
ГЛАВА 31	
БИОХИМИЯ ПОЧЕК И МОЧИ.....	355
ГЛАВА 32	
ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА В НЕРВНОЙ ТКАНИ .....	355
ГЛАВА 33	
БИОХИМИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ.....	361
ГЛАВА 34	
БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ .....	377
ГЛАВА 35	
РЕГУЛЯЦИЯ И ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕТАБОЛИЗМА.....	386
ГЛАВА 36	
ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ .....	393
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	399