

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра биологической химии

**ОСНОВЫ БИОХИМИИ**

Допущено Министерством образования Республики Беларусь  
в качестве учебного пособия  
для студентов высших учебных заведений  
по специальности «Лечебное дело»

Под редакцией В.В. Лелевича

Гродно  
ГрГМУ  
2010

УДК 577.1(075.8)  
ББК 52.57я73  
О 75

Авторы: зав. каф. биологической химии, проф. В.В. Лелевич;  
доц. И.О. Леднева;  
канд. мед. наук, ассист. М.Н. Курбат;  
доц. Н.Э. Петушок;  
доц. В.В. Воробьев.

Рецензенты: зав. каф. биохимии Белорусского государственного  
медицинского университета, проф. А.Д. Таганович;  
зав. каф. биохимии Гомельского государственного  
медицинского университета, проф. А.И. Грицук.

**О 75** **Основы биохимии** : учебное пособие для студентов лечебного  
факультета / В.В. Лелевич [и др.]. Под редакцией В.В. Лелевича –  
Гродно : ГрГМУ, 2010. – 324 с.  
ISBN 978-985-496-727-1

В учебном пособии представлены и систематизированы современные сведения по всем разделам биохимии. Рассматриваются основные положения статической, динамической и фундаментальной биохимии. Приведена характеристика метаболизма белков, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот в норме и при некоторых патологических состояниях. Охарактеризованы особенности метаболизма в различных органах и тканях. Изложены современные представления о молекулярных основах нарушений при ряде патологических состояний и болезней.

Предназначено для студентов медицинских вузов, биологов, врачей.

ISBN 978-985-496-727-1

УДК 577.1(075.8)  
ББК 52.57я73

© УО «ГрГМУ», 2010

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДГ – антидиуретический гормон (вазопрессин)

АДФ – аденозиндифосфорная кислота

АКТГ – адренокортикотропный гормон

АлАТ – аланинаминотрансфераза

АМФ – аденозинмонофосфат

цАМФ – циклический аденозин-3',5'-монофосфат

АсАТ – аспартатаминотрансфераза

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

АТФ-аза – аденозинтрифосфатаза

АХАТ – ацил-КоА-холестеролацилтрансфераза

ГАМК –  $\gamma$ -аминомасляная кислота

ГДФ – гуанозиндифосфат

ГТФ – гуанозинтрифосфат

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДОФА – диоксифенилаланин

ДФФ – диизопротилфторфосфат

ИМФ – инозинмонофосфат

КоА – кофермент (коэнзим) А

КоQ – кофермент (коэнзим) Q

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  
ПОЛ – перекисное окисление липидов  
ПЦР – полимеразная цепная реакция  
РНК – рибонуклеиновая кислота  
мРНК – матричная РНК  
рРНК – рибосомальная РНК  
тРНК – транспортная РНК  
СТГ – соматотропный гормон  
ТАГ – триацилглицеролы  
ТДФ – тиаминдифосфат  
ТТГ – тиреотропный гормон  
УДФ – уридиндифосфат  
УТФ – уридинтрифосфат  
ФАФС – 3-фосфоаденозин-5-фосфосульфат  
ХМ – хиломикроны  
ЦНС – центральная нервная система  
ЦТД – цепь тканевого дыхания  
ЦТК – цикл трикарбоновых кислот, цикл Кребса

# ГЛАВА 1

## ВВЕДЕНИЕ В БИОХИМИЮ

**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.

**Биохимия** – 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, биохимия оказывает все более глубокое воздействие на медицину.

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

### История развития биохимии

В истории развития биохимических знаний и биохимии 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 19 века, когда биохимия становится самостоятельной 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. В. Ломоносов, Ю. Либих, А. М. Бутлеров, Лавуазье.

III период – со второй половины 19 века до 50-х годов 20 века. Ознаменован резким увеличением интенсивности и глубины биохимических исследований, объема получаемой информации, возросшим прикладным значением – использованием достижений биохимии в промышленности, медицине, сельском хозяйстве. К этому времени относятся работы одного из основоположников отечественной биохимии А. Я. Данилевского (1838-1923), М. В. Ненцкого (1847-1901). На рубеже 19 и 20 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. Я. Данилевского. К этому времени относятся работы великого русского ученого К. А. Тимирязева (1843-1920), основателя советской биохимической школы А. Н. 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. Е. Браунштейн и М. Г. Крицман впервые описали реакции трансаминирования, являющиеся ключевыми в азотистом обмене.

IV период – с начала 50-х годов 20 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 биохимии 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. – 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).

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

С момента создания в 1923 г. в Белорусском государственном университете кафедры биохимии началась профессиональная подготовка национальных биохимических кадров. В 1934 г. организована кафедра биохимии 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 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. Разумовича, Р. В. Требухиной, Ф. С. Ларина, А. Г. Мойсеенка.

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 биохимии**

- 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 биохимии**

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

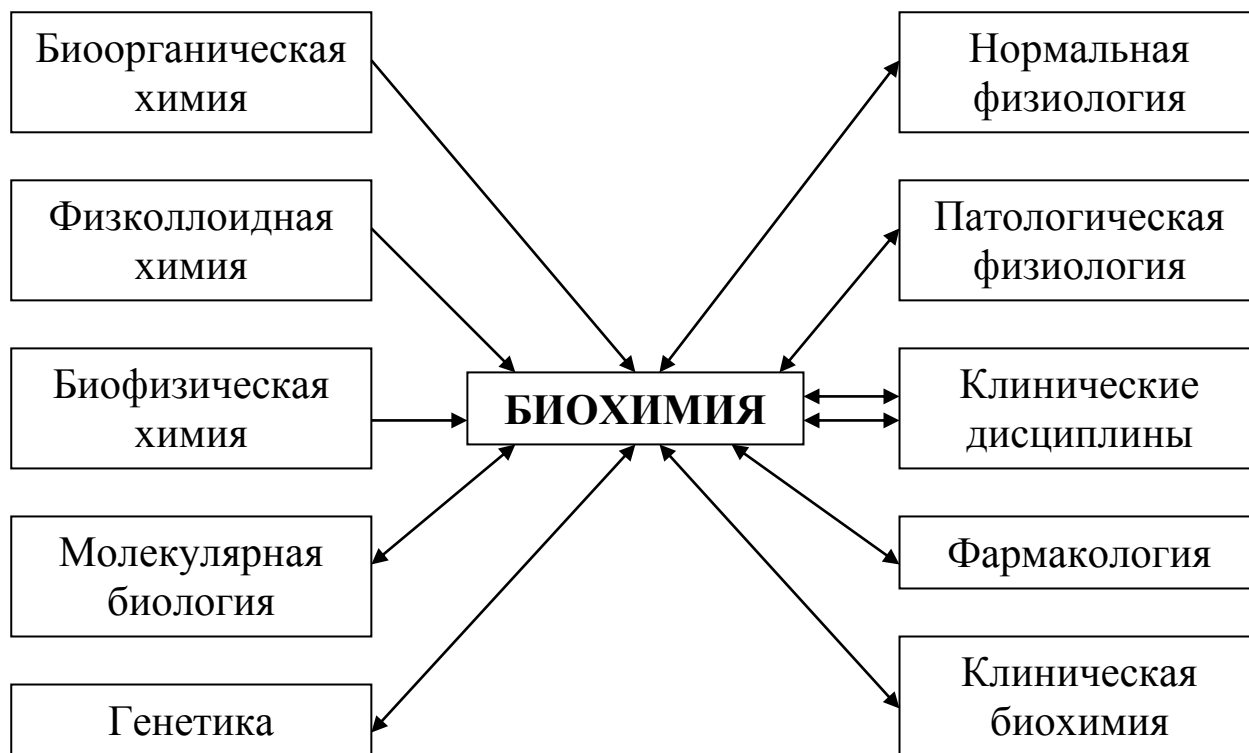


## **Объекты биохимических исследований**

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 биохимии**

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.



*Рис. 1.1. Связь биохимии с другими дисциплинами*

## 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.

### Модифицированные аминокислоты, присутствующие в белках

Модификация аминокислотных остатков осуществляется уже в составе белков, т. е. только после окончания их синтеза.

В молекуле коллагена присутствуют:

4-гидроксипролин

5-гидроксилизин

Введение дополнительных функциональных групп в структуру аминокислот придает белкам свойства, необходимые для выполнения ими специфических функций. Так,  $\gamma$ -карбоксиглутаминовая к-та входит в состав белков, участвующих в свертывании крови. Две близко лежащие карбоксильные группы необходимы для связывания белка с ионами  $Ca^{2+}$ . Нарушение

карбоксилирования глутамата приводит к снижению свертывания крови.

### **Аминокислоты как лекарственные препараты**

Аминокислоты нашли самостоятельное применение в качестве лекарственных средств. Ниже приводится их краткая фармакологическая характеристика.

**Глутаминовая кислота** стимулирует процессы окисления в организме, способствует обезвреживанию и выведению из организма аммиака, активирует синтез ацетилхолина и АТФ, является медиатором, стимулирующим передачу возбуждения в синапсах ЦНС. Применяется главным образом при лечении заболеваний ЦНС: эпилепсии, реактивных состояний, протекающих с явлениями истощения и депрессии, церебральных параличей, болезни Дауна и др.

**Метионин** – незаменимая аминокислота, необходимая для поддержания роста и азотистого баланса организма, обладает липотропным действием, повышает антитоксическую функцию печени. Применяют метионин для лечения и предупреждения заболеваний и токсических поражений печени, а также при хроническом алкоголизме, сахарном диабете, атеросклерозе и др.

**Орнитин** снижает концентрацию аммиака в плазме крови, способствует нормализации кислотно-щелочного равновесия в организме. Назначают для лечения гепатита, цирроза печени, печеночной энцефалопатии, печеночной комы, поражений печени алкогольного генеза.

**Гистидин** – незаменимая аминокислота, в организме подвергается декарбоксилированию с образованием гистамина. Гистидина гидрохлорид предложен для лечения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, а также атеросклероза.

**Глицин** – центральный нейромедиатор тормозного типа, оказывает успокаивающее действие, улучшает метаболические процессы в тканях мозга. Рекомендован как средство, ослабляющее влечение к алкоголю, уменьшающее явление абстиненции у больных хроническим алкоголизмом.

**Цистеин** участвует в обмене веществ хрусталика глаза и предложен для задержки развития катаракты и просветления хрусталика при начальных формах катаракты.

**Таурин** способствует улучшению энергетических процессов в организме, в ЦНС играет роль тормозного нейромедиатора, обладает противосудорожной активностью. Одной из характерных особенностей таурина является его способность стимулировать репаративные процессы при дистрофических нарушениях сетчатки глаза, травматических поражениях тканей глаза.

**Цитруллин** – аминокислота, участвующая в биосинтезе мочевины в орнитиновом цикле. Способствует нормализации обмена веществ и активации неспецифических защитных факторов организма. Применяется для симптоматической терапии функциональной астении (при переутомлении, усталости, в послеоперационном периоде, у спортсменов и т.п.).

## 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 из более чем 10 аминокислотных остатков называются полипептидами. Полипептиды, состоящие из более чем 50 аминокислотных остатков, обычно называют 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 и др.
4. Алкалоиды: эрготамина, пандамин.
5. Пептиды-антибиотики: грамицидины А, В, С; актиномицин Д; полимиксины.
6. Токсины и антитоксины: фаллоидин, аманидин, 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.

## **Автоматический синтез пептидов**

Процесс состоит из следующих этапов:

1. С-концевая аминокислота присоединяется к нерастворимой частичке смолы.
2. Вводится вторая аминокислота с блокированной аминогруппой и в присутствии дегидратирующего агента образуется пептидная связь.
3. Блокирующая группа отщепляется кислотой, образуются газообразные продукты, которые удаляются.
4. Стадии 2 и 3 повторяются со следующими аминокислотами до окончания синтеза пептида.
5. Полипептид отщепляется от частички смолы.
6. На образование каждой пептидной связи необходимо около 3 часов.

## **Биологические функции белков**

1. Структурная.
2. Резервная (трофическая, субстратно-энергетическая).
3. Ферментативная (каталитическая).
4. Гормональная (регуляторная).
5. Рецепторная.
6. Транспортная.
7. Сократительная.
8. Электроосмотическая ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза).
9. Энерготрансформирующая.
10. Иммунологическая.
11. Гемостатическая.

12. Обезвреживающая.
13. Токсигенная.

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

- форма и размеры белковой молекулы;
- высокая молекулярная масса;
- высокая вязкость растворов;
- способность к набуханию;
- оптическая активность;
- низкое осмотическое и высокое онкотическое давление;
- заряд молекулы (изоэлектрическая точка);
- амфотерность;
- растворимость;
- неспособность проникать через полунепроницаемые мембраны;
- способность к денатурации.

### **Уровни структурной организации белков**

Первичная структура – строго определенная линейная последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепочке.

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 20 века), третий – с разработки скоростных методов анализа нуклеотидной последовательности ДНК (начало 80-х годов 20 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 простетических 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.
2. Метод Эдмана (реализован в секвенаторе).
3. Реакция с дансилхлоридом.
4. Метод с применением аминопептидазы.

## Методы определения С-концевых аминокислот

1. Метод Акабори.
2. Метод с применением карбоксипептидазы.
3. Метод с применением боргидрида натрия.

## 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.

### 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  $\beta$ -бочонка. Она действительно напоминает бочонок, где каждая  $\beta$ -структура расположена внутри и связана с  $\alpha$ -спиральным участком цепи, находящимся на поверхности. Характерна для некоторых ферментов – триозофосфатизомеразы, пируваткиназы.
2. Структурный мотив « $\alpha$ -спираль – поворот –  $\alpha$ -спираль». Обнаружен во многих ДНК-связывающих белках.
3. Супервторичная структура в виде «цинкового пальца». 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.
4. Супервторичная структура в виде «лейциновой застежки-молнии». Объединение протомеров или отдельных белков в комплексы иногда осуществляется с помощью структурных мотивов, называемых «лейциновая застежка-молния». 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», несмотря на то, что все мономеры имеют сильный положительный заряд.

#### Содержание различных типов вторичных структур в белках.

Содержание типов вторичных структур в разных белках неодинаково.

По наличию  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -структур глобулярные белки можно разделить на 4 категории:

- К первой категории относятся белки, в структуре которых обнаружена только  $\alpha$ -спираль. Это миоглобин, гемоглобин.
- Ко второй категории относят белки с  $\alpha$ -спиралью и  $\beta$ -структурами. Характерные сочетания  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -структур обнаружены во многих ферментах: лактатдегидрогеназа, фосфоглицераткиназа.

- В третью категорию включены белки, имеющие только  $\beta$ -структуру. Сюда относятся: иммуноглобулины, фермент супероксиддисмутаза.
- В четвертую категорию включены белки, имеющие в своем составе лишь незначительное количество регулярных вторичных структур.

**Третичная структура белка** – пространственная ориентация полипептидной цепи или способ ее укладки в определенном объеме.

В зависимости от формы третичной структуры различают глобулярные и фибриллярные белки. В глобулярных белках чаще преобладает  $\alpha$ -спираль, фибриллярные белки образуются на основе  $\beta$ -структуры.

В стабилизации третичной структуры глобулярного белка могут принимать участие:

- 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.

**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 отношениях макромолекулярного образования.

Четвертичная структура характерна для белков, состоящих из нескольких субъединиц. Взаимодействие между комплементарными участками субъединиц в четвертичной структуре осуществляется с помощью водородных и ионных связей, ван-дер-ваальсовых сил, гидрофобных взаимодействий. Реже возникают ковалентные связи.

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 полипептидов 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.

**Фолдинг белков** – 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**.

### *Классификация шаперонов (III)*

В соответствии с молекулярной массой все шапероны можно разделить на 6 основных групп:

- высокомолекулярные, с молекулярной массой от 100 до 110 кДа;
- Ш-90 – с молекулярной массой от 83 до 90 кДа;
- Ш-70 – с молекулярной массой от 66 до 78 кДа;
- Ш-60;
- Ш-40;
- Низкомолекулярные шапероны с молекулярной массой от 15 до 30 кДа.

Среди шаперонов различают: **конститутивные** белки (высокий базальный синтез которых не зависит от стрессовых воздействий на клетки организма), и **индуцибельные**, синтез которых в нормальных условиях идёт слабо, но при стрессовых воздействиях на клетку резко увеличивается. Индуцибельные шапероны относятся к «белкам теплового шока», быстрый синтез которых отмечают практически во всех клетках, которые подвергаются любым стрессовым воздействиям. Название «белки теплового шока» возникло в результате того, что впервые эти белки были обнаружены в клетках, которые подвергались воздействию высокой температуры.

### *Роль шаперонов в фолдинге белков*

При синтезе белков N-концевая область полипептида синтезируется раньше, чем C-концевая область. Для формирования конформации белка нужна его полная аминокислотная последовательность. Поэтому в период синтеза белка на рибосоме защиту реакционно-способных радикалов (особенно гидрофобных) осуществляют Ш-70.

Ш-70 – высококонсервативный класс белков, который присутствует во всех отделах клетки: цитоплазме, ядре, митохондриях.

Фолдинг многих высокомолекулярных белков, имеющих сложную конформацию (например, доменное строение), осуществляется в специальном пространстве, сформированном Ш-60. Ш-60 функционируют в виде олигомерного комплекса, состоящего из 14 субъединиц.

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 Ш-60. В специфической среде этой полости, в изоляции от других молекул клетки происходит выбор возможных конформаций белка, пока не будет найдена единственная, энергетически наиболее выгодная конформация.

Высвобождение белка со сформированной нативной конформацией сопровождается гидролизом АТФ в экваториальном домене. 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, как уже говорилось выше, 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.

### *Болезни, связанные с нарушением фолдинга белков*

Расчёты показали, что лишь небольшая часть теоретически возможных вариантов полипептидных цепей может принимать одну стабильную пространственную структуру. Большинство же таких белков может принимать множество конформаций с примерно одинаковой энергией Гиббса, но с различными свойствами. Первичная структура большинства известных белков, отобранных эволюцией, обеспечивает исключительную стабильность одной конформации.

Однако некоторые растворимые в воде белки при изменении условий могут приобретать конформацию плохо растворимых, способных к агрегации молекул, образующих в клетках фибриллярные отложения, именуемые амилоидом (от лат. amyllum – крахмал). Так же, как и крахмал, амилоидные отложения выявляют при окраске ткани йодом. Это может происходить:

- при гиперпродукции некоторых белков, в результате чего увеличивается их концентрация в клетке;
- при попадании в клетки или образовании в них белков, способных влиять на конформацию других молекул белка;
- при активации протеолиза нормальных белков организма, с образованием нерастворимых, склонных к агрегации фрагментов;
- в результате точечных мутаций в структуре белка.

В результате отложения амилоида в органах и тканях нарушаются структура и функция клеток, наблюдаются их дегенеративные изменения и разрастание соединительнотканых клеток. Развиваются болезни, называемые **амилоидозами**. Для



каждого вида амилоидоза характерен определённый тип амилоида. В настоящее время описано более 15 таких болезней.

## **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.

Центр связывания белка с лигандом часто располагается между доменами. Например, протеолитический фермент трипсин, участвующий в гидролизе пептидных связей пищевых белков в кишечнике, имеет 2 домена, разделённых бороздкой. Внутренняя поверхность бороздки формируется аминокислотными радикалами этих доменов, стоящими в полипептидной цепи далеко друг от друга (Сер<sub>177</sub>, Гис<sub>40</sub>, Асп<sub>85</sub>).

Разные домены в белке могут перемещаться друг относительно друга при взаимодействии с лигандом, что облегчает дальнейшее функционирование белка. Основное свойство белков, лежащее в основе их функций – избирательность присоединения специфических лигандов к определённым участкам белковой

молекулы.

**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).

# 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**. Белковая часть фермента называется апоферментом, небелковая 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;
- геммы, входящие в состав цитохромов, каталазы, пероксидазы, гуанилатциклазы, NO-синтазы и являющиеся простетической группой ферментов, нуклеотиды;
- доноры и акцепторы остатка фосфорной кислоты;
- убихинон, или кофермент Q, участвующий в переносе электронов и протонов в цепи тканевого дыхания;
- фосфоаденозилфосфосульфат, участвующий в переносе сульфата;
- глутатион, участвующий в окислительно-восстановительных реакциях.

Таблица 3.1.

Коферментные функции витаминов

<b>Витамин</b>	<b>Коферментная форма</b>	<b>Фермент</b>
В <sub>1</sub> -тиамин	тиаминдифосфат	транскетолаза, пируватдегидрогеназа
В <sub>2</sub> -рибофлавин	ФМН, ФАД	флавінзависимые дегидрогеназы
В <sub>3</sub> -пантотеновая кислота	кофермент А (КоА)	реакции ацилирования
В <sub>6</sub> -пиридоксин	пиридоксаль-фосфат	аминотрансферазы
РР-никотинамид	НАД, НАДФ	НАД(НАДФ)-зависимые дегидрогеназы
Фолиевая кислота	ТГФК (тетрагидрофолиевая кислота)	перенос одноуглеродных групп

### **Кофакторы – ионы металлов**

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

**Роль металлов в присоединении субстрата в активном центре фермента.** Ионы металла выполняют функцию стабилизаторов 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 рН, 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 необходимы 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 сродство 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 щели 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 активным центром.
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 химическая 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 2 основных механизма ферментативного катализа: кислотно-основной катализ и ковалентный катализ.

## ***Кислотно-основной 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 субстрата 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 циклическими гидрофобными радикалами (Фен, Тир, Три), 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 катализирует 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 аминокислотными ароматическими аминокислотами, 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 репрессируемые ферменты.

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

#### Изменение каталитической эффективности ферментов

Этот тип регуляции может осуществляться по нескольким механизмам.

#### Влияние активаторов и ингибиторов на активность ферментов

Активаторы      разными      путями      могут      повышать

ферментативную активность:

- 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 денатурацию 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.

Диизопропилфторфосфат (ДФФ) специфически реагирует лишь с одним из многих остатков серина в активном центре фермента. Остаток Сер, способный реагировать с ДФФ, имеет идентичное или очень сходное аминокислотное окружение. Высокая реакционная способность этого остатка по сравнению с другими молекулами Сер обусловлена аминокислотами, также входящими в активный центр ферментов.

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.

Монододуксусная кислота, п-хлормеркурибензоат легко вступают в реакции с SH-группами остатков цистеина белков. Эти ингибиторы не относят к специфичным, так как они реагируют с любыми свободными SH-группами белков и называются неспецифическими ингибиторами. Если SH-группы принимают участие непосредственно в катализе, то с помощью этих ингибиторов представляется возможным выявление роли SH-групп фермента в катализе.

### *Необратимые ингибиторы ферментов как лекарственные препараты*

Пример лекарственного препарата, действие которого основано на необратимом ингибировании ферментов, - широко используемый препарат аспирин. Противовоспалительный нестероидный препарат аспирин обеспечивает фармакологическое действие за счёт ингибирования фермента циклооксигеназы, катализирующего реакцию образования простагландинов из арахидоновой кислоты. В результате 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.

### **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.

Классический пример конкурентного ингибирования – ингибирование сукцинатдегидрогеназной реакции малоновой кислотой. Малоновая кислота – структурный аналог сукцината (наличие двух карбоксильных групп) и может также взаимодействовать с активным центром сукцинатдегидрогеназы. Однако отщепление двух атомов водорода от малоновой кислоты невозможно; следовательно, скорость реакции снижается.

### **Лекарственные препараты как конкурентные ингибиторы**

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.

### **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 антимаболизиты: сульфаниламидные препараты (аналоги пара-аминобензойной кислоты), применяемые для лечения инфекционных заболеваний, 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 изменение конформации молекулы фермента таким образом, что нарушается взаимодействие субстрата с активным центром фермента, что приводит к снижению скорости ферментативной реакции.

### **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 продуктом 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 сродства 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 2 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 – фосфопроteinфосфатазами. 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 ферменты – попадают в кровь при повреждениях или разрушениях клеток или тканей.

Таблица 4.1.

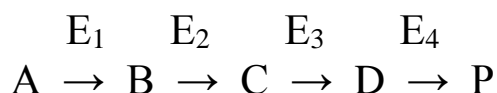
#### Органоспецифические ферменты (изоферменты)

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
АаАТ	печень
АсАТ	миокард
кислая фосфатаза	простата
щелочная фосфатаза	кости

## ЭНЗИМОПАТИИ

В основе многих заболеваний лежат нарушения функционирования ферментов в клетке – энзимопатии. Приобретённые энзимопатии, как и вообще протеинопатии, по-видимому, наблюдаются при всех болезнях.

При первичных энзимопатиях дефектные ферменты наследуются, 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. При этом развитие заболевания может протекать по одному из перечисленных ниже «сценариев». Рассмотрим условную схему метаболического пути:



Вещество А в результате последовательных ферментативных реакций превращается в продукт Р. При наследственной недостаточности какого-либо фермента, например, фермента  $E_3$ , возможны разные нарушения метаболических путей:

**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 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.

## **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 различных 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, обнаруживаемых 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.

### **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.).

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 получают 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 аминоксилазы.
2. Получение сиропов с высоким содержанием фруктозы с использованием глюкозоизомеразы.
3. Обработка молока.

## ГЛАВА 5

# СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Нуклеиновые кислоты – это биополимеры, состоящие из нуклеотидов и выполняющие функцию хранения, передачи и реализации генетической информации. Впервые обнаружены Фридрихом Мишером в 1869 г. в клетках, богатых ядерным материалом.

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 основания 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. Углеводно-фосфатный остов цепи

представляет собой неспецифический компонент нуклеотида. 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

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 спираль, состоящую из двух антипараллельных полинуклеотидных цепей, закрученных относительно друг друга и вокруг общей оси. Все основания цепей ДНК расположены стопкой внутри двойной спирали, а пентозофосфатный остов – 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. 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** различается у прокариотических и эукариотических организмов. У бактерий и вирусов, а также в митохондриях и хлоропластах эукариот ДНК имеют либо линейную, либо кольцевую форму, двух- или одноцепочечную. Двухцепочечные ДНК легко переходят в суперспирализованное состояние в результате дополнительного скручивания в пространстве двухспиральной молекулы.

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 5.1):

1. Нуклеосомный. Четыре гистона H2A, H2B, H3 и H4 (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 H1, защищая эти участки от действия нуклеаз.
2. Соленоидный. Нуклеосомная нить скручивается в более толстые фибриллы – **соленоиды**. Их также называют **хроматиновыми фибриллами**.
3. Петлевой. Соленоидная фибрилла образует петли и дополнительно упаковывается.
4. Метафазная хромосома. Петельные домены дополнительно конденсируются и спирализуются, приобретают четкие формы.

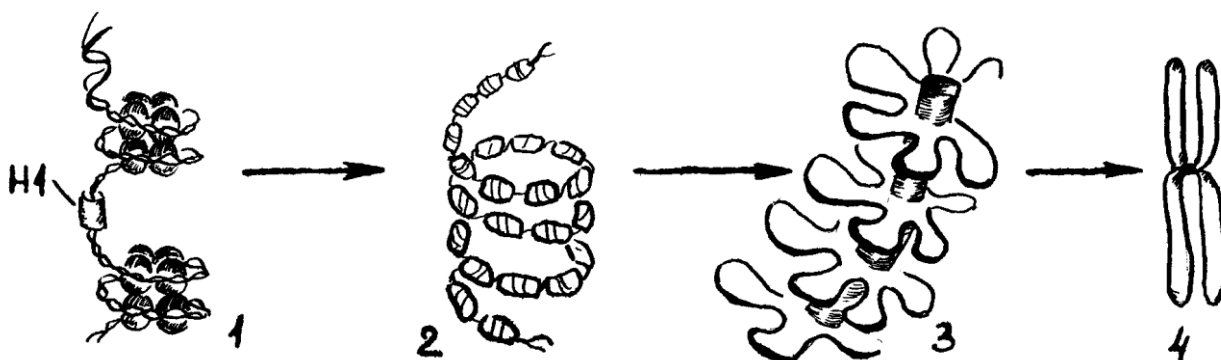


Рис. 5.1. Уровни организации хроматина

Негистоновые белки хроматина представлены сотнями самых разнообразных ДНК-связывающих протеинов. 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 высококонденсированный комплекс белков и нуклеиновых кислот.

### 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. Таковую 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, необходимые 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 тандемных (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**).

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.

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

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 ( $Mg^{2+}$ ).

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.

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 антикодоновая 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 аминокил-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. Малая 40S-субъединица содержит 18S РНК и 33 белка, большая 60S-субъединица содержит 28S, 5S и 5.8S РНК, а также 50 белков. 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.

### **Методы изучения структуры нуклеиновых кислот**

В течение ряда лет о первичной структуре нуклеиновых кислот судили по косвенным данным (оценивали количество пуриновых и пиримидиновых оснований, распределение минорных оснований, особенности физических свойств). Усовершенствование

метода электрофореза в полиакриламидном геле и открытие рестриктаз позволило перейти на качественно другой уровень исследований в данной области. Рестриктазы применяются для разрезания нуклеиновых кислот на фрагменты, причем разделение происходит в строго определенных точках. Полученные фрагменты разделяют методом электрофореза, затем исследуют их нуклеотидную последовательность. Для секвенирования (определения последовательности мономеров) применяют методы Максама-Гилберта или Сэнгера.

## ГЛАВА 6

### 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.

#### 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 фосфорилируют специфические белки, которые регулируют синтез ферментов, обеспечивающих репликацию.

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. 6.1.):

- 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.

Иницирует репликацию **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.



Рис. 6.1. Репликация 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 фосфодиэфирной 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.

Терминация синтеза ДНК наступает вследствие исчерпания матрицы при встрече двух репликативных вилок.

После окончания репликации происходит метилирование вновь образованных цепей ДНК. Наличие  $\text{CH}_3$ -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.

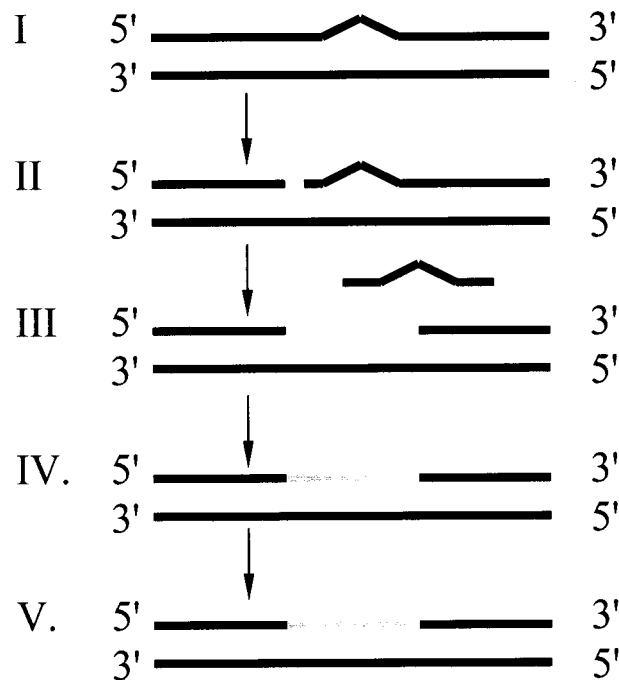
В настоящее время выявлены три основных механизма репарации ДНК: фотореактивация, эксцизионная и пострепликативная репарация. Последние два типа называются также темновой репарацией.

