

Тема 1. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ.

СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ

Белки — высокомолекулярные природные полимеры, состоящие из аминокислотных остатков, соединенных пептидной связью; являются главной составной частью живых организмов и молекулярной основой процессов жизнедеятельности.

ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

1. Каталитическая (более 4000 белков — ферменты).
2. Сократительная (актин, миозин и т. д.).
3. Структурная (белки плазматических мембран, коллаген, эластин и др.).
4. Транспортная (транспорт веществ в крови и клетке: гемоглобин, цитохром с, липопротеины и др.).
5. Защитная (антитела, иммуноглобулины).
6. Регуляторная (факторы роста и дифференцировки клеток и др.).
7. Гормональная (гормоны гипоталамуса, гормон роста и др.).
8. Буферная (гемоглибиновый белковый буфер, поддержание рН крови).
9. Резервная или запасная (казеин, овальбумин и др.).
10. Токсины (ботулинический, холерный).
11. Антибиотики (неокарциностафин и др.).
12. Рецепторная (родопсин, хеморецепторы и др.).
13. Белки, поддерживающие онкотическое давление в клетках и крови.
14. Энергетическая (в очень малой степени, т. к. продукты гидролиза белка служат источником энергии только в особых условиях, например, при голодании).

КЛАССИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ

I. По функции, выполняемой в организме.

II. По форме молекулы:

1. Глобулярные или шаровидные (альбумины, глобулины).
2. Фибриллярные или нитевидные (коллаген).

III. По степени сложности молекулы:

1. Простые (состоят только из аминокислот).
2. Сложные (в состав белка входит небелковое вещество — простетическая группа).

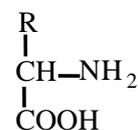
ФУНКЦИИ ПЕПТИДОВ

1. Регуляторная (пептиды ренин-ангиотензивной системы и др.).
2. Гормоны (окситоцин, инсулин, глюкагон).
3. Антибиотики (пенициллин, цефалоспорины).
4. Токсины (аманитотоксин).
5. Антиоксиданты (глутатион).
6. Нейропептиды (энкефалины, эндорфины — обезболивающий эффект).

Главные составные части белка — *аминокислоты*.

- протеиногенные — кодируются генетическим кодом (20);
- непротеиногенные (более 150).

Протеиногенными являются α -аминокислоты (кроме пролина).



КЛАССИФИКАЦИЯ АМИНОКИСЛОТ (АК)

I. По строению радикала

1. Алифатические (гли, ала, вал, лей, иле).
2. Гидроксиаминокислоты (сер, тре).
3. Дикарбоновые (асп, глу).
4. Амиды дикарбоновых кислот (асн, глн).
5. Серосодержащие (мет, цис).
6. Циклические (фен, тир, три, гис).
7. Диаминомонокарбоновые (лиз, арг).
8. Иминокислота (про).

II. По кислотно-основным свойствам

1. Нейтральные.
2. Кислые.
3. Основные.

III. По полярности радикала

1. Неполярные (ала, вал, лей, мет, про, иле, три, фен).
2. Полярные:
 - а) незаряженные (сер, тре, цис, гли, тир, асн, глн);
 - б) заряженные:
 - отрицательно заряженные (глу, асп);
 - положительно заряженные (лиз, арг, гис).

Нестандартные АК в составе белков:

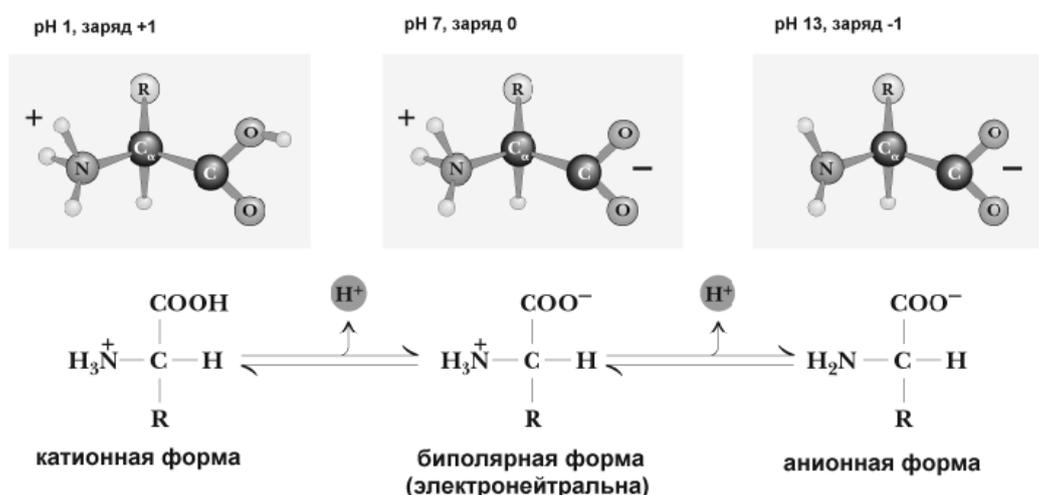
- γ -карбоксиглутаминовая кислота (протромбин: свертывание крови);
- 4-гидроксипролин, 5-гидроксилизин (белок соединительной ткани: коллаген);
- десмозин (конденсация 4-х молекул лизина: белок соединительной ткани — эластин);
- диодтирозин (гормоны щитовидной железы).

СВОЙСТВА АМИНОКИСЛОТ

Кислотно-основные свойства

1. Амфотерность

АК имеют 2 функциональные группы с противоположными свойствами: кислую карбоксильную и основную аминогруппу. Поэтому в водном растворе АК существуют в виде биполярного иона.



При добавлении в раствор АК дополнительного количества протонов (кислоты) подавляется диссоциация карбоксильных групп и увеличивается количество NH_3^+ -групп. АК при этом переходят в катионную форму (приобретают положительный заряд). При добавлении щелочи, наоборот, увеличивается диссоциация карбоксильных групп. АК переходят в анионную форму (приобретают отрицательный заряд). Таким образом, изменяя рН раствора, можно изменять заряд молекул АК.

Нейтральные АК в воде не имеют заряда. Дикарбоновые АК имеют две карбоксильные группы, которые диссоциируют, отдавая 2 протона, но поскольку у них только одна аминогруппа, принимающая один протон, то такие АК ведут себя как кислоты и раствор их имеет кислую реакцию. Сам ион АК заряжается отрицательно.

Диаминомонокарбоновые АК реагируют в водном растворе как слабые основания, так как один протон, который освобождается при диссоциации карбоксильной группы таких АК, связывается с одной из аминогрупп, а вторая аминогруппа связывает протон из водного окружения, в результате увеличивается количество OH^- групп и повышается рН. Заряд иона таких АК будет положительным.

Добавляя к раствору АК определенное количество кислоты или щелочи, можно изменить их заряд. При определенном значении рН наступает такое состояние, при котором заряд АК становится нейтральным. Такое значение рН получило название *изоэлектрической точки (ИЭТ)*. При значении рН, равном ИЭТ, АК не перемещаются в электрическом поле. Если рН ниже ИЭТ, катион АК движется к катоду, а при рН выше ИЭТ анион АК — к аноду. На этих свойствах АК основана возможность разделения их в электрическом поле (электрофорез). Кислые АК ИЭТ в слабокислой среде, основные — в слабосредней, а нейтральные — в нейтральной.

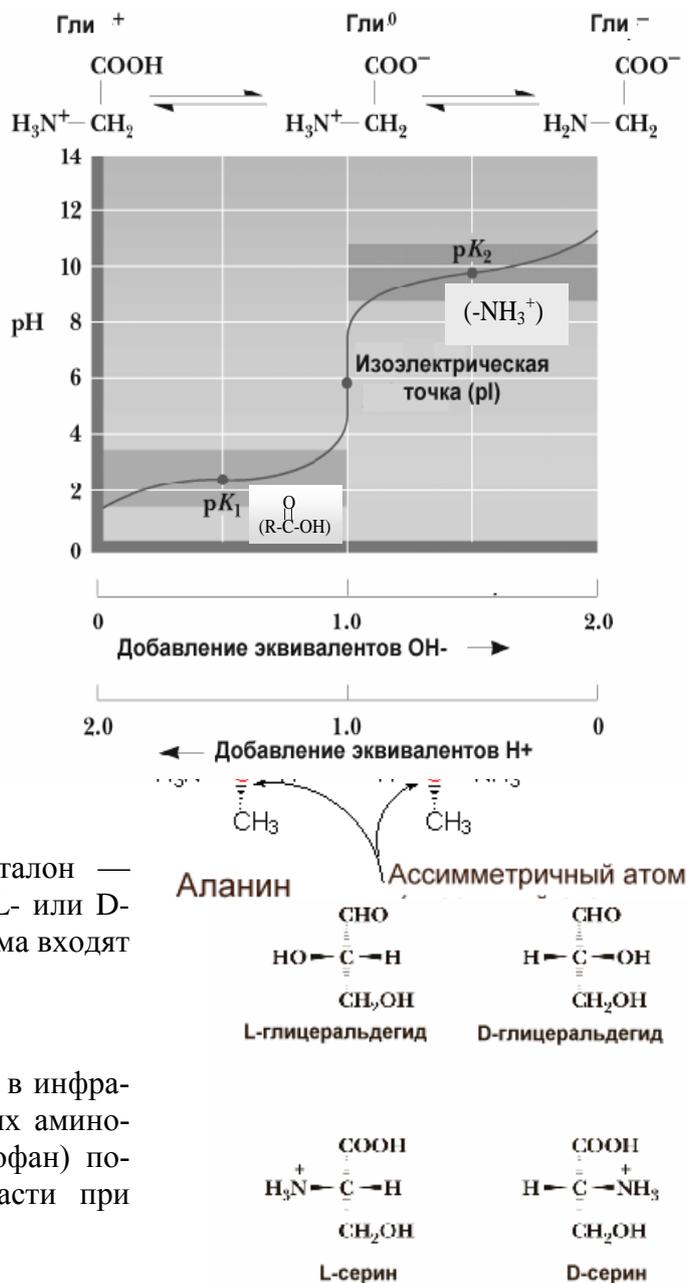
2. Стереизомерия

Обусловлена наличием у аминокислоты асимметричного атома углерода (называется хиральный центр).

По абсолютной конфигурации (эталон — глицериновый альдегид) АК могут быть L- или D-стереоизомерами. В состав белков организма входят L-стереоизомеры аминокислот.

3. Спектральные свойства

Все аминокислоты поглощают свет в инфракрасной области спектра. Три циклических аминокислоты (фенилаланин, тирозин и триптофан) поглощают свет в ультрафиолетовой области при 280 нм.



УРОВНИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ

Первичная структура — это конфигурация полипептидной цепи, которая формируется в результате образования *пептидной связи* между остатками АК (рис. 1.1).

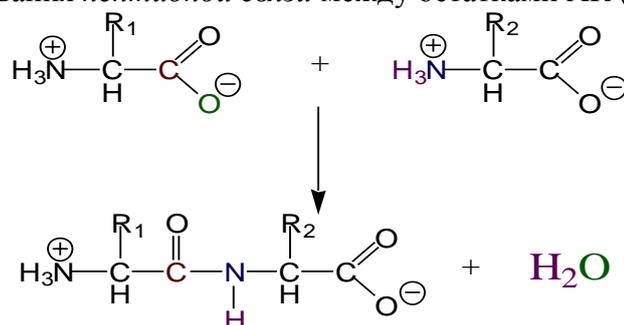


Рис. 1.1. Образование пептидной связи

Постулаты (принципы формирования пептидной связи), сформулированные Л. Поллингом и Р. Кори:

- 1) атомы, образующие пептидную связь, копланарны (расположены в одной плоскости); вращение атомов или групп атомов вокруг пептидной связи невозможно;
- 2) принцип эквивалентности вклада АК-остатков в образование пептидной связи и, тем самым, в образование полипептидной цепи (исключение пролин);
- 3) принцип максимума водородных связей.

Первичную структуру белка стабилизируют (поддерживают):

- пептидные связи (между АК-остатками);
- дисульфидные связи (между свободными –SH-группами цистеина).

Первичная структура белка генетически детерминирована и несет информацию о его пространственной структуре.

Вторичная структура белка — локальная конформация, обусловленная вращением отдельных участков полипептидной цепи вокруг одинарных ковалентных связей.

Основные связи, которые стабилизируют вторичную структуру, — *водородные*.

Виды вторичной структуры (рис. 1.2):

- *α-спираль* (правозакрученная)

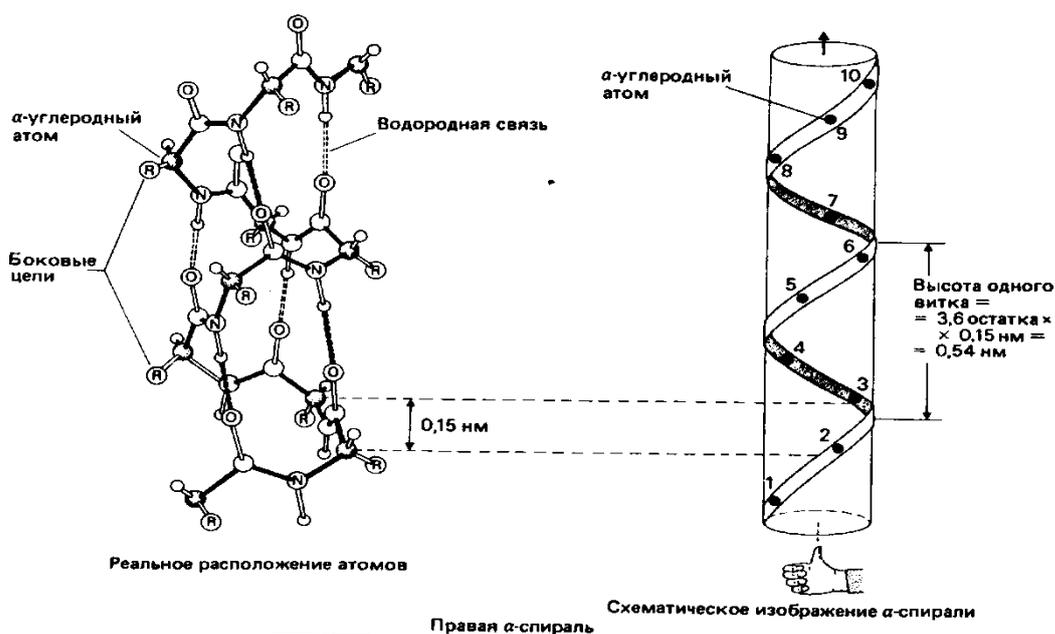
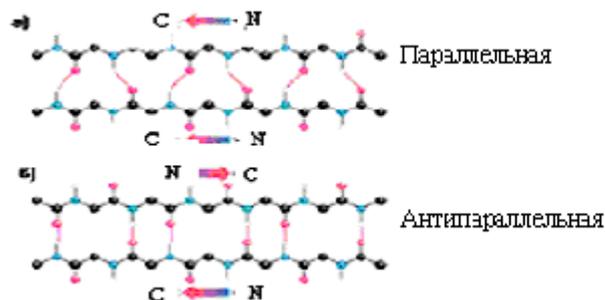
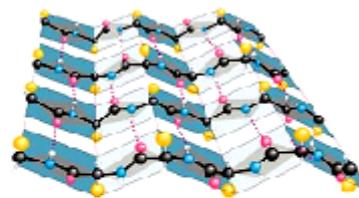


Рис. 1.2. Виды вторичной структуры белка (начало, окончание см. на с. 9)

– β -структура



– β -слой



– β -поворот

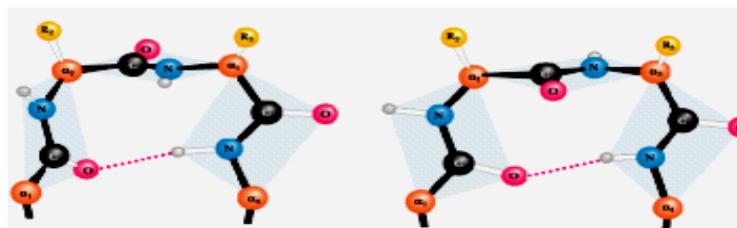


Рис. 1.2. Виды вторичной структуры белка (окончание, начало см. на с. 8)

Несколько участков полипептидной цепи, организованных в пространстве в форме α -спирали или β -структуры, могут объединяться, формируя *надвторичную структуру*. В результате в молекуле белка образуются домены (функциональные или структурные) (рис. 1.3).

Третичная структура белка — это расположение в пространстве всей полипептидной цепи, отдельные участки которой имеют собственную локальную конформацию. Этапы формирования третичной структуры белка представлены на рисунке 1.4.



Рис. 1.4. Этапы формирования третичной структуры белка

Поддержанию третичной структуры белка способствуют *гидрофобные связи*, которые образуются внутри молекулы. В образовании этих связей принимают участие неполярные радикалы аминокислот. Могут также образовываться другие нековалентные связи.

У белка, имеющего третичную структуру, на поверхности молекулы формируется участок, который может присоединять к себе другие молекулы, называемые лигандами. Этот участок называется *активный центр* и формируется из радикалов аминокислот, которые сближаются друг с другом при формировании третичной структуры. Высокая специфичность взаимодействия белка с лигандом обеспечивается *комплементарностью* структуры активного центра структуре лиганда.

Четвертичная структура формируется при объединении нескольких полипептидных цепей, имеющих третичную структуру (рис. 1.5). Образованный таким образом белок обладает новой функцией.

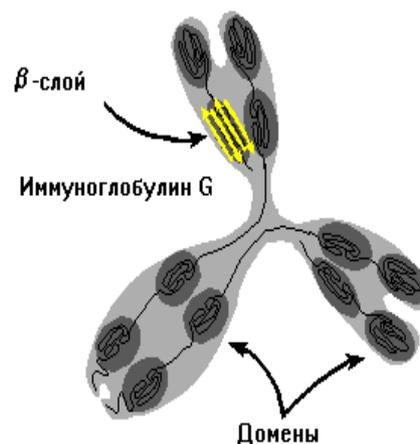


Рис. 1.3. Доменная организация иммуноглобулина G

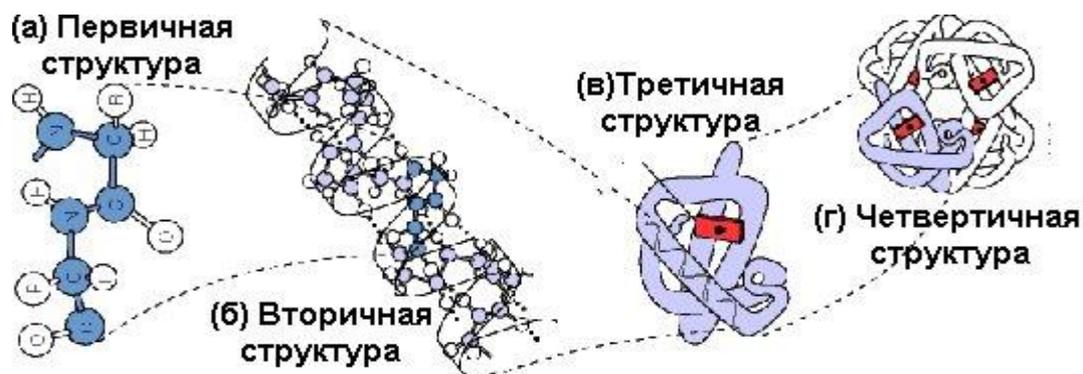


Рис. 1.5. Формирование четвертичной структуры белка

Белки с четвертичной структурой называются олигомерными, а составляющие их индивидуальные полипептидные цепи — протомерами или мономерами. Такие соединения стабилизируются водородными связями и электростатическими взаимодействиями между АК-остатками, расположенными на поверхности протомеров.

Преимущества белков с четвертичной структурой:

- 1) экономия генетического материала;
- 2) качественное разнообразие белков;
- 3) уменьшение последствий ошибок при синтезе белка;
- 4) появление у белков новых функций.

СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ

Многие белки в своем составе, помимо аминокислот, могут содержать и небелковые компоненты. Эти соединения в составе белков называют *простетической группой*. Простетические группы с белком соединяются разными типами связей.

В зависимости от химического состава простетической группы сложные белки можно разделить на несколько классов.

1. Хромопротеины. Это белки, простетическая группа которых имеет окраску. К ним относятся многие белки, содержащие металлы. Например, церулоплазмин — белок, содержащий медь, имеет синюю окраску. Белки, содержащие железо, — *гемопротеины* (гемоглобин, миоглобин, цитохромы) — окрашены в красный цвет. Присутствие витамина В₂ придает белкам желтый цвет (*флавопротеины*).

Простетическая группа хромопротеинов связана с гистидином полипептидной цепи координационными связями.

2. Гликопротеины. Это белки, простетическая группа которых содержит углеводы. Углевод соединяется с белковой частью ковалентными связями. В соединении с углеводом участвует ОН-группа аминокислоты серина или треонина. Гликопротеины — это часть белково-углеводных комплексов. Этим белкам принадлежит важная роль в структурной организации клеток и тканей, они выполняют защитные функции. Основная часть внеклеточных белков — это гликопротеины.

3. Липопротеины. Это белки, простетическая группа которых содержит липиды. Они обеспечивают транспорт липидов в крови, являются компонентами биологических мембран. Связи между белковой частью молекулы и липидом — гидрофобные или ионные.

4. Металлопротеины. Это белки, простетическая группа которых представлена металлами. Они транспортируют или участвуют в депонировании металлов (ферритин, трансферрин). Между белком и простетической группой образуются координационные связи.

5. Нуклеопротеины. Простетическая группа у таких белков — нуклеиновая кислота. Различают дезоксирибонуклеопротеины (простетическая группа — ДНК) и рибонуклеопротеины (простетическая группа — РНК). Им принадлежит важная роль в хранении, передаче и

реализации генетической информации. Между белком и молекулой нуклеиновой кислоты образуются ионные связи.

6. Фосфопротеины. Белки, которые содержат в своем составе фосфорную кислоту. Используются для регуляции процессов жизнедеятельности (фосфорилирование / дефосфорилирование). Между белком и остатком фосфорной кислоты формируются сложноэфирные связи, в образовании которых участвует ОН-группа серина.

Тема 2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ

Аминокислоты, соединяясь пептидной связью, образуют полипептидные цепи. Линейная последовательность аминокислотных остатков, соединенных между собой пептидными связями, определяет первичную структуру белковой молекулы.

ЭТАПЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПЕРВИЧНОЙ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ

1. Выделение белка из смеси в чистом виде (по одному из признаков: размер молекулы, заряд, специфическое сродство связывания).
2. Определение молекулярной массы.
3. Определение N-концевой АК.
4. Определение C-концевой АК.
5. Определение АК-последовательности белковой цепи.

Выделение белка из биологического материала основано на его физико-химических свойствах. Чаще всего для этих целей используют кислотно-основные свойства белков (амфотерность, заряд молекулы, изоэлектрическое состояние). От заряда белковых молекул зависит их:

- растворимость (минимальна в изоэлектрическом состоянии);
- электрофоретическая подвижность;
- структура и биологическая активность.

При растворении в водной среде на поверхности белковой молекулы *формируется гидратная оболочка.*

Устойчивость белка в растворе зависит от:

- 1) заряда белковой молекулы;
- 2) наличия гидратной оболочки;
- 3) молекулярной массы белка.

Таким образом, по физико-химическим свойствам, положенным в основу метода разделения, выделения или очистки белка, методы можно сгруппировать в следующем виде:

Растворимость белка	Заряд белка	Размеры (молекулярная масса) белка	Биологическая активность белка (способность связываться с лигандами)
Высаливание Осаждение	Электрофорез Изоэлектрофокусирование Ионообменная хроматография	Высаливание Диализ Гель-хроматография Ультрацентрифугирование	Аффинная хроматография Иммуноэлектрофорез (Вестерн-блот)

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ

Для выделения *нативных белков* (без изменения пространственной структуры) из биологического раствора используют методы:

– **высаливание**: осаждение солями щелочных, щелочноземельных металлов (хлорид натрия, сульфат магния), сульфатом аммония; при этом не нарушается первичная структура белка;

– **осаждение**: использование водоотнимающих веществ: спирт или ацетон при низких температурах (около $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$).

При использовании этих методов белки лишаются гидратной оболочки и выпадают в осадок в растворе.

Денатурация — нарушение пространственной структуры белков (первичная структура молекулы сохраняется). Может быть обратимая (структура белка восстанавливается после устранения денатурирующего агента) или необратимая (пространственная структура молекулы не восстанавливается, например, при осаждении белков минеральными концентрированными кислотами, солями тяжелых металлов).

МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ

Отделение белков от низкомолекулярных примесей

Диализ

Используют специальную полимерную мембрану, которая имеет поры определенной величины. Малые молекулы (низкомолекулярные примеси) проходят через поры в мембране, а крупные (белки) задерживаются. Таким образом, белки отмывают от примесей.

Разделение белков по молекулярной массе

Гель-хроматография

Хроматографическую колонку заполняют гранулами геля (сефадекса), который имеет поры определенной величины. В колонку вносят смесь белков. Белки, размер которых меньше, чем размер пор сефадекса, задерживаются в колонке, так как «застревают» в порах, а остальные свободно выходят из колонки (рис. 2.1). Размер белка зависит от его молекулярной массы.

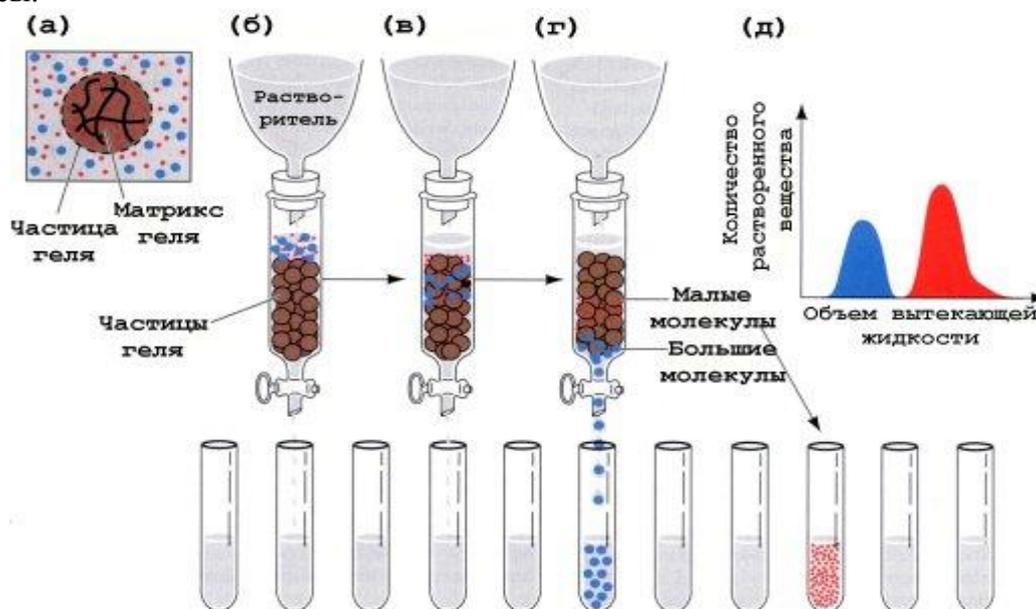


Рис. 2.1. Разделение белков методом гель-фильтрации

Ультрацентрифугирование

Этот метод основан на различной скорости седиментации (осаждения) белковых молекул в растворах с различным градиентом плотности (сахарозный буфер или хлорид цезия) (рис. 2.2).



Рис. 2.2. Разделение белков методом ультрацентрифугирования

Электрофорез

Данный метод основан на различной скорости миграции белков и пептидов в электрическом поле в зависимости от заряда.

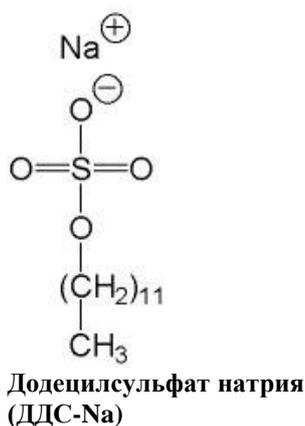
Носителями для электрофореза могут служить гели, ацетатцеллюлоза, агар. Разделяемые молекулы движутся в геле в зависимости от размера: те из них, которые имеют большие размеры, будут задерживаться при прохождении через поры геля. Меньшие молекулы будут встречать меньшее сопротивление и, соответственно, двигаться быстрее. В результате, после проведения электрофореза, большие молекулы будут находиться ближе к старту, чем меньшие (рис. 2.3).



Рис. 2.3. Разделение белков методом электрофореза в геле

Методом электрофореза можно разделить белки и по молекулярной массе. Для этого используют электрофорез в ПААГ в присутствии додецилсульфата натрия (ДДС-Na).

ДДС-Na является амфифильным веществом и содержит заряженную группу и гидрофобную. Белки связываются с ДДС-Na своими гидрофобными радикалами и при этом денатурируют. Таким образом, белки выравниваются по форме и заряду. После этого подвижность белка при электрофорезе зависит только от его молекулярной массы.



Выделение индивидуальных белков

Аффинная хроматография

Метод основан на способности белков прочно связываться с различными молекулами нековалентными связями. Используется для выделения и очистки ферментов, иммуноглобулинов, рецепторных белков.

Молекулы веществ (лиганды), с которыми специфически связываются определенные белки, ковалентно соединяют с частицами инертного вещества. Смесь белков вносят в колонку, и искомый белок прочно присоединяется к лиганду. Остальные белки свободно выходят из колонки. Задержанный белок затем можно вымыть из колонки с помощью буферного раствора, содержащего в свободном состоянии лиганд. Этот высокочувствительный метод позволяет выделить в чистом виде очень малые количества белка из клеточного экстракта, содержащего сотни других белков.

Изоэлектрофокусирование

Метод основан на различной величине ИЭТ белков. Белки разделяют методом электрофореза на пластине с амфолином (это вещество, у которого заранее сформирован градиент рН в диапазоне от 3 до 10). При электрофорезе белки разделяются в соответствии со значением их ИЭТ (в ИЭТ заряд белка будет равен нулю, и он не будет передвигаться в электрическом поле).

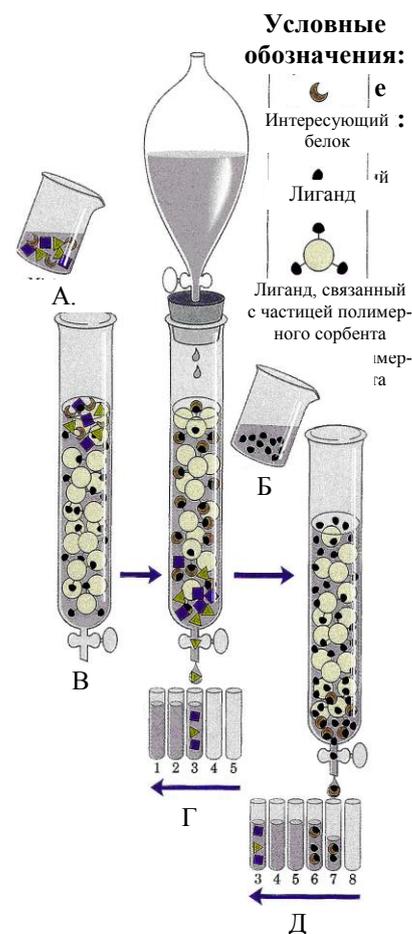
Двухмерный электрофорез

Представляет собой сочетание изоэлектрофокусирования и электрофореза с ДДС-Na. Проводят сначала электрофорез в горизонтальном направлении на пластине с амфолином. Белки разделяются в зависимости от заряда (ИЭТ). Затем обрабатывают пластину раствором ДДС-Na и проводят электрофорез в вертикальном направлении. Белки разделяются в зависимости от молекулярной массы.

Иммуноэлектрофорез (Вестерн-блот)

Аналитический метод, используемый для определения специфичных белков в образце (рис 2.4).

Этапы:



1. Выделение белков из биологического материала.
2. Разделение белков по молекулярной массе методом электрофореза в ПААГ с ДДС-Na.
3. Перенос белков с геля на полимерную пластину с целью облегчения дальнейших работ.
4. Обработка пластины раствором неспецифического белка для заполнения оставшихся пор.

Таким образом, после этого этапа получена пластинка, в порах которой содержатся разделенные белки, а пространство между ними заполнено неспецифическим белком. Теперь надо выявить, есть ли среди белков искомый, ответственный за какое-то заболевание. Для выявления используют обработку антителами. Под первичными антителами понимают антитела к искомому белку. Под вторичными антителами понимают антитела к первичным антителам. В состав вторичных антител вводят дополнительно специальную метку (т.н. молекулярный зонд), чтобы потом можно было визуализировать результаты. В качестве метки используются радиоактивный фосфат или фермент, прочно связанные с вторичным антителом. Связывание сначала с первичными, а затем с вторичными антителами преследует две цели: стандартизация метода и улучшение результатов.

5. Обработка раствором первичных антител \Rightarrow связывание происходит в том месте пластины, где есть антиген (искомый белок).
6. Удаление несвязавшихся антител (промывка).
7. Обработка раствором меченых вторичных антител для последующей проявки.
8. Удаление несвязавшихся вторичных антител (промывка).
9. Проявка — автордиография в случае использования радиоактивного фосфата или обработка пластины раствором субстрата — в случае ферментной метки.



Рис. 2.4. Иммуноэлектрофорез (Вестерн-блот)

В случае присутствия искомого белка в биологическом материале – на пластинке появляется полоса, свидетельствующая о связывании этого белка с соответствующими антителами.

Анализ гомологичных белков

Гомологичные белки — белки, которые выполняют одну и ту же функцию, но различаются по первичной структуре (например, локализованы в различных органах или образуются при патологических состояниях). Например, HbA (содержит Glu) \Rightarrow HbS (содержит Val) при серповидноклеточной анемии.

Метод пептидных карт (отпечатков пальцев), предложенный Ингреном

Этапы:

- 1) оба анализируемых белка расщепляют на фрагменты (пептиды);

- 2) смесь пептидов каждого белка наносят в виде пятна на угол листа хроматографической бумаги;
- 3) проводят электрофорез в горизонтальном направлении;
- 4) проводят распределительную хроматографию в вертикальном направлении;
- 5) полученные карты окрашивают и сравнивают;
- 6) различающиеся пептидные пятна выделяют и анализируют их аминокислотный состав.

Таким образом, использование пептидных карт позволяет анализировать не всю молекулу белка, а только те фрагменты, которые различаются между собой.

УСТАНОВЛЕНИЕ АК-ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ БЕЛКА

I. Определение N-концевой АК

1. Метод Сэнджера. Белок обрабатывают динитрофторбензолом (ДНФБ). При этом с данным реагентом взаимодействует только N-концевая АК. Далее проводят полный гидролиз белка до аминокислот. Концевая АК, связанная с ДНФБ, после реакции окрашена в желтый цвет. Далее проводят идентификацию методом тонкослойной хроматографии в присутствии эталонов — ДНФБ-производных аминокислот, и устанавливают АК, которая связалась с ДНФБ в исходном белке.

2. Взаимодействие N-концевой АК с дансилхлоридом с образованием флуоресцирующего соединения. Дальнейший гидролиз и контроль методом тонкослойной хроматографии в присутствии эталонов позволяют выявить N-концевую АК.

3. Метод Эдмана. В данном методе используется фенилизотиоцианат (ФИТЦ), который также связывается с N-концевой АК с образованием соединения оранжевого цвета. При этом полный гидролиз белка проводить не нужно, в специально подобранных условиях происходит отщепление только N-концевой АК, которую далее идентифицируют.

4. Ферментативный метод с использованием аминопептидаз — специальных ферментов, которые избирательно отщепляют N-концевые АК, например, аланиновая аминопептидаза.

II. Определение C-концевой АК

1. Метод Акабори. В данном методе белок обрабатывают гидразином. Гидразин разрушает пептидные связи и реагирует со всеми аминокислотами, за исключением C-концевой АК, т.к. ее карбоксильная группа не участвует в образовании пептидной связи. При этом образуется смесь соответствующих гидразинов и свободной C-концевой АК. Последнюю после обработки всей смеси ДНФБ, как в методе Сэнджера, отделяют и идентифицируют методом тонкослойной хроматографии в присутствии эталонов.

2. Ферментативный метод с использованием карбоксипептидаз. Карбоксипептидаза А отщепляет ароматические C-концевые АК, карбоксипептидаза В — основные C-концевые АК.

III. Определение АК-последовательности

Общий подход к определению АК-последовательности включает следующие стадии:

- 1) проведение частичного гидролиза белка ферментами или химическими реагентами: для определения полной АК-последовательности белка должны быть использованы по крайней мере два различных типа частичного гидролиза с тем, чтобы установить структуру белка методом перекрывающихся пептидов;
- 2) выделение полученных пептидов;
- 3) определение АК-последовательностей этих небольших фрагментов. Для этого используется автоматический анализатор (секвенатор), в котором определение последователь-

ности аминокислот происходит на основе метода Эдмана. Прибор позволяет за короткое время получить информацию об аминокислотном составе исследуемого пептида.

АМИНОКИСЛОТЫ И БЕЛКИ КАК ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА

В медицинской практике широко используются аминокислоты в качестве лекарственных средств. Так, глутаминовая кислота находит применение при лечении заболеваний центральной нервной системы: шизофрении, эпилепсии, психозов, реактивных состояний, протекающих с явлениями истощения, депрессии и при других психических и нервных заболеваниях. В детской практике препарат применяют при задержке психического развития различной этиологии, болезни Дауна, при полиомиелите в остром и восстановительном периодах. Метионин применяют для лечения и предупреждения заболеваний и токсических поражений печени: при болезни Боткина, циррозе печени. Кроме аминокислот также используют гидролизаты белков, содержащих смесь аминокислот. Например, продукт под названием «Гидролизин», получаемый при кислотном гидролизе белков крови крупного рогатого скота. Он лишен антигенных свойств, и это дает возможность вводить его больным независимо от группы крови.

Белки как лекарственные средства также широко используются в медицинской практике. Например, инсулин применяется при лечении сахарного диабета. При недостаточности ферментов желудочно-кишечного тракта используют препарат «Мезим», в состав которого входят панкреатические ферменты (липаза, альфа-амилаза, трипсин, химотрипсин), по химической структуре являющиеся белками.

Тема 3. ВВЕДЕНИЕ В ЭНЗИМОЛОГИЮ. СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ

Катализатор — это вещество, которое ускоряет химическую реакцию, но само в ходе этой реакции не расходуется.

Энзим (*en zyme* — в дрожжах), **фермент** (*fermentum* — закваска) — термины для обозначения биологических катализаторов белковой природы.

Рибозим — это биологический катализатор рибонуклеиновой природы.

Субстратом (S) называют вещество, химические превращения которого в продукт (P) катализирует фермент (E).

Чтобы произошла химическая реакция, необходимы следующие условия:

- 1) молекулы должны сблизиться (столкнуться);
- 2) запас энергии молекул в момент столкновения должен быть не ниже энергетического барьера реакции.

КЛАССИФИКАЦИЯ И НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТОВ

В начале XX в. предложили называть ферменты по названию субстрата с добавлением суффикса -аза (*amylum* — амилаза, *lipos* — липаза, *protein* — протеиназа). В 1961 г. Международный Совет Биохимиков (IUB) предложил положить в основу названия и классификации ферментов тип химической реакции и ее механизм. Все ферменты разделили на 6 классов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы, лигазы (синтетазы). Каждый класс состоит из 4–13 подклассов, а те в свою очередь из подподклассов.

1. Оксидоредуктазы — это ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции с участием двух субстратов А и В: $A_{red} + B_{ox} \rightarrow A_{ox} + B_{red}$.

2. Трансферазы — это ферменты, катализирующие реакции межмолекулярного переноса группы X, кроме водорода и кислорода, с субстрата А на субстрат В: $A-X + B \leftrightarrow A + B-X$.

3. Гидролазы — это ферменты, которые катализируют расщепление внутримолеку-

лярных связей с присоединением воды по месту разрыва.

4. Лиазы — это: а) ферменты, расщепляющие субстрат негидролитическим путем. Например: $R-COON \rightarrow R-H + CO_2$; б) ферменты, отщепляющие группы атомов с образованием двойной связи или присоединяющие группы атомов по месту двойной связи. Например: $AH - BON \leftrightarrow A = B + H_2O$

5. Изомеразы катализируют превращения различных типов оптических, геометрических и позиционных изомеров.

6. Лигазы катализируют соединение двух молекул, сопряженное с разрывом пиррофосфатной связи АТФ или другого макроэргического соединения.

Каждый фермент по классификации ферментов (КФ, ЕС) обозначается четырьмя цифрами (шифр фермента): 1 — класс, 2 — подкласс, 3 — подподкласс, 4 — номер фермента в списке подподкласса. Так, например, КФ 2.7.1.1 означает: класс 2 (трансферазы), подкласс 7 (перенос фосфата), подподкласс 1 (алкогольная группа — акцептор фосфата). Конечное название — гексокиназа, или АТФ:D-гексоза-6-фосфотрансфераза, фермент, катализирующий перенос фосфата с АТФ на гидроксильную группу у шестого углеродного атома глюкозы.

СТРОЕНИЕ ФЕРМЕНТА

По сложности строения белковой молекулы выделяют *простые* (однокомпонентные) ферменты, состоящие только из белковой части, и *сложные* (двухкомпонентные) ферменты, имеющие кроме белковой части (апофермента) и небелковую часть.

Небелковый компонент называют по-разному: кофермент, кофактор, простетическая группа. Отличие заключается в характере связывания с апоферментом. Кофермент связывается с ним нековалентными связями, а кофактор (простетическая группа) — ковалентными. Сложный фермент, состоящий из апофермента и кофермента, называется холофермент.

Коферменты выполняют следующие функции: а) являются посредниками между ферментом и субстратом; б) непосредственно участвуют в акте катализа; в) стабилизируют апофермент.

Роль коферментов могут выполнять как органические, так и неорганические соединения. Различают: а) коферменты — производные водорастворимых витаминов и жирорастворимого витамина К (ТПФ, ТГФК, НАД⁺, ФАД); б) коферменты-металлы (Zn, Co, Mg); в) коферменты-нуклеотиды (УДФ-глюкоза); г) коферменты алифатического ряда (глутатион, липоевая кислота); д) коферменты ароматического ряда (убихинон).

В молекуле фермента имеется **активный** центр, т.е. участок, с которым связывается субстрат и где протекает каталитическая реакция. Он образуется из остатков (радикалов) аминокислот, находящихся в составе различных участков полипептидной цепи, но пространственно сближающихся при формировании третичной структуры белка-фермента. В активном центре выделяют: а) способствующие группы; б) контактный (якорный) участок; в) каталитический участок; г) вспомогательные группы.

Белковая природа ферментов придает им ряд особенностей, отличающих их от обычных катализаторов. Эти особенности ферментов называют общими свойствами ферментов. К ним относятся:

- высокая молекулярная активность (ферменты могут ускорять реакцию в 10^8 – 10^{12} раз);
- высокая специфичность к субстратам (субстратная специфичность) и к типу катализируемой реакции (реакционная специфичность);
- высокая чувствительность к неспецифическим физико-химическим факторам среды — температуре, давлению, рН, химическим реагентам;
- возможность регуляции активности и синтеза;
- способность образовывать полиферментные комплексы;
- компартиментализация.

Важное условие, характеризующее действие фермента, — **специфичность взаимодействия**. Различают несколько типов специфичности: а) *абсолютная* — фермент катализи-

рует превращение строго определенного вещества (уреаза расщепляет только мочевины, аргиназа — аргинин); б) *стереохимическая* — фермент катализирует превращение только одного стереоизомера (L-оксидазы превращают L-аминокислоты, но не D-аминокислоты); в) *групповая абсолютная* специфичность — фермент катализирует превращения группы субстратов, имеющих одинаковую химическую группу (например, алкогольдегидрогеназа действует на спирты); г) *групповой относительной* специфичностью обладают ферменты, для которых важен только тип связи (эстеразы, пептидазы, гликозидазы). Специфичность обусловлена комплементарностью молекул фермента и субстрата и уникальностью строения активного центра у каждого фермента. Модель, объясняющая специфичность, — модель Кошленда: «вынужденное индуцированное соответствие субстрата и активного центра фермента».

Единицы измерения активности

Катал — это количество фермента, которое обеспечивает превращение 1 моля субстрата в продукт за 1 секунду.

Стандартная единица (U) — это количество фермента, которое превращает 1 мкмоль субстрата в продукт за 1 минуту. $1 U = 16,67$ нкатал (нанокатал).

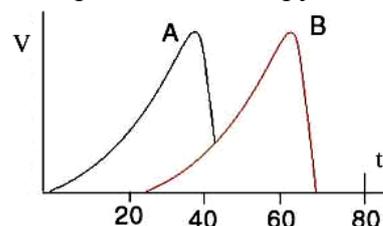
В медицине активность ферментов выражают чаще всего в единицах активности на 1 л биологической жидкости.

Удельная активность — выражается в единицах активности, рассчитанной на единицу массы белка (чаще всего на 1 мг).

Влияние температуры

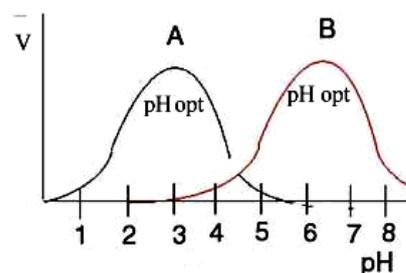
Наивысшую активность ферменты обычно проявляют в очень узком интервале температур (40–50 °С). До этого интервала с повышением температуры скорость катализируемой ферментами реакции повышается.

Выше оптимальной температуры активность ферментов снижается, а при температуре 50–60 °С совершенно прекращается из-за его тепловой денатурации — фермент инактивируется (хотя существуют и термоустойчивые ферменты, например, ДНК-полимераза).

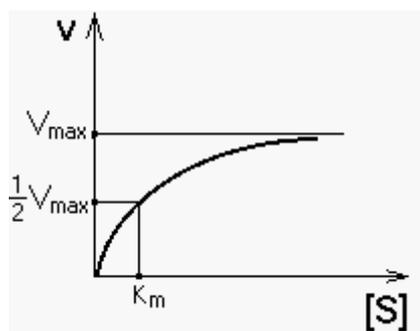


Влияние pH

Для каждого фермента существует определенное значение pH, при котором его действие оптимально. Объясняется это зависимостью диссоциации ионогенных групп фермента или субстрата от реакции среды. Активность фермента зависит от определенного состояния (ионизированного или неионизированного) активного центра. На рисунке показаны два фермента с различными pH оптимумами.



Влияние концентрации субстрата



Исследование влияния концентрации субстрата на активность фермента позволило во многом объяснить механизм действия фермента. При постоянной концентрации фермента начальная скорость реакции растет пропорционально увеличению концентрации субстрата (реакция первого порядка для низких концентраций субстрата). При высоких концентрациях скорость реакции достигает своего максимального значения (V_{max}) и не зависит от концентрации субстрата (реакция нулевого порядка). Эта кривая описывается уравне-

нием Михаэлиса – Ментен:
$$v = v_{\max} \times \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

где K_m — константа Михаэлиса, численно равна той концентрации субстрата, при которой скорость реакции составляет половину от максимального значения. Такая гиперболическая кривая характерна для неаллостерических ферментов, т.е. ферментов, не обладающих четвертичной структурой. Аллостерические ферменты (см. ниже) не подчиняются кинетике Михаэлиса – Ментен.

С помощью K_m можно характеризовать сродство данного фермента к данному субстрату. Чем меньше K_m , тем больше сродство фермента к данному субстрату. Если K_m высока, то это означает, что сродство фермента к такому субстрату низкое и реакция при небольших концентрациях субстрата протекает неэффективно.

Тема 4. РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

ПРИНЦИПЫ РЕГУЛЯЦИИ ХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КЛЕТКЕ

Изменить скорость химического процесса в клетке можно путем: а) изменения количества субстрата или продукта реакции; б) изменения количества фермента (регуляция синтеза белков); в) изменения активности фермента. Ниже будут приведены механизмы регуляции активности фермента.

Влияние ингибиторов

Ингибиторы ферментов — это вещества, замедляющие ферментативные реакции (рис. 4.1).

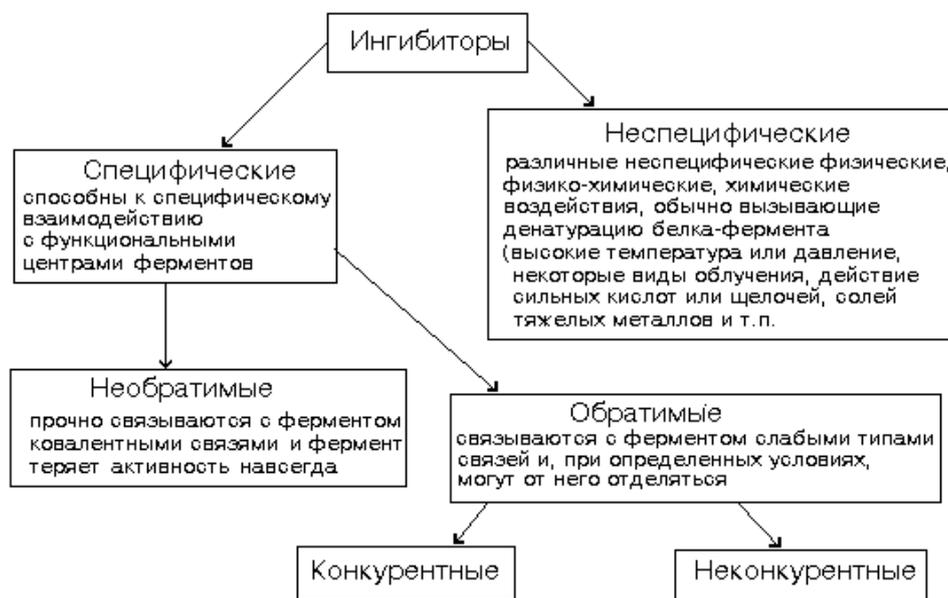


Рис. 4.1. Классификация ингибиторов ферментов

Конкурентные ингибиторы имеют следующие характеристики: а) они похожи по структуре на субстрат; б) связываются, как и субстрат, с активным центром фермента; в) эффект конкурентного ингибитора может быть устранен избытком субстрата (V_{\max} не изменяется, а соответствующая K_m увеличивается).

Неконкурентные ингибиторы имеют следующие характеристики: а) не похожи по структуре на субстрат; б) связываются не с активным центром, а в другом месте молекулы фермента; в) эффект неконкурентного ингибитора не может быть устранен избытком субстрата (V_{\max} уменьшается, а K_m остается неизменной).

Примеры использования ингибиторов в медицинской практике

При лечении заболеваний микробной этиологии — сульфаниламидные препараты структурно подобны парааминобензойной кислоте и тормозят образование фолиевой кислоты, необходимой для роста микроорганизмов. При отравлении антифризом (этиленгликолем) дают противоядие — этиловый спирт в больших дозах, играющий роль конкурирующего субстрата для алкогольдегидрогеназы. Для лечения подагры используют аллопуринол (необратимый ингибитор ксантиноксидазы). Для лечения алкоголизма используют эспераль — необратимый ингибитор дегидрогеназы уксусного альдегида, что тормозит превращение альдегида в уксусную кислоту. Накапливающийся альдегид оказывает сильное токсическое действие. Для лечения панкреатита применяют аprotинин (контрикал, гордокс) — необратимый ингибитор протеолитических ферментов поджелудочной железы — для предотвращения «самопереваривания» железы.

Аллостерическая регуляция

Кроме активного центра у ряда ферментов имеется *регуляторный*, или *аллостерический* (аллос — иной, другой) центр, который в молекуле фермента, как правило, пространственно отдален от активного центра. Ферменты, имеющие аллостерический центр, называются *аллостерическими*. Такие ферменты обладают рядом свойств, которые отличают их от неаллостерических:

- наличие четвертичной структуры, активного и аллостерического центров. Та субъединица, где находится активный центр, называется *каталитической*, в отличие от *регуляторной*, на которой расположен аллостерический центр;

- к аллостерическому центру присоединяются вещества — *эффекторы*, которые делятся на активаторы и ингибиторы. Присоединение эффектора к аллостерическому центру приводит к изменению третичной структуры молекулы фермента и соответственно конформации активного центра, вызывая снижение или повышение ферментативной активности (кооперативный эффект);

- сигмоидная (S-образная), а не гиперболическая форма кривой зависимости скорости реакции от концентрации субстрата;

- катализируют реакцию, протекающую только в одном направлении (син. — ключевые, регуляторные ферменты);

- катализируют самую медленную реакцию метаболического процесса, от которой зависит скорость всего процесса.

Различают несколько видов аллостерической регуляции активности ферментов: а) ингибирование по принципу обратной связи (ретроингибирование) — избыток конечного продукта тормозит активность ключевого фермента своего синтеза; б) перекрестная регуляция (сочетание ингибирования и активации). Так, избыток пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов тормозит соответственно свой синтез, но активирует синтез друг друга; в) активация предшественником (форактивация) — первый метаболит в многоступенчатом процессе активирует фермент, катализирующий последнюю стадию. Например, при синтезе гликогена глюкозо-6-фосфат (предшественник гликогена), образующийся в ходе первой реакции, оказывает активирующее влияние на гликогенсинтазу, последний фермент данного процесса.

Ковалентная модификация структуры фермента

1. **Обратимая** ковалентная модификация путем присоединения или отщепления от фермента небольшой химической группы, что изменяет его активность. Например, гликогенсинтаза переходит в неактивное состояние после ковалентного присоединения фосфатной группы (фосфорилирование) к боковой цепи одного из сериновых остатков и снова активируется при отщеплении фосфата (дефосфорилирование). Присоединение и отщепление P_n происходит разными способами и катализируется двумя разными ферментами.

2. **Необратимое** активирование путем гидролиза части полипептидной цепи фермента с формированием активного центра (ограниченный протеолиз): пепсиноген → пепсин; протромбин → тромбин.

Множественные формы ферментов

Это ферменты, которые катализируют одинаковые реакции, но отличаются по физико-химическим свойствам. По происхождению можно выделить две группы таких ферментов: а) изоферменты — это ферменты, в которых различия генетически детерминированы; б) множественные формы, образующиеся в результате модификации молекул фермента после его синтеза.

Классификация изоферментов: а) по органной локализации — ферменты гликолиза в мышцах и печени; б) по внутриклеточной локализации — малатдегидрогеназа митохондриальная и цитоплазматическая; в) изоферменты, образующиеся в результате мутаций структурных генов; г) гибридные формы, образующиеся путем нековалентного связывания нескольких одинаковых или разных полипептидных цепей. Так, ЛДГ состоит из 4-х цепей 2-х видов — Н и М. Из них возможно образование пяти изоферментов — Н₄, Н₃М, Н₂М₂, М₃Н и М₄. Н₄ и Н₃М преобладают в миокарде, а М₄ — в скелетной мускулатуре и печени.

Медицинские аспекты энзимологии

Ферменты плазмы крови

В крови могут присутствовать следующие ферменты:

1) *Секреторные* (плазмоспецифические) — синтезируются в печени и в норме постоянно выделяются в кровь, где выполняют свои функции (например, ферменты свертывания крови).

2) *Экскреторные* — образуются органами пищеварительной системы (поджелудочной железой, слизистой оболочкой кишечника, печенью) и в норме выделяются с желчью (например, щелочная фосфатаза). При патологических состояниях могут появляться в крови.

3) *Индикаторные* (клеточные) — попадают в кровь из клеток органов и тканей при их некрозе (гибели клеток), повышении проницаемости клеточных мембран или усилении пролиферации клеток, продуцирующих фермент. Таким образом, определение активности ряда ферментов в крови имеет диагностическую ценность.

Выход ферментов из клеток в кровь зависит от размера молекул фермента: чем меньше размер, тем легче ферменты попадают в кровь. На уровень ферментов в крови влияет также продолжительность их жизни (скорость обновления). Дольше всех «живут» ферменты костной ткани, мышц, ЦНС, меньше — ферменты печени, жировой ткани, клеток крови.

Области применения ферментов в медицине

Для скрининг-диагностики — выборочные тесты при подозрении на какое-то заболевание.

Для диагностики заболеваний (креатинкиназа и ее изофермент МВ — для диагностики инфаркта миокарда; аланинаминотрансфераза — для диагностики заболеваний печени) и *оценки глубины повреждения ткани* (ферменты цитоплазмы и митохондрий).

Для дифференциальной диагностики (при инфаркте миокарда наблюдается некроз кардиомиоцитов и выход характерных (изо)ферментов в кровь; приступ стенокардии не сопровождается указанными явлениями).

Для лечения заболеваний:

а) заместительная терапия (при заболеваниях ЖКТ используют пепсин, панкреатин, фестал, панзинорм, мезим-форте);

б) для лечения заболеваний и устранения патологических процессов используют ферменты с целью:

– разрушения омертвевшей ткани (при лечении ожогов, язв, абсцессов — трипсин, химотрипсин, нуклеаза);

– разжижения вязких секретов при лечении бронхитов (трипсин, химотрипсин, бронхолитин);

- для сглаживания послеоперационных рубцов (протеазы, лидаза, нуклеазы);
- для разрушения тромбов (стрептокиназа, фибринолизин).

Для пролонгированного действия используют *иммобилизованные* ферменты — ферменты, связанные с твердым носителем или спрятанные в полимерную капсулу. Такие энзимы обладают рядом преимуществ: высокой специфичностью действия, простотой в обращении, возможностью многократного использования. Они применяются, в частности, для лечения тромбозов и ожогов, в лабораторной практике как реагенты для анализа, в промышленности, в том числе *фармацевтической*, — для синтеза аминокислот, спиртов, витаминов, гормонов, лекарственных препаратов.

Использование ферментов в стоматологии: для лечения кариеса, пульпита, периодонтита, гингивита, афтозного стоматита, язв полости рта.

Ферменты могут использоваться как самостоятельно (таблетки, порошки, аэрозоли, растворы), так и в иммобилизованной форме (гели, мази, пасты).

Тема 5. ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ. ЦЕНТРАЛЬНЫЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПУТИ

Метаболизм — совокупность химических реакций, протекающих в клетках организма с момента поступления пищевых веществ в организм до образования конечных продуктов обмена.

Функции метаболизма:

- снабжение клеток химической энергией;
- превращение молекул пищи в строительные блоки;
- сборка из этих блоков компонентов клетки (белки, липиды, нуклеиновые кислоты);
- синтез и разрушение специфических биологических молекул.

Метаболический путь — последовательность химических превращений вещества. Метаболические пути многоэтапны, взаимосвязаны, регулируемы, скоординированы в пространстве. Они бывают линейными (распад и синтез гликогена, гликолиз и др.) и циклическими (цикл трикарбоновых кислот, орнитиновый цикл) (рис. 5.1).

$E_1 \quad E_2 \quad E_3 \quad E_4 \quad E_5$

$S \rightarrow A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D \rightarrow F$ — пример линейного метаболического пути, где S — исходный субстрат; F — конечный продукт; A, B, C, D — метаболиты (промежуточные продукты); E — ферменты.

Ферменты (фермент), которые определяют скорость всего процесса в целом, называются *ключевыми*, катализируют необратимые реакции, имеют четвертичную структуру и легко регулируются.