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

**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 более образно механизм «режь – латай». Эксцизионная репарация представляет собой многоэтапный процесс и заключается в:

- 1) «узнавании» повреждения;
- 2) надрезании одной цепи ДНК вблизи повреждения (инцизии);
- 3) удалении поврежденного участка (эксцизии);
- 4) ресинтезе ДНК на месте удаленного участка;
- 5) восстановлении непрерывности репарируемой цепи за счет образования фосфодиэфирных связей между нуклеотидами (Рис 6.2)



*Рис. 6.2 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. 6.2.): **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, трихотиодистрофия, прогерия.

## **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 субъединиц, 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. 6.3). 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.

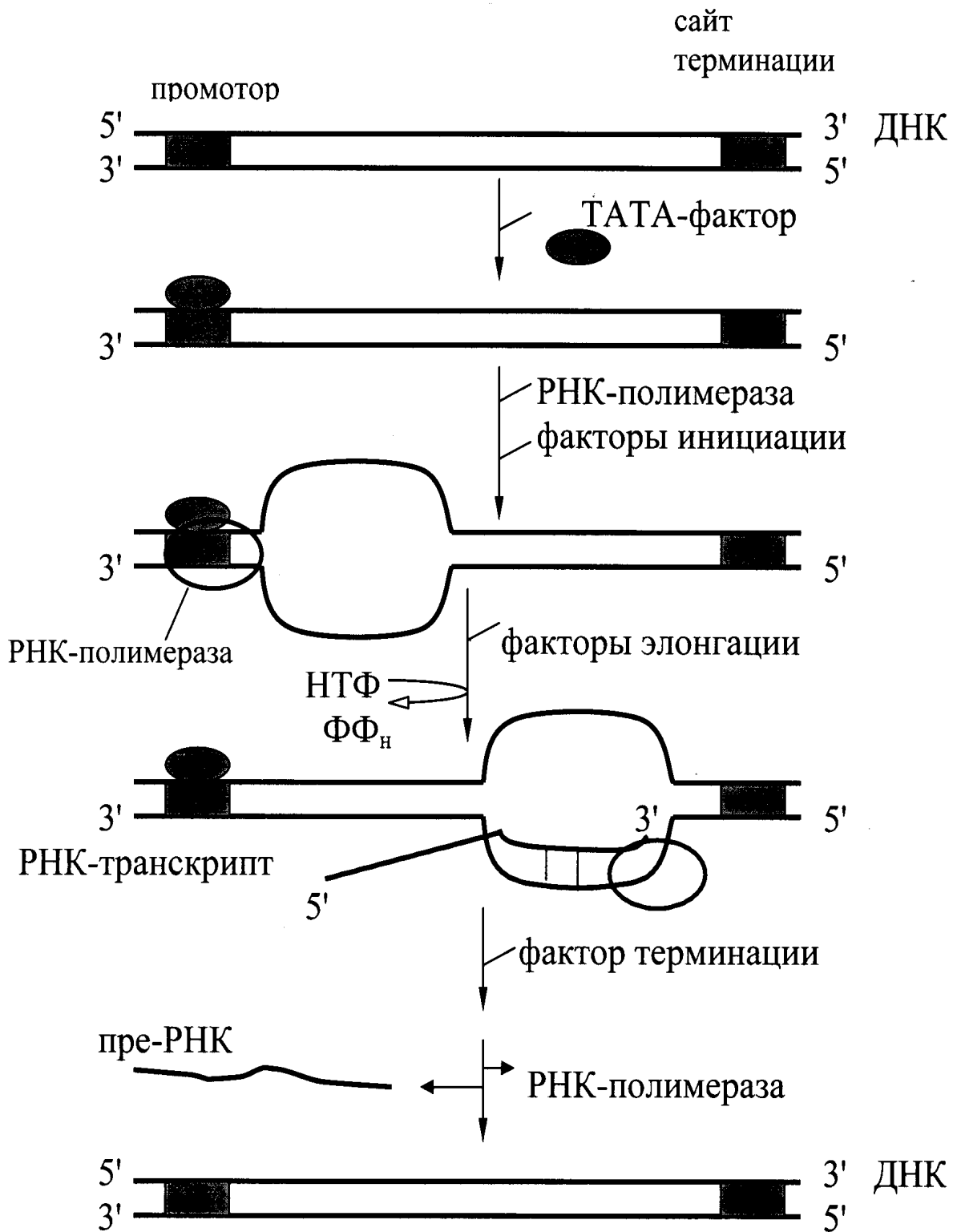


Рис. 6.3. Схема процесса транскрипции

### 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 помощью этих механизмов клетка экономит свои ресурсы и в каждый момент времени синтезирует определенный набор веществ, а не весь возможный их спектр.

Среди нескольких уровней регуляции экспрессии генов наиболее существенной и часто используемой является регуляция синтеза белков, которая осуществляется 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, т.е. 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.

На 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. 6.4).

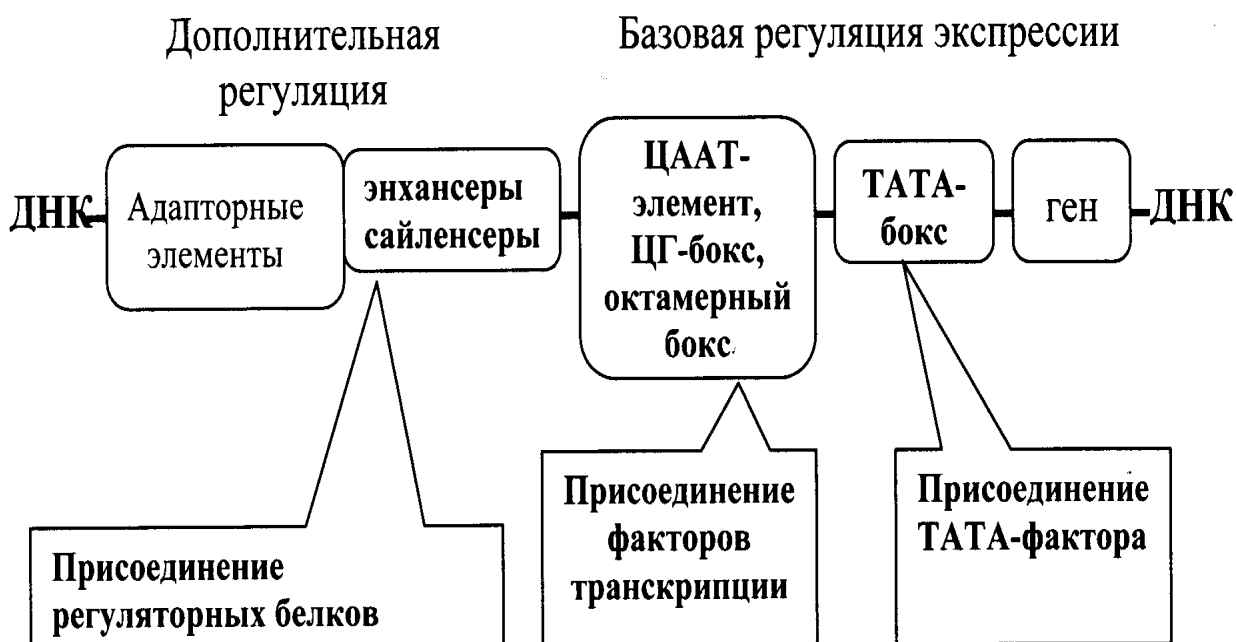


Рис. 6.4. Организация регуляторных блоков транскрипции

### 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 ферментной 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, представляющая собой 3'-экзонуклеазу, поочередно удаляющую 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.

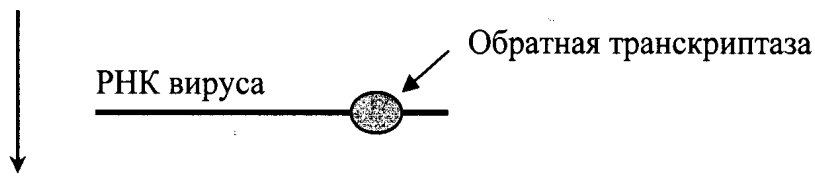
### **Обратная транскрипция**

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.

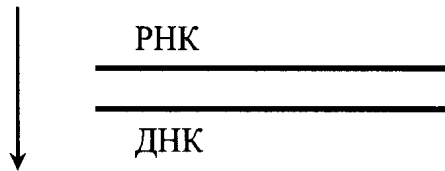
В результате образуется ДНК которая содержит гены, обуславливающие развитие рака (**онкогены**). Эта ДНК встраивается в геном эукариотической клетки, где может в течение многих поколений оставаться в скрытом состоянии. При определенных условиях такие гены могут активироваться и вызвать репликацию вируса, 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** (Рис. 6.5.).



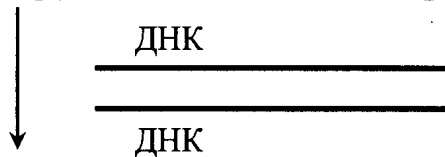
Проникновение ретровируса в клетку



Синтез ДНК-копии на матрице РНК (обратная транскрипция)



Разрушение РНК и достраивание второй цепи ДНК



Включение ДНК-копии в хромосому хозяина



Транскрипция встроенного участка, образование РНК-копий



Трансляция



Вирусные белки

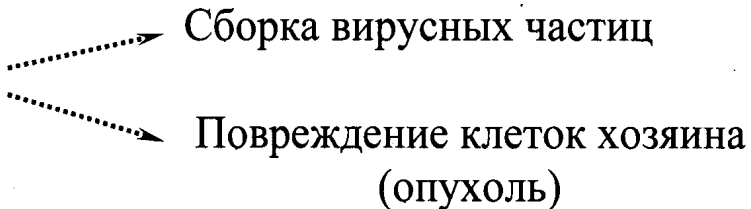


Рис. 6.5. Обратная транскрипция

## ГЛАВА 7

### 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. 7.1.).

## 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. $Mg^{2+}$	Кофактор, стабилизирующий структуру рибосом.

Синтез белка происходит в несколько стадий:

- подготовка к синтезу, заключающаяся в активации аминокислот и образовании аминоацил-тРНК;
- собственно трансляция, состоящая из этапов инициации, элонгации и терминации;
- посттрансляционная модификация белка.

### Активация аминокислот

На стадии подготовки к синтезу каждая из 20 протеиногенных аминокислот присоединяется  $\alpha$ -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 – аминоациладенилата. На второй стадии аминокислотный остаток аминоациладенилата, оставаясь связанным с ферментом, взаимодействует с молекулой соответствующей тРНК с образованием **аминоацил-тРНК**. Энергия, заключенная в макроэргической связи аминоацил~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 аминоациладенилатов. 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 аминоацил-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.

### **Синтез белка у эукариот**

В ходе синтеза белка считывание информации с мРНК идет в направлении от 5'- к 3'-концу, обеспечивая синтез пептида от N- к С-концу. События на рибосоме включают этапы инициации, элонгации и терминации (Рис.7.1.).

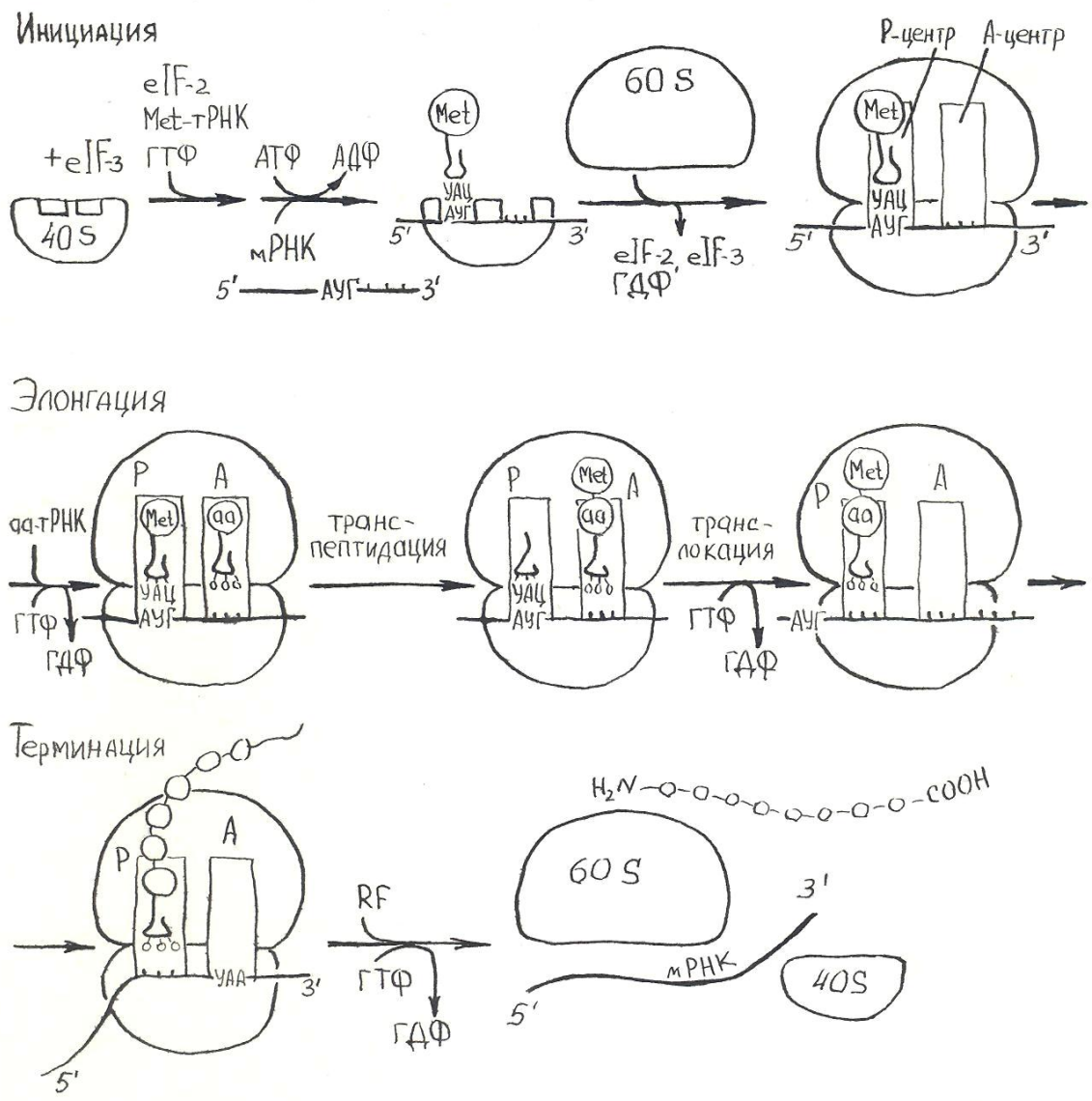


Рис. 7.1 Схема синтеза белка

Инициация трансляции представляет собой процесс, в ходе которого происходит образование комплекса, включающего **инициирующую метионил-тРНК** (мет-тРНК<sub>i</sub>), мРНК и рибосому. В этом процессе участвуют не менее 10 факторов инициации (eIF). Первоначально 40S субъединица рибосомы соединяется с фактором инициации, который препятствует её связыванию с 60S субъединицей, но стимулирует объединение с мет-тРНК<sub>i</sub>, ГТФ и другим фактором 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**) и Р (**пептидильный**) центры рибосомы, причем в Р-центре оказывается кодон АУГ с присоединенной к нему мет-тРНК<sub>i</sub>.

**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.

aa-тРНК следующей аминокислоты связывается с А-центром рибосомы. Включение aa-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 aa-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).

Удлиненная на один аминокислотный остаток дипептидил-тРНК перемещается из А-центра в Р-центр 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, а в область А-центра попадает следующий кодон.

По завершении третьей стадии элонгации рибосома в Р-центре имеет дипептидил-тРНК, а в А-центр 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 завершает весь этап элонгации.

**Терминация** трансляции 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 или 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.

### **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**).

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 модификации 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, например, 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 6).

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 7.2.

Таблица 7.2.

Антибиотики – ингибиторы матричных биосинтезов

Антибиотики	Механизм действия
<b><i>Ингибиторы репликации</i></b>	
Мелфалан	Алкилирует ДНК
<b><i>Ингибиторы репликации и транскрипции</i></b>	
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
<b><i>Ингибиторы транскрипции</i></b>	
Рифампицин	Связываются с бактериальной РНК-полимеразой
<b><i>Ингибиторы трансляции</i></b>	
Тетрациклины	Ингибируют элонгацию: связываются с 30S

<b>Антибиотики</b>	<b>Механизм действия</b>
	субъединицей рибосомы и блокируют присоединение aa-тРНК 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

### **Использование ДНК-технологий в медицине**

Достижения в области молекулярной биологии существенно повлияли на современную медицину: они не только углубили знания о причинах многих болезней, но и способствовали разработке новых подходов к их диагностике и лечению.

Для выявления дефектов в структуре ДНК она должна быть выделена из биологического материала и “скопирована” (наработана) в количествах, достаточных для исследования. Для генно-терапевтических работ необходимо выделение нормальных генов и введение их в дефектные клетки таким образом, чтобы они экспрессировались, позволяя восстановить здоровье пациента.

**Выделение ДНК** включает быстрый лизис клеток, удаление фрагментов клеточных органелл и мембран с помощью центрифугирования, разрушение белков протеазами, экстрагирование ДНК с последующим её осаждением. В ходе выделения получают очень большие молекулы, их дополнительно фрагментируют с помощью рестриктаз. Образующиеся фрагменты разделяют методом электрофореза. Количество и длина получающихся фрагментов, и соответственно, расположение полос на электрофореграмме уникально и специфично для каждого человека.

**Идентификация характерных последовательностей** проводится методом блот-гибридизации по Саузерну. Фрагменты ДНК подвергают денатурации и осуществляют перенос (блоттинг) на плотный носитель (фильтр или мембрану). Фиксированную на фильтре ДНК гибридизуют с небольшими фрагментами ДНК или

РНК, содержащими радиоактивную (флюоресцентную или др.) метку. Такие фрагменты называют ДНК- или РНК-зондами. Если в исследуемом образце есть последовательности, комплементарные последовательностям зонда, то гибридизацию можно определить визуально или с помощью специальных приборов. Метод применяется для диагностики инфекционных заболеваний, наследственных дефектов, установления экспрессии тех или иных генов.

**Секвенирование** (определение первичной структуры) ДНК проводится химическим или энзиматическим методом. *Метод Маскама и Гилберта (химический)* основан на химической деградации ДНК. Суть метода сводится к следующему: один из концов фрагмента ДНК метят с помощью радиоактивной или флюоресцентной метки. Препарат меченой ДНК делят на четыре порции и каждую из них обрабатывают реагентом, разрушающим одно или два из четырех оснований, причем условия реакции подбирают таким образом, чтобы на каждую молекулу ДНК приходилось лишь несколько повреждений. В результате получается набор меченых фрагментов, длины которых определяются расстоянием от разрушенного основания до конца молекулы. Фрагменты, образовавшиеся во всех четырех реакциях, подвергают электрофорезу в четырех соседних дорожках; затем проводят их идентификацию. По положению отпечатков можно определить, на каком расстоянии от меченого конца находилось разрушенное основание, а зная это основание – его положение. Так набор полос определяет нуклеотидную последовательность ДНК.

*Метод Сэнгера (ферментативный)* 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 пробирках, каждая из которых содержит один из четырех дидезоксинуклеотидов и все 4 дезоксинуклеотидтрифосфата (к ним, как правило присоединяют

радиоактивную или флюоресцентную метку). В каждой из пробирок образуется набор меченых фрагментов разной длины. Длина их зависит от того, в каком месте в цепь включен дефектный нуклеотид. Полученные меченые фрагменты ДНК разделяют в полиакриламидном геле с точностью до одного нуклеотида, проводят идентификацию и по картине распределения фрагментов в четырех пробах устанавливают нуклеотидную последовательность ДНК.

**Получение рекомбинантных ДНК и их амплификация.** При получении рекомбинантных ДНК выделяют эти молекулы из двух разных источников. Каждую из них в отдельности фрагментируют, используя одну и ту же рестриктазу. После процедуры нагревания и медленного охлаждения смеси полученных фрагментов, наряду с исходными молекулами ДНК, образуются и рекомбинантные, состоящие из участков ДНК, первоначально принадлежавших разным образцам. Используя технику рекомбинантных ДНК, удаётся исследовать варианты генов, ответственных за развитие многих заболеваний. Этим способом могут быть идентифицированы различные мутации.

Для получения значительных количеств рекомбинантного генетического материала проводят **клонирование ДНК**, предполагающее встраивание нужного фрагмента ДНК в векторную молекулу. Вектор обеспечивает проникновение этой рекомбинантной ДНК в бактериальные клетки. При размножении трансформированных бактерий происходит увеличение числа копий введенного фрагмента ДНК, а также синтез не свойственных бактериальной клетке, но весьма ценных для человека белковых продуктов. Таким способом получают вакцины, инсулин, гормон роста, факторы свертывания крови и др.

Работа с нуклеотидными последовательностями требует наличия достаточного количества материала для исследования. Поэтому фрагменты ДНК предварительно амплифицируют (увеличивают количество). Метод **полимеразной цепной реакции (ПЦР)**, предложенный в 1983 г. Карри Муллисом, позволяет подвергать специфической амплификации в условиях *in vitro* любые образцы ДНК.

Полимеразная цепная реакция протекает в три стадии:

### 1. Денатурация

Инкубационную смесь, в которой	5'		3'
содержится образец нужной ДНК,	3'		5'
нагревают до температуры 90°C. При		90 °C	t=15 c
этом в течение 15 секунд происходит			
разрушение слабых водородных	5'		3'
связей между нитями ДНК, и из			
одной двухцепочечной молекулы			
образуется две одноцепочечные.	3'		5'

### 2. Гибридизация праймеров

		50 °C	t=30 c
Температуру снижают до 50 °C. При	5'		3'
этом происходит гибридизация цепей			5'
ДНК с праймерами. Эта стадия		3'	
обычно протекает 30 секунд.		5'	3'
	3'		5'

### 3. Полимеризация

		70 °C	t=90 c
Инкубационную смесь нагревают до	5'		3'
70 °C. При такой температуре	3'		5'
полимераза удлиняет оба праймера с			
их 3'-концов. Праймеры дорастают до			
размеров матрицы. Этот процесс	5'		3'
протекает в течение 90 секунд. В	3'		5'
результате количество ДНК			
удваивается.			

*Рис.7.2. Схема полимеразной цепной реакции*

Процедуру проводят в автоматическом режиме в приборе – термоциклере (циклизаторе, амплификаторе). Это устройство позволяет задавать нужное количество циклов и выбирать оптимальные временные и температурные параметры. С помощью ПЦР можно получить достаточное количество копий участков ДНК, в которых предполагается присутствие мутаций, полиморфизм сайтов, можно проводить ДНК-диагностику инфицированности пациентов вирусными, бактериальными и грибковыми возбудителями болезней, клиническое тестирование на наличие патологических/дефектных генов, типирование тканей и оценку тканевой совместимости.

## ГЛАВА 8

### ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ

**Обмен веществ или метаболизм** – это совокупность химических реакций в организме, которые обеспечивают его веществами и энергией, необходимыми для жизнедеятельности. Процесс метаболизма, сопровождающийся образованием более простых соединений из сложных, обозначают термином - **катаболизм**. Процесс, идущий в обратном направлении и приводящий, в конечном счете, к образованию сложного продукта из относительно более простых – **анаболизм**. Анаболические процессы сопровождаются потреблением энергии, катаболические – высвобождением.

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.

Более того, путь, по которому идет катаболизм той или иной молекулы, может быть непригодным для ее синтеза по энергетическим соображениям. Например, протекающие в печени расщепление глюкозы до пирувата представляет собой процесс, состоящий из 11 последовательных стадий, катализируемых специфическими ферментами. Казалось бы, синтез глюкозы из пирувата должен быть простым обращением всех этих ферментативных стадий её распада. Такой путь представляется, на первый взгляд, и самым естественным, и наиболее экономичным. Однако в действительности биосинтез глюкозы (глюконеогенез) в печени протекает иначе. Он включает лишь 8 из 11 ферментативных стадий, участвующих в ее распаде, а 3 недостающие стадии заменены в нем совсем другим набором ферментативных реакций, свойственным только этому биосинтетическому пути. Кроме того, реакции катаболизма и анаболизма часто разделены мембранами и протекают в разных компартментах клеток.

Таблица 8.1.

## Компартментализация некоторых метаболических путей в гепатоците

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	Изоляция гидролитических ферментов
Комплекс Гольджи	Образование плазматической мембраны и секреторных пузырьков
Микросомы	Локализация каталазы и оксидаз аминокислот
Эндоплазматическая сеть	Синтез липидов
Митохондрии	Цикл трикарбоновых кислот, цепь тканевого дыхания, окисление жирных кислот, окислительное фосфорилирование

Метаболизм выполняет 4 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 последовательность химических превращений конкретного вещества в организме. Промежуточные продукты, образующиеся в процессе превращения, называют **метаболитами**, а последнее соединение метаболического пути – конечным продуктом. Примером метаболического пути является гликолиз, синтез холестерина.

**Метаболический цикл** – это такой метаболический путь, один из конечных продуктов которого идентичен одному из соединений, вовлеченных в этот процесс. Наиболее важными в



организме человека метаболическими циклами являются цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса) и орнитиновый цикл мочевинообразования.

Почти все метаболические реакции в конечном итоге связаны между собой, поскольку продукт одной ферментативной реакции служит субстратом для другой, которая в данном процессе играет роль следующей стадии. Таким образом, метаболизм можно представить в виде чрезвычайно сложной сети ферментативных реакций. Если поток питательных веществ в какой-нибудь одной части этой сети уменьшится или нарушится, то в ответ могут произойти изменения в другой части сети, для того чтобы это первое изменение было как-то уравновешено или скомпенсировано. Более того, и катаболические, и анаболические реакции отрегулированы таким образом, чтобы они протекали наиболее экономично, то есть с наименьшей затратой энергии и веществ. Например, окисление питательных веществ в клетке совершается со скоростью, как раз достаточной для того, чтобы удовлетворить ее энергетические потребности в данный момент.

### **Специфические и общие пути катаболизма**

В катаболизме различают три стадии (Рис. 8.1):

1. Полимеры превращаются в мономеры (белки – в аминокислоты, углеводы в моносахариды, липиды – в глицерол и жирные кислоты). Химическая энергия при этом рассеивается в виде тепла.

2. Мономеры превращаются в общие продукты, 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>), частично запасается в макроэргических связях АТФ (субстратное фосфорилирование).

1-я и 2-я стадии катаболизма относятся к *специфическим* путям, которые уникальны для метаболизма белков, липидов и углеводов.

3. Заключительный этап катаболизма сводится к окислению ацетил-КоА до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O в реакциях цикла трикарбоновых кислот (цикла Кребса) – *общий* путь катаболизма. Окислительные реакции общего пути катаболизма сопряжены с цепью тканевого дыхания.

При этом энергия (40-45%) запасается в виде АТФ (окислительное фосфорилирование).

В результате специфических и общих путей катаболизма биополимеры (белки, углеводы, липиды) распадаются до  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{NH}_3$ , которые являются основными конечными продуктами катаболизма.

### **Метаболиты в норме и при патологии**

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, общий белок 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 Вальденштрема, 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**

Уровни изучения обмена веществ:

1. Целый организм.
2. Изолированные органы (перфузируемые).

3. Срезы тканей.
4. Культуры клеток.
5. Гомогенаты тканей.
6. Изолированные клеточные органеллы.
7. Молекулярный уровень (очищенные ферменты, рецепторы и т.д.).

Довольно часто для изучения метаболизма используют радиоактивные изотопы ( $^3\text{H}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{O}$ ), которыми помечают вещества, вводимые в организм. Затем можно проследить клеточную локализацию этих веществ, определить период полураспада и их метаболические пути.

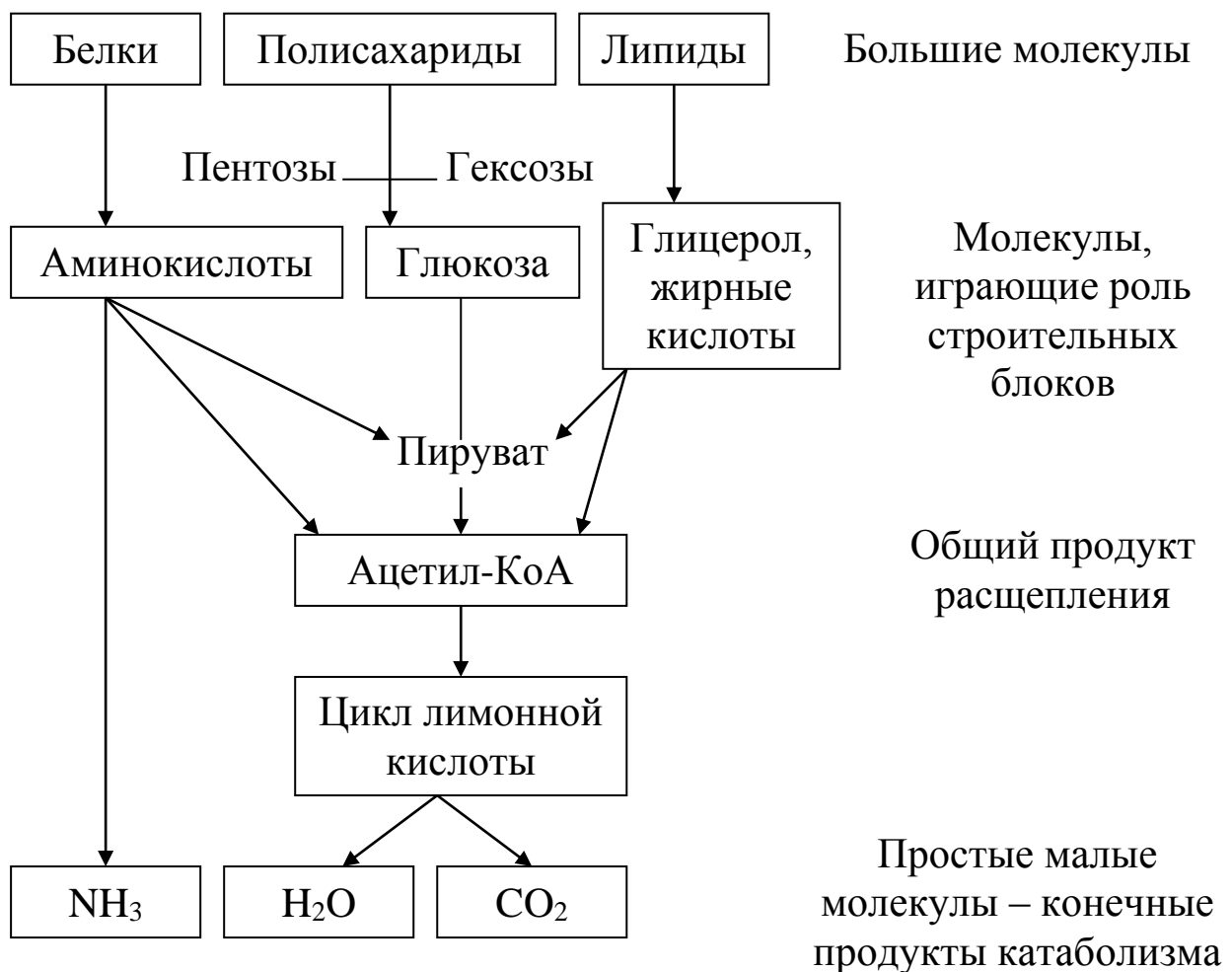


Рис. 8.1. Схема специфических и общих путей катаболизма

## ГЛАВА 9

# БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ

Клетка представляет биологическую систему, основу которой составляют мембранные структуры, отделяющие клетку от внешней среды, формирующие ее отсеки (компартменты), 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 структуры. Белки и липиды в них удерживаются вместе множеством нековалентных взаимодействий (кооперативных по характеру).

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

- 1) отделение клетки от окружающей среды и формирование внутриклеточных компартментов (отсеков);
- 2) 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) локализация ферментов;
- 6) энерготрансформирующая функция.

Мембраны **асимметричны** в структурном и функциональном отношениях (углеводы локализуются всегда снаружи и их нет на внутренней стороне мембраны). Это **динамичные структуры**: входящие в их состав белки и липиды могут двигаться в плоскости мембраны (**латеральная диффузия**). Однако существует и переход белков и липидов с одной стороны мембраны на другую (поперечная диффузия, флип-флоп), которая происходит крайне медленно. **Подвижность и текучесть** мембран зависят от её состава: соотношения насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, а также холестерина. Текучесть мембраны тем ниже, чем выше насыщенность жирных кислот в фосфолипидах и чем больше

содержание холестерина. Кроме того, для мембран характерна **самосборка**.

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

- 1) легко проницаемы для воды и нейтральных липофильных соединений;
- 2) в меньшей степени проницаемы для полярных веществ (сахара, амиды);
- 3) плохо проницаемы для небольших ионов ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  и др.);
- 4) характерно высокое электрическое сопротивление;
- 5) асимметричность;
- 6) могут самопроизвольно восстанавливать целостность;
- 7) жидкостность.

### **Химический состав мембран**

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. Согласно жидкостно-мозаичной модели строения мембраны (Сенджер и Николсон, 1972г.), 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».

### **Липиды мембран**

Мембранные липиды – амфифильные молекулы, т.е. в молекуле есть 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 холестерина в мембранах уменьшает подвижность жирных кислот, снижает латеральную диффузию липидов и белков.

Фосфолипиды можно разделить на глицерофосфолипиды и сфингофосфолипиды. Каждый глицерофосфолипид, например фосфатидилхолин, представлен несколькими десятками фосфатидилхолинов, отличающихся друг от друга строением жирнокислотных остатков.

Специфические фосфолипиды внутренней мембраны митохондрий – кардиолипиды (дифосфатидглицеролы), построенные на основе глицерола и двух остатков фосфатидной кислоты, составляют около 22% от всех фосфолипидов митохондриальных мембран.

В миелиновой оболочке нервных клеток в значительных количествах содержатся сфингомиелины.

Гликолипиды мембран представлены цереброзидами и ганглиозидами, в которых гидрофобная часть представлена церамидом. Гидрофильная группа – углеводный остаток – гликозидной связью присоединен к гидроксильной группе первого углеродного атома церамида. В значительных количествах гликолипиды находятся в мембранах клеток мозга, эпителия и эритроцитов. Ганглиозиды эритроцитов разных индивидуумов различаются строением олигосахаридных цепей и проявляют антигенные свойства.

Холестерол присутствует во всех мембранах животных клеток. Его молекула состоит из жесткого гидрофобного ядра и гибкой углеводородной цепи, единственная гидроксильная группа является полярной головкой.

### **Функции мембранных липидов**

Фосфо- и гликолипиды мембран, помимо участия в формировании липидного бислоя, выполняют ряд других функций. Липиды мембран формируют среду для функционирования мембранных белков, принимающих в ней нативную конформацию.

Некоторые мембранные липиды – предшественники вторичных посредников при передаче гормональных сигналов. Так, фосфатидилинозитолдифосфат под действием фосфолипазы C гидролизуется до диацилглицерола и инозитолтрифосфата, являющихся вторичными посредниками гормонов.

Ряд липидов участвует в фиксации заякоренных белков. Примером заякоренного белка является ацетилхолинэстераза, которая фиксируется на постсинаптической мембране к фосфатитилинозитулу.

### **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. Они могут глубоко проникать в липидный бислой или даже пронизывать его – *интегральные* белки, разными способами прикрепляться к мембране – *поверхностные* белки, либо ковалентно контактировать с ней – *заякоренные* белки. Поверхностные белки почти всегда гликозилированы. Олигосахаридные остатки защищают белок от протеолиза, участвуют в узнавании лигандов и адгезии.

Белки, локализованные в мембране, выполняют структурную и специфические функции:

- транспортную;
- ферментативную;
- рецепторную;
- антигенную.

### **Механизмы мембранного транспорта веществ**

Различают несколько способов переноса веществ через мембрану.

**Простая диффузия** – это 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 мочевины – 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 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 (пинг-понг) (перенос глюкозы в эритроциты с помощью белка-переносчика ГЛЮТ-1).

Кинетически перенос веществ облегченной диффузией напоминает ферментативную реакцию. Для транслоказ существует насыщающая концентрация лиганда, при которой все центры связывания белка с лигандом заняты, и белки работают с максимальной скоростью. Поэтому скорость транспорта веществ облегченной диффузией зависит не только от градиента концентраций переносимого вещества, но и от количества белков-переносчиков в мембране.

Простая и облегченная диффузия относится к пассивному транспорту, так как происходит без затраты энергии.

**Активный транспорт** – транспорт вещества против градиента концентрации (незаряженные частицы) или электрохимического градиента (для заряженных частиц), требующий затрат энергии, чаще всего АТФ. Выделяют два вида его: первично активный транспорт использует энергию АТФ или окислительно-восстановительного потенциала и осуществляется с помощью транспортных АТФ-аз. Наиболее распространены в плазматической мембране клеток человека  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ - АТФ-аза,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-аза,  $\text{H}^+$ -АТФ-аза.

При вторично активном транспорте используется градиент ионов, созданный на мембране за счет работы системы первично активного транспорта (всасывание глюкозы клетками кишечника и реабсорбция из первичной мочи глюкозы и аминокислот клетками почек, осуществляемые при движении ионов  $\text{Na}^+$  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 белки, нуклеиновые кислоты,



полисахариды или отдельные частицы. Механизмы, с помощью которых клетки могут усваивать такие вещества или удалять их из клетки, отличаются от механизмов транспорта ионов и полярных соединений.

А. Перенос вещества из среды в клетку вместе с частью плазматической мембраны называют **эндоцитозом**. Путем эндоцитоза (фагоцитоза) клетки могут поглощать большие частицы, такие как вирусы, бактерии или фрагменты клеток. Поглощение жидкости и растворенных в ней веществ с помощью небольших пузырьков называют **пиноцитозом**.

Б. **Экзоцитоз**. Макромолекулы, например, белки плазмы крови, пептидные гормоны, пищеварительные ферменты синтезируются в клетках и затем секретируются в межклеточное пространство или кровь. Но мембрана непроницаема для таких макромолекул или комплексов, их секреция происходит путем экзоцитоза. В организме имеются как регулируемый, так и не регулируемый пути экзоцитоза. Нерегулируемая секреция характеризуется непрерывным синтезом секретируемых белков. Примером может служить синтез и секреция коллагена фибробластами для формирования межклеточного матрикса.

Для регулируемой секреции характерны хранение приготовленных на экспорт молекул в транспортных пузырьках. С помощью регулируемой секреции происходит выделение пищеварительных ферментов, а также секреция гормонов и нейромедиаторов.

## ГЛАВА 10

# 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 (G). Направление химической реакции определяется значением  $\Delta G$ . Если эта величина отрицательна, то реакция протекает самопроизвольно. Такие реакции называются экзергоническими. Если  $\Delta G$  положительно, то реакция будет протекать только при поступлении свободной энергии извне – это эндергонические реакции. 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.

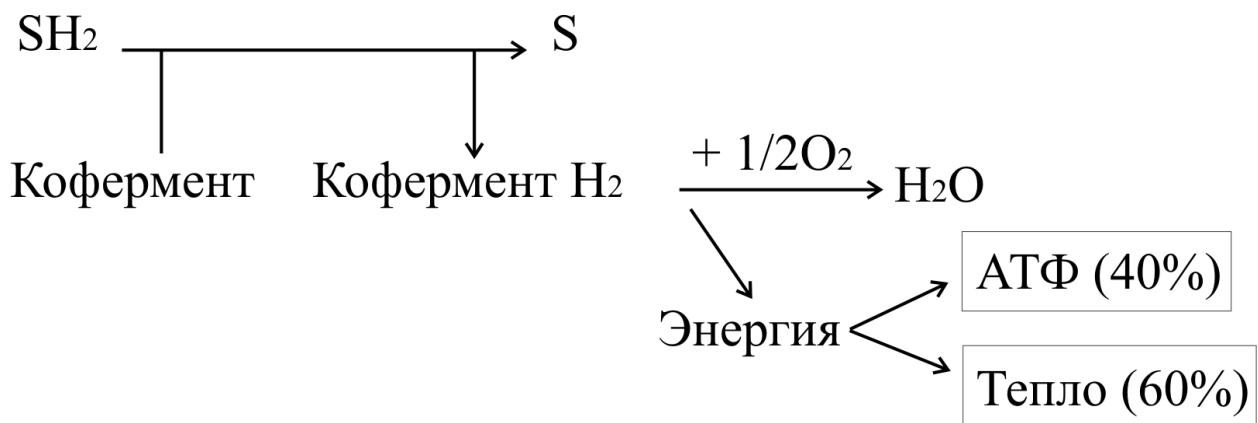
Преобразование энергии в живой клетке описывается следующей общей схемой:



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  $Na^+$  ( $\Delta\mu Na^+$ ). В то время как  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$  и  $Cl^-$  не используются для совершения какой-либо работы.

**Биологическое окисление** – это процесс дегидрирования субстрата с помощью промежуточных переносчиков водорода и его конечного акцептора. 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** – процесс окисления водорода кислородом до воды ферментами цепи тканевого дыхания. Оно протекает по следующей схеме:



Вещество окисляется, если отдает электроны или одновременно электроны и протоны (ионы водорода), или присоединяет кислород. Способность молекулы отдавать электроны другой молекуле определяется окислительно-восстановительным потенциалом (редокс-потенциалом). Любое соединение может отдавать электроны только веществу с более высоким окислительно-восстановительным потенциалом. Окислитель и восстановитель всегда образуют сопряженную пару.

Выделяют 2 типа окисляемых субстратов:

*Пиридинзависимые* – спиртовые или альдегидные – изоцитрат,  $\alpha$ -кетоглутарат, пируват, малат, глутамат,  $\beta$ -гидроксиацил-КоА,  $\beta$ -гидроксibuтират, – в их дегидрировании участвуют НАД-зависимые дегидрогеназы.

*Флавинзависимые* – являются производными углеводов – сукцинат, ацил-КоА, глицерол-3-фосфат, холин – при дегидрировании передают водород на ФАД-зависимые дегидрогеназы.

**Цепь тканевого дыхания** – последовательность переносчиков протонов ( $H^+$ ) и электронов от окисляемого субстрата на кислород, локализованных во внутренней мембране митохондрий.

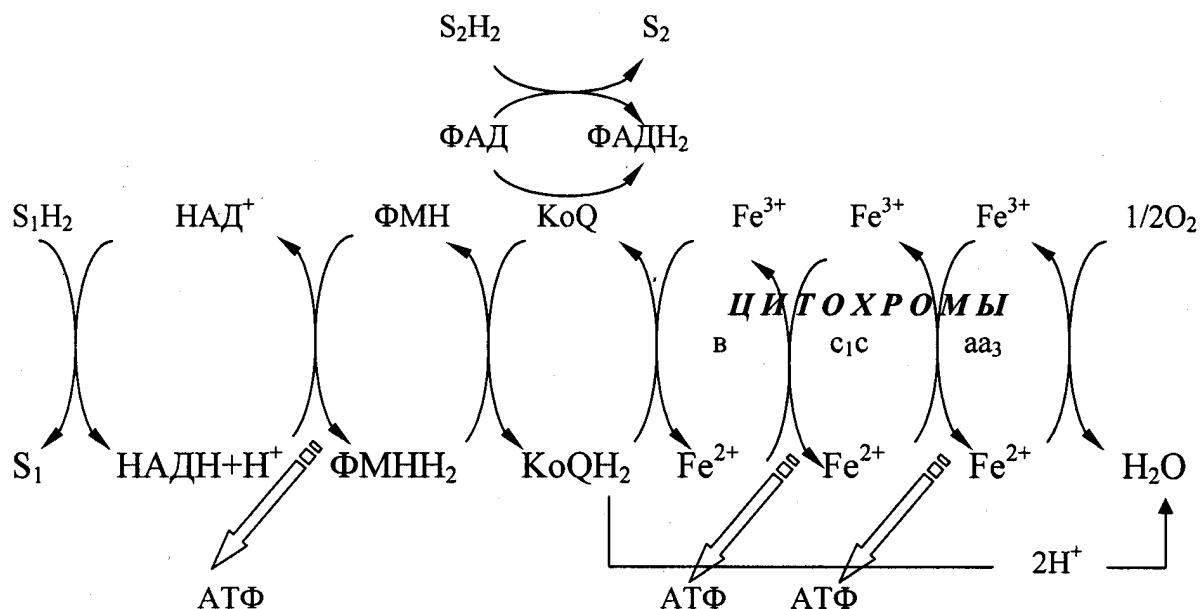


Рис. 10.1. Схема ЦТД

Компоненты ЦТД:

*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.

Жирорастворимый переносчик *убихинон (кофермент Q, КоQ)* – свободно перемещается по мембране митохондрий и акцептирует два атома водорода и превращается в *КоQH<sub>2</sub>* (восстановленная форма – убихинол).

*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 ( $Fe^{3+} + \bar{e} \leftrightarrow Fe^{2+}$ ). Это и обеспечивает участие цитохрома в транспорте электронов. Цитохромы действуют в порядке возрастания их редокс-потенциала и в дыхательной цепи располагаются следующим образом: *b - c<sub>1</sub> - c - a - a<sub>3</sub>*. Два последних работают в ассоциации как один фермент цитохромоксидаза *a<sub>3</sub>*. Цитохромоксидаза состоит из 6 субъединиц (2 - цитохрома *a* и 4 - цитохрома *a<sub>3</sub>*). В цитохроме *a<sub>3</sub>* 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 (FeS)* – содержат негемовое железо и участвуют в окислительно-восстановительных процессах, протекающих по одноэлектронному механизму и ассоциированы с флавопротеинами и цитохромом *b*.

## Структурная организация цепи тканевого дыхания

Компоненты дыхательной цепи во внутренней мембране митохондрий формируют комплексы:

**I комплекс (НАДН-КоQH<sub>2</sub>-редуктаза)** – принимает электроны от митохондриального НАДН и транспортирует их на КоQ. Протоны транспортируются в межмембранное пространство. Промежуточным акцептором и переносчиком протонов и

электронов являются ФМН и железосерные белки. I комплекс разделяет поток электронов и протонов.

**II комплекс – сукцинат – КоQ - редуктаза** – включает ФАД-зависимые дегидрогеназы и железосерные белки. Он транспортирует электроны и протоны от флавинзависимых субстратов на убихинон, с образованием промежуточного ФАДН<sub>2</sub>.

Убихинон легко перемещается по мембране и передает электроны на III комплекс.

**III комплекс – КоQH<sub>2</sub> - цитохром c - редуктаза** – имеет в своем составе цитохромы b и c<sub>1</sub>, а также железосерные белки. Функционирование КоQ с III комплексом приводит к разделению потока протонов и электронов: протоны из матрикса перекачиваются в межмембранное пространство митохондрий, а электроны транспортируются далее по ЦТД.

**IV комплекс – цитохром a - цитохромоксидаза** – содержит цитохромоксидазу и транспортирует электроны на кислород с промежуточного переносчика цитохрома c, который является подвижным компонентом цепи.

**Существует 2 разновидности ЦТД:**

*Полная цепь* – в нее вступают пиридинзависимые субстраты и передают атомы водорода на НАД-зависимые дегидрогеназы.

*Неполная (укороченная или редуцированная) ЦТД*, в которой атомы водорода передаются от ФАД-зависимых субстратов, в обход первого комплекса.

## **Окислительное фосфорилирование АТФ**

Окислительное фосфорилирование – процесс образования АТФ, сопряженный с транспортом электронов по цепи тканевого дыхания от окисляемого субстрата на кислород. Электроны всегда стремятся переходить от электроотрицательных систем к электроположительным, поэтому их транспорт по ЦТД 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.

Для объяснения механизмов сопряжения дыхания и фосфорилирования выдвинут ряд гипотез.

**Механохимическая или конформационная** (Грин-Бойера). В процессе переноса протонов и электронов изменяется конформация белков-ферментов. Они переходят в новое, богатое энергией конформационное состояние, а затем при возвращении в исходную конформацию отдают энергию для синтеза АТФ.

**Гипотеза химического сопряжения** (Липмана). В сопряжении дыхания и фосфорилирования участвуют «сопрягающие» вещества. Они акцептируют протоны и электроны и взаимодействуют с  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . В момент отдачи протонов и электронов связь с фосфатом становится макроэргической и фосфатная группа передается на АДФ с образованием АТФ путем субстратного фосфорилирования. Гипотеза логична, однако до сих пор не выделены «сопрягающие» вещества.

### **Хемиосмотическая гипотеза Питера Митчелла (1961г.)**

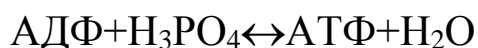
*Основные постулаты этой теории:*

внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для ионов  $\text{H}^+$  и  $\text{OH}^-$ ;

за счет энергии транспорта электронов через I, III и IV комплексы дыхательной цепи из матрикса выкачиваются протоны;

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



*Доказательства хемиосмотической теории:*

- на внутренней мембране есть градиент  $\text{H}^+$  и его можно измерить;
- создание градиента  $\text{H}^+$  в митохондрии сопровождается синтезом АТФ;
- ионофоры (разобщители), разрушающие протонный градиент, тормозят синтез АТФ;
- ингибиторы, блокирующие транспорт протонов по протонным каналам АТФ-синтазы, ингибируют синтез АТФ.

## Строение АТФ-синтазы

АТФ-синтаза – 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  $F_0$  и  $F_1$ . Гидрофобный комплекс  $F_0$  погружен во внутреннюю мембрану митохондрий и состоит из нескольких протомеров, образующих канал, по которому протоны переносятся в матрикс. Субъединица  $F_1$  выступает в митохондриальный матрикс и состоит из 9 протомеров. Причем три из них связывают субъединицы  $F_0$  и  $F_1$ , образуя своеобразную ножку и являются чувствительными к олигомицину.

Суть хемииосмотической теории: за счет энергии переноса электронов по ЦТД происходит движение протонов через внутреннюю митохондриальную мембрану в межмембранное пространство, где создается электрохимический потенциал ( $\Delta\mu H^+$ ), который приводит к конформационной перестройке активного центра АТФ-синтазы, в результате чего становится возможным обратный транспорт протонов через протонные каналы АТФ-синтазы. При возвращении протонов назад электрохимический потенциал трансформируется в энергию макроэргической связи АТФ. Образовавшаяся АТФ с помощью белка-переносчика транслоказы перемещается в цитозоль клетки, а взамен в матрикс поступают АДФ и  $\Phi_n$ .

**Коэффициент фосфорилирования (Р/О)** – число атомов неорганического фосфата, включенных в молекулы АТФ, в пересчете на один атом поглощенного кислорода.

**Пункты фосфорилирования** – участки в дыхательной цепи, где энергия транспорта электронов используется на генерацию протонного градиента, а затем в ходе фосфорилирования запасается в форме АТФ:

1 пункт – между пиридинзависимой и флавинзависимой дегидрогеназами;

2 пункт – между цитохромами b и  $c_1$ ;

3 пункт – между цитохромами a и  $a_3$ .

Следовательно, при окислении НАД-зависимых субстратов коэффициент Р/О равен 3, так как электроны от НАДН транспортируются с участием всех комплексов ЦТД. Окисление ФАД-зависимых субстратов идет в обход I комплекса дыхательной цепи и Р/О равен 2.



## Нарушения энергетического обмена

Все живые клетки постоянно нуждаются в АТФ для осуществления 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 ЦТД или синтеза коферментов.

*Гипоксические* – возникают при нарушении доставки или утилизации кислорода в клетке.

**Регуляция ЦТД.** 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  $\text{SH}_2$  и АДФ – скорость дыхания очень низкая.
2. Недостаток  $\text{SH}_2$  при наличии АДФ – скорость ограничена.
3. Есть  $\text{SH}_2$  и АДФ – дыхание очень активно (лимитируется только скоростью транспорта ионов через мембрану).
4. Недостаток АДФ при наличии  $\text{SH}_2$  – дыхание тормозится (состояние дыхательного контроля).
5. Недостаток кислорода, при наличии  $\text{SH}_2$  и АДФ –

состояние анаэробнозиса.

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 ЦТД** – это лекарственные препараты, которые блокируют перенос электронов по ЦТД. К ним относят: *барбитураты (амитал)*, которые блокируют транспорт электронов через I комплекс дыхательной цепи, антибиотик *антимидин* блокирует окисление цитохрома b; *монооксид углерода* и *цианиды* ингибируют цитохромооксидазу и блокируют транспорт электронов на кислород.

**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 ЦТД. 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 ИСР 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 11

## 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 цепи тканевого дыхания 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 (табл. 11.1.).

Таблица 11.1.

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 ЦТД. Терминальный фермент ЦТД, переносящий электроны непосредственно на кислород – цитохромоксидаза. Это основной путь потребления кислорода в

организме. Он выполняет энергетическую функцию.

### Пероксидазный тип окисления

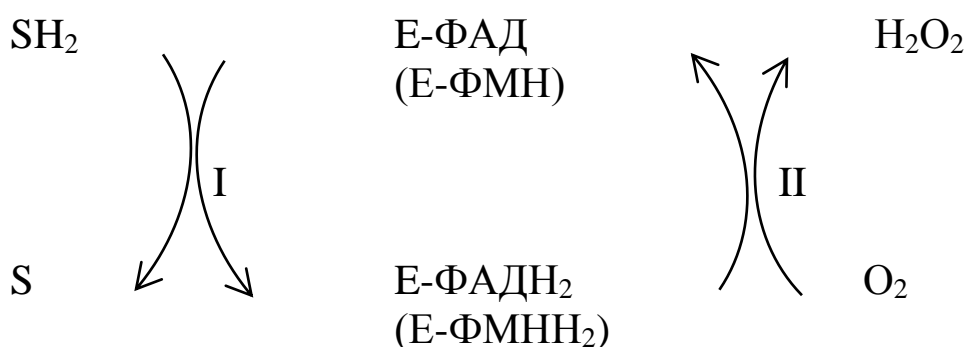
Окисление субстрата путем дегидрирования. Два атома водорода переносятся на молекулу кислорода с образованием перекиси:



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

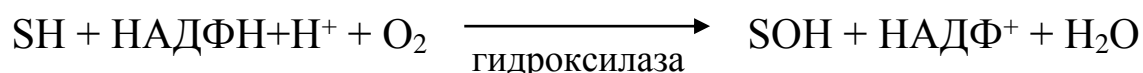
В процессе диоксигеназного окисления в молекулу субстрата включаются оба атома кислорода:



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):



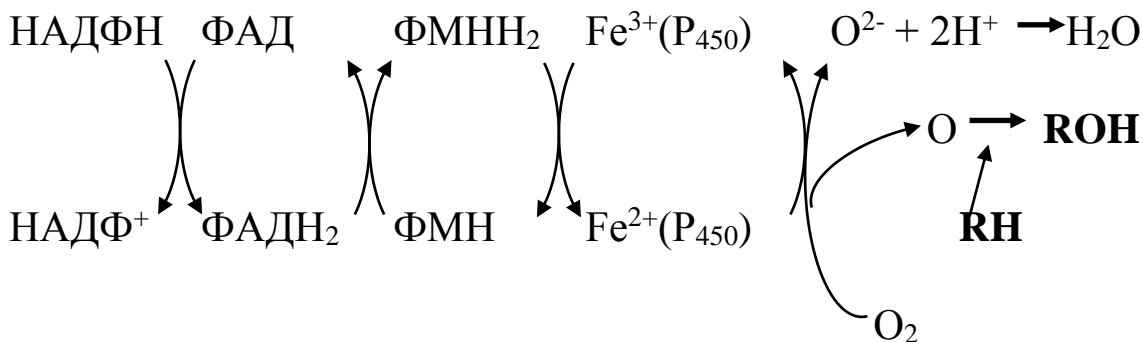
Монооксигеназные реакции необходимы для:

- 1) специфических превращений аминокислот, например, для синтеза тирозина из фенилаланина (фермент – фенилаланингидроксилаза);
- 2) синтеза холестерина, желчных кислот в печени; стероидных гормонов в коре надпочечников, яичниках, плаценте, семенниках; витамина D<sub>3</sub> в почках;
- 3) обезвреживания чужеродных веществ (ксенобиотиков) в печени.

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>.



Микросомальная система включает два фермента: цитохром P<sub>450</sub> и НАДФН-цитохром-P<sub>450</sub>-редуктазу.

НАДФН-цитохром P<sub>450</sub> – редуктаза – флавопротеин, в качестве простетической группы содержит два кофермента ФАД и ФМН.

Цитохром P<sub>450</sub> – гемопроtein, 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.

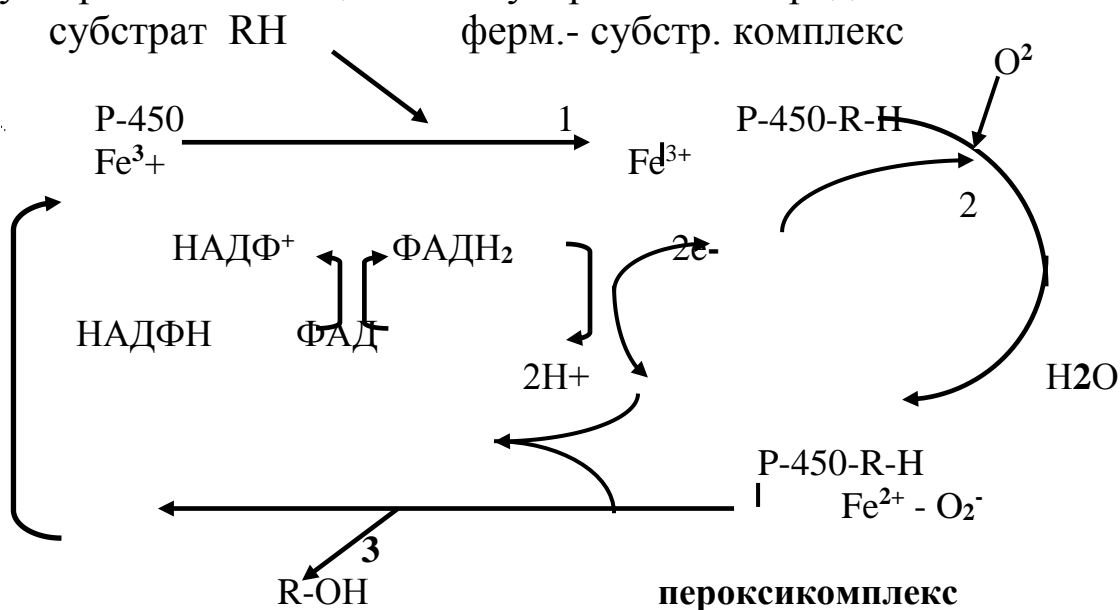


Рис. 11.1. Схема микросомального окисления

Микросомальное окисление протекает в несколько этапов:

- 1) связывание в активном центре цитохрома P<sub>450</sub> субстрата RH;
- 2) присоединение первого электрона и восстановление железа в геме до Fe<sup>2+</sup>; изменение валентности железа увеличивает сродство комплекса P<sub>450</sub> – Fe<sup>2+</sup>· RH к молекуле кислорода; присоединение второго электрона к молекуле кислорода и образование неустойчивого пероксикомплекса P<sub>450</sub>–Fe<sup>2+</sup>· O<sub>2</sub>· RH;
- 3) Fe<sup>2+</sup> окисляется, при этом электрон присоединяется к молекуле кислорода; восстановленный атом кислорода (O<sup>2-</sup>) связывает два протона (донор протонов – НАДФН + H<sup>+</sup>) и образуется 1 молекула воды; второй атом кислорода участвует в гидроксировании субстрата RH; гидроксированный субстрат ROH отделяется от фермента.

В результате гидроксирования 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 гидроксирования токсичность соединения увеличивается. Например, при окислении нетоксичного бензпирена (содержится в табачном дыму, копченостях) образуется токсичный оксибензпирен, 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 витамина D<sub>3</sub> (почки).

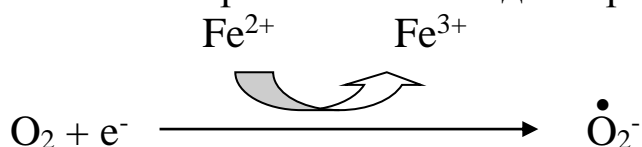
### **Активные формы кислорода**

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:

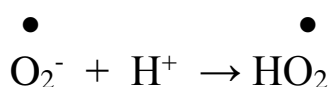
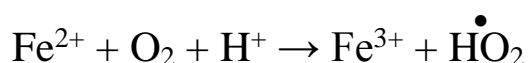
- 1) цепь тканевого дыхания (утечка электронов с восстановленного убихинона  $\text{CoQH}_2$  на кислород);
- 2) реакции, катализируемые оксидазами, гемопротейнами, цитохромом  $\text{P}_{450}$ ;
- 3) реакции окисления в лейкоцитах, макрофагах и пероксисомах;
- 4) радиолит воды;
- 5) воздействие ксенобиотиков, пестицидов;
- 6) реакции самопроизвольного (неферментативного) окисления ряда веществ.

**Супероксид-анион** является одним из наиболее широко распространенных в организме свободных радикалов:

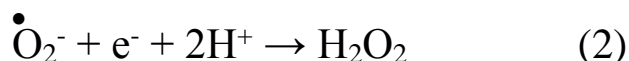
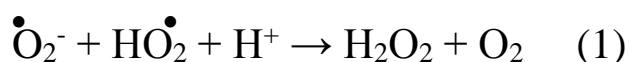


Он образуется в клетках болезнетворных бактерий и является повреждающим фактором для мембран клеток паренхиматозных органов человеческого организма. Для лейкоцитов и макрофагов супероксид-анион является фактором бактерицидности, с помощью которого клетки инактивируют патогенные микроорганизмы.

Другой путь образования свободных радикалов – взаимодействие кислорода с металлами переменной валентности. При этом образуется **пероксидный радикал**:

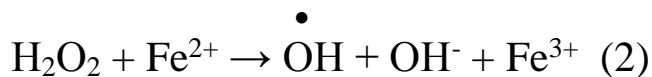
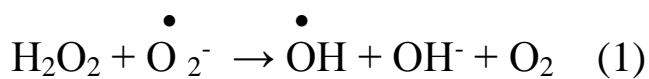


Взаимодействие супероксиданиона с пероксидным радикалом (1) или одноэлектронное восстановление супероксид-аниона (2) в водной среде приводят к образованию **пероксида водорода**





**Гидроксильный радикал ОН** 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:

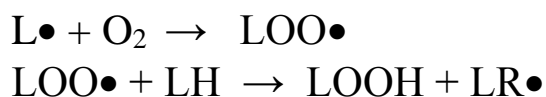
### 1. Инициация.

Иницирует реакцию чаще всего гидроксильный радикал, отнимающий водород от  $\text{CH}_2$ - групп ненасыщенной жирной кислоты L, что приводит к образованию липидного радикала  $\text{L}\bullet$ :



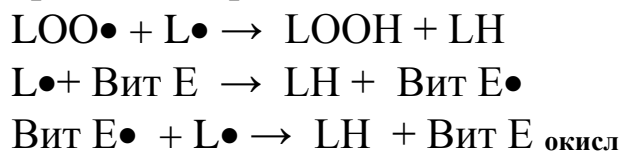
### 2. Развитие цепи.