Две стороны метаболизма

1. *Катаболизм* — процесс расщепления сложных молекул до более простых, идущий с выделением энергии.
2. *Анаболизм* — процесс синтеза сложных веществ из более простых, идущий с затратой энергии в виде АТФ.

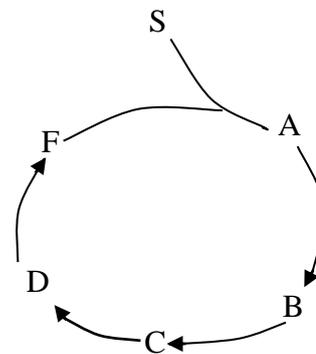
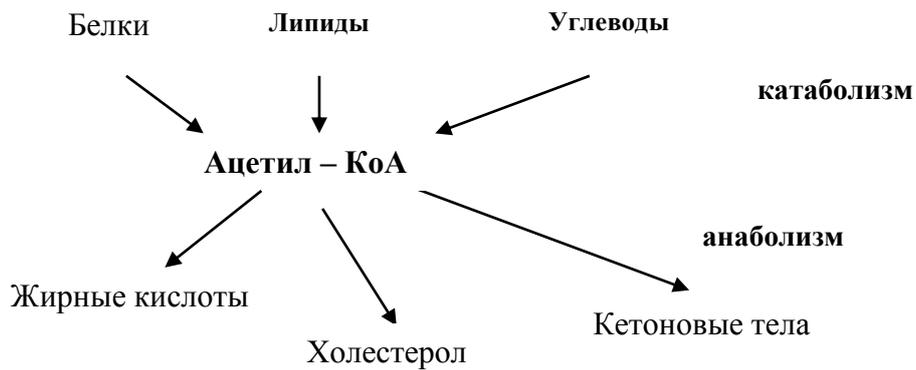


Рис. 5.1. Пример циклического метаболического пути, где вещество F начинает цикл, а в конце цикла регенерирует (S — исходный субстрат)

Анаболизм и катаболизм тесно взаимосвязаны:

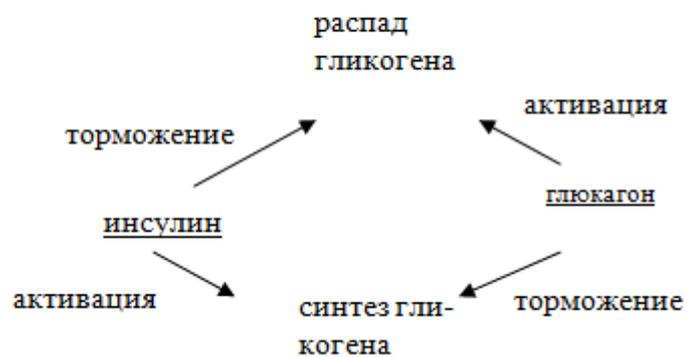
На уровне *субстратов*:



На уровне *коферментов*:



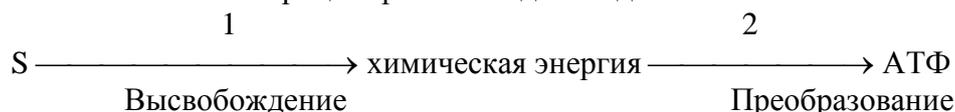
На уровне *регуляторов обмена*:



На уровне *источников энергии*:



Прямое преобразование химической энергии субстратов в энергию макроэргических связей АТФ невозможно. Этот процесс разбит на две стадии:



Рассмотрим I этап — *высвобождение энергии* — на примере общей схемы катаболизма (рис.5.2).

Конечные продукты обмена:

- NH₃ — образуется путем дезаминирования;
- CO₂ — образуется путем декарбоксилирования;
- H₂O — образуется путем окисления водорода кислородом в дыхательной цепи (тканевое дыхание).

I этап катаболизма происходит в *желудочно-кишечном тракте* и сводится к реакциям гидролиза пищевых веществ. Химическая энергия рассеивается в виде тепла.

II этап (внутриклеточный катаболизм) происходит в *цитоплазме и митохондриях*. Химическая энергия частично рассеивается в виде тепла, частично накапливается в виде восстановленных коферментных форм, частично запасается в макроэргических связях АТФ (субстратное фосфорилирование).

III заключительный этап катаболизма протекает в *митохондриях* и сводится к образованию конечных продуктов обмена CO₂ и H₂O. Химическая энергия частично рассеивается в виде тепла, 40–45 % ее запасается в виде АТФ (окислительное фосфорилирование)

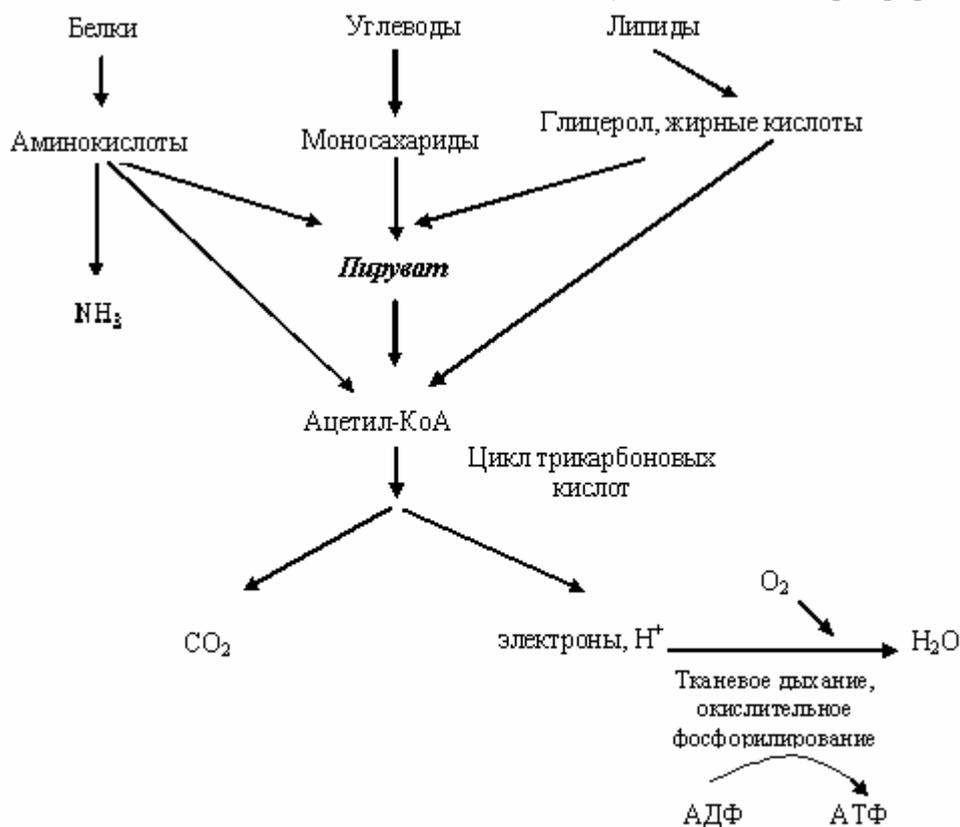
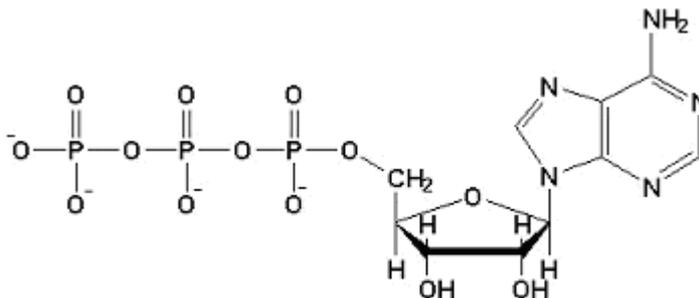


Рис. 5.2. Катаболизм пищевых веществ

АТФ И АДЕНИЛОВАЯ СИСТЕМА КЛЕТКИ

В энергетическом обеспечении клетки важнейшую роль играет *адениловая система*,

которая включает АМФ, АДФ, АТФ, $H_4P_2O_7$ (пирофосфат), H_3PO_4 (неорганический фосфат) и цАМФ (циклический АМФ). Вопрос об адениловой системе сводится к процессам распада, синтеза АТФ и ее значению для процессов жизнедеятельности клетки. Главным компонентом адениловой системы клетки является АТФ. Это макроэргическое соединение. Как известно, к макроэргическим относятся соединения, при гидролизе которых высвобождается не менее, чем 5 ккал/моль. В ряду макроэргов клетки АТФ отводится главная роль.



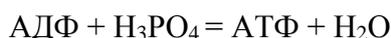
Аденозинтрифосфат (АТФ)

Две фосфоангидридные связи в молекуле АТФ являются макроэргическими (~). Свободная энергия гидролиза каждой из них равна 7,3 ккал/моль (32 кДж/моль). АТФ обладает высоким потенциалом переноса фосфатных групп на другие вещества (глюкоза, глицерол), тем самым активируя их. С другой стороны, макроэрги, которые имеют больший энергетический потенциал, чем АТФ (например, креатинфосфат), могут переносить свою фосфатную группу на АДФ с образованием АТФ. Таким образом, АТФ занимает центральное положение в ряду других фосфорилированных соединений клетки и является универсальным макроэргом клетки. Это так называемая клеточная энергетическая валюта.

АТФ используется клетками для процессов биосинтеза (анаболические реакции), активации многих молекул (глюкоза, глицерол), выполнения механической работы, переноса веществ через мембраны, обеспечивает точную передачу генетической информации и др. При этом АТФ может гидролизироваться двумя способами:

- 1) $ATP + H_2O = ADP + \text{неорганический фосфат} + \text{энергия (32 кДж/моль)}$;
- 2) $ATP + H_2O = AMP + \text{пирофосфат} + \text{энергия (32 кДж/моль)}$.

Синтез АТФ носит название *фосфорилирования* и описывается уравнением:



Эта реакция происходит при условии обеспечения энергией в количестве не менее 32 кДж/моль.

Если источником этой энергии является транспорт электронов по дыхательной цепи внутренней мембраны митохондрий, говорят об *окислительном фосфорилировании*. Это главный путь синтеза АТФ в аэробных клетках.

Если источником образования АТФ является макроэргическая связь субстрата, говорят о *субстратном фосфорилировании*. Такой механизм имеет место в цитозоле и митохондриях и может происходить в анаэробных условиях.

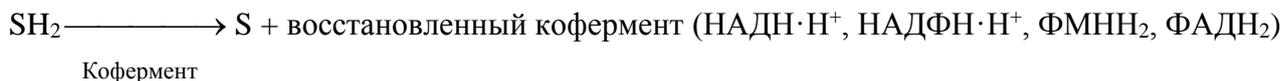
У растений существует *фотосинтетическое фосфорилирование* в хлоропластах. Источником энергии в данном случае являются кванты солнечного света.

Следует особо подчеркнуть, что процесс **окислительного фосфорилирования** тесно связан (сопряжен) с *окислительно-восстановительными реакциями (ОВР)*, а именно с **реакцией окисления водорода кислородом до воды** — *тканевым дыханием*. Реакция образования воды *in vitro* (в пробирке) сопровождается одномоментным выделением около 230 кДж/моль энергии и описывается как реакция взрыва гремучего газа. В живой клетке такой путь термодинамически невозможен, поэтому окисление водорода до воды *in vivo* (в организме) характери-

зуются двумя важными особенностями.

Во-первых, газообразный водород в клетках не образуется. Он входит в состав субстратов и отделяется от них путем **дегидрирования**. Ферменты, которые катализируют эти реакции, — *дегидрогеназы (ДГ)*. Это двухкомпонентные ферменты; они делятся на *пиридиновые (ПДГ)*, которые в качестве кофермента используют производные витамина РР — НАД^+ и НАДФ^+ , и *флавиновые*, которые в качестве кофермента используют производные витамина В_2 — ФМН и ФАД . В ходе ОВР субстраты окисляются, а коферменты восстанавливаются:

Дегидрогеназа



Во-вторых, выделение энергии происходит постепенно, порциями, для чего процесс окисления водорода осуществляется в несколько стадий с участием ферментов **дыхательной цепи**. Часть этой энергии запасается в виде АТФ в реакции окислительного фосфорилирования.

Восстановленные субстраты, поставляющие атомы водорода для дыхательной цепи, это небольшие молекулы (карбоновые кислоты, кетокислоты, аминокислоты и др.). Основными поставщиками восстановленных субстратов являются *центральные метаболические пути* — *окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты и цикл лимонной кислоты*. Они локализованы в матриксе митохондрий, в ходе этих процессов происходят реакции декарбоксилирования (большая часть всей углекислоты, образующейся в клетках, образуется именно здесь). Кроме того, как уже говорилось, в ходе этих процессов происходят реакции дегидрирования субстратов, образуются восстановленные коферментные формы $\text{НАДН} \cdot \text{Н}^+$ и ФАДН_2 , водород которых поступает в дыхательную цепь внутренней мембраны митохондрий, где происходит его окисление кислородом до воды и синтез АТФ (рис. 5.3).

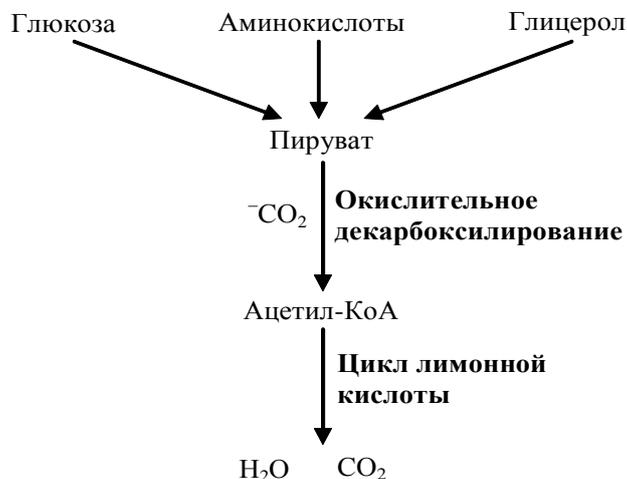


Рис. 5.3. Центральные метаболические пути

ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЕ ПИРУВАТА

Осуществляется при участии набора ферментов, объединенных в *пируватдегидрогеназный комплекс (ПВДГК)*. Это мультиферментная система, которая включает 3 фермента и 5 коферментов (все они являются водорастворимыми витаминами) (рис. 5.4).

E_1 — пируватдекарбоксилаза. Коферментом является активная форма витамина В_1 , тиамин — ТПФ (тиаминпирофосфат).

E_2 — дигидролипоилацетилтрансфераза. Коферментом является витаминоподобное вещество — липоевая кислота (липоил), которая может временно превращаться в дигидролипоил, присоединив 2 атома водорода. Липоил может также переносить ацетильные остатки.

С этим ферментом также работает активная форма пантотеновой кислоты — КоА-SH, которая принимает ацетильный остаток от липоевой кислоты.

E₃ — дигидролипоилдегидрогеназа. Коферментом является ФАД — активная форма витамина В₂, рибофлавина. С работой этого фермента связан также кофермент НАД⁺ — активная форма витамина РР, никотиновой кислоты.

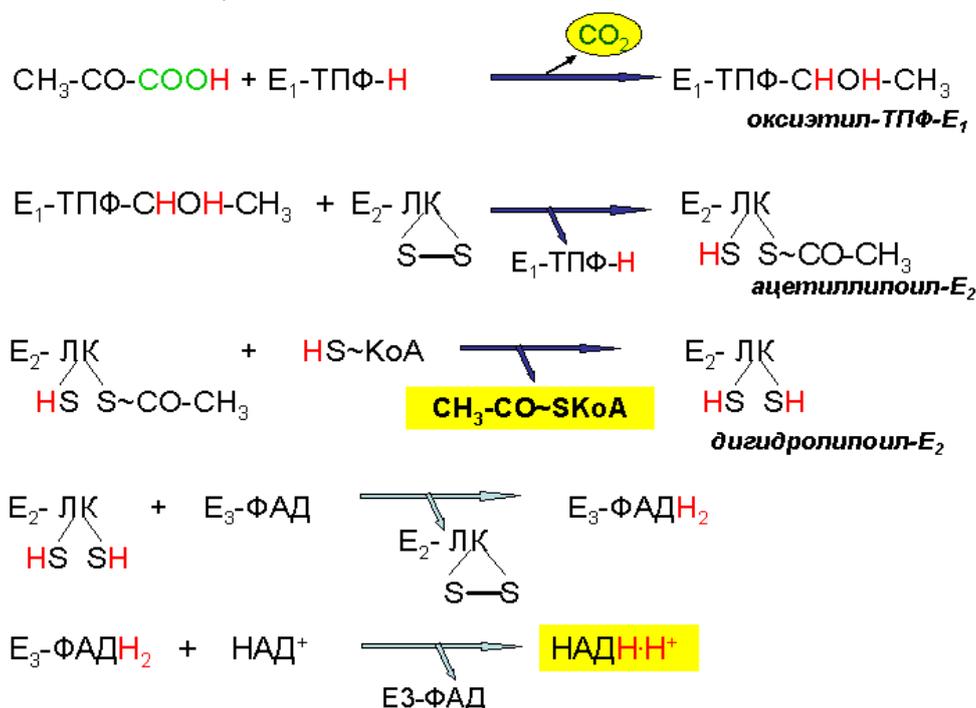


Рис. 5.4. Реакции окислительного декарбоксилирования пирувата

Таким образом, в результате образуются конечные продукты — CO₂, атомы водорода для дыхательной цепи в составе НАДН·Н⁺ и макроэргическое соединение ацетил-КоА. Лимитирующей реакцией в этом процессе является пируватдекарбоксилазная реакция. Поскольку фермент E₁ в качестве кофермента использует ТПФ, при недостатке тиамин в пище нарушается окисление пирувата — процесса, который поставляет клеткам энергию. Возникает энергодефицит, что требует коррекции нарушения метаболизма с помощью тиамин. Схема регуляции ПВГДК предствалена на рисунке 5.5.

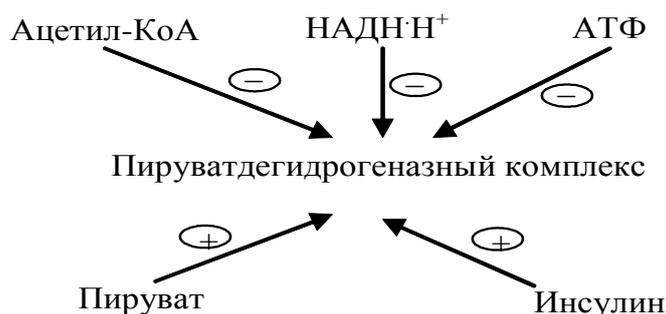


Рис. 5.5. Регуляция пируватдегидрогеназного комплекса

ЛИМОННОКИСЛЫЙ ЦИКЛ КРЕБСА, ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ (ЦТК)

Цикл лимонной кислоты локализован в матриксе митохондрий. Это циклический процесс из восьми последовательных реакций, в результате которых происходит декар-

боксирование и дегидрирование ацетил-КоА (универсального клеточного топлива) (рис. 5.6).

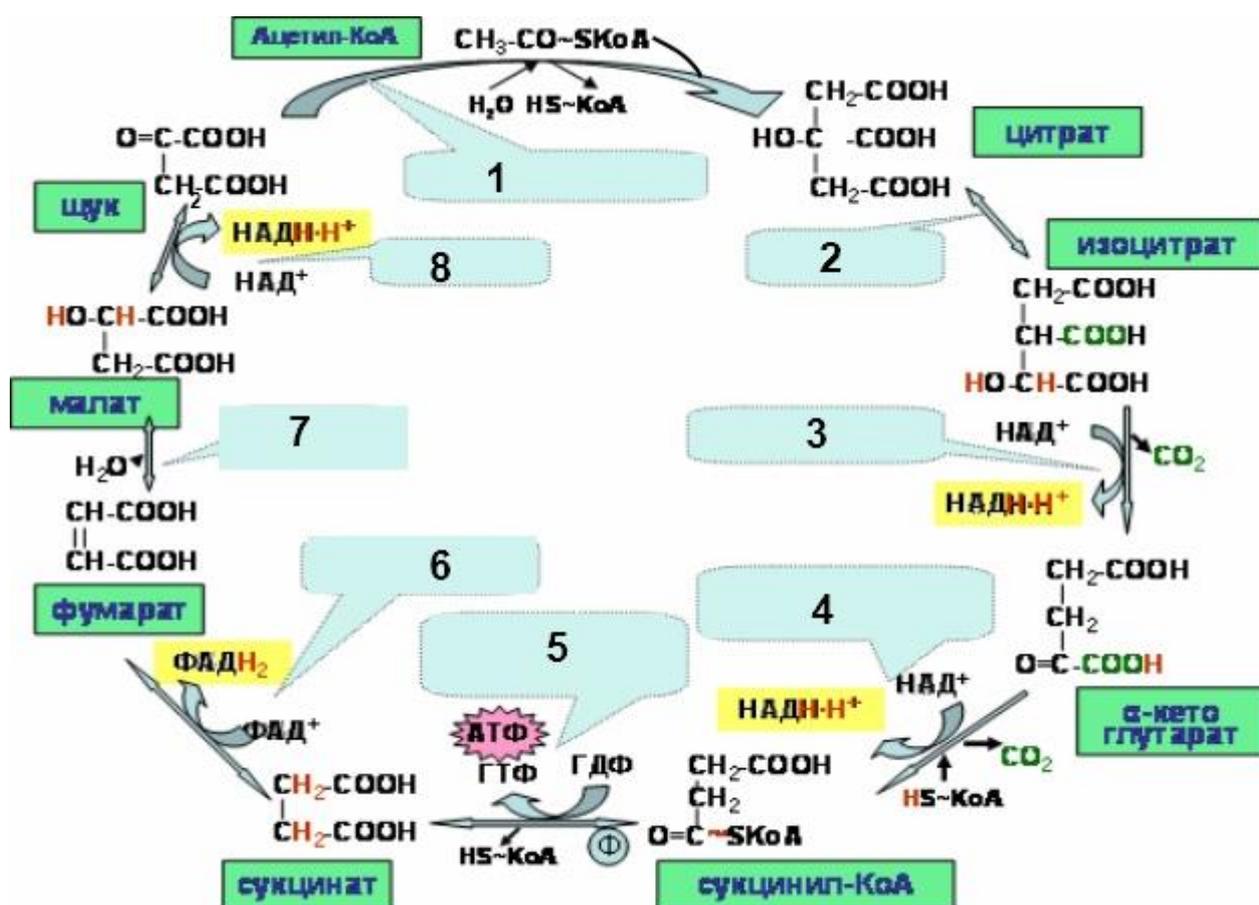


Рис. 5.6. Лимоннокислый цикл Кребса:

Ферменты: 1 — цитратсинтаза; 2 — аконитаза; 3 — изоцитратдегидрогеназа; 4 — α-кетоглутаратдегидрогеназный комплекс; 5 — сукцинил-КоА синтетаза; 6 — сукцинатдегидрогеназа; 7 — фумаратгидратаза; 8 — малатдегидрогеназа

Цикл начинается с конденсации ацетил-КоА с 4-углеродной кетокислотой — щавелевоуксусной (ЩУК). В результате образуется трикарбоновая кислота, цитрат. Изомеризация цитрата ведет к образованию изоцитрата. В ходе последовательных реакций изоцитрат декарбоксилируется и одновременно дегидрируется (фермент изоцитратДГ). Образовавшийся α-кетоглутарат также декарбоксилируется и дегидрируется. Образовавшийся макроэрг сукцинил-КоА служит источником энергии для синтеза АТФ (субстратное фосфорилирование в цикле Кребса). В результате еще двух дегидрирований (ферменты сукцинатДГ и малатДГ) ЩУК регенерирует и запускает новый оборот цикла Кребса.

Таким образом, наряду с конечным продуктом обмена — CO₂, в четырех дегидрогеназных реакциях трижды восстанавливается НАД⁺ (изоцитратДГ, α-кетоглутаратДГ, малатДГ) и один раз восстанавливается ФАД (сукцинатДГ). Чтобы цикл мог функционировать, необходимо окислить эти коферменты, т. е. передать атомы водорода в дыхательную цепь, где происходит их окисление кислородом до воды.

Функции цикла Кребса

1. *Интегративная функция.* Цикл Кребса является связующим звеном между реакциями катаболизма и анаболизма.

2. *Катаболическая функция.* В ходе ЦТК окисляются до конечных продуктов обмена ацетильные остатки, образовавшиеся из топливных молекул (глюкоза, жирные кислоты, глицерол, аминокислоты).

3. *Анаболическая функция.* Субстраты ЦТК являются основой для синтеза многих молекул (кетокислоты — α -кетоглутарат и ЩУК — могут превращаться в аминокислоты глутамин и аспарат; ЩУК может превращаться в глюкозу, сукцинил-КоА используется на синтез гема).

4. *Водорододонорная функция.* Цикл Кребса поставляет субстраты для дыхательной цепи (НАД-зависимые субстраты: изоцитрат, α -кетоглутарат, малат; ФАД-зависимый субстрат — сукцинат).

5. *Энергетическая функция.* На уровне сукцинил-КоА происходит субстратное фосфорилирование с образованием 1 молекулы макроэрга. Помимо этого, 4 дегидрогеназные реакции в цикле Кребса создают мощный поток электронов, богатых энергией. Эти электроны поступают в дыхательную цепь внутренней мембраны митохондрий. Конечным акцептором электронов является кислород. При последовательном переносе электронов на кислород выделяется энергия, достаточная для образования 9 молекул АТФ путем окислительного фосфорилирования. Примечание: более понятной эта цифра станет после того, как мы познакомимся с работой дыхательной цепи и с ферментом, синтезирующим АТФ.

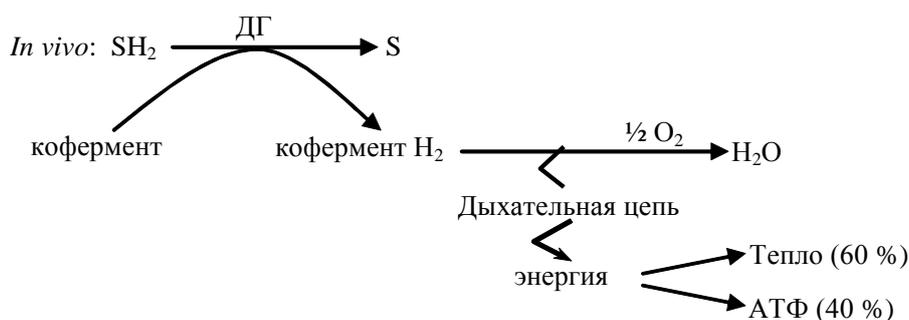
Примечание: несмотря на постоянную убыль субстратов в результате анаболической функции, цикл Кребса не прерывается благодаря *анаплеротическим реакциям*, которые пополняют фонд его субстратов. Важнейшей анаплеротической реакцией является образование ЩУК (молекулы, запускающей цикл) путем карбоксилирования ПВК.

Регуляция ЦТК

Первый фермент *цитратсинтаза* ингибируется АТФ, жирными кислотами. Лимитирующим ферментом (катализирует самую медленную реакцию) является *изоцитратДГ*. Он активируется АДФ, НАД⁺, ингибируется АТФ, НАДН·Н⁺. Когда в клетке достаточно АТФ (покой), скорость цикла снижается, при распаде же АТФ образуется АДФ, который активирует самую медленную реакцию и, следовательно, скорость всего цикла в целом.

Тема 6. ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

Тканевое дыхание — процесс окисления водорода кислородом до воды ферментами дыхательной цепи. Как указывалось выше, процесс образования воды описывается уравнением:



Дыхательная цепь — последовательность переносчиков электронов на кислород, локализованная во внутренней мембране митохондрий (ВММ). Роль таких переносчиков выполняют:

- активные формы витамина В₂ — *ФМН* и *ФАД* (присоединяют электроны и протоны);
- атомы железа и меди в составе *цитохромов*;
- железосерные белки (FeS-белки); цитохромы и железосерные белки переносят только электроны;
- жирорастворимый переносчик электронов и протонов, свободно перемещающийся по мембране, — *убихинон (КоQ)*.

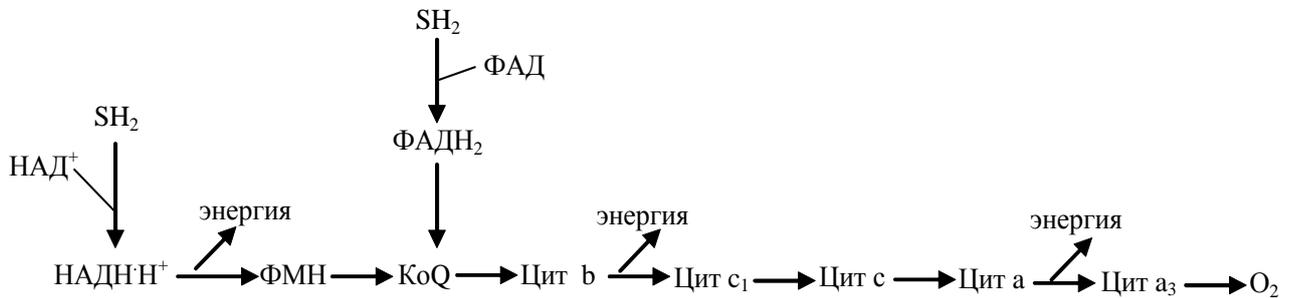
Цель работы дыхательной цепи: провести реакцию окисления водорода кислородом с образованием эндогенной воды.

Принцип работы дыхательной цепи: разделение потоков протонов и электронов, поступающих из матрикса. Электроны передаются на конечный акцептор — кислород; протоны выбрасываются в межмембранное пространство (ММП).

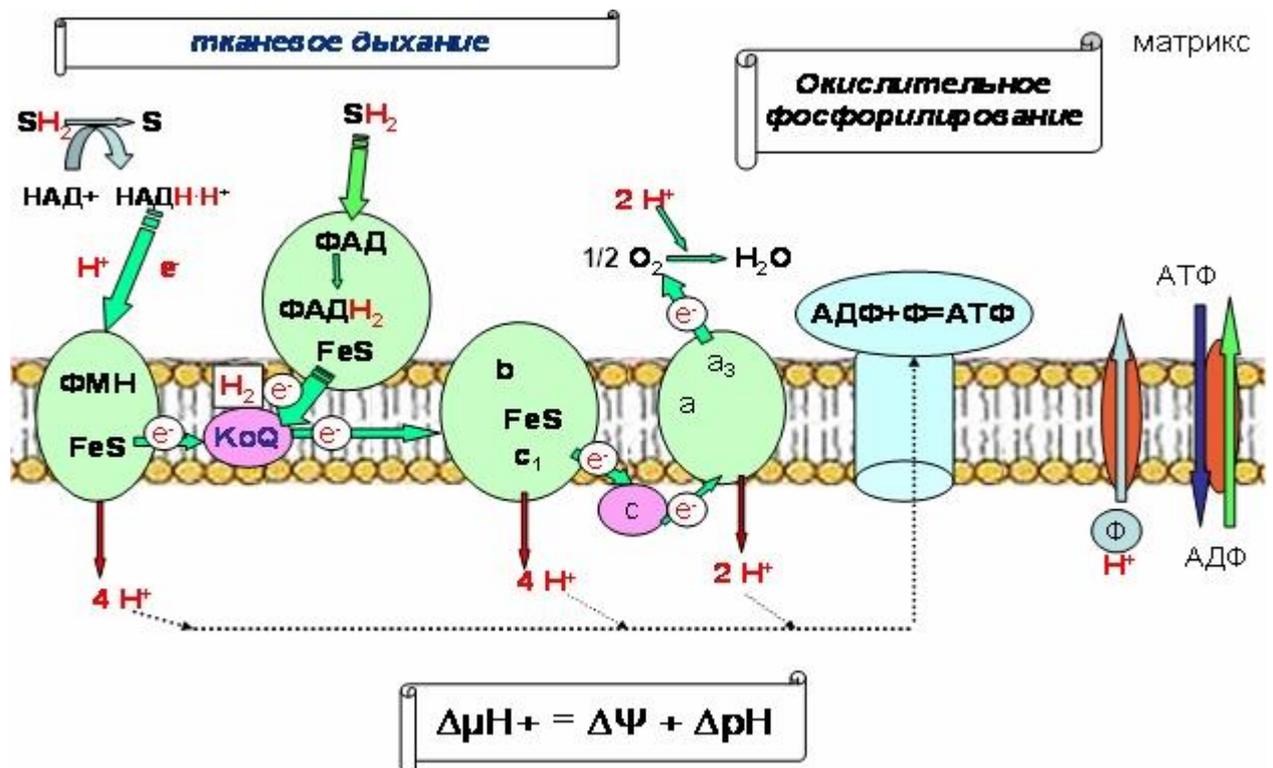
Место того или иного переносчика в дыхательной цепи определяется величиной *редокс-потенциала*. Все реакции в дыхательной цепи направлены по термодинамической лестнице от компонента с самым отрицательным редокс-потенциалом (НАДН·Н⁺) к кислороду, имеющему самый положительный редокс-потенциал.

Редокс-потенциал (E_o') численно равен ЭДС в вольтах, возникающей между растворами окислителя и восстановителя (концентрации 1М, рН = 7,0, температура 25 °С). Чем отрицательнее редокс-потенциал системы, тем выше ее способность отдавать электроны (*восстановители*). Чем положительнее редокс-потенциал, тем выше способность вещества присоединять электроны (*окислители*).

Перенос электронов по дыхательной цепи осуществляется в следующей последовательности:



Во внутренней митохондриальной мембране переносчики электронов и протонов сгруппированы в *четыре белково-липидных комплекса*, встроенных в мембрану. Убихинон (КоQ) не входит в состав комплексов; цитохром с, являясь водорастворимым, ориентирован в межмембранное пространство, находясь на наружной поверхности внутренней мембраны митохондрий (рис. 6.1):



Межмембранное пространство

Рис. 6.1. Схема сопряжения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования

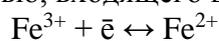
Комплексы дыхательной цепи

I. НАДН-убихинон-оксидоредуктаза. Принимает электроны и протоны от НАДН·Н⁺; протоны выбрасываются в межмембранное пространство, электроны передаются на КоQ.

II. Сукцинат-убихинон-оксидоредуктаза. Принимает электроны и протоны от субстратов в матриксе и передает их на убихинон.

Убихинон — липофильная молекула, хинон, легко перемещается по мембране, принимает электроны и протоны от I и II комплексов дыхательной цепи и передает их на III комплекс.

Цитохромы, входящие в состав дыхательной цепи, представляют собой железосодержащие белки, простетическая группа которых представлена гемом. Цитохромы могут переносить только электроны за счет атома железа с переменной валентностью, входящего в состав гема:



III. Убихинол-цитохром с-оксидоредуктаза. Переносит электроны с убихинола на цитохром с. Одновременно за счет энергии, выделившейся при переносе, из матрикса переносятся протоны в межмембранное пространство.

IV. Цитохром с-оксидаза. Переносит электроны с цитохрома с непосредственно на кислород. Цитохромы а и аз, помимо атомов железа, содержат атомы меди, поэтому этот комплекс одновременно осуществляет полное (4-электронное) восстановление молекулы кислорода. Энергия переноса электронов используется на перекачивание в межмембранное пространство протонов.

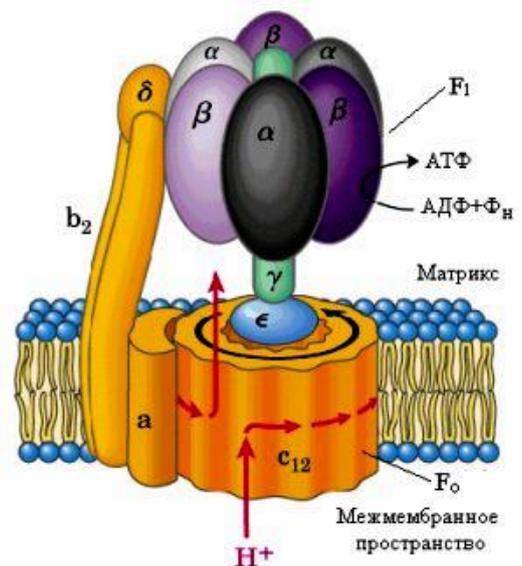
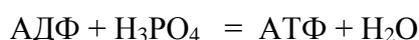


Рис. 6.2. Строение протонной АТФ-синтазы

Как указывалось выше, для синтеза АТФ необходимо затратить около 32 кДж/моль энергии. Для этого достаточной является разность потенциалов между окислителем и восстановителем не менее 0,20 вольт. Чанс, Скулачев установили, что таких участков в дыхательной цепи три. Они соответствуют I, III и IV комплексам и названы **пунктами сопряжения или фосфорилирования**.

Чтобы понять связь между транспортом электронов по дыхательной цепи и синтезом АТФ, познакомимся с **V комплексом** внутренней мембраны митохондрий — ферментом, осуществляющим реакцию синтеза АТФ и называемым **протонной АТФ-синтазой** (рис. 6.2). Этот ферментативный комплекс состоит из двух частей: F_0 (о — олигомицин), который встроен в мембрану, пронизывает ее насквозь и представляет собой протонный канал, и F_1 . Последний по форме напоминает шляпку гриба или дверную ручку и обращен в матрикс митохондрии. В изолированном виде F_1 не может синтезировать АТФ, но может проводить ее гидролиз до АДФ и фосфата.

Реакция синтеза АТФ, которую проводит V комплекс, носит название окислительного фосфорилирования и описывается уравнением:



Биохимики долго искали связь — промежуточные макроэргические соединения, которые могли бы служить посредником между процессом тканевого дыхания и окислительным фосфорилированием. Английский биохимик П. Митчелл предположил, что синтез АТФ V комплексом ВММ сопряжен с особым состоянием этой мембраны, и сформулировал **хемиосмотическую теорию** окислительного фосфорилирования (Нобелевская премия 1978 г.).

Основные постулаты этой теории:

- внутренняя митохондриальная мембрана (ВММ) непроницаема для ионов, в частности для H^+ и OH^- ;
- за счет энергии транспорта электронов через I, III и IV комплексы дыхательной цепи из матрикса выкачиваются протоны;
- возникающий на мембране электрохимический потенциал (**ЭХП**) и есть промежуточная форма запасания энергии;
- возвращение (транслокация) протонов в матрикс митохондрии через протонный канал V комплекса за счет ЭХП является движущей силой синтеза АТФ.

Дальнейшие исследования (Дж. Уокер, П. Бойер, Нобелевская премия 1997 г.) подтвердили предположения Митчелла. Ими показано, что энергия движения протонов используется на изменения конформации активного центра АТФ-синтазы, что сопровождается синтезом АТФ, а затем ее высвобождением. Образовавшаяся АТФ с помощью *транслоказы* перемещается в цитозоль; в ответ в матрикс митохондрии поступают АДФ и фосфат. Всего на процесс синтеза, высвобождения и выброса в цитозоль АТФ расходуется 4 протона.

При окислении **НАД-зависимых субстратов** в ММП выбрасывается 10 протонов (см. схему комплексов дыхательной цепи). Следовательно, в таком случае может быть синтезировано 2,5 моль АТФ (10:4), т. е. **коэффициент фосфорилирования Р/О = 2,5**. При окислении **ФАД-зависимых субстратов** в ММП выбрасывается 6 протонов в III и IV пунктах сопряжения. В таком случае может быть синтезировано 1,5 моль АТФ (6:4), т. е. **коэффициент фосфорилирования Р/О = 1,5**.