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 аминокетуппами фосфолипидов образуются **конечные продукты ПОЛ** – Шиффовы основания. Примером этих соединений является пигмент липофусцин, появляющийся на оболочке глаза, на коже с возрастом. Липофусцин представляет собой смесь липидов и белков, связанных между собой поперечными ковалентными связями и денатурированными 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 аминокетуппами 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**

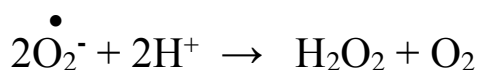
В организме токсическое действие активных форм кислорода предотвращается за счет функционирования систем антиоксидантной защиты. В норме сохраняется равновесие между окислительными (прооксидантными) и антиоксидантными системами. Антиоксидантная система защиты представлена

ферментными и неферментативными компонентами.

**Ферменты антиоксидантной системы:**

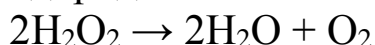
Супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза (глутатионпероксидаза), глутатионредуктаза. Наиболее активны эти ферменты в печени, почках и надпочечниках.

**Супероксиддисмутаза** превращает супероксидные анионы в пероксид водорода:



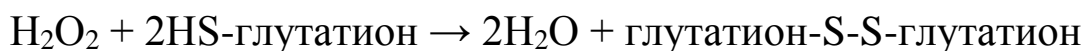
Супероксиддисмутаза является мощным ингибитором свободнорадикального окисления в организме, защищающим биополимеры (белки, нуклеиновые кислоты и др.) от окислительной деструкции. Супероксиддисмутаза – индуцируемый фермент, т.е. синтез его увеличивается, если в клетках активируется ПОЛ.

**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 12

# 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.

**Биороль 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.

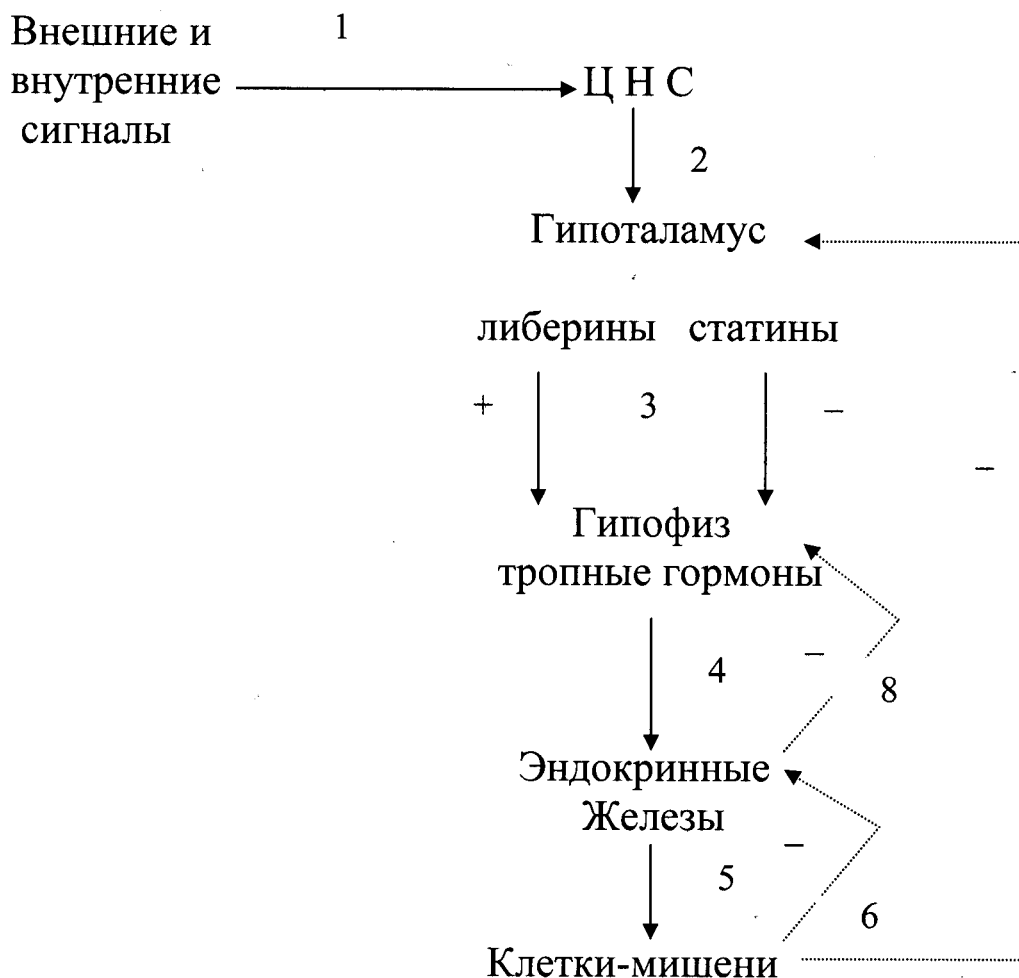


Рис. 12.1. Схема взаимосвязи регуляторных систем организма.

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 рилизинг-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

подавляет синтез гормонов в эндокринной железе или в гипоталамусе (6, 7). Синтез и секреция тропных гормонов подавляется гормонами эндокринных желез (8).

### Классификация гормонов

Гормоны классифицируются по химическому строению, биологическим функциям, месту образования и механизму действия.

**Классификация по химическому строению.** По химическому строению гормоны делят на: (табл. 12.1):

- пептидные или белковые;
- производные аминокислот;
- стероидные;
- производные арахидоновой кислоты – эйкозаноиды (оказывают местное действие)

Таблица 12.1

Классификация гормонов по химическому строению

Пептидные (белковые)	Производные аминокислот	Стероиды
Кортикотропин	Адреналин	Глюкокортикоиды
Соматотропин		
Тиреотропин	Норадреналин	Минералокортикоиды
Пролактин		
Лютропин	Трийодтиронин (Т <sub>3</sub> )	Андрогены
Лютеинизирующий гормон	Тироксин (Т <sub>4</sub> )	Эстрогены
Фолликулостимулирующий гормон		Прогестины
Меланоцитстимулирующий гормон		Кальцитриол
Вазопрессин		
Окситоцин		
Паратгормон		
Кальцитонин		
Инсулин		
Глюкагон		



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. 12.2.).

Таблица 12.2.

Классификация гормонов по биологическим функциям

<b>Регулируемые процессы</b>	<b>Гормоны</b>
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.

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.

### **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). Основной конечный эффект – **изменение активности ферментов.**
2. гормоны, проникающие в клетку (стероидные гормоны, тиреоидные гормоны). Их рецепторы находятся внутри клеток. Основной конечный эффект – **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 ситуации дозированным освобождением и последующими механизмами инактивации гормонов. Время действия гормонов различно:

- пептидные гормоны: секунды – минуты;
- белковые гормоны: минуты – часы;
- стероидные гормоны: часы;
- йодтиронины: сутки.

**3. Специфичность биологического действия.**

**4. 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.

**5. 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 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 (II)

Оксид азота образуется из аминокислоты аргинина при участии сложной  $Ca^{2+}$ -зависимой ферментной системы, названной NO-синтазой, которая присутствует в нервной ткани, эндотелии сосудов, тромбоцитах и других тканях. В клетках-мишенях NO взаимодействует с входящим в активный центр гуанилатциклазы ионом железа и способствует быстрому образованию цГМФ. Образовавшийся цГМФ вызывает расслабление гладкой

мускулатуры сосудов. Однако действие NO кратковременно, несколько секунд. Подобный эффект, но более длительный, оказывает нитроглицерин, который медленнее освобождает NO.

#### 4. $\text{Ca}^{2+}$ - мессенджерная система

Ионам  $\text{Ca}^{2+}$  принадлежит центральная роль в регуляции многих клеточных функций: регуляция метаболизма, сократительная и секреторная активность, адгезия и клеточный рост. Содержание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке в 5000 – 10000 раз ниже, чем во внеклеточной жидкости, и этот  $\text{Ca}^{2+}$  связан с митохондриями или эндоплазматическим ретикулумом. Гормональный сигнал приводит к резкому повышению концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ , поступающего через мембраны из внеклеточной жидкости или из внутриклеточных источников (митохондрии и ЭПР).  $\text{Ca}^{2+}$  связывается с внутриклеточным регуляторным белком кальмодулином, имеющим 4 центра для связывания  $\text{Ca}^{2+}$ . Комплекс  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулин, активирует специфическую  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулинзависимую протеинкиназу, которая фосфорилирует ферменты и регулирует их активность. Отмена эффектов, опосредованных ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , 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  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоль и обеспечивает его регуляторные эффекты (см. раздел 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 билипидный слой 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 13

## 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 13.1

Гормоны гипоталамуса и гипофиза

<b>Либерины</b>	<b>Статины</b>	<b>Тропные гормоны гипофиза</b>
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 активизирует 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 секретируются 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<sub>4</sub>) и **трийодтиронин** (T<sub>3</sub>), которые являются йодированными 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;
- усиление процессов возбуждения в коре больших полушарий;
- при недостатке йодтиронинов развивается тяжелая необратимая задержка умственного развития.

### **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** – соединительная, 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 кетоновых 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% больных) – заболевание, вызываемое разрушением  $\beta$ -клеток островков Лангерганса. Характеризуется абсолютным дефицитом инсулина.

**Инсулиннезависимый** сахарный диабет (у 90% больных) 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 секретируется 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 Р 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 – **феохромоцитома**, опухоль, образованная хромоаффинными 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 кетонных 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 сенсibilизации (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  $\text{K}^+$  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  $\text{Na}^+$ ), повышение кровяного давления, повышенная возбудимость миокарда (вследствие избыточного выведения  $\text{K}^+$  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 зарастиванию 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 секретитрует основное количество прогестерона. Во время беременности прогестерон секретитруется 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** (стимулируют 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, содержащих 20 углеродных атомов («эйкоза» – по гречески означает 20).

Эйкозаноиды, включающие в себя **простагландины, тромбоксаны, простациклины, 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 обмена, 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

**Простациклины** –  $PGI_2, PGI_3$ .

Простациклин  $PGI_2$  синтезируется в эндотелии сосудов,

сердечной мышце, ткани матки и слизистой желудка. Он расширяет сосуды, снижая артериальное давление, вызывает дезагрегацию тромбоцитов (препятствует образованию тромбов).

**Тромбоксаны** –  $A_2$ ,  $A_3$ ,  $B_2$  – 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** – А, В, С, 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  $A_2$  и снижают образование простагландинов) и аспирин (ингибирует циклооксигеназу);
- увеличивают выделение мочи и  $Na^+$  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 гипертензии, 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 14

## 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 400-500г 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 следующему:

- 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».

Фософолипиды 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 15

# 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 излечиваемого витамином заболевания с приставкой «анти».

### **Жирорастворимые витамины:**

1. Витамин А; ретинол (антиксерофтальмический).
2. Витамин D; кальциферолы (антирахитический).
3. Витамин Е; токоферолы (антистерильный, витамин размножения).
4. Витамин К; нафтохиноны (антигеморрагический).

### **Водорастворимые витамины:**

1. Витамин В<sub>1</sub>; тиамин (антиневритный).
2. Витамин В<sub>2</sub>; рибофлавин (витамин роста).
3. Витамин В<sub>3</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).

**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.

Таблица 15.1.

## Основные характеристики водорастворимых витаминов

Название	Суточная потребность, мг	Коферментная форма	Биологические функции	Характерные признаки авитаминозов
В <sub>1</sub> (тиамин)	2-3	ТДФ	Декарбонирование α-кетокислот, перенос активного альдегида- (транс-кетоза)	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, декарбонирование)	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 сальных желёз
В <sub>с</sub> (фолиевая кислота)	0,05-0,4	Тетрагидрофолиевая кислота	Транспорт одноуглеродных групп	Нарушения кроветворения (анемия, лейкопении)

Название	Суточная потребность, мг	Коферментная форма	Биологические функции	Характерные признаки авитаминозов
В <sub>12</sub> (кобаламин)	0,001-0,002	Дезоксиаденозил- и метилкобаламин	Транспорт метильных групп	Макроцитарная анемия
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

Таблица 15.2.  
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	Гемералопия (куриная слепота), ксерофтальмия, кератомалация, 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	Недостаточно изучены; известно положительное влияние на развитие беременности и при лечении



Название	Суточная потребность мг	Биологические функции	Характерные признаки авитаминозов
		клетке	бесплодия
К (нафто-хинон)	1-2	Участвует в активации факторов свёртывания крови: II, VII, IX, XI	Нарушение свёртывающей системы крови

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**

Ни один из 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, усиливает воздействие на организм неблагоприятных экологических факторов. Витаминный дефицит снижает активность

иммунной системы, ускоряет старение организма.

Основные причины гиповитаминозов:

- недостаточное поступление витаминов с пищей;
- нарушение всасывания в ЖКТ;
- распад витаминов в кишечнике вследствие развития микрофлоры;
- 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.

Недостаточное поступление витаминов ослабляет защитные силы организма, снижает его устойчивость к различным заболеваниям, неблагоприятным воздействиям внешней среды, способствует развитию хронических заболеваний, ускоряет старение организма.

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.

### **Поливитаминные препараты**

Медицинская промышленность разных стран выпускает:

- 1) **поливитаминные 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) **витаминно-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-D<sub>3</sub> Никомед», «Магне В<sub>6</sub>», «Мульти-табс», «Центрум», «Пиковит», «Юникап».

Витамино-минеральные комплексы с биологически активными добавками:

«Гериатрикс», «Алфавит», «Доктор Тайсс Геровитал», «Компливит», «Лизивит-С».

### **Антивитамины**

Антивитамины – вещества, вызывающие снижение или полную потерю биологической активности витаминов.

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 (В<sub>1</sub>);

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.

Таблица 15.3

### Антивитамины

<b>Витамин</b>	<b>Антивитамин</b>	<b>Механизм действия антивитамина</b>	<b>Применение антивитамина</b>
1. Пара-амино-бензойная кислота (ПАБК)	Сульфаниламиды (стрептоцид, норсульфазол, фталазол)	Сульфаниламиды – структурные аналоги ПАБК. Они ингибируют фермент путем вытеснения ПАБК из комплекса с ферментом, синтезирующим фолиевую кислоту, что ведет к торможению роста бактерий.	Для лечения инфекционных заболеваний.
2. Фолиевая кислота	Птеридины (аминоптерин, метотрексат).	Встраиваются в активный центр фолатзависимых ферментов и блокирует синтез нуклеиновых кислот (цитостатическое действие), угнетается деление клеток.	Для лечения острых лейкозов, некоторых форм злокачественных опухолей
3. Витамин К	Кумарины (дикумарин, варфарин, тромексан).	Кумарины блокируют образование протромбина, проконвертина и др. факторов свертывания крови в печени (оказывают	Для профилактики и лечения тромбозов (стенокардия, тромбозы, тромбозы, кардиосклероз и

<b>Витамин</b>	<b>Антивитамин</b>	<b>Механизм действия антивитамина</b>	<b>Применение антивитамина</b>
		противосвертывающее действие).	др.).
4. Витамин РР	Гидразид изоникотиновой кислоты (изониазид) и его производные (тубазид, фтивазид, метозид).	Антивитамины включаются в структуры НАД и НАДФ, образуя ложные коферменты, которые не способны участвовать в окислительно-восстановительных и других реакциях Биохимические системы микобактерий туберкулеза наиболее чувствительны к этим антивитаминам.	Для лечения туберкулеза.
5. Тиамин (В <sub>1</sub> )	Окситиамин, пиритиамин.	Антивитамины замещают коферменты тиамина в ферментативных реакциях.	Для создания экспериментального В <sub>1</sub> -авитаминоза.
6. Рибофлавин (В <sub>2</sub> )	Изорибофлавин, дихлоррибофлавин, галактофлавин.	Антивитамины замещают коферменты рибофлавина в ферментативных реакциях.	Для создания в экспериментах гипо- и арибофлавинозов.
7. Пиридоксин (В <sub>6</sub> )	Дезоксипиридоксин, циклосерин	Антивитамин замещает пиридоксальные коферменты в ферментативных реакциях.	Для создания экспериментальной пиридоксиновой недостаточности

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 16

### 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. Углеводы можно разделить на 3 основные группы в зависимости от количества составляющих их мономеров: моносахариды; олигосахариды; полисахариды.

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. Энергетическую.
2. Структурную – входят в состав мембран, гликозаминогликаны содержатся в соединительной ткани, пентозы входят в состав нуклеиновых кислот.
3. Метаболическую – из углеводов могут синтезироваться соединения других классов – липиды, аминокислоты и др.
4. Защитную – входят в состав иммуноглобулинов.
5. Рецепторную – входят в состав гликопротеинов, гликолипидов.
6. Специфическую – гепарин и др.

## 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

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, гидролизуя  $\alpha$ -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.

Трегалоза – 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 (транспортёров). Кроме того, глюкоза и галактоза транспортируются в энтероциты путем вторично-активного транспорта, зависящего от градиента концентрации ионов натрия. Белки-транспортёры, 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.

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 эритроцитов 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 перемещению 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.

### **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.

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 фосфорилазы, альдолазы, фруктозо-1,6-ди-фосфата, фосфоглюкомутазы, что нарушает энергообеспечение клеток.

### **Метаболизм галактозы**

Галактоза образуется в кишечнике в результате гидролиза лактозы.

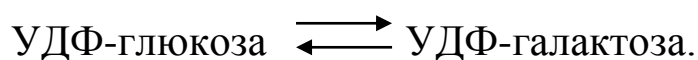
Нарушение метаболизма галактозы проявляется при наследственном заболевании – галактоземии. Оно является следствием врожденного дефекта фермента гексозо-1-фосфатуридилтрансферазы. Галактоземия проявляется вскоре после рождения, как только ребенок начинает получать молоко, в виде рвоты, диареи, дегидратации, 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.

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.

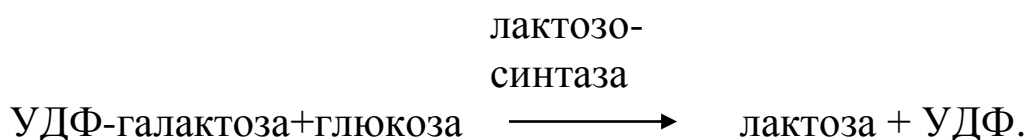
### **Метаболизм лактозы**

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 17

## 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 рис. 17.1. представлены основные пути метаболизма глюкозы.

### Гликолиз

Гликолиз – главный путь катаболизма глюкозы путем последовательных ферментативных превращений до лактата (без потребления кислорода – анаэробный гликолиз) или через окислительное декарбоксилирование пирувата до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  (в присутствии кислорода – аэробный гликолиз).

Процесс аэробного гликолиза включает несколько стадий:

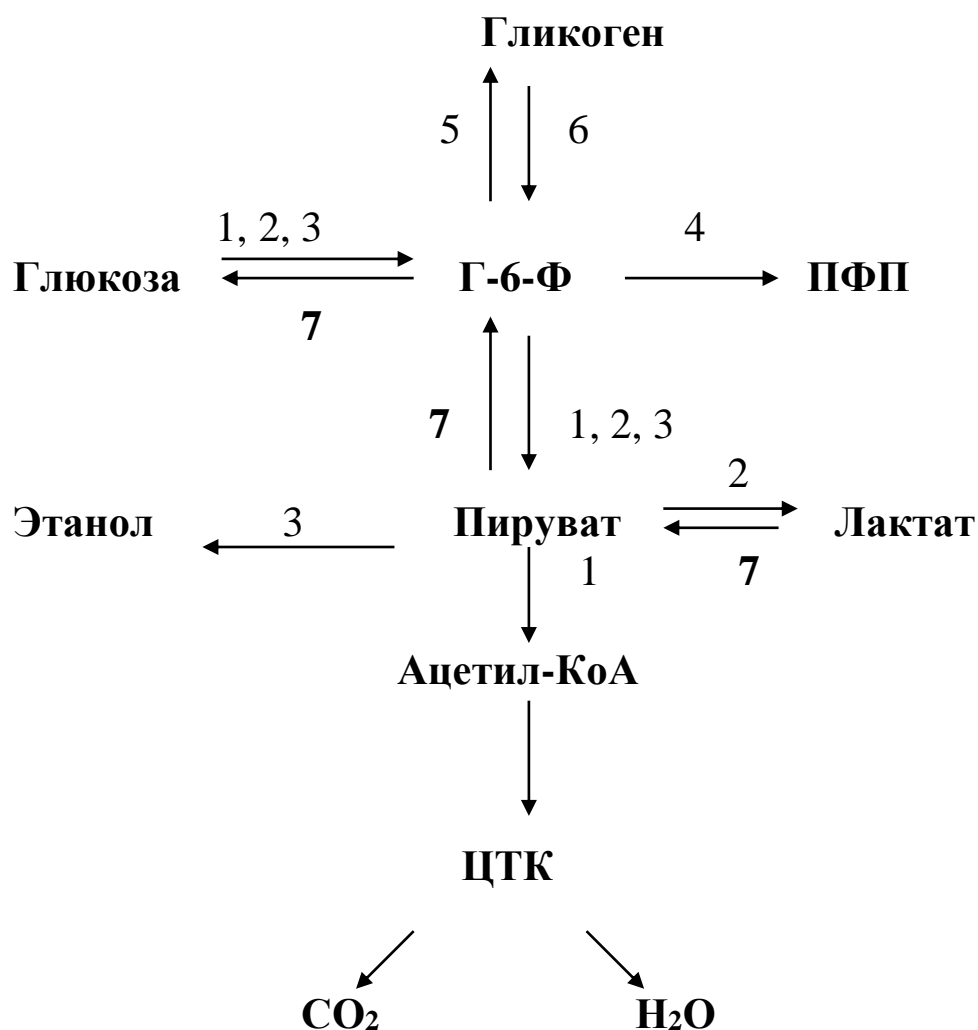
1. Процесс окисления глюкозы с образованием двух молекул пирувата.

2. Общий путь катаболизма, включающий окислительное декарбоксилирование пирувата до ацетил КоА и его дальнейшее окисление в цикле трикарбоновых кислот.

3. Цепь тканевого дыхания, сопряженная с реакциями дегидрирования, происходящими в процессе распада глюкозы.

Суммарный выход АТФ при окислении 1 моль глюкозы до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  составляет 38 моль.





1 – аэробный гликолиз; 2 – анаэробный гликолиз; 3 – спиртовое брожение;  
4 – пентозофосфатный путь; 5 – синтез гликогена; 6 – распад гликогена;  
7 – глюконеогенез.

Рис. 17.1. Общая схема путей метаболизма глюкозы

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. АТФ здесь образуется за счет реакций субстратного фосфорилирования. Баланс АТФ при анаэробном гликолизе составляет 2 моль в расчете на 1 моль глюкозы.

Аэробный гликолиз происходит во многих органах и тканях и служит основным, хотя и не единственным источником энергии для жизнедеятельности.

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.

Анаэробный гликолиз активизируется в мышцах при интенсивной 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.

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. Нарботка 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.

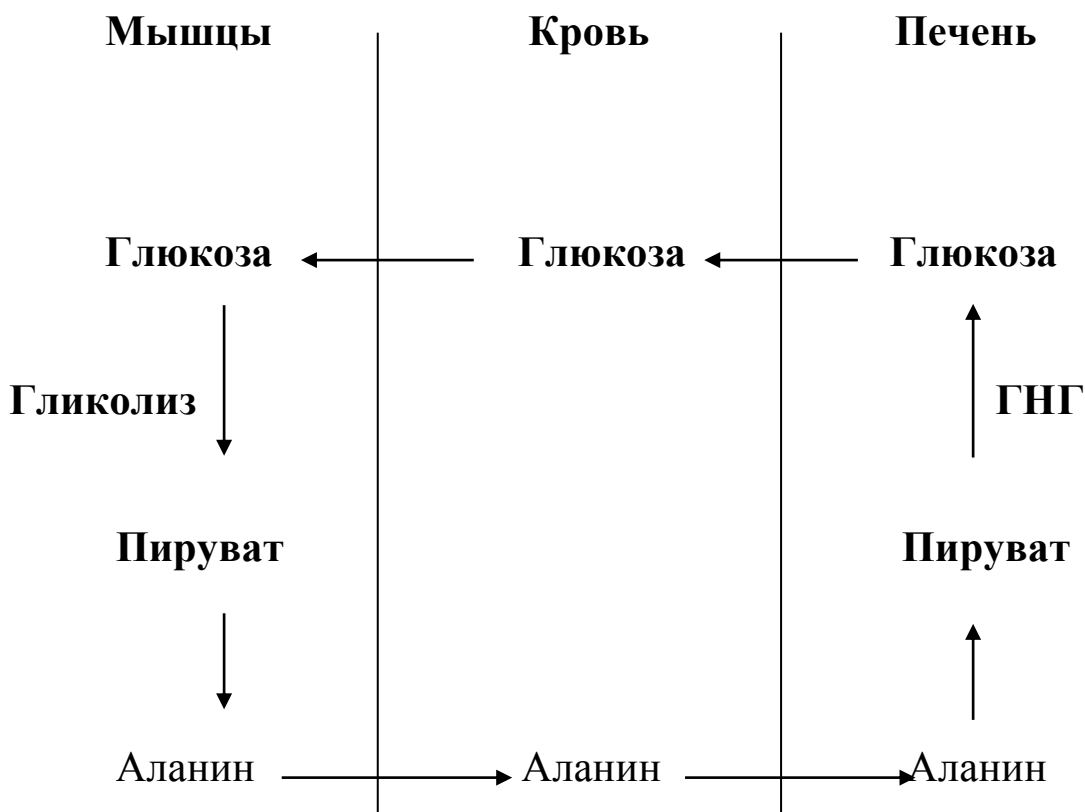
## Глюконеогенез (ГНГ)

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.

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.

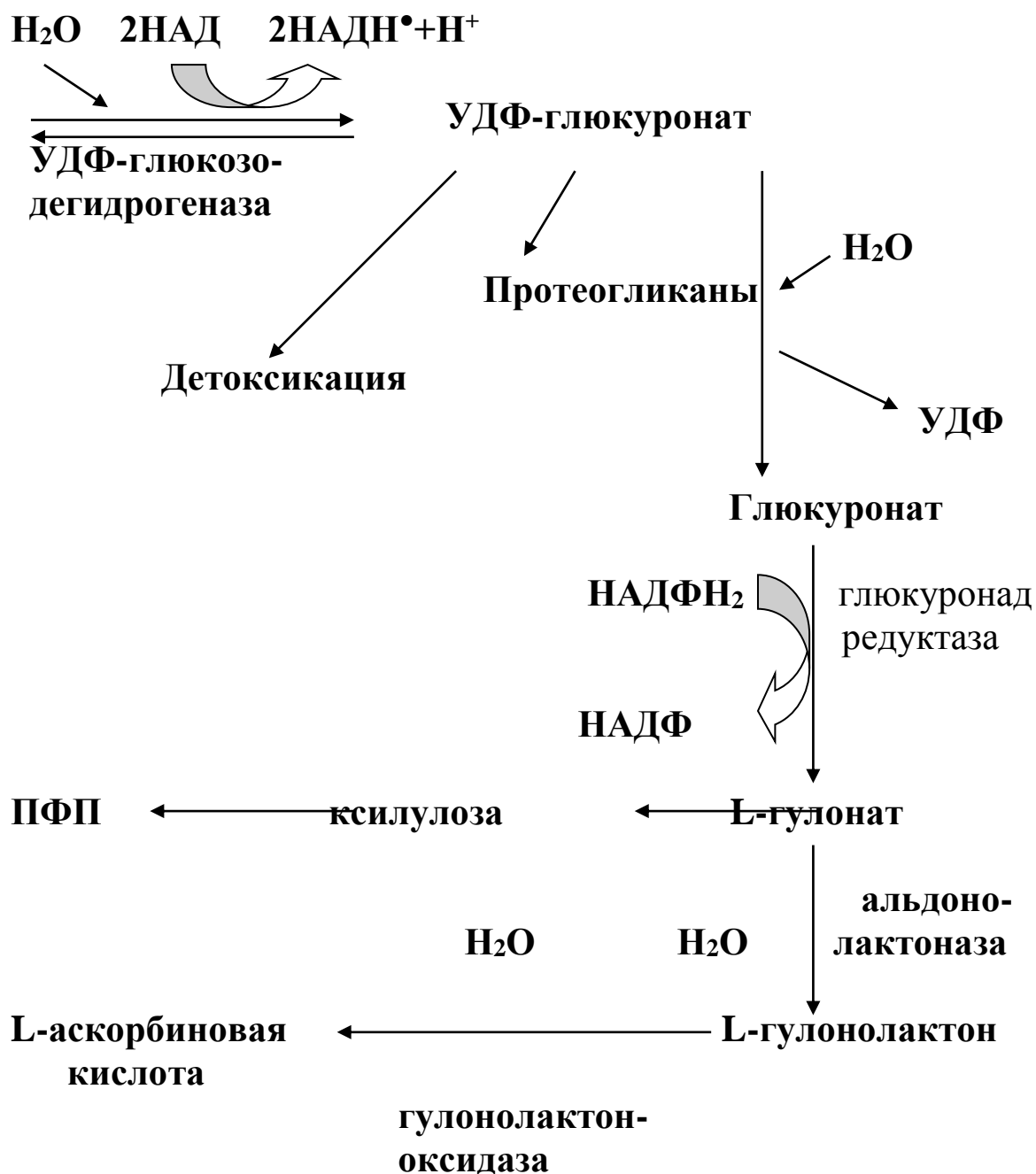
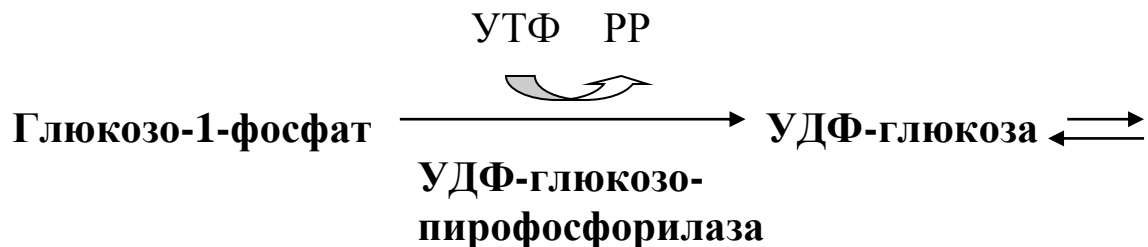
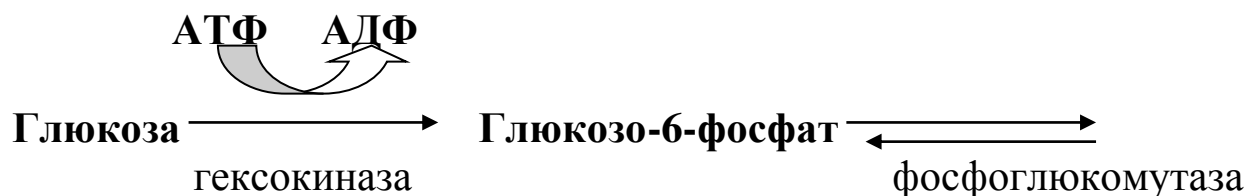


*Рис. 17.2. Глюкозо-аланиновый цикл*

### Путь глюкуроновой кислоты

Он относится к вторичным путям метаболизма глюкозы. 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.



## ГЛАВА 18

### 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. Поэтому содержание гликогена в печени служит в основном для поддержания уровня глюкозы в крови в постабсорбтивном периоде, следовательно изменяется в зависимости от режима питания. Гликоген мышц служит резервом глюкозы – источника энергии при мышечном сокращении. Мышечный гликоген не используется для поддержания уровня глюкозы в крови.