Теперь можно вернуться к пониманию *энергетической функции цикла Кребса* (см. предыдущую лекцию). В ЦТК происходят 4 реакции дегидрирования, причем три ДГ являются НАД⁺-зависимыми и одна — ФАД-зависимой. За счет окисления водорода 3-х молекул НАДН·Н⁺ в дыхательной цепи синтезируется 7,5 моль АТФ, окисление водорода 1 моль ФАДН₂ ведет к синтезу 1,5 моль АТФ. Помимо этого, в ЦТК имеет место одна реакция субстратного фосфорилирования. Таким образом, энергетический выход окисления ацетил-КоА в цикле Кребса равен 10 моль АТФ (7,5 + 1,5 + 1). Этой цифрой мы будем пользоваться в

дальнейших расчетах.

Регулируется скорость работы дыхательной цепи **энергетическим зарядом** клетки, т. е. соотношением АТФ/АДФ. АДФ является стимулятором дыхательной цепи, АТФ — аллостерическим ингибитором.

Гипоэнергетические состояния возникают в организме вследствие дефицита АТФ в клетках. Причины их следующие:

- алиментарные (голодание, гиповитаминозы РР, В₂);
- гипоксические (нарушения доставки О₂ в клетки);
- митохондриальные (действие ингибиторов и разобщителей).

Среди последних различают, во-первых, ингибиторы дыхательной цепи (рис. 6.3). Это яды, которые блокируют перенос электронов через I, II, III, IV комплексы. Ротенон и барбитураты блокируют I комплекс, малонат — II, антимицин А — III, цианиды, угарный газ блокируют перенос электронов на кислород, осуществляемый IV комплексом дыхательной цепи.

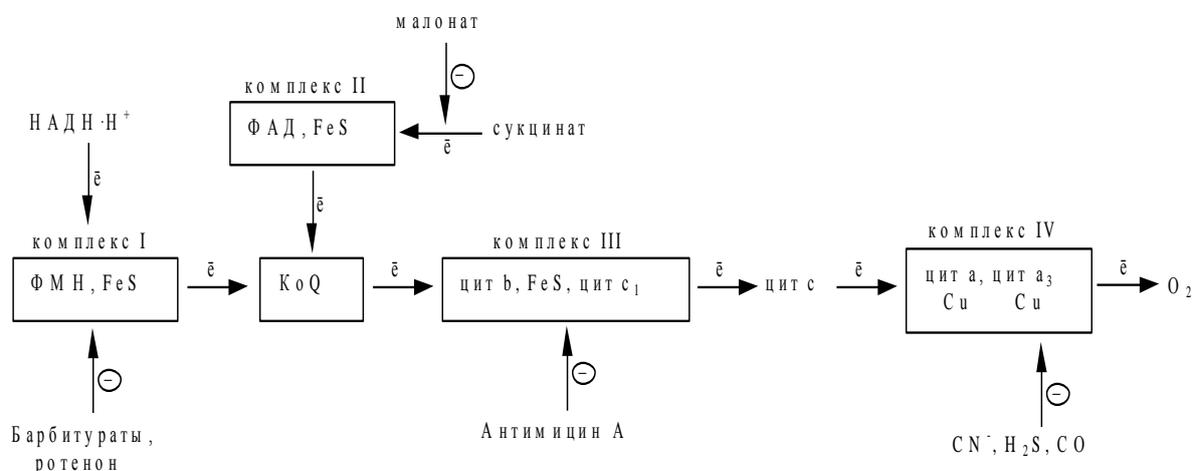


Рис. 6.3. Ингибиторы переноса электронов в дыхательной цепи

Во-вторых, ингибиторы окислительного фосфорилирования: олигомицин, закрывающий протонный канал V комплекса, атрактилозид и циклофиллин, блокирующие транслоказы.

В-третьих, разобщители окислительного фосфорилирования. Это вещества, которые подавляют окислительное фосфорилирование, не влияя при этом на процесс переноса электронов дыхательной цепью. Механизм действия разобщителей сводится к тому, что, являясь липофильными веществами, они обладают способностью связывать протоны и переносить их в матрикс, минуя протонный канал Н⁺ АТФ-синтазы. Выделяющаяся при переносе электронов энергия рассеивается в виде тепла. Различают разобщители:

- естественные (продукты перекисного окисления липидов, жирные кислоты с длинной цепью, белки термогенины бурой жировой ткани, большие дозы йодсодержащих гормонов щитовидной железы);
- искусственные (динитрофенол, производные витамина К, антибиотики валиномицин, грамицидин, анестетики эфир, галотан).

ФОТОСИНТЕЗ

Фотосинтез — уникальный физико-химический процесс, осуществляемый на Земле всеми зелеными растениями и некоторыми бактериями и обеспечивающий преобразование электромагнитной энергии солнечных лучей в энергию химических связей различных орга-

нических соединений.

Фотосинтез является основным источником биологической энергии, фотосинтезирующие автотрофы используют её для синтеза органических веществ из неорганических. Гетеротрофные организмы — животные, грибы, большинство бактерий, а также бесхлорофильные растения и водоросли — существуют за счёт энергии, запасённой автотрофами в виде химических связей, высвобождая её в процессах дыхания и брожения. Энергия, получаемая человечеством при сжигании ископаемого топлива (уголь, нефть, природный газ, торф), также является запасённой в процессе фотосинтеза.

Фотосинтез позволяет включить неорганический углерод (CO_2) в биологический цикл. Весь свободный кислород атмосферы — биогенного происхождения и является побочным продуктом фотосинтеза. Формирование окислительной атмосферы (кислородная катастрофа) полностью изменило состояние земной поверхности, сделало возможным появление дыхания, а в дальнейшем, после образования озонового слоя, позволило жизни выйти на сушу.

В природе известны бесхлорофильный и хлорофильный фотосинтез.

Бесхлорофильный фотосинтез — самый примитивный тип фотосинтеза. Его осуществляют галобактерии, живущие в средах с высоким (до 30 %) содержанием хлорида натрия, а также пурпурные и зеленые серобактерии и несерные пурпурные бактерии. Фотосинтез такого типа называют также бактериальный. Фотосинтетический аппарат этих организмов имеет одну фотосистему, они не выделяют кислород, так как в качестве источника электронов используют соединения серы, а не воду. Кванты света поглощаются белком бактериородопсином, имеющим сходство с родопсином сетчатки. Этот тип фотосинтеза отличается отсутствием электрон-транспортной цепи, а синтез АТФ осуществляется через создание электрохимического градиента протонов или ионов хлора при помощи бактериородопсиновой и галородопсиновой ионной помпы.

Хлорофильный фотосинтез осуществляют организмы, имеющие специальный пигмент — хлорофилл, который способен поглощать кванты света. Его осуществляют растения и цианобактерии (способные к фоторазложению воды и выделению кислорода). Эти организмы обладают более сложной организацией фотосинтетического аппарата и двумя сопряженно работающими фотосистемами. У них реакции фотосинтеза осуществляются в специализированной органелле клетки — хлоропласте (растения) или мезосомах (цианобактерии).

У всех растений прослеживается общность в структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата и механизме протекания биохимических реакций.

Стадии фотосинтеза:

- световая (фотофизическая и фотохимическая);
- темновая (метаболическая).

На первой, световой, стадии происходит поглощение квантов света пигментами, их переход в возбуждённое состояние, передача энергии в реакционный центр фотосистемы, где происходит разделение зарядов и перенос электронов по фотосинтетической электрон-транспортной цепи, что заканчивается синтезом АТФ и НАДФН· H^+ .

Темновая стадия происходит уже без обязательного участия света и включает в себя биохимические реакции синтеза органических веществ с использованием энергии, накопленной на светозависимой стадии. Чаще всего в качестве таких реакций рассматривается **цикл Кальвина**.

Фотосинтез растений осуществляется в хлоропластах: обособленных двухмембранных органеллах клетки, которые расположены в листьях, стеблях или плодах (рис. 6.4).

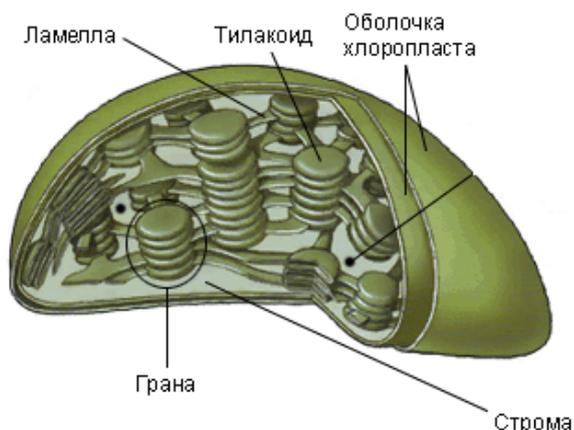


Рис. 6.4. Строение хлоропласта

Внутреннее пространство хлоропласта заполнено бесцветным содержимым (стромой) и пронизано мембранами (ламеллами), которые соединяясь друг с другом, образуют тилакоиды, которые в свою очередь группируются в стопки, называемые грана. Внутритилакоидное пространство отделено и не сообщается с остальной стромой. В мембранах тилакоидов происходит световая фаза фотосинтеза, а в строме — темновая.

Фотосинтетические пигменты

У высших растений имеется три группы пигментов: хлорофиллы, каротиноиды и фикобилины.

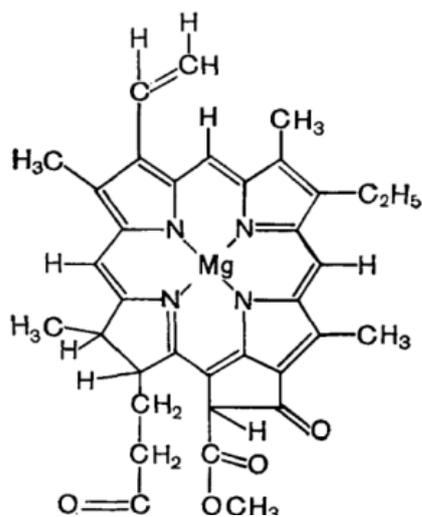


Рис. 6.5. Строение хлорофилла *a*

Хлорофилл *a*

Основными пигментами, осуществляющими поглощение квантов света в процессе фотосинтеза, являются хлорофиллы, пигменты, содержащие Mg-порфириновый комплекс. Обнаружено несколько форм хлорофиллов, различающихся по химическому строению. Спектр поглощения различных форм хлорофиллов охватывает видимую, ближнюю ультрафиолетовую и ближнюю инфракрасную области спектра (у высших растений от 350 до 700 нм, а у бактерий — от 350 до 900 нм). *Хлорофилл a* является основным пигментом и характерен для всех организмов, осуществляющих фотосинтез с выделением кислорода (рис 6.5).

У фотосинтезирующих организмов кроме хлорофилла *a* имеются хлорофиллы *b*, *c* и *d*, которые расширяют спектр поглощения света.

В поглощении световой энергии участвуют каротиноиды (пигменты полиизопреноидной природы) — у фотосинтезирующих эукариот, и фикобилины (пигменты с открытой тетрапиррольной структурой) — у цианобактерий и красных водорослей.

В клетке молекулы хлорофилла вместе с другими пигментами, участвующими в процессах поглощения квантов света и передачи энергии, образуют светособирающие хлорофилл-белковые комплексы (ССК). Молекулы ССК имеют максимум поглощения при разной длине волны и расположены от пигмента с максимумом поглощения при меньшей длине волны к пигменту с большей.

Важнейшим структурно-функциональным звеном фотосинтетического аппарата является **фотосистема** — совокупность ССК, фотохимического реакционного центра и переносчиков электрона.

В процессе фотосинтеза у растений принимают участие две фотосистемы.

Фотосистема I включает светособирающий комплекс и фотохимический реакцион-

ный центр I, в состав которого входит димер хлорофилла, поглощающий свет с длиной волны 700 нм (П700).

Фотосистема II включает светособирающий комплекс и фотохимический реакционный центр II, в состав которого входит димер хлорофилла, поглощающий свет с длиной волны 680 нм (П680).

Свет поглощается двумя фотосистемами отдельно, и нормальное осуществление фотосинтеза требует их одновременного участия.

Световая фаза фотосинтеза

Фотосинтез начинается с поглощения квантов света молекулами хлорофилла и другими связанными с ним пигментами. Энергия поглощенных квантов света стекается от сотен молекул пигментов ССК к молекуле пигмента П700 ($E_0 = + 0,43\text{В}$), которая переходит в возбужденное состояние ($E_0 = - 0,80\text{В}$) и легко отдает электрон первичному акцептору (фотохимическая реакция). Электрон с первичного акцептора, которым является мономерная форма *хлорофилла a*, передается на филохинон (витамин К) – вторичный акцептор и затем на железосерные белки. Следующим переносчиком является железосодержащий белок ферредоксин ($E_0 = - 0,43\text{В}$). Ферредоксин содержит два атома железа в негеминовой форме. От ферредоксина электрон переносится на НАДФ ($E_0 = - 0,32\text{В}$). Этот перенос осуществляется с помощью специфического белка-фермента (ферредоксин-НАДФ-редуктазы), коферментом которого является ФАД.

Последовательность расположения переносчиков определяется величиной окислительно-восстановительного потенциала: электроны спонтанно текут в сторону менее отрицательного окислительно-восстановительного потенциала (рис. 6.6).

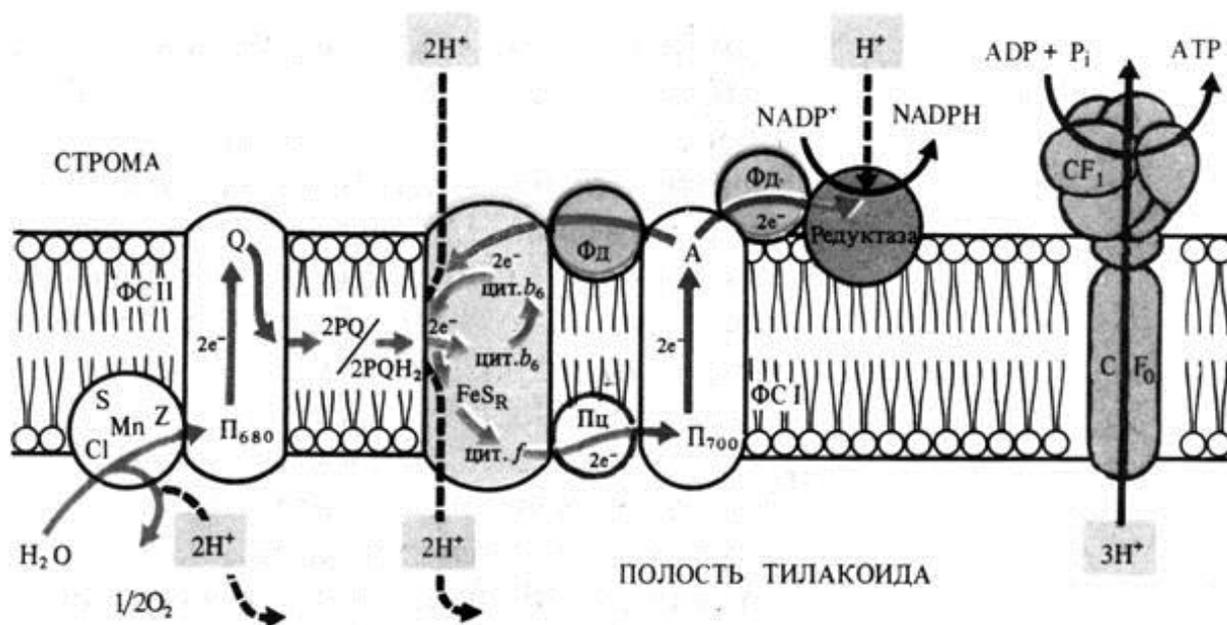


Рис 6.6. Электрон-транспортная цепь в мембране тилакоида

Отдав электрон, П700 остается в виде ионизированной молекулы. При этом потенциал П700 становится снова $+ 0,43\text{В}$ (основное состояние). Благодаря этому он является прекрасным акцептором электронов. Источником электрона, заполняющего эту «дырку», является фотосистема II. Она ответственна за реакции, связанные с разложением воды и выделением кислорода.

В состав реакционного центра фотосистемы II входит *хлорофилл a*, поглощающий свет с длиной волны 680 нм (П680). Под влиянием поглощенного кванта света возбужденный электрон от П680 ($E_0 = - 0,7\text{В}$) воспринимается первичным акцептором, которым является молекула феофитина. Затем электрон передается на пластохиноны, переносящие как электроны, так и протоны. От пластохинона электроны поступают на b/f-комплекс и переда-

ются через железосерный белок на цитохром. Цитохром относится к группе цитохромов *c* ($E_0 = +0,36$ В). Воспринимая электрон, цитохром восстанавливается: $Fe^{3+} + e^- \longrightarrow Fe^{2+}$. Следующий переносчик — пластоцианин — это медьсодержащий белок, в котором на каждую молекулу белка приходится два атома меди ($E_0 = +0,37$ В), осуществляющих электронный транспорт: $Cu^{2+} + e^- \longrightarrow Cu^+$. Пластоцианин выполняет роль связующего звена между b/f-комплексом и фотосистемой I. От пластоцианина электрон заполняет электронную «дырку» у P700.

Заполнение электронной вакансии в молекуле P680 происходит за счёт воды. В состав фотосистемы II входит **водоокисляющий комплекс**, содержащий в активном центре ионы марганца в количестве 4 штук. Для образования одной молекулы кислорода требуется две молекулы воды, дающие 4 электрона. Поэтому процесс проводится в 4 такта и для его полного осуществления требуется 4 кванта света. Водоокисляющий комплекс находится со стороны внутритилакоидного пространства, и полученные 4 протона выбрасываются внутрь тилакоида.



Таким образом, в результате работы фотосистемы II происходит окисление 2 молекул воды с помощью 4 квантов света с образованием 4 протонов во внутритилакоидном пространстве. Протоны внутрь тилакоида перекачиваются также через b/f-комплекс за счет энергии, которая выделяется в окислительно-восстановительной реакции при транспорте электронов. В результате на мембране тилакоида создается электрохимический потенциал, который является промежуточной формой запасаения энергии и используется для синтеза АТФ протонной АТФ-синтазой.

Помимо полного нециклического пути переноса электрона, описанного выше, может протекать и **циклический** путь. В этом случае ферредоксин вместо НАДФ⁺ восстанавливает пластохинон, который переносит электрон назад на b/f-комплекс. В результате образуется бóльший протонный градиент и больше АТФ, но не восстанавливается НАДФ⁺.

Темновая фаза фотосинтеза протекает в строме и не является светозависимой.

C3-фотосинтез (цикл Кальвина, восстановительный пентозофосфатный цикл) состоит из трёх стадий (рис. 6.7):

- карбоксилирование;
- восстановление;
- регенерация акцептора CO₂.