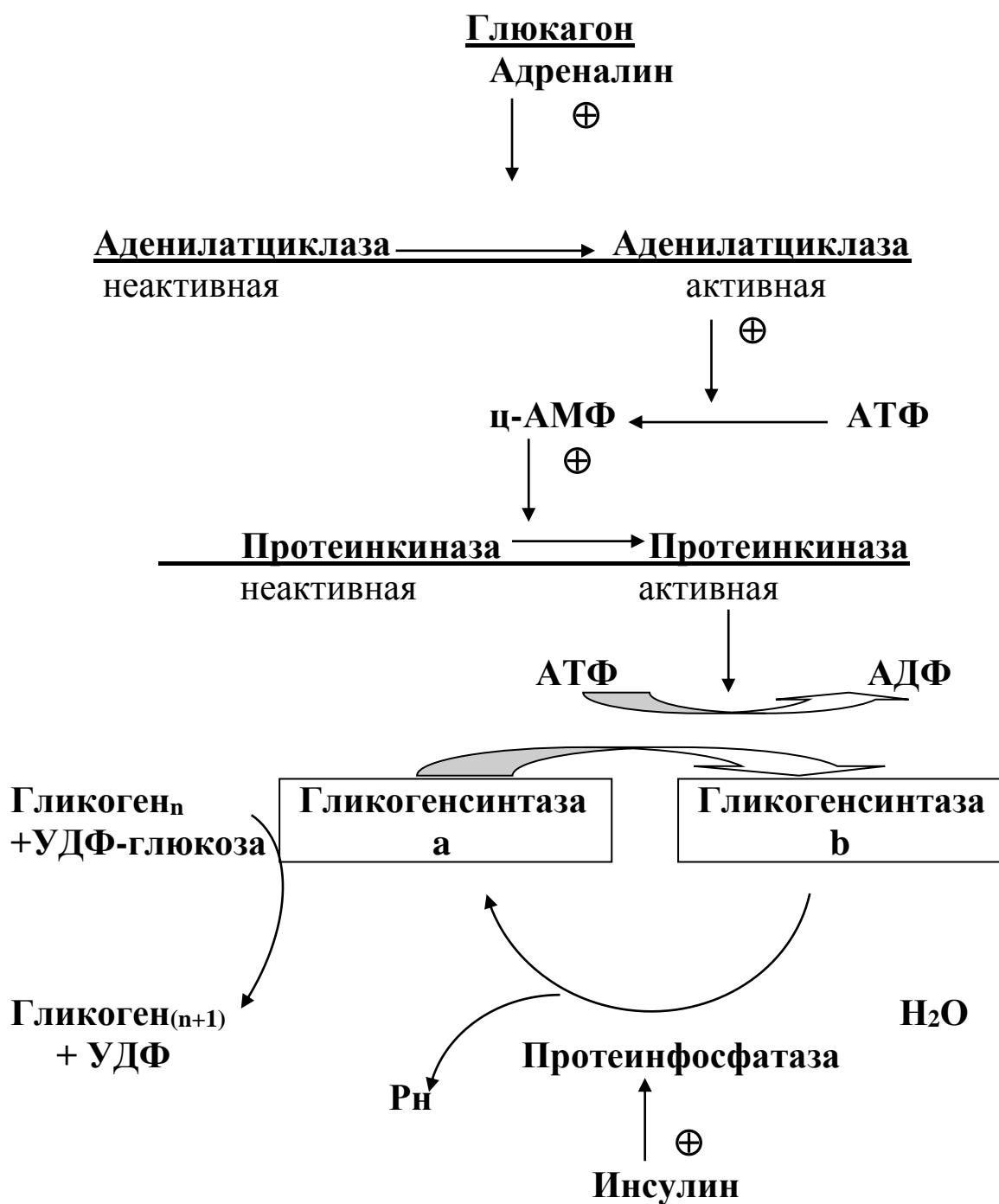
#### Синтез гликогена (гликогеногенез)

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:

1. Фосфорилирование глюкозы до глюкозо-6-фосфата при участии гексокиназы или глюкокиназы.
2. Активация первого углеродного атома с образованием активной формы – УДФ – глюкозы.
3. Образование  $\alpha$ -1,4-гликозидных связей. В присутствии «затравки» гликогена (молекулы, включающей не менее 4 остатков глюкозы) фермент гликогенсинтаза присоединяет остатки глюкозы из УДФ-глюкозы к  $C_4$ -атому концевой 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 – 4)-гликозильных единиц и дальнейшего ветвления.

Гликогенсинтаза – регуляторный фермент, существующий в двух формах: 1. – дефосфорилированной, активной (форма а); 2. – 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. 18.-1. Регуляция активности гликогенсинтазы*

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. 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.

### **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 агликогеноз.

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.

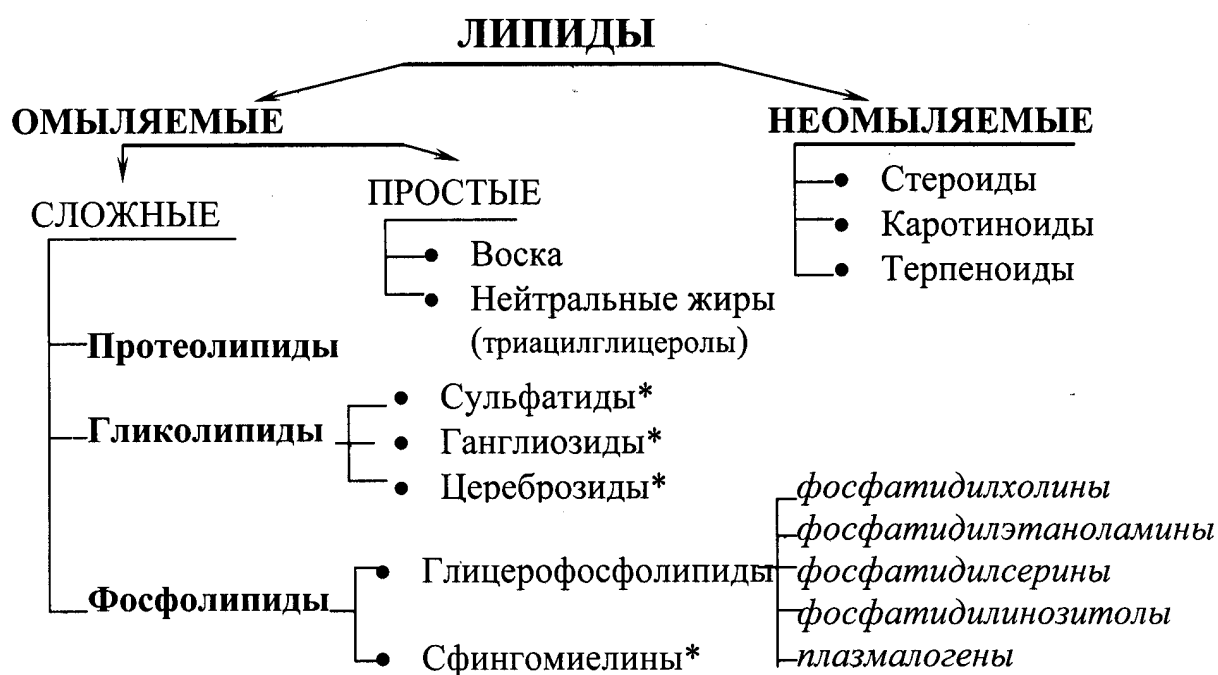
Мышечные формы гликогенозов характеризуются нарушениями в энергоснабжении скелетных мышц. Эти болезни проявляются при физических нагрузках и сопровождаются болями и судорогами в мышцах, слабостью и быстрой утомляемостью. К ним относятся гликогенозы V и VII типов.

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.

# ГЛАВА 19

## 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. 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.



*Рис. 19.1. Классификация липидов*

*\*В некоторых классификациях сфингомиелины, сульфатиды, ганглиозиды и цереброзиды объединяют в группу сфинголипидов, так как все они содержат аминокспирт 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 важны и разнообразны:

- субстратно-энергетическая: жир служит в организме весьма эффективным источником энергии либо при непосредственном использовании, либо потенциально – в форме запасов жировой ткани;
- структурная (пластическая): липиды в виде комплекса с белками являются структурными элементами мембран клеток и клеточных органелл;

- транспортная: являясь одним из основных компонентов клеточных мембран, липиды определяют транспорт веществ в клетки;
- механическая защита: жировая прослойка предохраняет тело и органы от механических повреждений;
- теплоизолирующая: благодаря выраженной низкой теплопроводимости, липиды сохраняют тепло в организме;
- электроизолирующая: липиды являются электроизолирующим материалом, участвуя таким образом в передаче нервного импульса и, соответственно, в функционировании нервной системы;
- эмульгирующая: фосфолипиды и желчные кислоты стабилизируют эмульсию на поверхности раздела фаз масло-вода;
- гормональная (регуляторная): стероидные гормоны, синтезируемые из холестерина, участвуют в регуляции водно-солевого обмена, половых функций; эйкозаноиды, производные полиеновых жирных кислот, вызывают разнообразные биологические эффекты;
- витаминная: в натуральных пищевых жирах содержатся жирорастворимые витамины и незаменимые жирные кислоты;
- 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%.

**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 секретруется 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.

**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. Гидрофильный слой 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:холестеролацилтрансферазы).

Таблица 19.1.

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 экзогенных липидов	Перенос эндогенных липидов	Предшественник 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	В-48	В-100	В-100	В-100	А-I



Типы ЛП	ХМ	ЛПОНП	ЛППП	ЛПНП	ЛПВП
апопротеины	С-II Е	С-II Е	Е		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 дислипидопротеинемий. Дислипидопротеинемия может быть либо специфическим первичным проявлением нарушений в обмене липидов и липопротеинов, либо сопутствующим синдромом при некоторых заболеваниях внутренних органов (вторичные дислипидопротеинемии). При успешном лечении основного заболевания они исчезают.

К гиполипидопротеинемиям 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 гиперлипопротеинемий различают следующие типы.

*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 IIб – 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-β-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.

### **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.

## ГЛАВА 20

# 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 ТАГ происходит в абсорбтивный период в печени и жировой ткани. Но если жировая ткань – только место депонирования жира, то печень выполняет важную роль превращения части углеводов, поступающих с пищей, в жиры, которые затем секретируются в кровь в составе ЛПОНП и доставляются в другие ткани. Непосредственными субстратами в синтезе жиров являются ацил-КоА и глицерол-3-фосфат. Метаболический путь синтеза жиров в печени и жировой ткани одинаков, за исключением разных путей образования глицерол-3-фосфата.

Печень – основной орган, где идет синтез жирных кислот из продуктов гликолиза. В гладком эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов жирные кислоты активируются и сразу же используются для синтеза ТАГ, взаимодействуя с глицерол-3-фосфатом. Синтезированные жиры упаковываются в ЛПОНП и секретируются в кровь.

В жировой ткани для синтеза ТАГ используются в основном жирные кислоты, освободившиеся при гидролизе жиров ХМ и ЛПОНП. Жирные кислоты поступают в адипоциты, превращаются в производные 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), т.е в этот период активируется 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 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 жиры в капилляры жировой ткани, где действие ЛПЛ обеспечивает быстрое поступление жирных кислот в адипоциты, где они депонируются в составе ТАГ.

Мобилизация жиров, т.е. 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 депонированных ТАГ стимулируется глюкагоном и адреналином, и, но в гораздо меньшей степени, соматотропным гормоном и кортизолом. 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 двояко: 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 похудании, 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 алиментарного 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



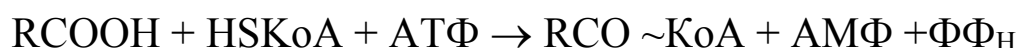
психологические факторы. Метаболические различия между тучными и худыми людьми до настоящего времени не могут быть определены однозначно. Среди причин, объясняющих эти различия, называют то, что у людей, склонных к ожирению, более эффективный метаболизм, разное соотношение аэробного и анаэробного гликолиза, различия в активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы. Установлено, что у человека и животных есть ген ожирения – *obese gene*. 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 кофермент А-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. 20.1) находится фермент карнитинацилтрансфераза I, катализирующий реакцию с образованием ацилкарнитина. Образовавшийся ацил-карнитин проходит через межмембранное пространство к наружной стороне внутренней мембраны и транспортируется с помощью карнитинацилкарнитин-транслоказы на внутреннюю поверхность внутренней мембраны митохондрий, где фермент карнитинацилтрансфераза II катализирует перенос ацила на внутримитохондриальный КоА. После этого ацил-КоА включается в реакции  $\beta$ -окисления. Свободный карнитин возвращается в межмембранное пространство той же транслоказой.

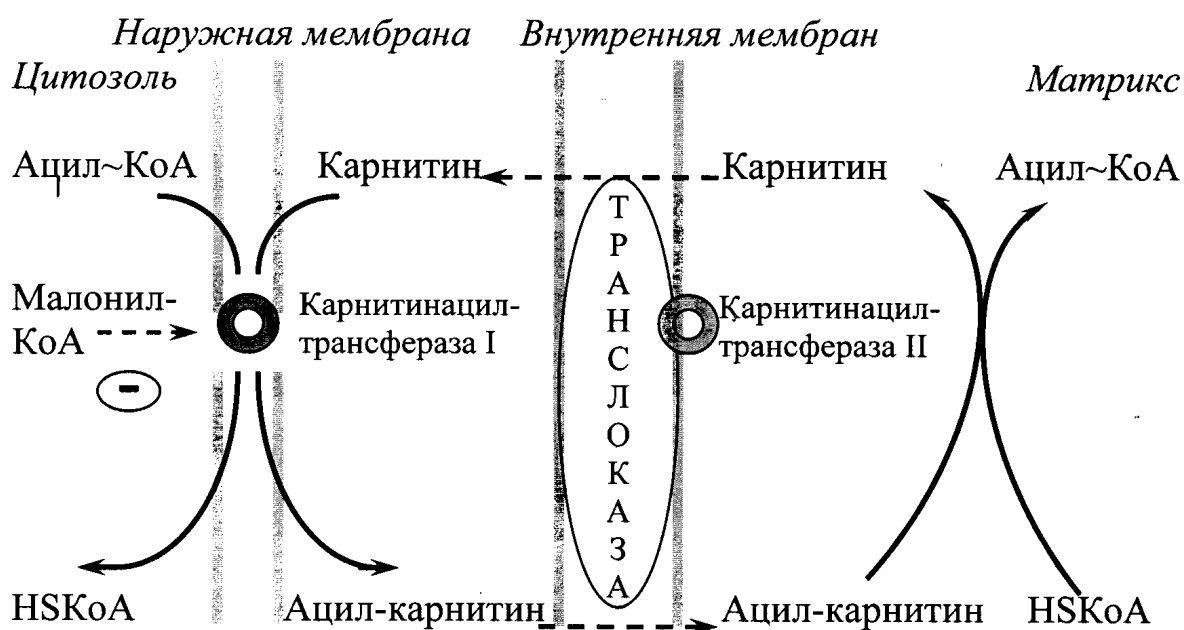
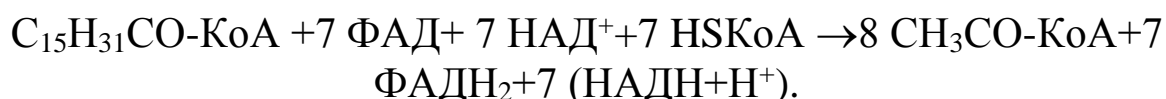


Рис. 20.1. Перенос длинноцепочечных жирных кислот через мембраны митохондрии.

$\beta$ -окисление жирных кислот – специфический путь катаболизма жирных кислот, протекающий в матриксе митохондрий только в аэробных условиях и заканчивающийся образованием ацетил-КоА. Водород из реакций  $\beta$ -окисления поступает в ЦТД, а ацетил-КоА окисляется в цикле трикарбоновых кислот, также поставляющем водород для ЦТД. Поэтому  $\beta$ -окисление жирных кислот является важнейшим метаболическим путем, обеспечивающим синтез АТФ в дыхательной цепи.

Продуктами каждого цикла  $\beta$ -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  $\beta$ -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 ЦТД, 14 – при окислении каждой из 7 молекул ФАДН<sub>2</sub> в ЦТД, синтез 96 молекул АТФ обеспечивается окислением 8 молекул ацетил-КоА в ЦТК). С учетом расхода 1 молекулы АТФ на активацию кислоты чистый энергетический выход окисления пальмитата составляет 130 АТФ. Окисление жирных кислот – важный источник энергии в тканях с высокой активностью ЦТК и дыхательной цепи (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.

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, т.е. 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.  $\beta$ -Окисление является основным путем катаболизма жирных кислот, но, помимо него, встречаются  $\alpha$ -окисление и  $\omega$ -окисление.  *$\alpha$ -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) биосинтез холестерина, 4) биосинтез жирных кислот.

### Обмен кетоновых тел

При голодании, длительной физической нагрузке и в случаях, когда клетки не получают достаточного количества глюкозы (желудочно-кишечные расстройства у детей, диета с низким содержанием углеводов, почечная глюкозурия, сахарный диабет), в жировой ткани активизируется распад жиров. Жирные кислоты поступают в печень в большем количестве, чем в норме, увеличивается скорость  $\beta$ -окисления. Активность ЦТК в этих условиях снижена, так как ЩУК используется для глюконеогенеза. В результате скорость образования ацетил-КоА превышает способность ЦТК окислять его. Ацетил-КоА накапливается в митохондриях печени и используется для синтеза *ацетоацетата*. Это вещество может выделяться в кровь или превращаться в печени в другое кетоновое тело –  *$\beta$ -гидроксибутират* путем восстановления. В клетках печени при активном  $\beta$ -окислении создается высокая концентрация НАДН. Это способствует превращению большей части ацетоацетата в  $\beta$ -гидроксибутират, поэтому основное кетоновое тело крови – именно  $\beta$ -гидроксибутират. При высокой концентрации ацетоацетата часть его неферментативно декарбоксилируется, 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. 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 свободного КоА. В норме образуется небольшое количество кетоновых тел (их содержание в крови составляет 10-30 мг/л, т.е. до 0,2 ммоль/л). В печени ацетоацетат не может окисляться, поэтому с током крови он попадает в скелетные мышцы, сердце, мозг, которые способны превращать

ацетоуксусную кислоту вновь в ацетил-КоА.

Содержание кетоновых тел в крови увеличивается тогда, когда основным источником энергии для организма служат жирные кислоты – при длительной мышечной работе, голодании, сахарном диабете.

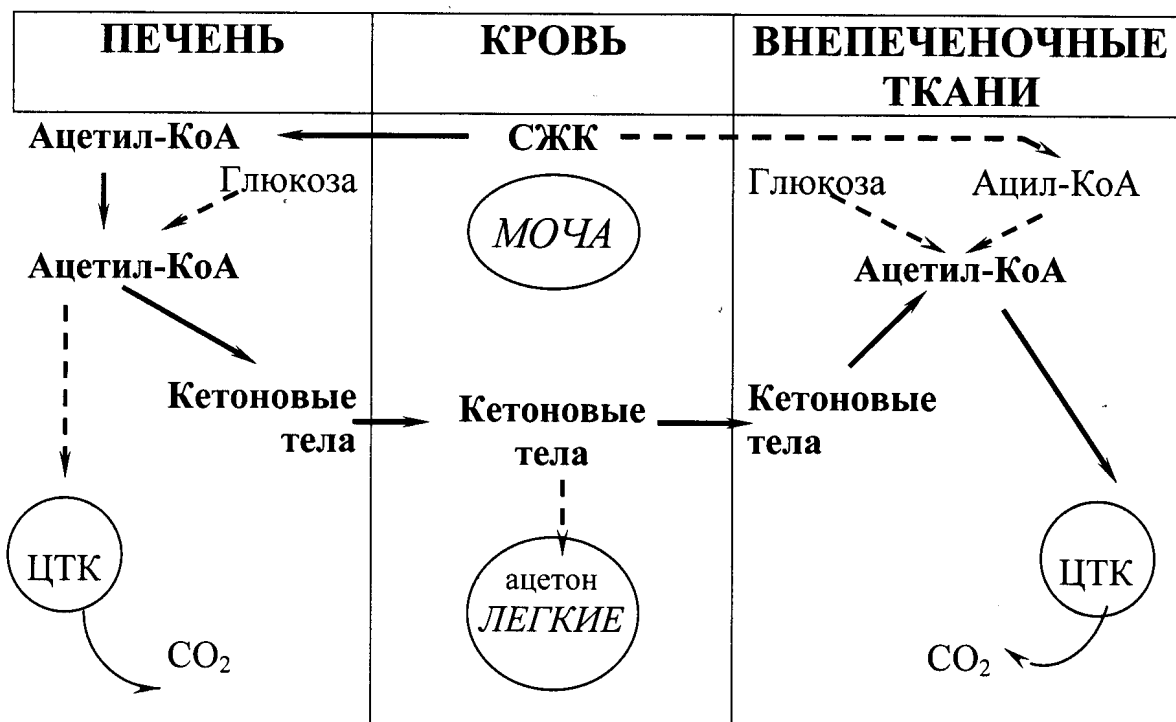


Рис. 20.2. Образование, утилизация и выведение кетоновых тел (главный путь показан непрерывными стрелками)

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 β-гидроксибутират и ацетоацетат являются водорастворимыми органическими кислотами, способными к диссоциации. 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 (ацетилтрансацилаза, малонилтрансацилаза кетоацилсинтаза, кетоацилредуктаза, гидратаза, еноил-редуктаза, тиоэстераза) 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, который под действием тиоэстеразного центра 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.

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.
2. Фосфорилирование/дефосфорилирование ацетил-КоА-карбоксилазы. В постабсорбтивном состоянии или при физической работе глюкагон или адреналин через аденилатциклазную систему активируют протеинкиназу А и стимулируют фосфорилирование субъединиц ацетил-КоА-карбоксилазы. Фосфорилированный фермент неактивен, синтез жирных кислот останавливается. 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. Такое происходит при длительном потреблении богатой углеводами и бедной жирами пищи, 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 по пути, обратному  $\beta$ -окислению, с использованием НАДФН, а не ФАДН<sub>2</sub>;

б) в микросомах за счет малонил-КоА и НАДФН; процесс напоминает функционирование синтазного комплекса в цитозоле, только промежуточные продукты не связываются с АПБ.

Введение двойных связей в структуру жирных кислот происходит также в микросомах с помощью оксидаз, при этом используются НАДФН и O<sub>2</sub>.

## ГЛАВА 21

### 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**. В отличие от простых липидов, используемых в качестве энергетического материала, 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 ЦТД.

**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. 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, целесообразность которых, очевидно, связана с необходимостью обеспечения тканей требуемым ФЛ в нужный момент.

Для синтеза фосфатидилхолинов, и в меньшей степени – сфингомиелинов, нужен холин или метионин, потребность в которых в значительной степени 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. 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 фосфатидилхолин 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 А<sub>1</sub> и А<sub>2</sub> участвуют в изменении состава жирных кислот в ФЛ, например при синтезе в эмбриональном периоде дипальмитоилфосфатидилхолина – компонента сурфактанта.

Для **образования гликолипидов и сфингомиелина** (сфинголипидов) вначале требуется синтез самого сфингозина. Это происходит путем конденсации пальмитоил-КоА с серином при участии пиридоксальфосфата (ПАЛФ) и ионов марганца (Рис. 21.1.).

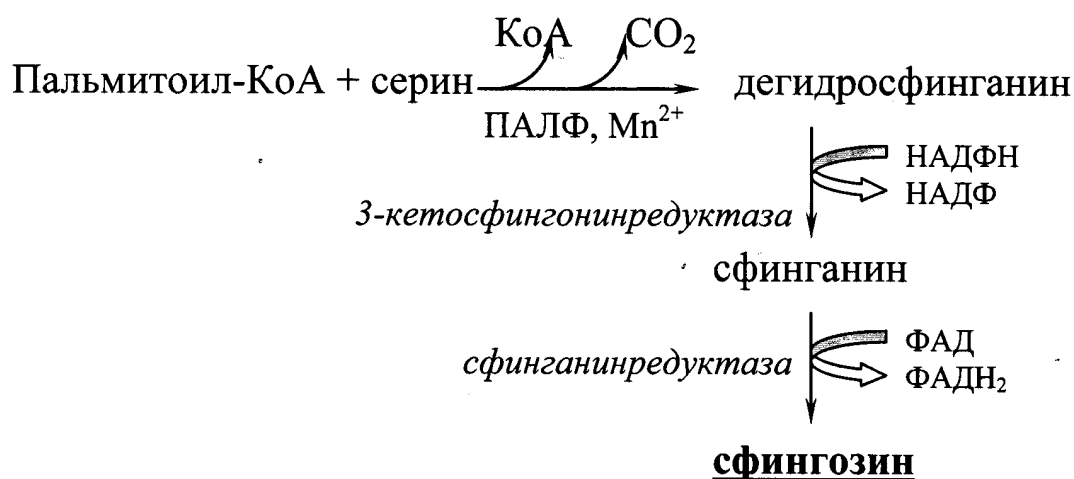


Рис. 21.1. Схема образования сфингозина

Сфингозин подвергается ацилированию (присоединение остатка жирной кислоты), в результате образуется **церамид**, из которого могут синтезироваться цереброзиды, ганглиозиды, сульфатиды и сфингомиелин (Рис.21.2.).

**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.21.2.) 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.

Сложные 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.

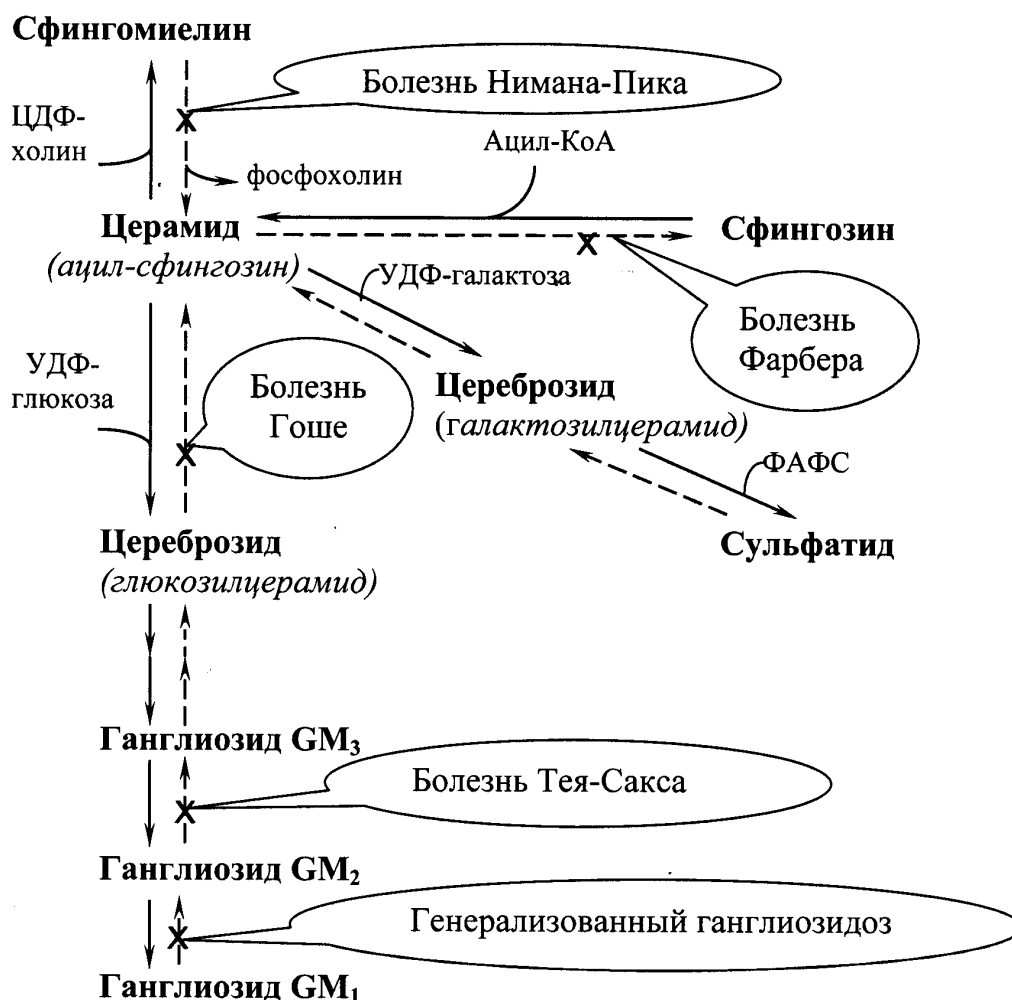


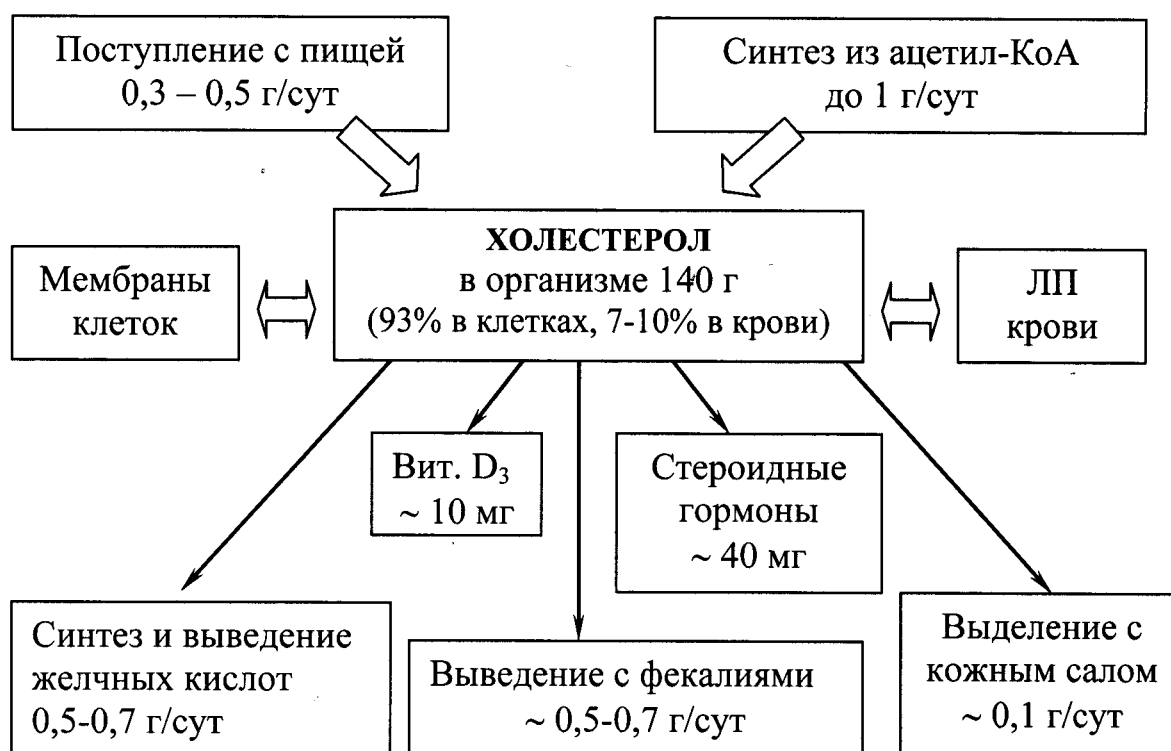
Рис.21.2. Биосинтез (  $\longrightarrow$  ) и распад (  $\dashrightarrow$  ) сфинголипидов с указанием биохимических нарушений при сфинголипидозах

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 22

### 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 22.1.



*Рис. 22.1. Формирование и распределение фонда холестерина в организме*

Холестерол организма человека (суммарное количество около 140г) условно можно разделить на три пула:

**пул А** (~ 30г), быстрообменивающийся, состоит из ХС кишечной стенки, плазмы крови, печени и других паренхиматозных органов, обновление происходит за 30 сут (1 г/сут);

пул **Б** (~ 50 г), медленнообменивающийся ХС остальных органов и тканей;

пул **В** (~ 60 г), очень медленнообменивающийся ХС спинного и головного мозга, соединительной ткани, скорость обновления исчисляется годами.