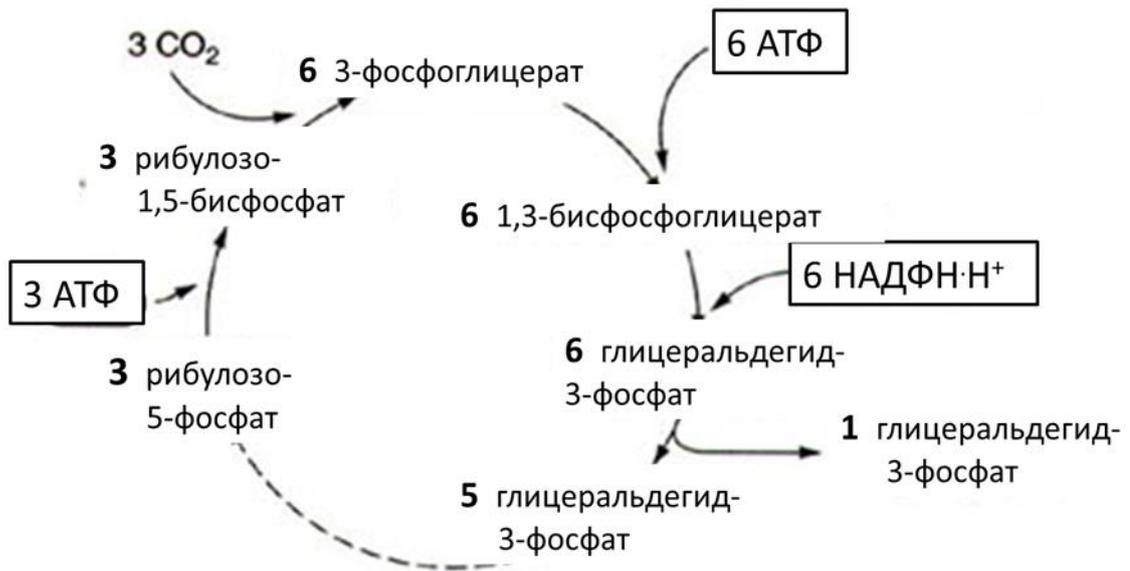


Рис. 6.7. Цикл Кальвина

На первой стадии к рибулозо-1,5-бисфосфату присоединяется CO_2 под действием фермента рибулозобисфосфаткарбоксилазы. Этот белок составляет основную фракцию белков хлоропласта и является наиболее распространённым ферментом в природе. В результате образуется промежуточное неустойчивое соединение (C_6), распадающееся на две молекулы 3-фосфоглицериновой кислоты (ФГК), которая является первичным продуктом фотосинтеза.

Во второй стадии ФГК фосфорилируется и восстанавливается с образованием глицеральдегид-3-фосфата (ФГА).

В третьей стадии участвуют 5 молекул ФГА, которые через образование 4-, 5-, 6- и 7-углеродных соединений объединяются в 3 молекулы рибулозо-1,5-бисфосфата.

Две молекулы ФГА необходимы для синтеза глюкозы. Таким образом, для синтеза 1 молекулы глюкозы требуется 6 оборотов цикла, 6 CO_2 , 12 $\text{НАДФН}\cdot\text{H}^+$ и 18 АТФ.

Интенсивность фотосинтеза зависит в первую очередь от интенсивности и спектрального состава света, концентрации CO_2 и O_2 , температуры, водного режима растения, минерального питания и других факторов внешней среды.

ПУТИ УТИЛИЗАЦИИ КИСЛОРОДА КЛЕТКОЙ

Большая часть кислорода, потребляемого клеткой (около 80 %), используется, как было указано, в митохондриях с участием цитохромоксидазы. Это так называемый **оксидазный** путь. При этом происходит полное восстановление кислорода, причем субстрат не реагирует с кислородом непосредственно. Данный путь дает клетке энергию в виде АТФ. Помимо цитохромоксидазы существуют другие оксидазы (ФМН и ФАД-зависимые), которые катализируют реакции окисления веществ с образованием перекиси водорода.

Наряду с этим существует другой путь окисления — **оксигеназный**. Он не дает клетке энергии, кислород включается в субстрат с образованием новой гидроксильной или карбоксильной группы. Этот путь происходит в основном в мембранах эндоплазматического ретикулума (*микросомах*). Путем *микросомного окисления* осуществляется α - и ω -окисление жирных кислот, синтез ненасыщенных жирных кислот, стероидов. Таким путем обезвреживаются ксенобиотики, т. е. чужеродные для организма вещества (лекарства, ядохимикаты, косметические препараты). Ферменты, осуществляющие такое окисление, называются окси-

геназами. Различают диоксигеназы, которые включают в молекулу субстрата два атома молекулы кислорода. Более распространены в клетках монооксигеназы (гидроксилазы). Они катализируют реакции, при которых в молекулу субстрата включается один атом из молекулы кислорода, второй же атом кислорода восстанавливается при этом до воды. Монооксигеназные системы представляют собой короткие цепи переноса электронов и протонов, источником которых служит чаще всего восстановленный НАДФ⁺, реже НАД⁺ или аскорбиновая кислота. Активатором кислорода при этом является *цитохром P₄₅₀* — одноцепочечный хромопротеин с молекулярной массой 50 кДа. Примерная схема монооксигеназной цепи представлена на рисунке 6.8.

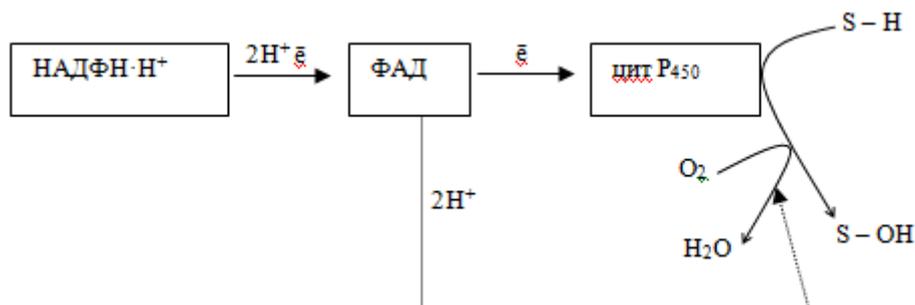


Рис. 6.8. Механизм микросомного окисления

Смысл такого процесса заключается в том, что ксенобиотики, которые обычно гидрофобны, гидроксилируясь, становятся более гидрофильными, что способствует их обезвреживанию и выведению из организма с желчью или мочой. С участием микросомных систем осуществляется также биосинтез стероидов, желчных кислот, витамина Д₃.

С появлением в атмосфере кислорода, а он появился тогда, когда возникли фотосинтезирующие организмы, стало возможным более эффективно использовать энергию, т. е. возник механизм окислительного фосфорилирования. Но, с другой стороны, вместе с этим кислород принес и новую опасность. При неполном восстановлении молекулы кислорода образуются высокоактивные формы (*свободные радикалы*), которые могут повреждать белки, нуклеиновые кислоты, липиды и способны даже убить живую клетку. Активные формы кислорода или свободные радикалы образуются в качестве промежуточных продуктов в ходе микросомного окисления, при работе дыхательной цепи, при воздействии ионизирующего излучения, при самопроизвольном окислении ряда веществ (гемоглобин). **Свободные радикалы** — молекулы, содержащие неспаренные электроны, агрессивные молекулы, которые атакуют другие молекулы с целью отнять у них электрон. К ним относятся: супероксидный анион-радикал (O₂⁻), гидропероксидный радикал (HO₂[·]), пероксид водорода (H₂O₂), гидроксидный радикал (HO[·]).

Свободные радикалы стимулируют разрывы в молекулах нуклеиновых кислот, нарушают функции белков, ведут к деполимеризации протеогликанов соединительной ткани, повреждают ненасыщенные жирные кислоты клеточных мембран, запуская, тем самым, механизм перекисного окисления липидов (ПОЛ). Вместе с тем свободные радикалы кислорода играют и положительную роль, так как участвуют в осуществлении фагоцитами и Т-лимфоцитами их защитной функции.

Повышенное образование в организме свободных радикалов кислорода ведет к «окислительному стрессу», который может привести к повреждению мембран и гибели клетки. Поэтому в организме существует антиоксидантная защита от свободных радикалов.

Различают неферментативную и ферментативную защиту клеток. Важнейшим компонентом неферментативной защиты является витамин Е (токоферол), витамин размножения.

Являясь жирорастворимым витамином, он всасывается вместе с липидами, поступает в лимфатическую систему и кровяное русло, а оттуда — в ткани. Токоферол защищает ненасыщенные жирные кислоты клеточных мембран от перекисного окисления, предохраняет от

окисления SH-группы мембранных белков, защищает от окисления двойные связи в молекулах каротинов и витамина А. Токоферол (совместно с витамином С) способствует включению селена в состав активного центра глутатионпероксидазы — важнейшего фермента антиоксидантной защиты клеток. Он контролирует синтез гема, цитохромов, стабилизирует биологические мембраны.

Ферментативная защита клеток от свободных радикалов (антиоксидантная защита) осуществляется с помощью следующих ферментов:

- **супероксиддисмутаза** (превращает супероксидные радикалы в менее токсичную перекись водорода);
- **каталазы** (разлагает перекись водорода на воду и кислород);
- **глутатионпероксидаза** — главная система защиты эритроцитов от разрушительного действия перекиси водорода. В качестве кофермента глутатионпероксидаза использует трипептид – глутатион. Для ее работы также необходим микроэлемент селен (Se).

Тема 7. ПЕРЕВАРИВАНИЕ, ВСАСЫВАНИЕ, ПОСТУПЛЕНИЕ В КЛЕТКУ УГЛЕВОДОВ. МЕТАБОЛИЗМ ГЛИКОГЕНА

Углеводы — альдегиды и кетоны многоатомных спиртов, а также производные и полимеры этих соединений.

Углеводы пищи. Большая часть углеводов поступает в организм с пищей растительного происхождения. Обычный суточный рацион содержит 400–500 г углеводов, из которых 60–80 % составляют полисахариды (в основном крахмал, в меньшем количестве — гликоген и пищевые волокна), 20–30 % олигосахариды (сахароза, лактоза, мальтоза), остальное количество — моносахариды (в основном глюкоза, фруктоза и пентозы). Углеводы должны обеспечивать не менее 55 % суточного энергопотребления. В кишечнике всасываются моносахариды, поэтому в процессе переваривания углеводов пищи должно происходить их расщепление до моносахаридов.

ПЕРЕВАРИВАНИЕ УГЛЕВОДОВ

Схема переваривания углеводов в пищеварительном тракте представлена на рисунке 7.1.

Ротовая полость. *α-Амилаза слюны* гидролизует внутренние α-1,4-гликозидные связи. Продуктами пищеварения являются олигосахаридные фрагменты (декстрины), в небольшом количестве — мальтоза и глюкоза.

Тонкий кишечник. Секретин стимулирует выделение панкреатического сока.

Холецистокинин (панкреозимин) стимулирует секрецию панкреатической α-амилазы и других панкреатических ферментов пищеварения.

Панкреатическая α-амилаза гидролизует внутренние α-1,4-гликозидные связи олигосахаридов и полисахаридов до мальтозы, изомальтозы и α-декстринов.

В ходе пристеночного пищеварения *дисахаридазы* гидролизуют дисахариды (мальтозу, изомальтозу, сахарозу, лактозу, трехалозу) до моносахаридов.

Мальтаза гидролизует мальтозу на две молекулы D-глюкозы.

Лактаза гидролизует лактозу на D-галактозу и D-глюкозу.

Изомальтаза/Сахараза — фермент двойного действия. Имеет два активных центра, расположенных в разных доменах. Фермент гидролизует сахарозу до D-фруктозы и D-глюкозы, с помощью другого активного центра фермент катализирует гидролиз изомальтозы до двух молекул D-глюкозы.

Трегалаза гидролизует трегалозу на две молекулы D-глюкозы.

α-Декстриназа (терминальная декстриназа) также образуется в клетках слизистой кишечника. Фермент гидролизует α-1,6-гликозидные связи в α-декстринах.

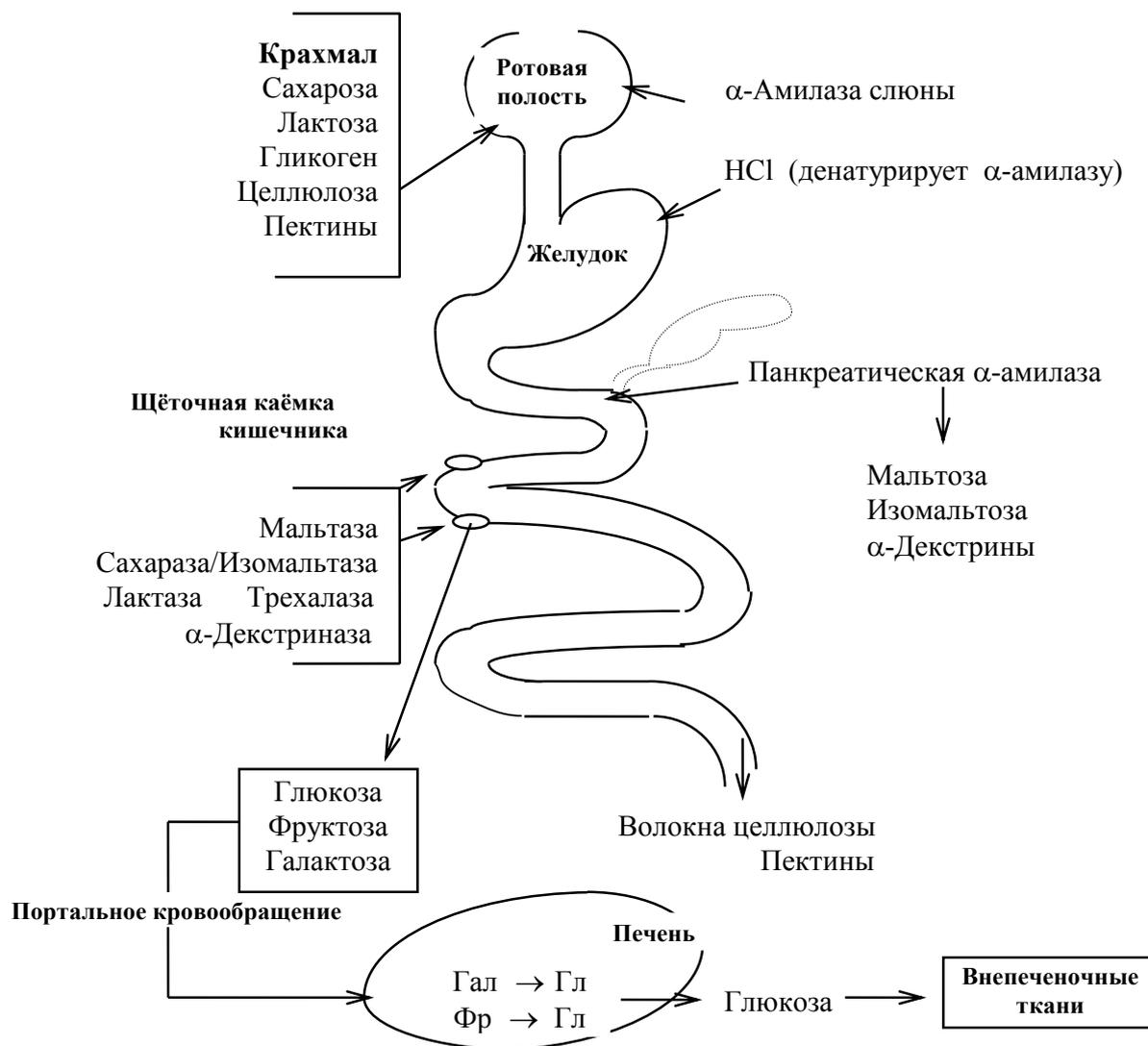


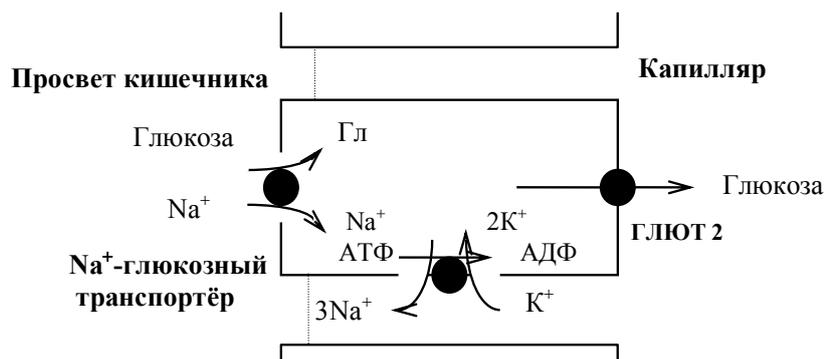
Рис. 7.1. Переваривание углеводов в пищеварительном тракте

ВСАСЫВАНИЕ УГЛЕВОДОВ

Всасывание глюкозы происходит в два этапа (рис. 7.2). **I этап** — транспорт глюкозы из полости тонкого кишечника в энтероциты. Осуществляется по двум механизмам:

- натрий-независимый транспорт с участием ГЛЮТ 5;
- натрий-зависимый транспорт с участием Na^+ -глюкозного транспортёра.

II этап — транспорт глюкозы из энтероцитов в капилляры портальной венозной системы (натрий-независимый транспорт с участием ГЛЮТ 2).



Пищевые волокна. Некрахмальные полисахариды состоят из гетерогенной группы углеводов соединений (клетчатка, пектины, гемицеллюлоза, камеди). Основной полисахарид пищевых волокон – клетчатка (целлюлоза). Пищевые волокна не усваиваются организмом человека, так как в пищеварительном тракте отсутствуют ферменты их гидролиза.

Роль пищевых волокон в питании человека:

1. Поддерживают эубактериоз кишечника.
2. Стимулируют перистальтику кишечника.
3. Связывают воду и удерживают её в кишечнике.
4. Создают давление на стенки кишечника и желудка.
5. Создают более длительное чувство насыщения.
6. Образуют гели, что оказывает защитное действие на слизистую кишечника.
7. Являются энтеросорбентами.

Лактулоза. Синтетический дисахарид (4-О-β-D-галактопиранозил-D-фруктоза), не усваивающийся в организме человека. Используется для лечения и профилактики заболеваний желудочно-кишечного тракта. Лактулоза служит источником энергии для сахаролитических бактерий кишечника. Расщепляется под действием ферментов преимущественно лакто- и бифидобактерий до органических кислот, которые увеличивают осмолярность и кислотность в кишечнике. Кислая среда в кишечнике способствует всасыванию кальция, предотвращает всасывание аммиака, подавляет рост болезнетворных организмов.

ТРАНСПОРТ ГЛЮКОЗЫ В КЛЕТКИ

Существует группа белков-переносчиков глюкозы (**ГЛЮТ**), сходных по структуре, но различающихся по участию в транспорте глюкозы (изоформы собственных транспортеров глюкозы). Они локализованы в плазматических мембранах всех клеток и участвуют в транспорте глюкозы (ускоряют транспорт) по градиенту её концентрации (рис. 7.3).

Инсулин стимулирует поступление глюкозы в адипоциты, миоциты и кардиомиоциты, увеличивая количество ГЛЮТ 4 в плазматических мембранах этих клеток.

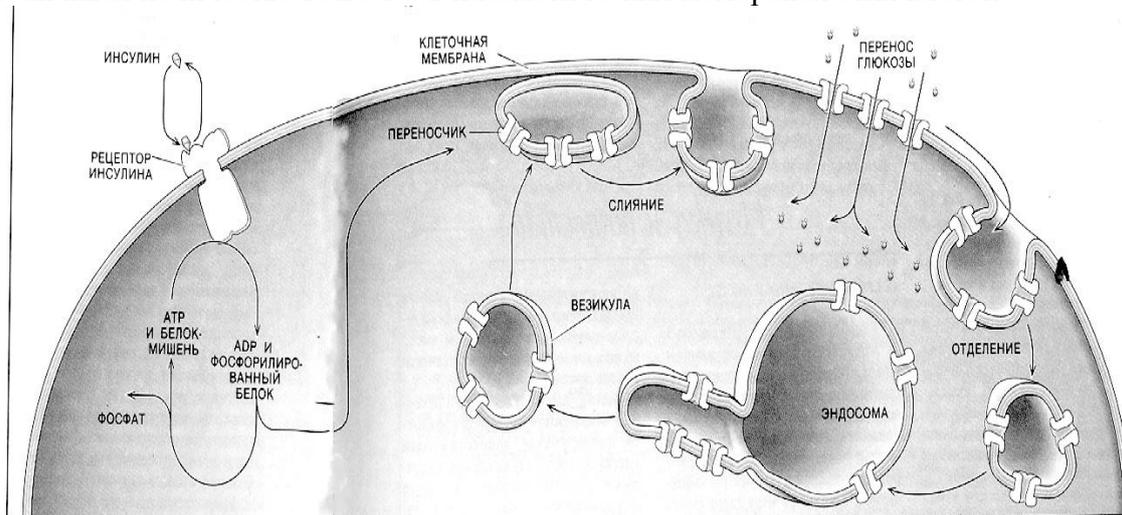


Рис. 7.3. Транспорт глюкозы в клетки

ПРЕВРАЩЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ В КЛЕТКАХ

При поступлении глюкозы в клетки осуществляется фосфорилирование глюкозы. Фосфорилированная глюкоза не может пройти через цитоплазматическую мембрану и остается в клетке. Реакция требует энергии АТФ и практически необратима (рис. 7.4).