**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.

В некоторых тканях гидроксильная группа холестерина этерифицируется с образованием эфиров. Реакция катализируется внутриклеточным ферментом АХАТ (ацилКоА:холестеролацилтрансферазой). Реакция этерификации происходит также в крови в ЛПВП, где находится фермент ЛХАТ (лецитин:холестеролацилтрансфераза). 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.

2. Ингибирование синтеза ГМГ-КоА-редуктазы. ХС (конечный продукт метаболического пути) снижает скорость транскрипции гена ГМГ-КоА-редуктазы, подавляя таким образом собственный синтез, аналогичный эффект вызывают и жёлчные

кислоты.

**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», т.е. 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, 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 холестерина 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 жёлчных 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. 22.2):

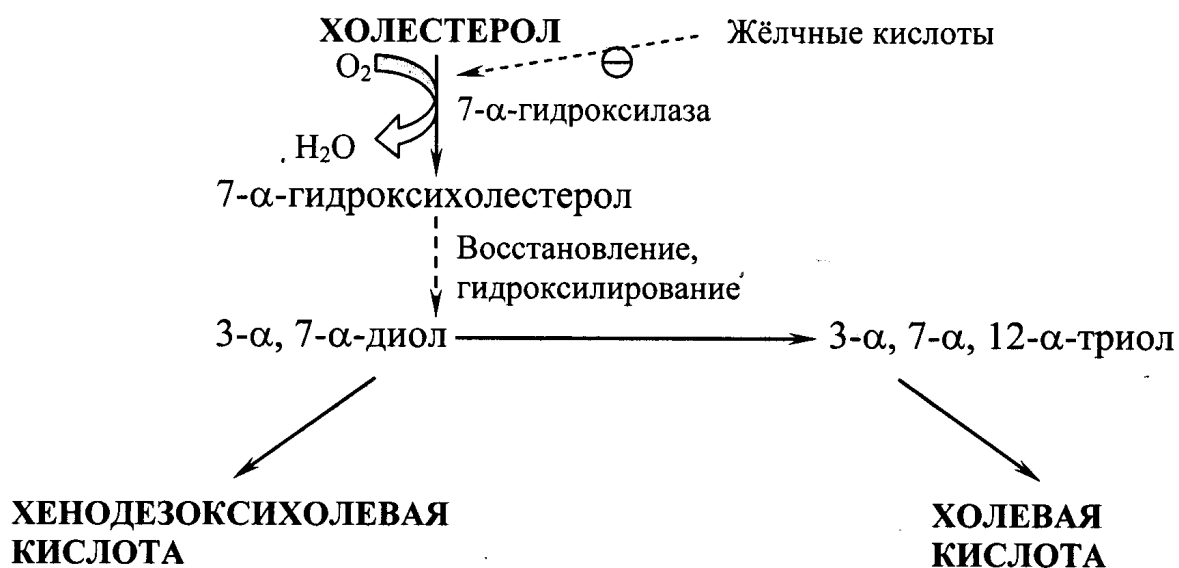


Рис. 22.2. Схема образования жёлчных кислот

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 секретируются 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, секретируемых 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 состоять 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 гиперхолестеролемия. (повышенное содержание холестерина в крови). Гиперхолестеролемия 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 концентрации 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. Это приводит к формированию липидных пятен или полосок в стенке кровеносных сосудов. 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, способствуя таким образом росту бляшки. Далее происходит прорастание бляшки фиброзной тканью, клетки под фиброзной оболочкой некротизируются, а ХС откладывается в межклеточном пространстве. 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.

**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 выраженной гиперхолестеремии 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 гиперхолестеремии. Для эффективного лечения атеросклероза применяют, как правило, комбинированное воздействие нескольких лекарственных препаратов.

# ГЛАВА 23

## 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. Аминокислоты служат донорами азота при синтезе всех азотсодержащих небелковых соединений, в том числе нуклеотидов, гема, креатина, холина и др.

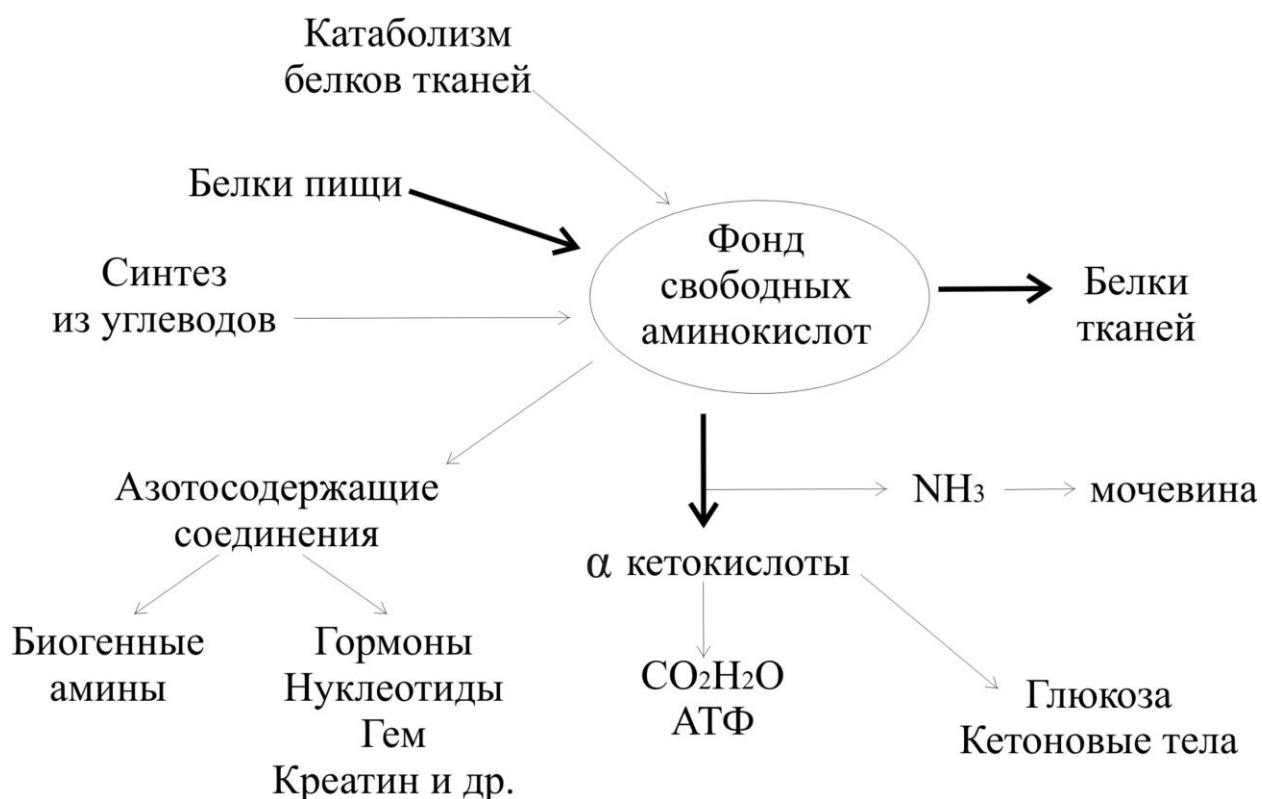


Рис. 23.1. Общая схема метаболизма аминокислот в организме

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. В организме человека в сутки распадается на аминокислоты около 400г 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).

### **Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте**

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

Секреция соляной кислоты представляет активный транспорт, осуществляемый протонной АТФ-азой с затратой 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, гастриксин и реннин. Главным из них является пепсин. Он 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.

Кроме пепсина в желудочном соке содержится фермент гастриксин, 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.

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.

Переваривание продуктов протеолиза пищевых белков в тонком кишечнике осуществляется с помощью амино-, ди-, и трипептидаз, которые функционируют преимущественно пристеночно.

Таким образом, конечными продуктами переваривания белков в ЖКТ являются свободные аминокислоты, которые всасываются.

**Всасывание аминокислот** происходит путем активного транспорта с участием переносчиков. 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. Выяснено, что существуют транспортные системы, переносящие аминокислоты определенного строения: нейтральные с небольшим радикалом, нейтральные с объемным радикалом, кислые, основные и аминокислоты.

В настоящее время, расшифрован механизм транспорта аминокислот в клетки кишечника, мозга, почек, получивший название  $\gamma$ -глутамильного цикла Майстера, ключевым ферментом которого является  $\gamma$ -глутамилтрансфераза.

Всосавшиеся аминокислоты попадают в портальный 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 интенсивно аминокислоты поглощаются печенью и почками.

## **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 образуются два типа веществ:

- токсические продукты: фенол, крезол, индол, скатол, сероводород, амины, меркаптан;
- нетоксические продукты: кетокислоты, оксикислоты, жирные кислоты, спирты.

Обезвреживание токсических веществ происходит путем образования парных нетоксичных продуктов при соединении с 3-фосфоаденозин-5-фосфосульфатом (ФАФС, активированная форма серной кислоты), либо с уридиндифосфоглюкуроновой кислотой (УДФ-глюкуронат).

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.

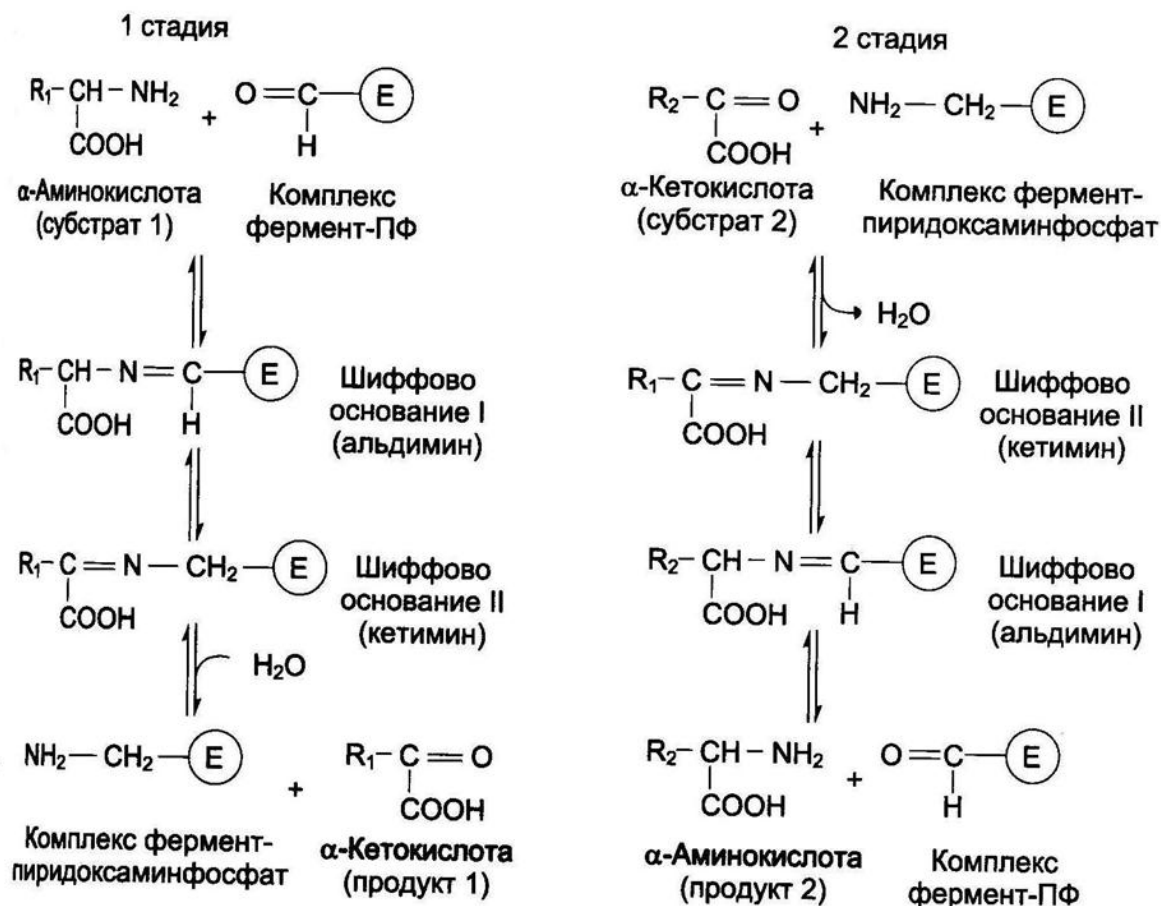
Катаболизм большинства аминокислот начинается с отщепления  $\alpha$ -аминогруппы, которое возможно в реакциях трансаминирования и дезаминирования.

## 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. 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 кетокислоту. 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).

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 аминокислот, т.е. начальный этап их катаболизма. Образующиеся при этом кетокислоты окисляются в ЦТК или используются для синтеза глюкозы и кетонových 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.

**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.

### **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 следующие типы прямого дезаминирования: окислительное, восстановительное, гидролитическое и путем внутримолекулярной перестройки. Но у человека дезаминирование происходит преимущественно окислительным путем, в результате чего образуется соответствующая  $\alpha$ -кетокислота и выделяется аммиак. Процесс идет с участием ферментов оксидаз. Выделены оксидазы L-аминокислот, превращающие L-изомеры аминокислот, и D-оксидазы.

### **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;
- высокоактивна;
- локализована 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. Окислительное дезаминирование глутамата – обратимая реакция и при повышении концентрации аммиака может протекать в обратном направлении, как **восстановительное аминирование**  $\alpha$ -кетоглутарата.

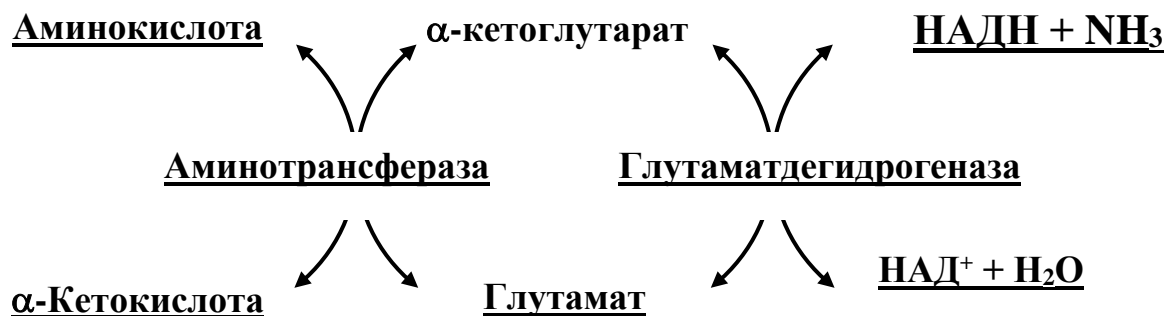
Глутаматдегидрогеназа очень активна в митохондриях клеток практически всех органов, кроме мышц. Она является регуляторным ферментом аминокислотного обмена. Аллостерические ингибиторы – АТФ, ГТФ, НАД(Ф)Н. Высокие концентрации АДФ активируют фермент. Таким образом, низкий энергетический уровень в клетке стимулирует разрушение аминокислот и образование  $\alpha$ -кетоглутарата, поступающего в ЦТК как энергетический субстрат.

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

### **Непрямое дезаминирование аминокислот**

Большинство аминокислот не способно дезаминироваться в одну стадию, подобно глутамату. Аминогруппы таких аминокислот переносятся на  $\alpha$ -кетоглутарат с образованием глутаминовой кислоты, которая затем подвергается прямому окислительному дезаминированию. Такой механизм дезаминирования аминокислот в 2 стадии получил название **трансдезаминирования** или непрямого дезаминирования. 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. Обратная последовательность реакций, при которой происходит синтез аминокислот из кетокислот, получила название трансреаминирования.



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. 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 CO<sub>2</sub> 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.).

### **Биогенные амины**

**Гистамин** образуется при декарбоксилировании гистидина в тучных клетках соединительной ткани. В организме человека 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). Кроме того, дофамин тормозит секрецию пролактина и соматотропина.

В нервных клетках декарбоксилирование глутамата приводит к образованию **γ-аминомасляной кислоты (ГАМК)**, которая служит основным тормозным медиатором высших отделов мозга. Содержание ГАМК в головном мозге в десятки раз выше других нейромедиаторов. Она увеличивает проницаемость постсинаптических мембран для ионов  $K^+$ , что вызывает торможение нервного импульса.

Цикл превращений ГАМК в мозге включает три сопряженных реакции, получивших название ГАМК-шунта. Первую катализирует глутаматкарбоксилаза. Эта реакция является регуляторной и обеспечивает скорость образования ГАМК в

клетках мозга. Последующие 2 две реакции можно считать реакциями катаболизма ГАМК. ГАМК-аминотрансфераза образует янтарный полуальдегид, который затем подвергается дегидрированию и превращается в янтарную кислоту. Сукцинат затем используется в цикле Кребса. Инактивация ГАМК возможна и окислительным путем под действием моноаминооксидазы.

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.

Для осуществления биологической функции в организме требуется определенная концентрация биогенных аминов. Избыточное их накопление может вызвать различные патологические отклонения. В связи с этим большое значение приобретают механизмы их инактивации:

- окисление ферментами моноаминооксидазами (МАО) (кофермент ФАД); таким путем чаще всего инактивируются дофамин, норадреналин, серотонин и ГАМК; при этом происходит окислительное дезаминирование биогенных аминов с образованием альдегидов, а затем соответствующих кислот, которые выводятся почками;
- метилирование с участием S-аденозилметионина; таким путем чаще всего инактивируются катехоламины – фермент катехол-орто-метилтрансфераза (КОМТ);
- окисление с помощью диаминооксидаз – инактивация гистамина, а также короткоцепочечных алифатических диаминов (путресцина и кадаверина).

## Пути катаболизма углеродного скелета аминокислот

Трансаминирование и дезаминирование аминокислот ведет к образованию безазотистых углеродных скелетов аминокислот –  $\alpha$ -кетокислот. В состав белков входят 20 аминокислот, различающихся по строению углеводородного радикала, каждый из которых катаболизируется по своим специфическим метаболическим путям.

Катаболизм всех аминокислот сводится к образованию шести веществ, вступающих в общий путь катаболизма: пируват, ацетил-КоА,  $\alpha$ -кетоглутарат, сукцинил-КоА, фумарат, оксалоацетат.

Аминокислоты, которые превращаются в промежуточные продукты ЦТК ( $\alpha$ -кетоглутарат, сукцинил-КоА, фумарат), и образуют в конечном итоге оксалоацетат, могут использоваться в процессе глюконеогенеза. Такие аминокислоты называются **гликогенными**. К ним относятся: аланин, аргинин, аспартат, глутамат, глицин, гистидин, метионин, пролин, серин, треонин, валин, цистеин.

Катаболизм лейцина и лизина не включает стадии образования пировиноградной кислоты, их углеродный скелет превращается непосредственно в ацетоацетат (лейцин, лизин) или в ацетил-КоА (лейцин) и используется в синтезе кетонных тел. Такие аминокислоты называют **кетогенными**.

Тирозин, фенилаланин, изолейцин и триптофан являются одновременно гликогенными и кетогенными. Часть углеродных атомов их молекул при катаболизме образует пируват, другая часть включается в ацетил-КоА, минуя стадию пирувата.

Истинно кетогенной аминокислотой является лейцин.

## ГЛАВА 24

# ОБРАЗОВАНИЕ И ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ $\text{NH}_3$ 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 $\text{NH}_3$ :**

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).

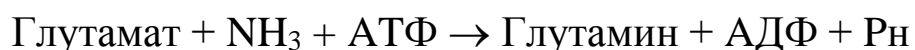
Аммиак является высокотоксичным соединением. Он легко всасывается из кишечника в портальную венозную кровь, где его уровень намного выше, чем в общей кровотоке. В норме печень быстро захватывает аммиак из портальной крови, поэтому кровь, покидающая печень, практически свободна от аммиака.

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 (конечное обезвреживание) пути обезвреживания  $\text{NH}_3$ , благодаря которым он выводится из организма.

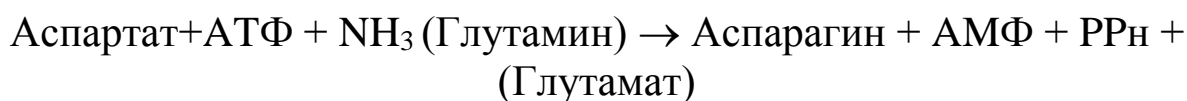
### **Тканевое обезвреживание аммиака**

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

1. Основной путь – это связывание  $\text{NH}_3$  с глутаминовой кислотой с образованием глутамина (фермент глутаминсинтетаза);



2. Похожая реакция возможна и с аспарагиновой кислотой, но она является энергетически невыгодной, так как АТФ в ней распадается до АМФ и пирофосфата:



Восстановительное аминирование  $\alpha$ -кетоглутарата. 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  $\text{NH}_3$ , 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**

*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-щелочного 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.

#### *Синтез мочевины*

Печень – единственный орган, клетки которого содержат все

ферменты синтеза мочевины и, следовательно, является единственным органом, где происходит ее образование.

В 40-х годах XX века немецкие ученые – биохимики Г. Кребс и К. Гензелейт установили, что синтез мочевины представляет собой циклический процесс, состоящий из нескольких стадий, ключевым соединением которого является орнитин. Поэтому процесс синтеза мочевины получил название **орнитинный цикл, или цикл Кребса-Гензелейта**.

Мочевина (карбамид) – полный амид угольной кислоты – содержит 2 атома азота. **Источником одного из них является аммиак**, который в печени связывается с диоксидом углерода с образованием карбамоилфосфата под действием карбамоилфосфатсинтетазы I с затратой 2 молекул АТФ. Карбамоилфосфат взаимодействует с орнитином при участии орнитинкарбамоилтрансферазы с образованием цитруллина. Он вступает в конденсацию с аспарагиновой кислотой с затратой АТФ, которая распадается до АМФ и пирофосфата. **Аспарат – источник второго азота мочевины**. Образуется аргининоянтарная кислота, которая аргининосукцинаталиазой расщепляется на аргинин и фумарат. Аргинин аргиназой разрушается на орнитин и мочевину, которая простой диффузией выходит из клеток в кровь и выделяется с мочой.

Фумарат является промежуточным продуктом ЦТК, и фумаразой превращается в малат, который окисляется малатдегидрогеназой в ЩУК. Она вступает в реакцию трансаминирования с глутаминовой кислотой и превращается в аспарат, который вновь используется в синтезе мочевины. Образовавшийся из глутамата  $\alpha$ -кетоглутарат вступает в реакцию трансаминирования с любыми аминокислотами. Следовательно, азот аминогруппы любой аминокислоты может служить источником второго атома азота в мочеине через цепь превращений:

АК  $\rightarrow$   $\alpha$   $\rightarrow$  кетоглутарат  $\rightarrow$  глутамат  $\rightarrow$  ЩУК  $\rightarrow$  аспарат.

### **Регуляция синтеза мочевины**

*Быстрая регуляция* происходит на уровне карбамоилфосфатсинтетазы I. Этот фермент аллостерически регулируется N-ацетилглутаминовой кислотой, которая

синтезируется внутри митохондрий из глутамата и ацетил-КоА.

*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. 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 ЦТД и снижению продукции АТФ.

Повышенная концентрация аммиака в организме приводит к активации глутаминсинтазы. 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 врожденные дефекты каждого фермента, участвующего в синтезе мочевины:

- Гипераммониемия I-го типа – дефект карбамоилфосфатсинтазы I.
- Гипераммониемия II-го типа – дефект орнитинкарбамоилтрансферазы.
- Цитруллинемия – отсутствует аргининосукцинатсинтаза.
- Аргининосукцинатацидурия – дефект аргининосукцинатлиазы.
- Гипераргининемия – дефект аргиназы.
- 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 полой 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 мочевину.

**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 85% 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).

**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). Нередко внепочечная азотемия является результатом наличия препятствия оттоку мочи после ее образования в почке (камни и опухоли мочевого пузыря или мочевыводящих путей).

**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 25

# 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.

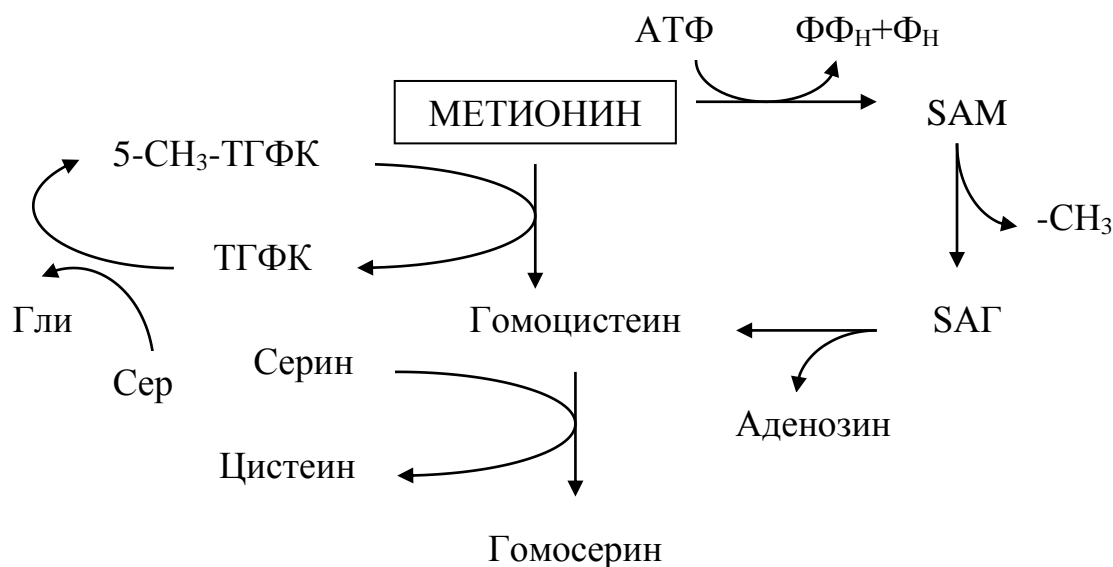


Рисунок 25.1. Обмен метионина

### Реакция активации метионина

Активной формой метионина является S-аденозилметионин (SAM), образующийся в результате присоединения метионина к молекуле аденозина. Аденозин образуется при гидролизе АТФ. Эту реакцию катализирует фермент метионаденозинтрансфераза, присутствующий во всех типах клеток. Она уникальна для биологических систем, так как является единственной реакцией, в результате которой освобождаются все три фосфатных остатка АТФ. Отщепление метильной группы от SAM и перенос ее на

соединение-акцептор катализируют ферменты метилтрансферазы. SAM в ходе реакции превращается в S-аденозилгомоцистеин (SAG).

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

- фосфатидилхолина из фосфатидилэтаноламина;
- карнитина;
- креатина;
- адреналина из норадреналина;
- метилирования азотистых оснований в нуклеотидах;
- инактивации метаболитов (гормонов, медиаторов) и обезвреживания чужеродных соединений.

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 SAG, 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 (5-метил-ТГФК), которая превращается в ТГФК. Промежуточным переносчиком метильной группы в этой реакции служит производное витамина В<sub>12</sub> - метилкобаламин, выполняющий роль кофермента. Поставщиком одноуглеродных фрагментов для регенерации 5-метил-ТГФК 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 образуется гуанидинацетат при действии глицинамидинотрансферазы. 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 (реакция легко обратима) образуется креатинфосфат – своеобразное депо энергии.

## Метаболизм фенилаланина и тирозина

Фенилаланин – незаменимая аминокислота, так как в клетках животных не синтезируется ее бензольное кольцо. Метаболизм метионина 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 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 железе из тирозина синтезируются гормоны тироксин и трийодтиронин.

В мозговом веществе надпочечников и нервной ткани тирозин является предшественником катехоламинов. Промежуточным продуктом их синтеза является ДОФА. Однако, в отличие от меланоцитов, гидроксилирование тирозина осуществляется под действием тирозингидроксилазы, которая является  $\text{Fe}^{2+}$ -зависимым ферментом, и его активность регулирует скорость синтеза катехоламинов.

## Нарушения обмена фенилаланина и тирозина

### ***Фенилкетонурия***

В печени здоровых людей небольшая часть фенилаланина (до 10%) превращается в фениллактат и фенилацетилглутамин. Этот путь катаболизма фенилаланина становится главным при нарушении основного пути – превращения в тирозин,

катализируемого фенилаланингидроксилазой. Такое нарушение сопровождается гиперфенилаланинемией и повышением в крови и моче содержания фенилаланина и его метаболитов альтернативного пути. Классическая фенилкетонурия – 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, фенилпирувата, фениллактата.

### ***Тирозинемии***

Наследственные нарушения метаболизма тирозина в печени. Известно два типа.

I тип – дефект фермента фумарилацетоацетатгидроксилазы, из-за которого накапливаются в крови токсические метаболиты, что приводит к тяжелому поражению печени и почек.

При II типе нет фермента тирозинаминотрансферазы. Повышается концентрация тирозина, наблюдается гиперкератоз ладоней и подошв.

### ***Алкаптонурия***

Причина заболевания – дефект 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.

### ***Альбинизм***

Обусловлен отсутствием тирозиназы и, соответственно, нарушается синтез пигментов меланинов. Клиническое проявление – отсутствие пигментации кожи и волос. Умственное развитие не страдает. У людей с альбинизмом повышенная склонность к солнечным ожогам.

## ГЛАВА 26

### ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ

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, вспомогательное значение.

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

- Нуклеозидтрифосфаты (НТФ) используются в качестве субстратов синтеза ДНК и РНК, без которых невозможны образование белков и клеточная пролиферация.
- Природа выбрала цикл АДФ-АТФ в качестве универсального механизма трансформации энергии окисления в энергию биосинтетических процессов. В некоторых биологических процессах и другие НТФ используются в качестве источника энергии.
- 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-ацетилнейраминавая кислота принимают участие в синтезе гликогена и гликозаминогликанов; ЦДФ-холин – в синтезе фосфолипидов.
- УДФ-глюкуроновая кислота, ФАФС, S-аденозилметионин – наиболее частые участники универсальной системы детоксикации, обеспечивающей последующее выведение ксенобиотиков (чужеродных веществ) и некоторых собственных метаболитов из организма.
- АМФ входит в состав коферментов дегидрогеназ (НАД<sup>+</sup>, НАДФ<sup>+</sup>, ФАД, ФМН) и ацилирования (КоА).
- С помощью циклических форм нуклеотидов (цАМФ, цГМФ) осуществляется передача в клетку сигналов гормонов, факторов роста, нейромедиаторов и некоторых других регуляторных молекул.

## Биосинтез пуриновых нуклеотидов

В 40-50-х годах XX столетия при проведении опытов с мечеными изотопами удалось выяснить происхождение атомов пуринового ядра при синтезе пуринов *de novo*. Было установлено, что в формировании кольца принимают участие аминокислоты (аспартат, глицин, глутамин),  $\text{CO}_2$  и два одноуглеродных производных тетрагидрофолата: метенил- $\text{N}_4$ -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.

## Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов

Образование АМФ и ГМФ регулируется аллостерическими механизмами по принципу обратной связи (Рис. 26.1). АМФ и ГМФ ингибируют активность ферментов синтеза фосфорибозиламина, а также, соответственно, активность аденилосукцинатсинтетазы и ИМФ-дегидрогеназы. При этом АТФ и ГТФ оказывают перекрестное активирующее влияние.

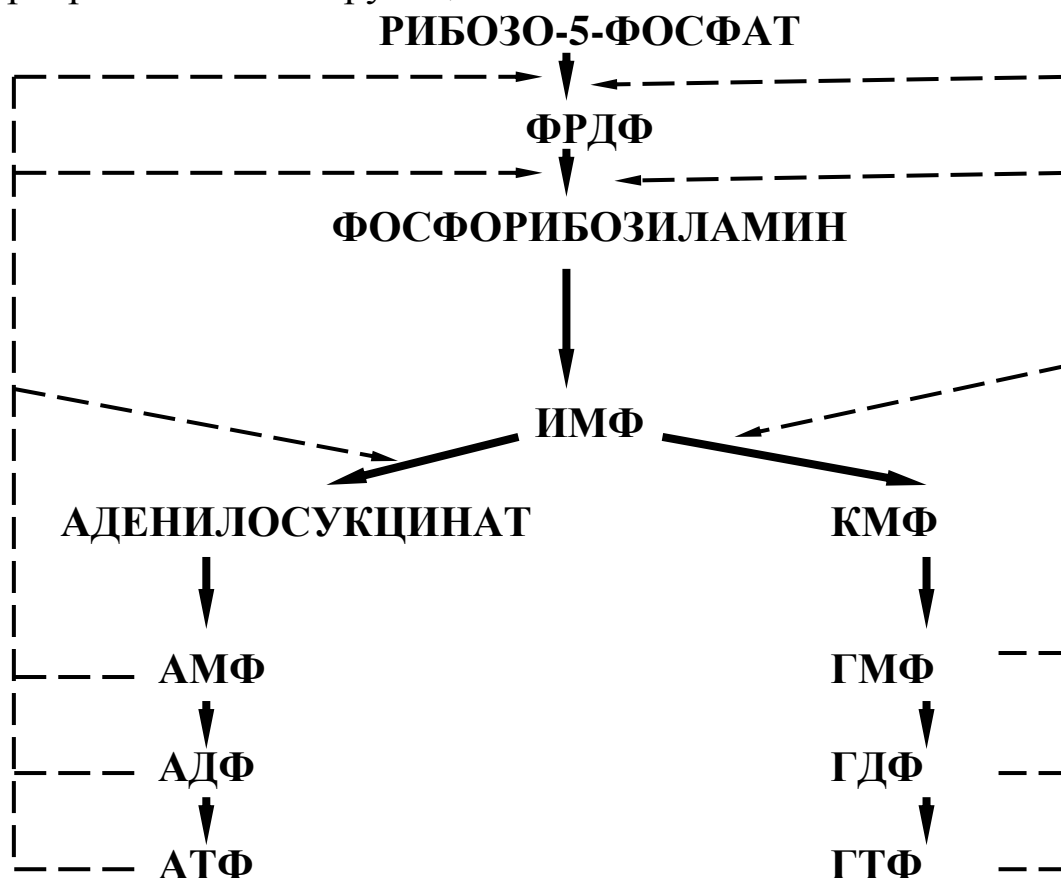


Рис. 26.1. Регуляция скорости синтеза пуринов

## 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: глутамин,  $\text{CO}_2$  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. 26.2).

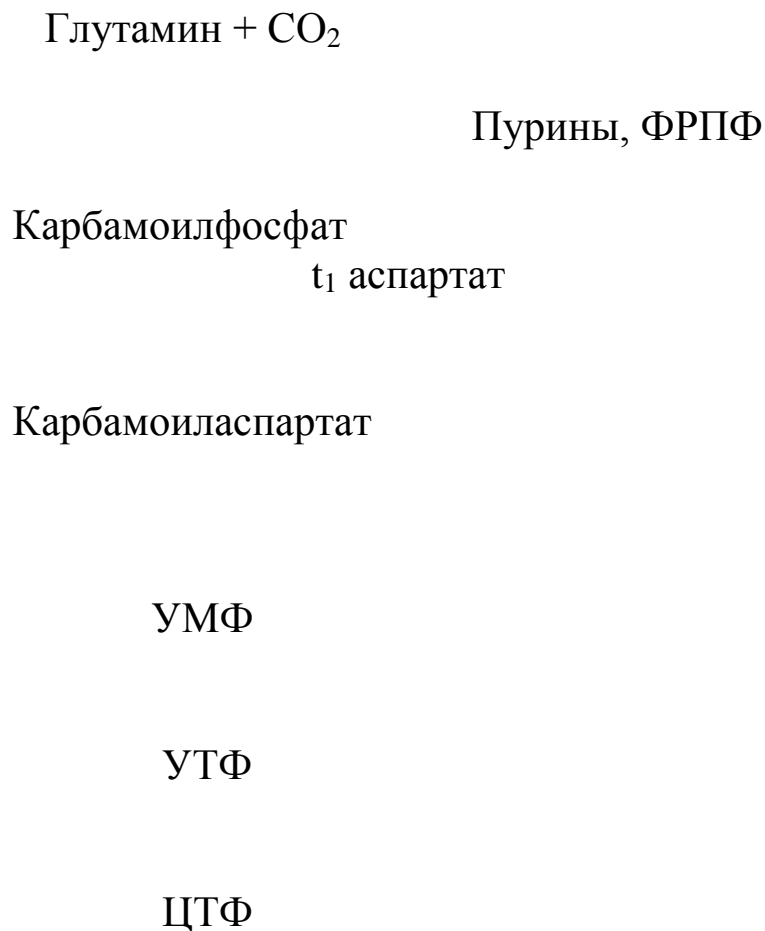


Рис. 26.2. Регуляция синтеза пиримидиновых нуклеотидов

## Распад нуклеиновых кислот в желудочно-кишечном тракте и тканях

Нуклеиновые кислоты поступают в организм с пищей главным образом в составе нуклеопротеинов и высвобождаются в результате действия протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта (Рис. 26.3). 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 гидролизуются далее до азотистых оснований и пентоз.

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

### Нуклеопротеины

Протеазы

ДНК, РНК

Дезоксирибонуклеаза,  
рибонуклеаза

Нуклеотиды

Р<sub>i</sub>            Нуклеотидаза,  
                  фосфатаза

Нуклеозиды

Нуклеозидазы

Азотистые основания + рибоза,  
                  дезоксирибоза

*Рис. 26.3. Распад нуклеиновых кислот в желудочно-кишечном тракте*



## Нарушения обмена нуклеотидов

### *Ксантинурия*

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*

Оротацидурия – наследственное заболевание, связанное с утратой двух ферментов пути синтеза пиримидинов – **оротат-фосфорибозилтрансферазы** и **оротидиндекарбоксилазы** (I тип) или только отсутствием оротидиндекарбоксилазы (II тип). В детском возрасте для больных характерны отставание в 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. Вместе с тем, заболевание легко поддается лечению уридином.

### *Подагра*

Мочевая кислота, являясь конечным продуктом распада пуринов, выделяется из организма с мочой. При усиленном образовании мочевой кислоты в тканях организма развивается гиперурикемия. Это состояние может быть вызвано наследственными дефектами обмена пуринов, например, нарушением реутилизации пуриновых азотистых оснований (синдром Леша-Нихана), 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 27

### 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.

Различают несколько уровней регуляции метаболизма:

- Молекулярный.
- Клеточный.
- Органный (тканевой).
- Организменный.

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 на уровне мембран может осуществляться посредством нескольких механизмов:

- избирательная проницаемость мембран для различных метаболитов и ионов; на уровне мембран реализуются, по крайней мере, частично, такие регуляторные факторы, как доступность субстратов и коферментов, удаление продуктов реакции;
- способность мембран фиксировать гормоны с помощью рецепторов;
- ферментативная активность мембран.

Циклические нуклеотиды и другие вторичные посредники участвуют в реализации действия целого ряда гормонов.

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 реализоваться 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 цепь тканевого дыхания, активность функционирования которой при этом также увеличивается. Это приводит к ресинтезу АТФ и пополнению её пула, сниженного в результате мышечного сокращения.

### **Взаимосвязь метаболизма**

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, монопнуклеотидов 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. 27.1).

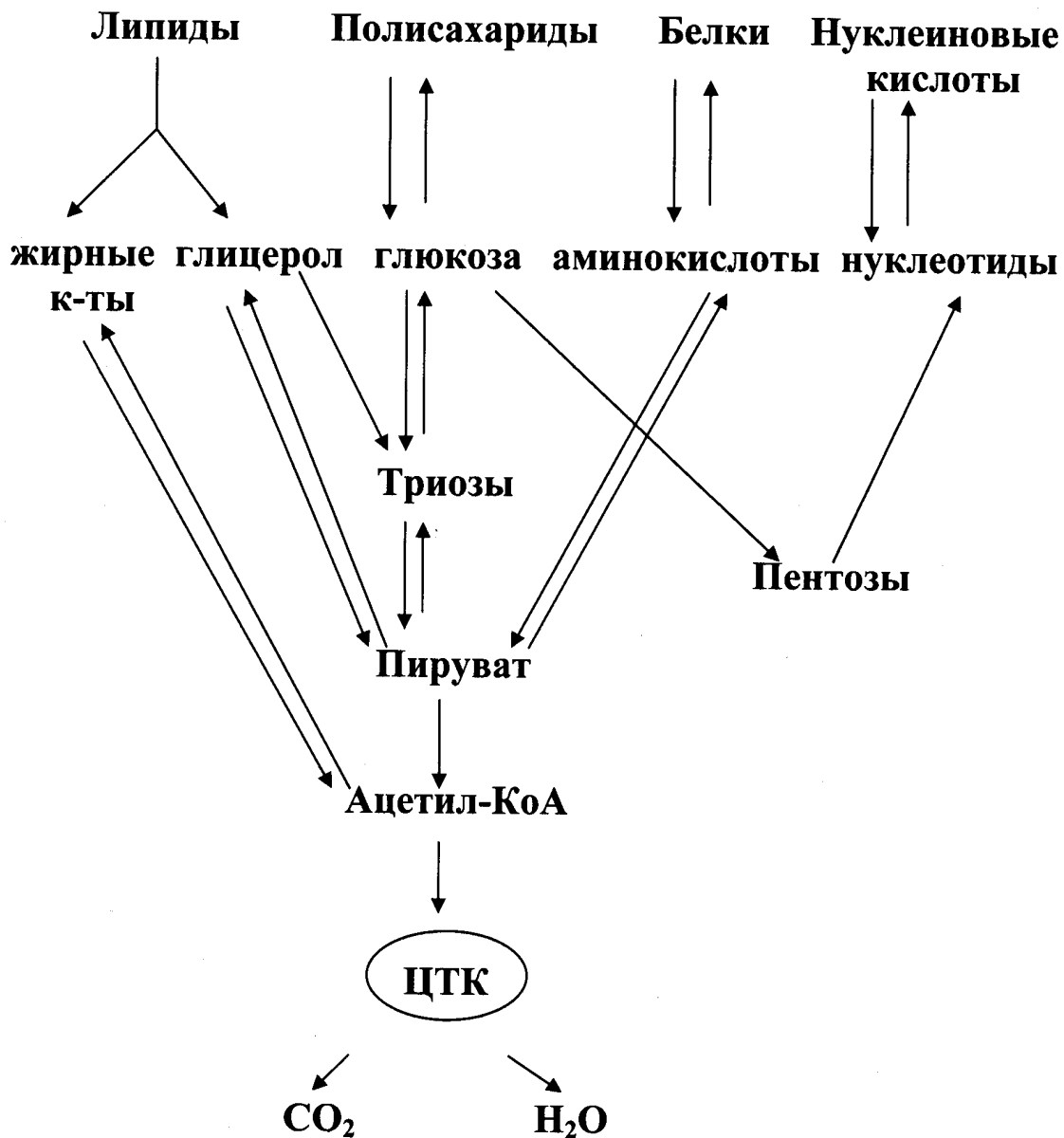
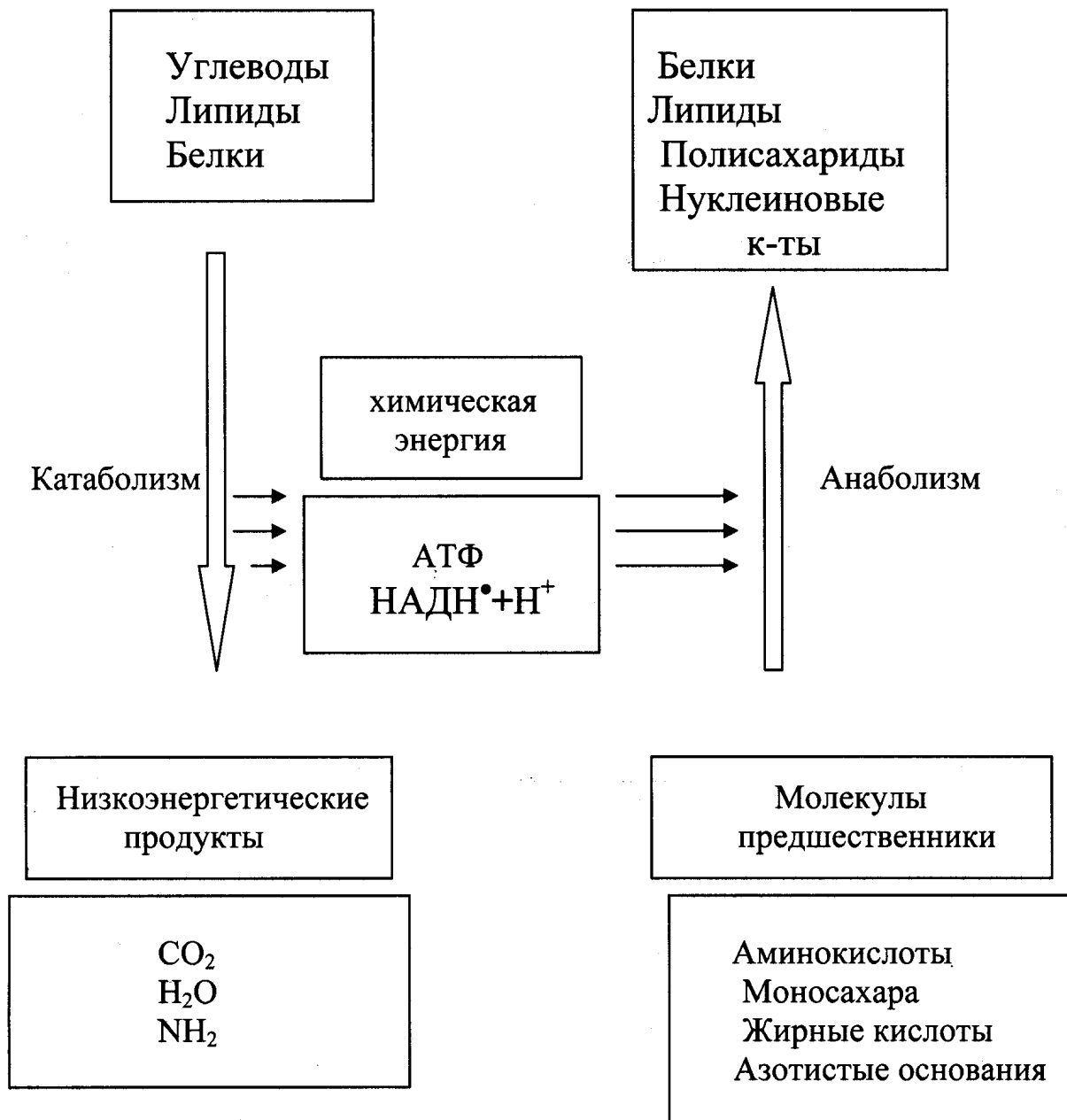


Рис. 27.1. Взаимосвязь метаболизма различных классов органических соединений



*Рис. 27.2. Энергетические взаимосвязи между катаболическими и анаболическими путями*

## ГЛАВА 28

# 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 (экскреторная)** – 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

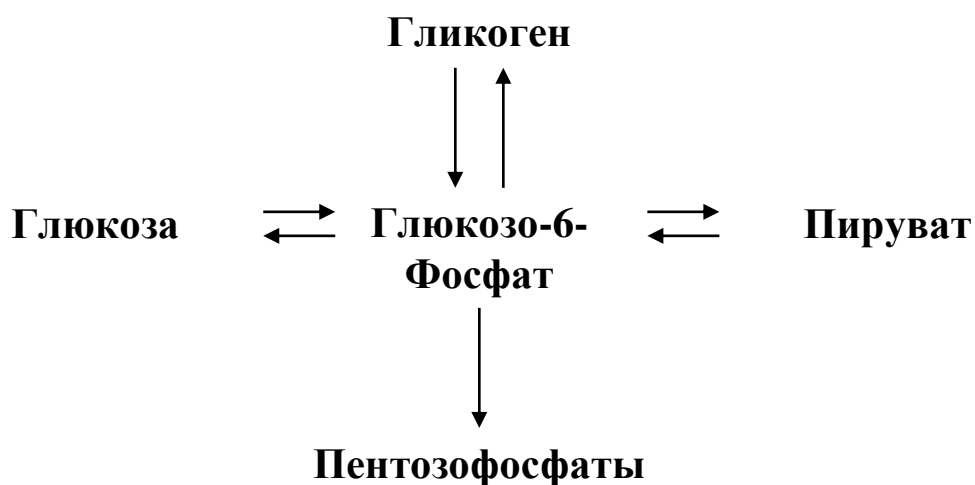
Основная роль печени в углеводном обмене заключается в поддержании нормального содержания глюкозы в крови – т. е. в



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 (рис. 28.1).



*Рис. 28.1. Участие глюкозо-6-фосфата в метаболизме углеводов*

**2. Синтез и распад гликогена.** Гликоген печени выполняет роль 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 1-х 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 по 25-му положению.

### **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 т.д.

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, ФАФС, тиосульфат, ацетил-КоА.

## Распад гемоглобина

### 1. Катаболизм гема

Билирубин образуется при распаде гемоглобина (Рис. 28.2). Этот процесс протекает в клетках 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.

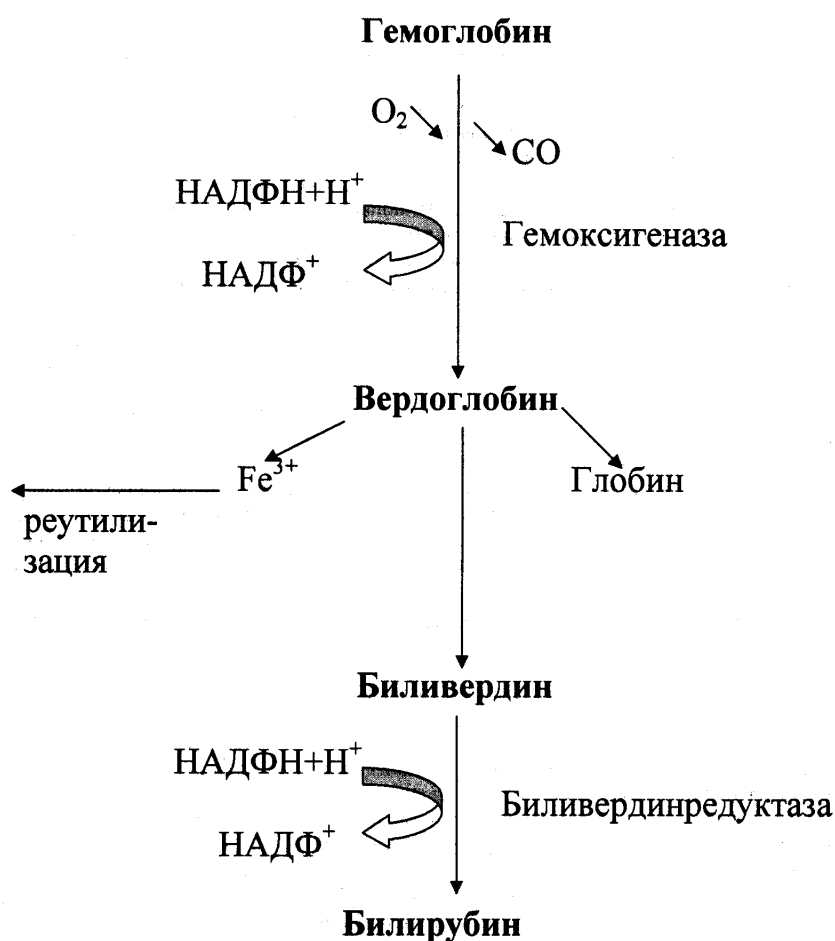


Рис. 28.2. Распад гемоглобина

## 2. Метаболизм билирубина

Билирубин, образованный в клетках РЭС селезёнки и костного мозга, 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. После этого билирубин определяют реакцией с диазореактивом Эрлиха. Свободный (непрямой) билирубин не проходит через почечный барьер и в мочу не попадает.

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.

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. 28.3). Образующийся билирубиндиглюкуронид получил название **прямого (конъюгированного)** билирубина, или **связанного**. Он растворим в воде и дает прямую реакцию с диазореактивом Эрлиха.

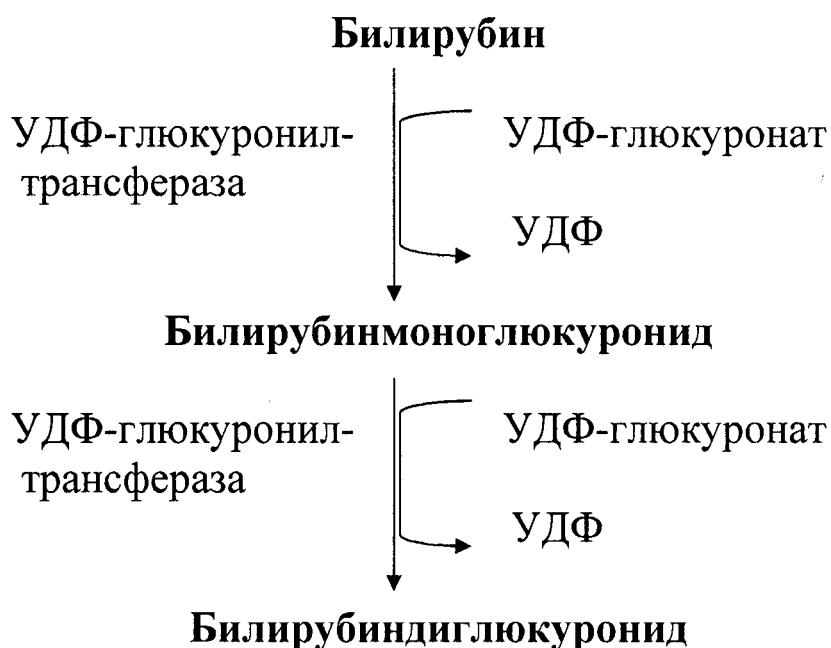


Рис. 28.3. Образование билирубиндиглюкуронида

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. В кишечнике билирубин-β-глюкурониды гидролизуются специфическими бактериальными ферментами β-глюкуронидазами. 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 дипиррольных 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 – 8,5 – 20,5 мкмоль/л; непрямой билирубин – 1,7 – 17,1 мкмоль/л; прямой билирубин – 2,2 – 5,1 мкмоль/л; моча – стеркобилиноген – 4 мг/сутки; кал – стеркобилиноген.

### **Желтухи. Дифференциальная диагностика**

Желтуха – это заболевание, характеризующееся желтой окраской кожи и слизистых в результате накопления билирубина. Основная причина этого явления – гипербилирубинемия. Причиной 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.

### **1. 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).

### **2. 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.

### **3. Механическая или обтурационная (подпеченочная) желтуха**

Механическая желтуха развивается при нарушении желчевыделения в двенадцатиперстную кишку. Основная причина – частичная или полная закупорка желчных протоков, например, при жёлчно-каменной 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 желчного 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).

### **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 fetalный гемоглобин;
- недостаточный синтез в печени УДФ-глюкуроната;
- недостаточность функции белков и ферментов печени, ответственных 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.

## 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 являются целый ряд заболеваний и токсические агенты, вызывающие повреждения паренхимы печени:

- острый вирусный гепатит;
- алкогольный цирроз или цирроз другой этиологии;
- опухоли печени;
- обширные травмы или ожоги;
- сепсис;
- отравление гепатотропными ядами ( $\text{CCl}_4$ ) 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;
- орнитинкарбомуилтрансфераза;
- 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 различных 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 29

# 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 – 65% 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 2/3 всей жидкости (30 – 40% массы тела). Внеклеточная жидкость – жидкость, находящаяся вне клеток. У взрослых на внеклеточную жидкость приходится 1/3 всей жидкости, (20 – 25% массы тела). Внеклеточная жидкость подразделяется на несколько типов:

1. Интерстициальная жидкость – жидкость, окружающая клетки. Лимфа является интерстициальной жидкостью.
2. Внутрисосудистая жидкость – жидкость, находящаяся внутри сосудистого русла.
3. Трансцеллюлярная жидкость – жидкость, содержащаяся в специализированных полостях тела. К трансцеллюлярным жидкостям относятся спинномозговая, перикардальная, плевральная, синовиальная, внутриглазная, а также пищеварительные соки.

### 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% а у женщин – 55% 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.

Таблица 29.1

Основные электролиты жидкостных компартментов организма  
(приведены средние значения)

Содержание электролитов, мг-экв/л	Внеклеточная жидкость		Внутриклеточная жидкость
	плазма	интерстициальная	
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 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 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 1г 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. 29.1).

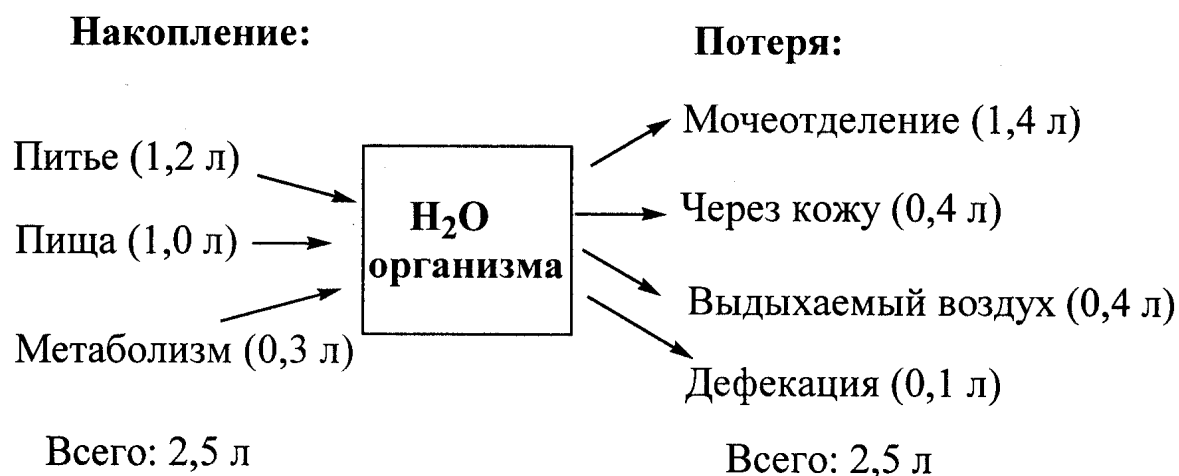


Рис. 29.1 Водный баланс (внешний водный обмен) организма

*Примечание: Потеря воды через кожу складывается из:*

*а) неощутимых потерь воды – испарение с поверхности кожи со скоростью 6 мл/кг массы/час; у новорожденных скорость испарения больше; эти потери воды не содержат электролитов;*

*б) ощутимые потери воды – потоотделение, при котором теряются вода и электролиты.*

### 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.

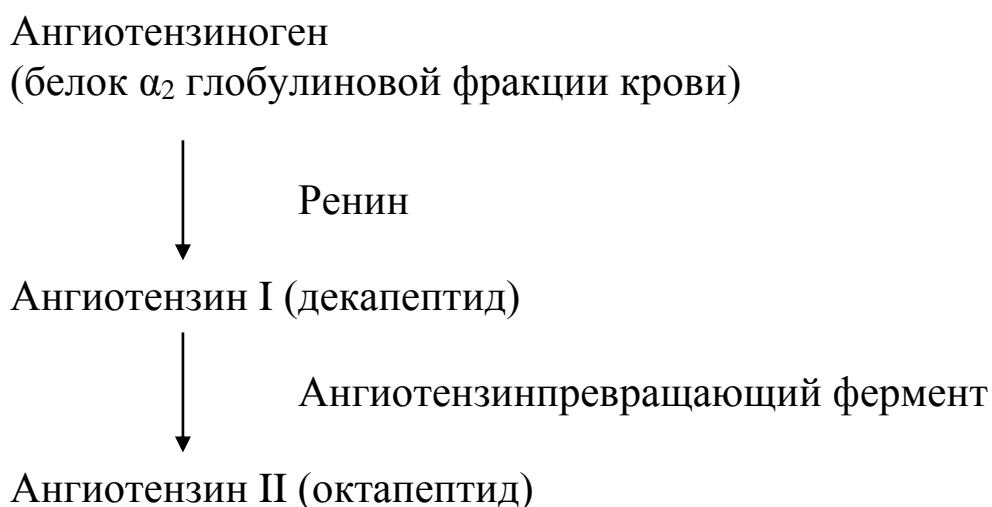
Альдостерон действует на дистальную часть почечных канальцев – тот участок, в котором реабсорбируется около 90 % фильтруемого натрия. Альдостерон связывается с внутриклеточными рецепторами, стимулирует транскрипцию генов и синтез белков, которые открывают натриевые каналы в апикальной мембране. В результате повышенное количество натрия входит в главные клетки и активирует  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазу базолатеральной мембраны. Усиленный транспорт  $\text{K}^+$  в клетку в обмен на  $\text{Na}^+$  приводит к повышенной секреции  $\text{K}^+$  через калиевые каналы в просвет канальца.

### **Роль системы ренин-ангиотензин**

Система ренин-ангиотензин играет важную роль в регуляции осмоляльности и объема внеклеточной жидкости.

#### **Активация системы**

При понижении артериального давления в приносящих артериолах почек в гранулярных клетках юкстагломерулярного аппарата почек синтезируется и секретируется в кровь протеолитический фермент – ренин. Дальнейшая активация системы показана на рис. 29.2.



*Рис. 29.2. Активация системы ренин-ангиотензин*

## **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 сосудистый объем 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, водная недостаточность) ведет к уменьшению объема внеклеточной жидкости – гиповолемии. Развивается вследствие:

1. Аномальной потери жидкости через кожу, почки, желудочно-кишечный тракт.
2. Снижения поступления воды.
3. Перемещения жидкости в третье пространство.

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 – недостаток воды.
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  $\text{K}^+$ .

### **Отеки**

Отеки – одно из наиболее тяжелых нарушений водно-электролитного обмена. Это избыточное накопление жидкости в интерстициальном пространстве, например, на ногах, а также в легочном интерстиции. 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**

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.

Изменение 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 ммрт.ст. за счет гиповентиляции при заболеваниях легких, ЦНС, сердца.

**Дыхательный алкалоз** – характеризуется снижением  $p\text{CO}_2$  менее 40 ммрт.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 полубомена) 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 экскрецию избытка натрия и способствуют его сохранению при недостатке. Почечную экскрецию:

- 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;
- сокращение мышц, клеток;
- 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:

- структура костной ткани, зубов;
- мышечное сокращение;
- возбудимость нервной системы;
- внутриклеточный посредник гормонов;
- свертывание 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 – витамин  $D_3$  стимулирует всасывание кальция в кишечнике.

В конечном итоге действие паратгормона и витамина  $D_3$  направлено на повышение концентрации  $Ca^{2+}$  во внеклеточной

жидкости, в том числе в плазме, а действие кальцитонина – на понижение этой концентрации.

## **Фосфор, биологическая роль, обмен, регуляция**

### Биологическая роль:

- образование (совместно с кальцием) структуры 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%.  $T_{1/2}$  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 естественный 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 29.2.



Таблица 29.2.

## 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 (ксантинооксидаза, серинооксидаза).
8.	Селен	15 мг	Входит в состав селенопротеинов, глутатионпероксидазы.
9.	Цинк	1,5 г	Кофактор ферментов (ЛДГ, карбоангидраза, РНК и ДНК-полимеразы).

## **ГЛАВА № 30**

### **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-основное 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) **гемоглибиновая** 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, ЦТД,  $\beta$ -окисления жирных кислот.
3. Основной путь получения энергии – гликолиз, 90% глюкозы в эритроцитах распадается в процессе анаэробного гликолиза.
4. Энергия, поставляемая гликолизом, обеспечивает поддержание целостности плазматической мембраны и работу  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы.
5. 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.

6. 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».

### **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

Продуцируются в лимфатической ткани. Интенсивный синтез белков и  $\gamma$ -глобулинов в этих клетках обуславливает важную роль лимфоцитов в иммунных процессах (образование антител).

## 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  $\text{Fe}^{2+}$ .
2. **Оксигемоглобин** –  $\text{HbO}_2$  – полностью оксигенированный гемоглобин, связанный с четырьмя молекулами кислорода.
3. **Карбгемоглобин** –  $\text{HbCO}_2$  – гемоглобин, связанный с  $\text{CO}_2$ . Выполняет функцию выведения  $\text{CO}_2$  из тканей к легким. Соединение нестойкое, легко диссоциирует в легочных капиллярах. Этим путем выводится до 10-15%  $\text{CO}_2$ .
4. **Карбоксигемоглобин** –  $\text{HbCO}$  – 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<sub>2</sub>, HbA<sub>3</sub> (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)  $HbA_2$  -  $2\alpha 2\delta$ , в крови взрослого человека примерно 2,6 %  $HbA_2$ ; обладает большим сродством к кислороду;
- 2)  $HbA_3$  -  $2\alpha 2\beta$ , однако имеются изменения в строении  $\beta$ -цепей по сравнению с  $HbA$ ; появляется в крови в небольших количествах при старении.

### **Гемоглинопатии**

Все структурные аномалии белковой части гемоглобина называют **гемоглинозами**. Различают:

- гемоглинопатии;
- талассемии.

**Гемоглинопатии** – 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 гемоглинозах 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 гемоглинозы 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.

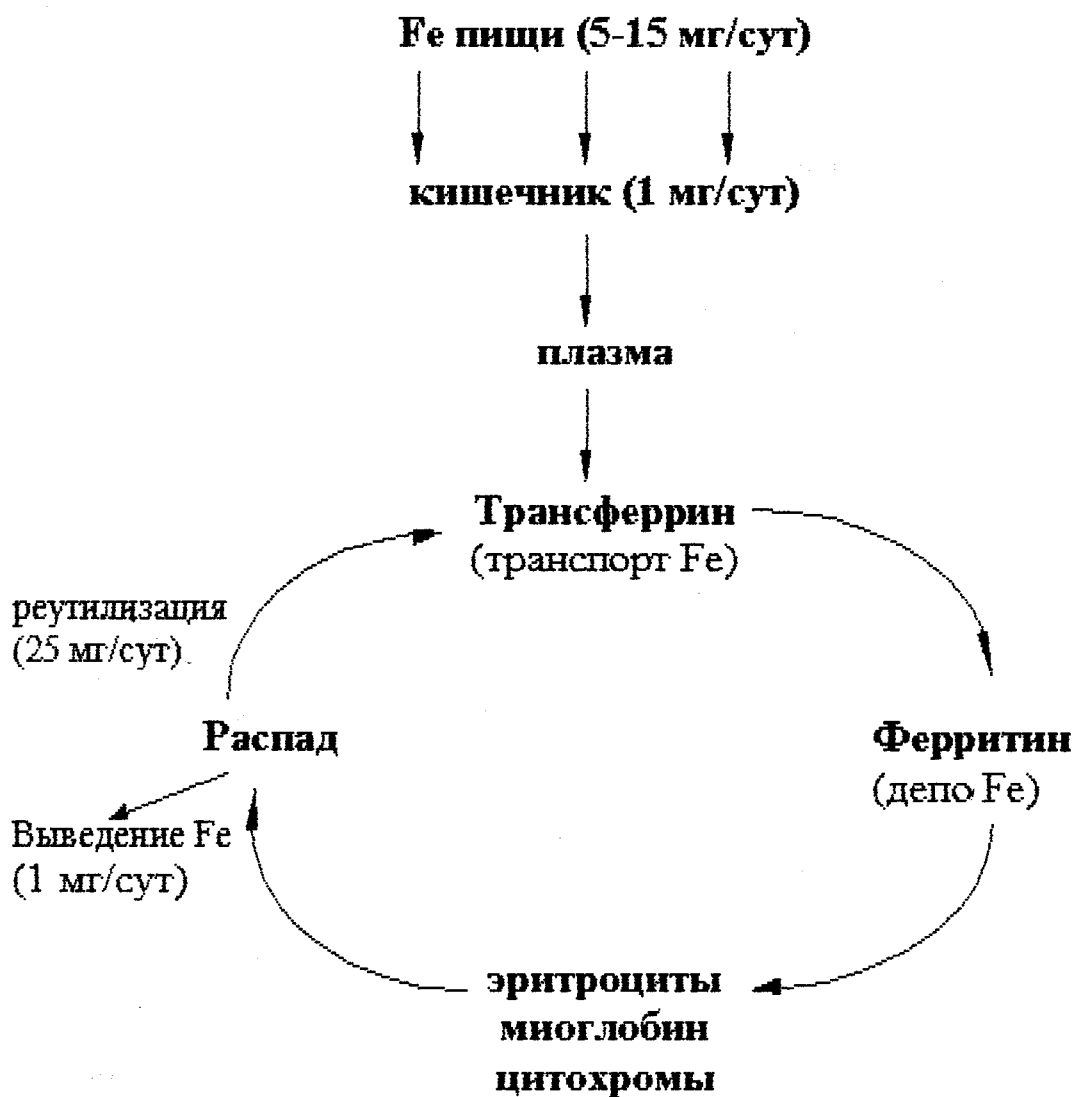
**$\alpha$ -талассемии** возникают при нарушении синтеза  $\alpha$ -цепей. При полном отсутствии  $\alpha$ -цепей наступает внутриутробная гибель плода, так как не образуется HbF, а тетрамеры  $\gamma_4$  обладают высоким сродством к кислороду и не способны выполнять транспортную функцию, что ведет к 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.

### Обмен железа

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.





*Рис. 30.1. Обмен железа в организме человека*

В обмене железа принимает участие ряд белков (Рис. 30.1).

**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 потребность организма в железе невелика, скорость синтеза апоферритина повышается. При недостатке железа в организме апоферритин в энтероцитах почти не синтезируется.

**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. 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, снижением работоспособности, 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, транскортин 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.

**Биороль** 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).

**Биороль** 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. Основной представитель  $\alpha_1$ -антитрипсин. Содержание в норме 2,5 – 4 г/л, при воспалительных процессах в организме их содержание увеличивается до 5 – 7 г/л. Эти белки освобождаются из лизосом при разрушении бактериальных клеток и обеспечивают минимальное повреждение тканей.

**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. Основным индуктором 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 (см. выше), фибриноген.**

**С-реактивный белок**, соединяясь с бактериальными полисахаридами или фосфолипидами поврежденных тканей, может активировать систему комплемента. В сыворотке крови здорового организма С-реактивный белок отсутствует, но обнаруживается при

многих патологических состояниях, сопровождающихся воспалением и некрозом тканей в острый период болезни. Так, при обострении ревматоидного артрита его концентрация может возрастать 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.

## **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 31

## БИОХИМИЯ ПОЧЕК

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 реутилизируются клетками других тканей.

### **Особенности биохимических процессов в почечной ткани**

- Высокая интенсивность энергетического обмена. Большие затраты АТФ связаны с процессами активного транспорта при реабсорбции, секреции, а также с биосинтезом белков. Основным путем получения АТФ – это окислительное фосфорилирование. Поэтому ткань почки нуждается в значительных количествах

кислорода. Масса почек составляет всего 0,5% от общей массы тела, а потребление кислорода почками составляет 10% от всего поступившего кислорода.

- Использование в качестве основного источника энергии жирных кислот (на их окисление расходуется 80% кислорода, поступающего в почки).
- Использование в качестве источника энергии глюкозы, которая обеспечивает до 10% энергопотребностей почек.
- Активный глюконеогенез (при голодании в почках вырабатывается до 75% всей глюкозы).
- Основной орган окислительного метаболизма инозитола.
- Высокая скорость биосинтеза белков.
- Катаболизм белков плазмы малого и среднего размера (5-6 кДа), например, инсулина и других пептидных гормонов.
- Высокая активность глутаминазы, которая катализирует распад глутамина с образованием  $\text{NH}_3$  и тем самым участвует в поддержании кислотно-основного равновесия.
- Происходит начальная реакция синтеза креатина.



## 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. Головной мозг является орудием познавательной деятельности человека и вопрос, как же работает человеческий мозг, остается одним из центральных в науке.

Нервная ткань состоит из нескольких типов клеток. Нейрон – это нервная клетка со всеми ее отростками. Для поддержания нормального функционирования нейрона существуют два механизма:

1. Трансверсальный транспорт веществ – обмен веществ из внеклеточного пространства.
2. Лонгитудинальный транспорт – непрерывный обмен веществ между телом и отростками нейрона, касается, главным образом, репродукции нейроплазмы.

### 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. Нейроглия 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 отдельного биохимического анализа нейронов и глии:**

1. Метод микроманипуляций (1950-1960гг. – 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 компартментализированных 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**

- мозг обладает высокой способностью синтезировать жирные кислоты;
- в мозге практически не происходит  $\beta$ -окисления жирных кислот;
- скорость липогенеза в головном мозге неодинакова в различные сроки постнатального периода;
- постоянство состава липидов в зрелом мозге подтверждает низкую скорость их обновления в целом;
- фосфатидилхолин и фосфатидилинозит обновляются в ткани мозга быстро;
- скорость синтеза холестерина в мозге высока в период его формирования. С возрастом активность этого процесса уменьшается;
- синтез цереброзидов и сульфатидов протекает наиболее активно в период миелинизации.

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.

## **Нейрохимические основы памяти**

Память – сложный и еще не достаточно изученный 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. Нейрологическая (ее иногда называют психической или индивидуальной)

В настоящее время в нейрологической 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

<b>Показатель</b>	<b>Концентрация</b>
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 мускулатура;
- сердечная мышца;
- гладкая мускулатура.

Существует также деление на:

- гладкие мышцы;
- поперечно-полосатые мышцы.

К поперечно-полосатым мышцам относятся:

- скелетные;
- мышцы языка и верхней трети пищевода;
- внешние мышцы глазного яблока и некоторые другие.

Гладкая мышечная ткань входит в состав мышц внутренних органов: желудочно-кишечного тракта, бронхов, мочевыводящих путей, кровеносных сосудов.

В морфологическом отношении миокард относится к поперечно-полосатой мускулатуре, но по ряду других признаков он занимает промежуточное положение между гладкими и поперечно-полосатыми мышцами.

### Белки мышечной ткани

Выделяют три группы белков:

- миофибриллярные белки – 45 %;
- саркоплазматические белки – 35 %;
- белки стромы – 20 %.

#### I. Миофибриллярные белки

К этой группе относятся:

- миозин;
- актин;

- актомиозин;
- а также так называемые регуляторные белки:
- тропомиозин;
  - тропонин;
  - $\alpha$  - и  $\beta$ -актин.

**II. 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.

**III. Белки стромы.** Представлены в основном **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 – резервный источник ресинтеза АТФ;
- 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.

**1 стадия** – в стадии покоя миозиновая «головка» может гидролизовать АТФ до АДФ и  $\text{F}_n$ , но не обеспечивает освобождения продуктов гидролиза. Образуется стабильный комплекс: миозин-АДФ- $\text{F}_n$ .

**2 стадия** – возбуждение двигательного нерва приводит к освобождению 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 актина к миозину обеспечивает высвобождение АДФ и  $\Phi_H$  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 актина 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.

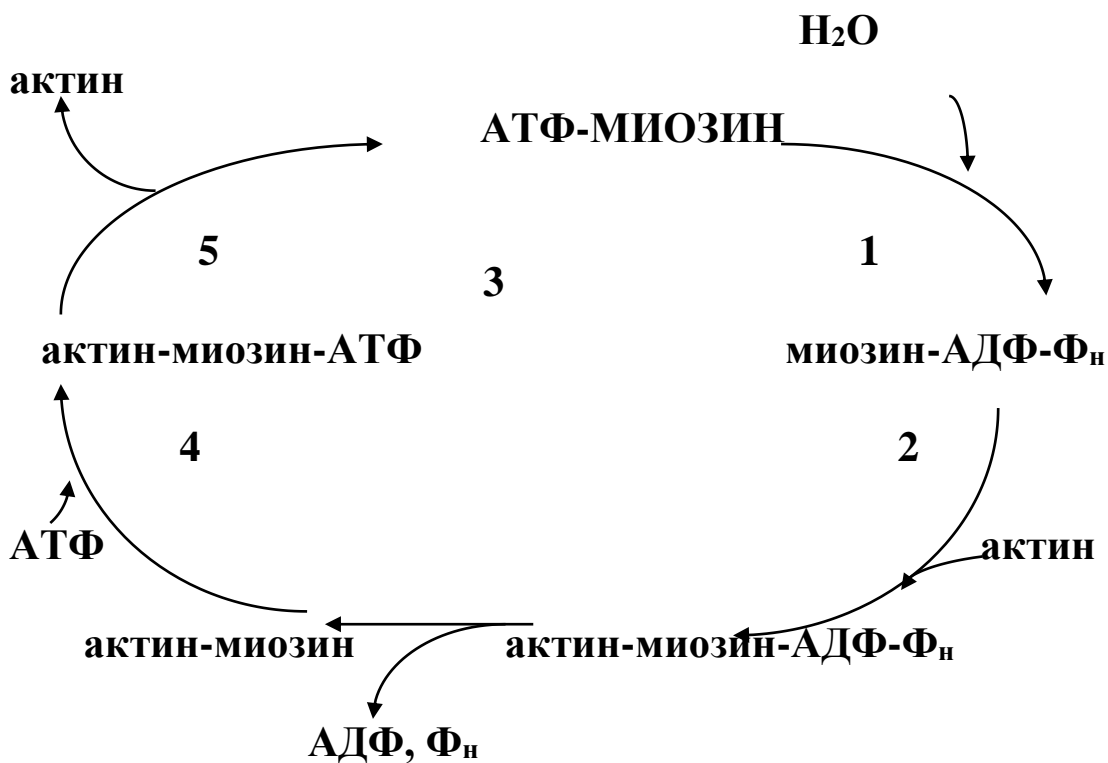


Рис. 33.1. Цикл мышечного сокращения

Движущая сила мышечного сокращения – энергия, освобождающаяся при гидролизе АТФ.

### **Роль ионов кальция в регуляции мышечного сокращения**

Ключевая роль в регуляции мышечного сокращения принадлежит ионам кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Миофибриллы обладают способностью взаимодействовать с АТФ и сокращаться лишь при наличии в среде определенных концентраций ионов кальция. В покоей мышце концентрация ионов  $\text{Ca}^{2+}$  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 синапс выделяется ацетилхолин, который связывается с постсинаптическими рецепторами мышечного волокна. Далее потенциал действия распространяется вдоль сарколеммы к поперечным трубочкам Т-системы и происходит передача сигнала на цистерны саркоплазматического ретикулума. Последние начинают освобождать находящийся в них кальций в саркоплазму. Концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  увеличивается с  $10^{-7}$  до  $10^{-5}$  ммоль/л. Кальций связывается с Тн-С, что вызывает конформационные сдвиги, передающиеся на тропомиозин и далее – на актин. Открываются закрытые ранее центры в актине для связывания с миозином. Актин взаимодействует с миозином, что инициирует сокращение мышечного волокна.

После прекращения действия двигательного импульса кальций с помощью  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой АТФазы откачивается из цитоплазмы в цистерны саркоплазматического ретикулума. Уход кальция из комплекса с Тн-С приводит к смещению тропомиозина и закрытию активных центров актлина. Миозиновая «головка» отсоединяется от актлина. Мышца расслабляется.

Кальций является аллостерическим модулятором мышечного сокращения.

## Деполяризация Т-трубочек

Выброс  $\text{Ca}^{2+}$  из цистерн  
саркоплазматического ретикулума

Комплекс Тн-С +  $4\text{Ca}^{2+}$

Тропонин (активный)

Тропомиозин (активный)

F – актин

Актин – Миозин  
АДФ,  $\text{P}_i$

сократительный цикл

*Рис. 33.2. Роль ионов кальция в мышечном сокращении*

## 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 в работающей мышце при утомлении:

- 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 сухой массы тела. Все разновидности соединительной ткани, несмотря на их морфологические различия, построены по общим принципам:

- Содержит мало клеток в сравнении с другими тканями. В результате межклеточный матрикс занимает большее место, чем клетки и имеет сложный химический состав.
- Основные компоненты межклеточного матрикса – структурные белки коллаген и эластин, гликозаминогликаны, протеогликаны, а также неколлагеновые структурные белки (фибронектин, ламинин, тенасцин, остеонектин и др.), которые образуют своеобразные волокнистые структуры.

### Коллаген

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).

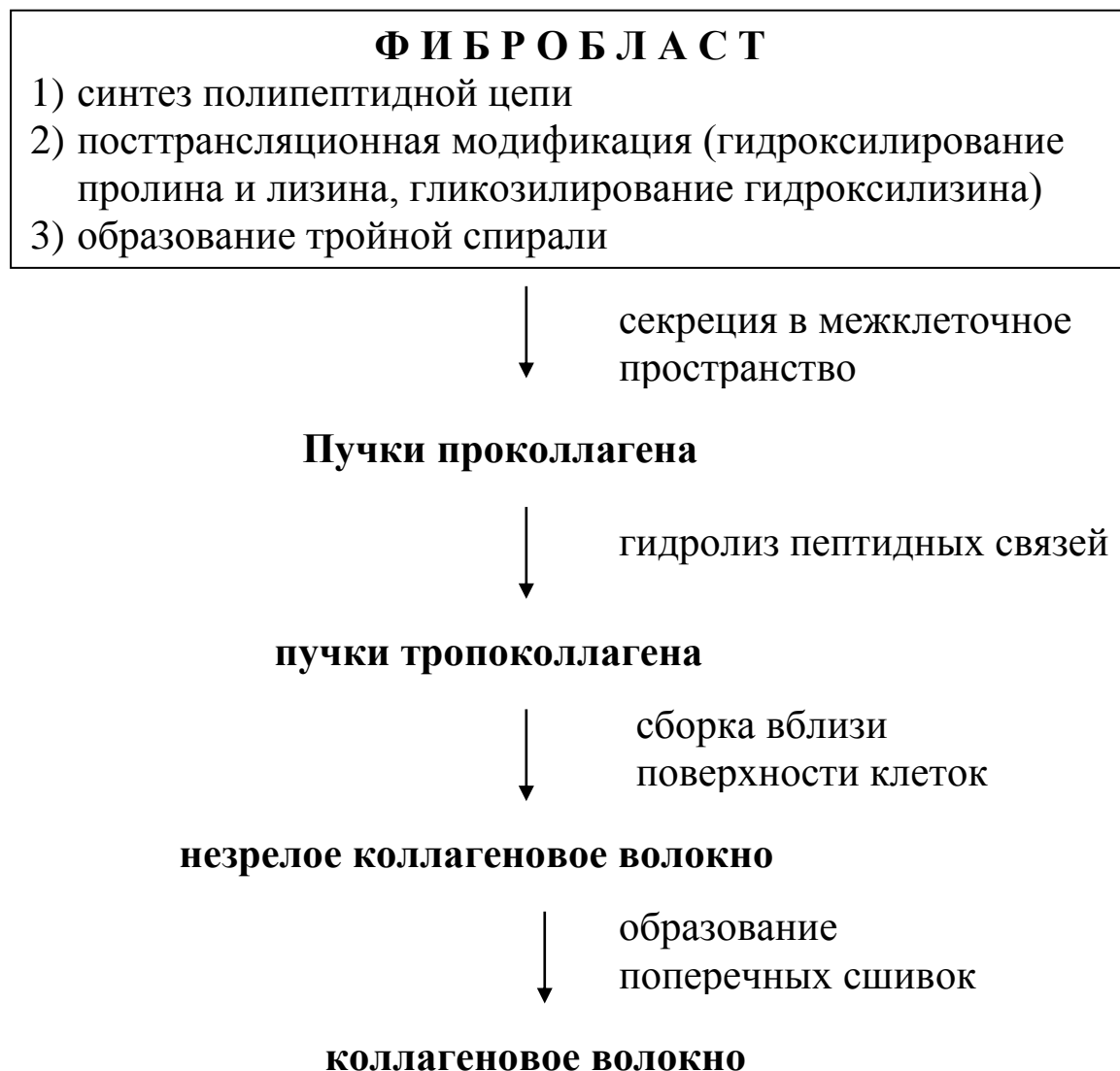
Необычные механические свойства коллагена связаны с их первичной и пространственной структурами. Молекулы коллагена состоят из трех полипептидных цепей, называемых  $\alpha$ -цепями. Идентифицировано более 20  $\alpha$ -цепей, большинство из которых имеет в своем составе 1000 аминокислотных остатков, но цепи несколько отличаются аминокислотной последовательностью. В состав коллагенов могут входить три одинаковые или разные цепи.

Первичная структура  $\alpha$ -цепей коллагена необычна, так как каждая третья аминокислота в полипептидной цепи представлена глицином, около 25% составляют пролин или 4-гидроксипролин, около 10% – аланин. В коллагене отсутствуют такие аминокислоты, как цистеин и триптофан. В составе первичной структуры  $\alpha$ -цепи коллагена содержится также необычная аминокислота гидроксизин.

**Катаболизм коллагена.** 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.



*Рис. 34.1. Этапы формирования коллагенового волокна*

Нативный коллаген не гидролизуется обычными пептидогидролазами. 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 полиморфной. 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.

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.

### **Протеогликаны и гликопротеины**

Протеогликаны – высокомолекулярные соединения, состоящие из белка (5-10%) и гликозаминогликанов (90-95%). 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 в межклеточном матриксе;
- 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 D-глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина.

2. **Хондроитинсульфаты** – самые распространенные гликозаминогликаны в организме человека. Они содержатся в хряще, сухожилиях, связках, артериях, роговице глаза. Хондроитинсульфаты являются важным составным 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-идуруновая 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

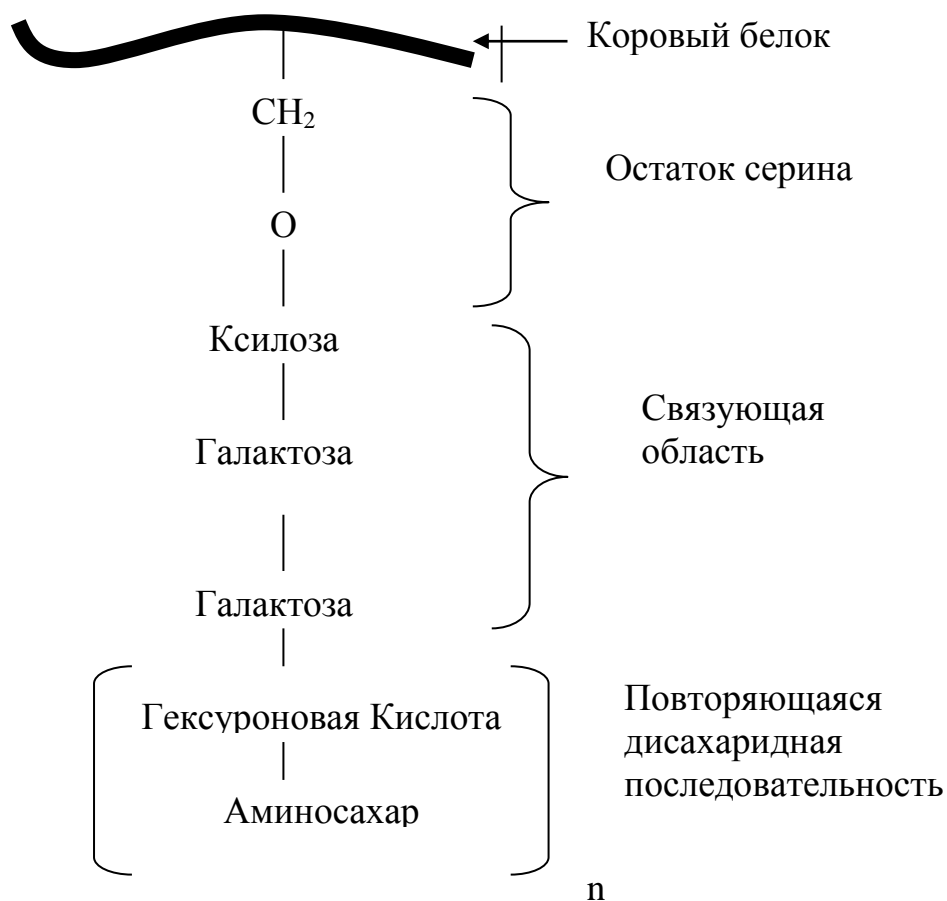
выполняют там разнообразные функции. Эти протеогликианы имеют небольшой коровый белок, к которому присоединены одна или две цепи гликозаминогликанов. Наиболее изучены декорин, бигликан, фибромодулин, люмикан, перлекан.

Протеогликианы отличаются от большой группы белков, которые называют **гликопротеинами**. Эти белки тоже содержат олигосахаридные 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 гистососместимости, комплимент, интерферон);
- транспортные молекулы для витаминов, липидов, микроэлементов;
- гормоны: тиротропин, хорионический гонадотропин;
- ферменты (нуклеазы, факторы свертывания крови);
- осуществление межклеточных контактов.

Метаболизм протеогликанов и гликопротеинов 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.



*Рисунок 34.2. Общая схема строения гликопротеинов*

Полисахаридные цепи синтезируются путем последовательного присоединения моносахаридов. Донорами моносахаридов обычно являются соответствующие нуклеотидсахара. 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.

На синтез гликозаминогликанов влияют глюкокортикоиды: они тормозят образование гиалуроновой кислоты и сульфатированных гликозаминогликанов. Показано также тормозящее действие половых гормонов в органах-мишенях.

Разрушение полисахаридных цепей осуществляется экзо- и

эндогликозидазами и сульфатазами, к которым относят гиалуронидазу, глюкуронидазу, 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.

## Список литературы

1. Березов, Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин – 3-е изд. – М.: Медицина, 2008. – 704 с.
2. Биологическая химия: учебник / В.К. Кухта и [др.]; под ред. А.Д. Тагановича. – Минск: Асар, М.: БИНОМ, 2009. – 688 с.
3. Биохимия: учебник / Т.Л. Алейникова и [др.]; под ред. Е.С. Северина. – 4-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медицина, 2006. – 784 с.
4. Бышевский, А.Ш., Биохимия для врача – А.Ш. Бышевский, О.А. Терсенов. – Екатеринбург: Уральский рабочий, 1994. – 384 с.
5. Мусил, Я. Основы биохимии патологических процессов – Я. Мусил. – М.: Медицина, 1985. – 432 с.
6. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. – 3-е изд. переработ. – МИА, 2007. – 568 с.
7. Основы биохимии: в 3 т. / А. Ленинджер. – М.: Мир, 1985. – 3 т.
8. 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 БИОХИМИЮ .....	5
ГЛАВА 2. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ.....	11
ГЛАВА 3. ФЕРМЕНТЫ. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ .....	28
ГЛАВА 4. РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ. МЕДИЦИНСКАЯ ЭНЗИМОЛОГИЯ.....	38
ГЛАВА 5. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ .....	51
ГЛАВА 6. БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ .....	59
ГЛАВА 7. БИОСИНТЕЗ БЕЛКА.....	74
ГЛАВА 8. ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ.....	87
ГЛАВА 9. БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ .....	92
ГЛАВА 10. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ.....	98
ГЛАВА 11. ТИПЫ ОКИСЛЕНИЯ. АНТИОКСИДАНТНЫЕ СИСТЕМЫ ...	107
ГЛАВА 12. ГОРМОНЫ – ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ.....	118

ГЛАВА 13. ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗ ЛИБЕРИНЫ .....	128
ГЛАВА 14. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ.....	152
ГЛАВА 15. ОСНОВЫ ВИТАМИНОЛОГИИ. ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ И ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ.....	157
ГЛАВА 16. УГЛЕВОДЫ ТКАНЕЙ И ПИЩИ – ОБМЕН И ФУНКЦИИ .....	169
ГЛАВА 17. ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА ГЛЮКОЗЫ .....	176
ГЛАВА 18. ОБМЕН ГЛИКОГЕНА .....	182
ГЛАВА 19. ЛИПИДЫ ТКАНЕЙ, ПЕРЕВАРИВАНИЕ И ТРАНСПОРТ ЛИПИДОВ .....	187
ГЛАВА 20. ОБМЕН ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ И ЖИРНЫХ КИСЛОТ .....	198
ГЛАВА 21. ОБМЕН СЛОЖНЫХ ЛИПИДОВ .....	210
ГЛАВА 22. МЕТАБОЛИЗМ ХОЛЕСТЕРОЛА. БИОХИМИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА.....	214
ГЛАВА 23. ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ. ДИНАМИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВ ОРГАНИЗМА.....	222
ГЛАВА 24. ОБРАЗОВАНИЕ И ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ NH <sub>3</sub> В ОРГАНИЗМЕ.....	236

ГЛАВА 25. МЕТАБОЛИЗМ ОТДЕЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ .....	241
ГЛАВА 26. ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ .....	245
ГЛАВА 27. РЕГУЛЯЦИЯ И ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕТАБОЛИЗМА.....	251
ГЛАВА 28. БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ .....	256
ГЛАВА 29. ВОДНО-ЭЛЕКТРОЛИТНЫЙ ОБМЕН .....	270
ГЛАВА 30. БИОХИМИЯ КРОВИ.....	282
ГЛАВА 31. БИОХИМИЯ ПОЧЕК.....	295
ГЛАВА 32. ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА В НЕРВНОЙ ТКАНИ .....	297
ГЛАВА 33. БИОХИМИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ.....	306
ГЛАВА 34. БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ. ....	312

Учебное издание

**Лелевич Владимир Валерьянович**  
**Леднева Ирина Олеговна**  
**Курбат Михаил Николаевич [и др.]**

## **ОСНОВЫ БИОХИМИИ**

Учебное пособие

Ответственный за выпуск: В.В. Воробьев

Компьютерная верстка: Е.П. Курстак  
Корректор: Л.С. Засельская

Подписано в печать 20.12.2010.  
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.  
Гарнитура Таймс. Ризография.  
Усл. печ. л. **18,83**. Уч.-изд. л. **12,45**. Тираж **360 экз.** Заказ **200**.

Издатель и полиграфическое исполнение  
учреждение образования  
«Гродненский государственный медицинский университет»

ЛИ № 02330/0548511 от 16.06.2009. Ул. Горького, 80, 230009, Гродно.