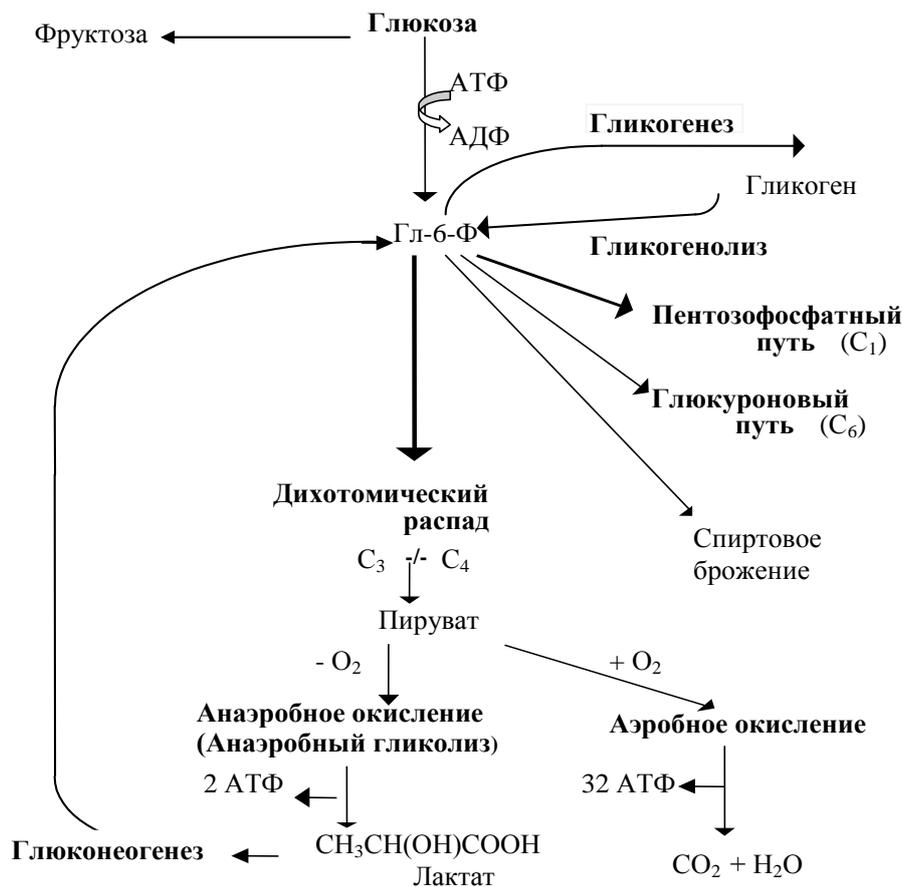
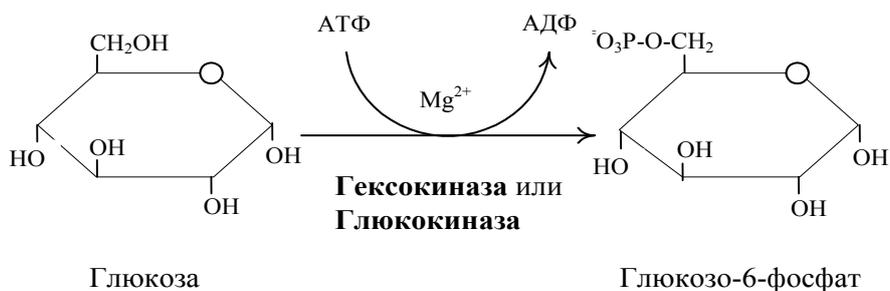


Рис. 7.4. Общая схема превращения глюкозы в клетках

МЕТАБОЛИЗМ ГЛИКОГЕНА

Пути синтеза и распада гликогена различаются, что позволяет этим метаболическим процессам протекать независимо друг от друга и исключает переключение промежуточных продуктов с одного процесса на другой.

Процессы синтеза и распада гликогена наиболее активно идут в клетках **печени** и **скелетных мышц**.

СИНТЕЗ ГЛИКОГЕНА (ГЛИКОГЕНЕЗ)

Общее содержание гликогена в организме взрослого человека около 450 г (в печени — до 150 г, в мышцах — около 300 г). Более интенсивно гликогенез осуществляется в печени (рис. 7.5).

Гликогенсинтаза — ключевой фермент процесса — катализирует присоединение глюкозы к молекуле гликогена с образованием α -1,4-гликозидных связей.

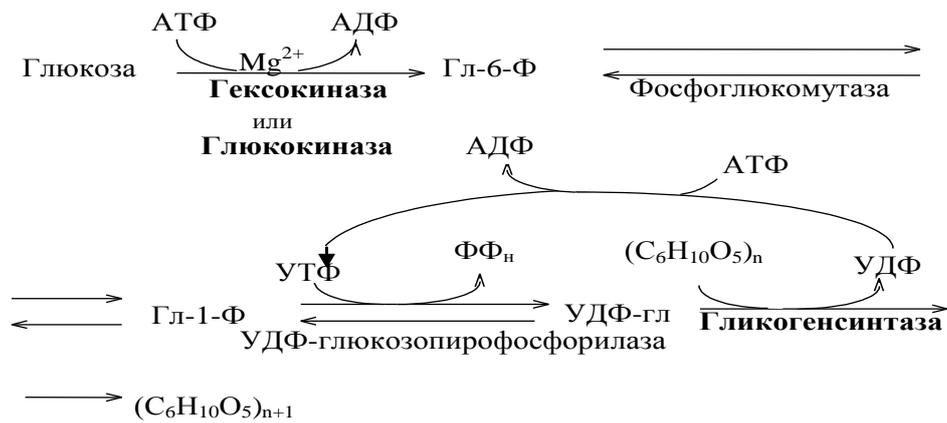


Рис. 7.5. Синтез гликогена

Включение одной молекулы глюкозы в синтезирующуюся молекулу гликогена требует затраты энергии двух молекул АТФ.

Регуляция синтеза гликогена осуществляется через регуляцию активности гликогенсинтазы. Гликогенсинтаза в клетках присутствует в двух формах: *гликогенсинтаза в (D)* — фосфорилированная неактивная форма, *гликогенсинтаза а (I)* — нефосфорилированная активная форма. *Глюкагон* в гепатоцитах и кардиомиоцитах по аденилатциклазному механизму инактивирует гликогенсинтазу. Аналогично действует *адреналин* в скелетных мышцах. Гликогенсинтаза D может аллостерически активироваться высокими концентрациями глюкозо-6-фосфата. *Инсулин* активирует гликогенсинтазу.

Итак, инсулин и глюкоза стимулируют гликогенез, адреналин и глюкагон — тормозят.

Синтез гликогена бактериями полости рта. Некоторые бактерии полости рта способны синтезировать гликоген при избытке углеводов. Механизм синтеза и распада гликогена бактериями подобен таковым у животных за исключением того, что для синтеза используются не УДФ-производные глюкозы, а АДФ-производные. Гликоген используется этими бактериями в отсутствие углеводов в ротовой полости.

РАСПАД ГЛИКОГЕНА (ГЛИКОГЕНОЛИЗ)

Распад гликогена в мышцах происходит при мышечных сокращениях, а в печени — при голодании и в перерывах между приёмами пищи. Основной механизм гликогенолиза — фосфолиз (расщепление α -1,4-гликозидных связей с участием фосфорной кислоты и гликогенфосфорилазы) (рис. 7.6).

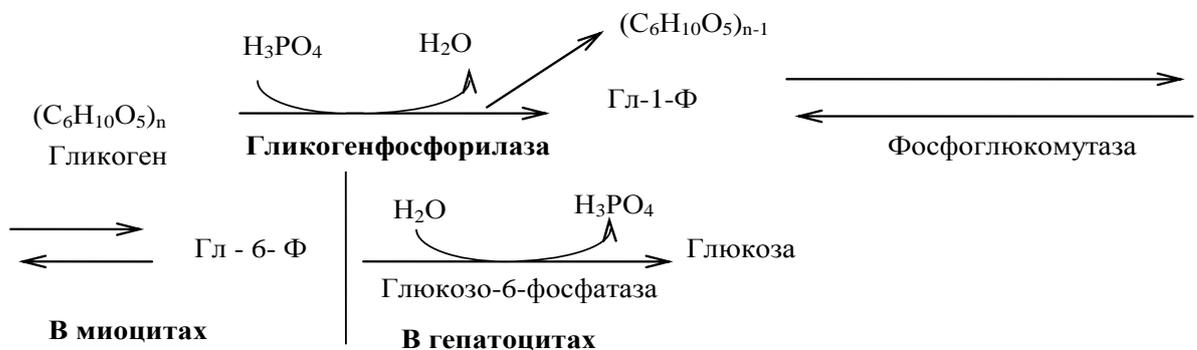


Рис. 7.6. Фосфолиз гликогена

Различия гликогенолиза в печени и мышцах. В гепатоцитах есть фермент глюкозо-6-фосфатаза и образуется свободная глюкоза, которая поступает в кровь. В миоцитах нет глюкозо-6-фосфатазы. Образовавшийся глюкозо-6-фосфат не может выйти из клетки в кровь

(фосфорилированная глюкоза не проходит цитоплазматическую мембрану) и используется на нужды миоцитов.

Регуляция гликогенолиза. Глюкагон и адреналин стимулируют гликогенолиз, инсулин — тормозит. Регуляция гликогенолиза осуществляется на уровне гликогенфосфорилазы. *Глюкагон и адреналин* активируют (переводят в фосфорилированную форму) гликогенфосфорилазу. Глюкагон (в гепатоцитах и кардиомиоцитах) и адреналин (в миоцитах) активируют гликогенфосфорилазу по каскадному механизму через посредника — цАМФ. Связываясь со своими рецепторами на цитоплазматической мембране клеток, гормоны активируют мембранный фермент аденилатциклазу. Аденилатциклаза нарабатывает цАМФ, который активирует протеинкиназу А, и запускается каскад превращений ферментов, заканчивающийся активацией гликогенфосфорилазы. *Инсулин* инактивирует, то есть переводит в нефосфорилированную форму, гликогенфосфорилазу. Мышечная гликогенфосфорилаза активируется АМФ по аллостерическому механизму.

Таким образом, гликогенез и гликогенолиз координированно регулируются глюкагоном, адреналином и инсулином.

Гликогеновые болезни — наследственные патологии обмена гликогена. Известно более десятка гликогеновых болезней. Чаще они возникают по причине дефицита или полного отсутствия какого-то фермента метаболизма гликогена. *Гликогенозы* — это болезни накопления гликогена. Они возникают по причине нарушения мобилизации гликогена при дефиците (отсутствии) ферментов гликогенолиза или при накоплении необычных форм гликогена, на которые не действуют ферменты. Наиболее распространён гликогеноз I типа (болезнь Гирке), связанный с наследственным дефицитом глюкозо-6-фосфатазы в печени и почках. Наиболее тяжёлой формой является гликогеноз II типа (болезнь Помпе) — генерализованный гликогеноз с накоплением гликогена в лизосомах практически всех тканей. В основе болезни Помпе лежит недостаточность лизосомной α-1,4-глюкозидазы. *Агликогенозы* — наследственные патологии, возникающие по причине нарушения синтеза гликогена. Чаще всего встречающийся агликогеноз связан с дефицитом или отсутствием печёночной гликогенсинтазы.

Тема 8. ГЛИКОЛИЗ. АЭРОБНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ. ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ

ГЛИКОЛИЗ

Гликолиз — это сложный ферментативный процесс расщепления глюкозы до двух молекул пирувата (аэробный гликолиз) или двух молекул лактата (анаэробный гликолиз, протекающий без потребления кислорода).

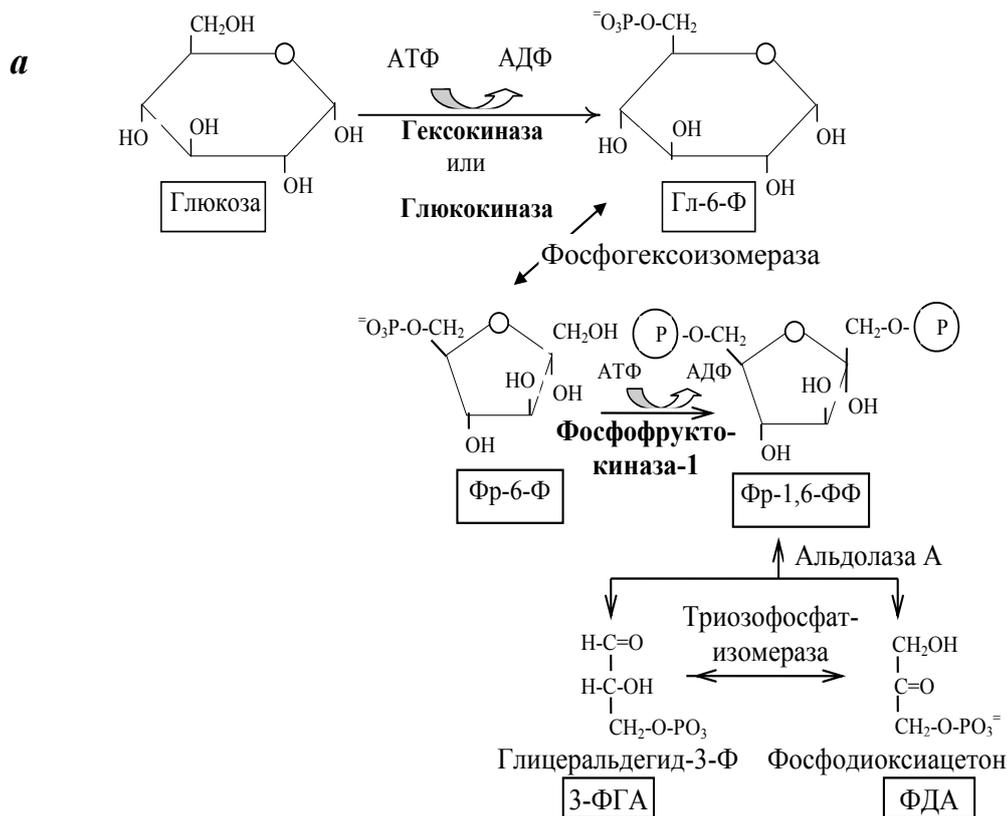
Суммарное уравнение анаэробного гликолиза:



Гликолиз функционирует во всех живых клетках. Все ферменты локализованы в цитозоле, формируя полиферментный комплекс.

Гликолиз осуществляется в **два этапа**:

1. Подготовительный этап — дихотомический распад глюкозы на две молекулы глицеральдегид-3-фосфата. Превращения сопровождаются затратой 2 АТФ (рис. 8.1а).



2. Этап гликолитической оксидоредукции — превращение глицеральдегид-3-фосфата в лактат. Включает окислительно-восстановительные реакции и реакции фосфорилирования, сопровождающиеся синтезом АТФ (рис. 8.1б).

На втором этапе окисляются две молекулы глицеральдегид-3-фосфата, поэтому в реакциях впереди формулы субстрата следует ставить коэффициент 2.

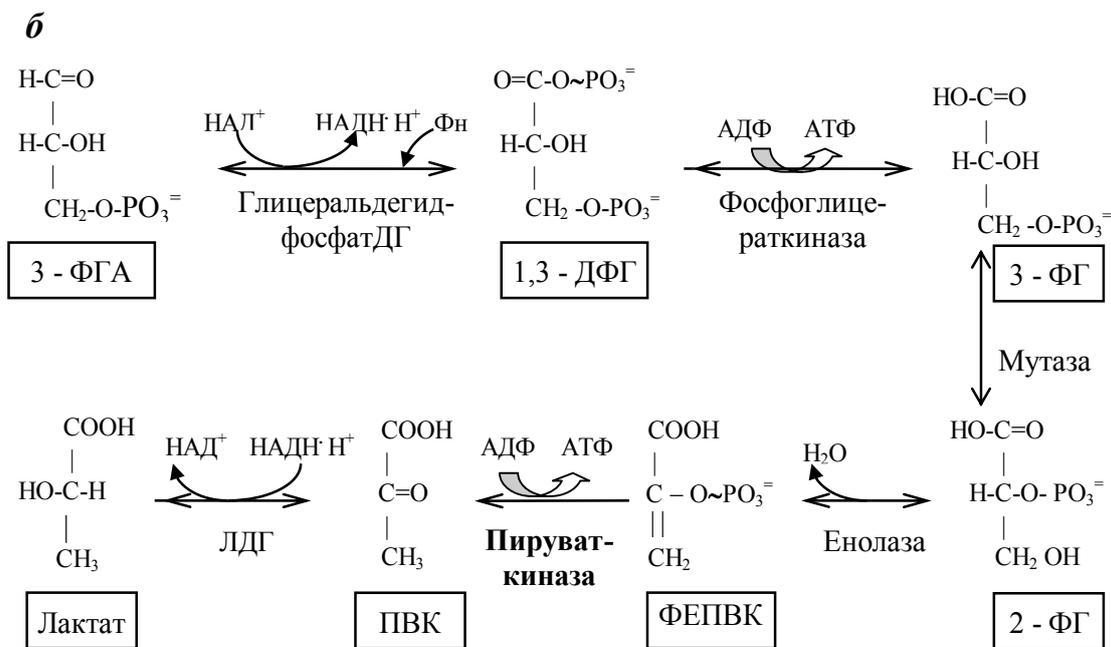


Рис. 8.1. Гликолиз:

a — подготовительный этап; *б* — этап гликолитической оксидоредукции

В анаэробных условиях окисление НАДН·Н⁺, восстановленного в глицеральдегидфосфатдегидрогеназной реакции, происходит в лактатдегидрогеназной реакции. **В аэробных условиях** НАДН·Н⁺ окисляется кислородом с участием ферментов дыхательной цепи, а выделяющаяся при этом энергия используется на синтез 1,5 или 2,5 моль АТФ (в зависимости от челночного механизма транспорта гликолитического НАДН·Н⁺ в митохондрию).

Энергетический баланс гликолиза — две молекулы АТФ на одну молекулу глюкозы. На I этапе гликолиза расходуются две молекулы АТФ для активирования субстрата (в гексокиназной и фосфофруктокиназной реакциях). На II этапе образуются четыре молекулы АТФ (в фосфоглицераткиназной и пируваткиназной реакциях). Синтез АТФ осуществляется путем субстратного фосфорилирования.

Ключевые ферменты гликолиза:

1. **Гексокиназа** — это регуляторный фермент гликолиза во внепеченочных клетках. Гексокиназа аллостерически ингибируется глюкозо-6-фосфатом. **Глюкокиназа** — регуляторный фермент гликолиза в гепатоцитах. Синтез глюкокиназы индуцируется инсулином.

2. **Фосфофруктокиназа-1**. Это главный ключевой фермент, катализирует реакцию, лимитирующую скорость всего процесса (наиболее медленная реакция). Синтез фермента индуцируется инсулином. Аллостерические активаторы — фруктозо-2,6-дифосфат, АМФ, АДФ. Уровень фруктозо-2,6-дифосфата увеличивается под действием инсулина и понижается под действием глюкагона. Аллостерические ингибиторы — АТФ, цитрат.

3. **Пируваткиназа**. Фермент активен в нефосфорилированной форме. Глюкагон (в гепатоцитах) и адреналин (в миоцитах) стимулируют фосфорилирование фермента, а значит, инактивируют фермент. Инсулин, наоборот, стимулирует дефосфорилирование фермента, а значит активует фермент. Аллостерический активатор — фруктозо-1,6-дифосфат. Аллостерический ингибитор — АТФ, ацетил-КоА. Синтез фермента индуцирует инсулин.

Биологическая роль гликолиза:

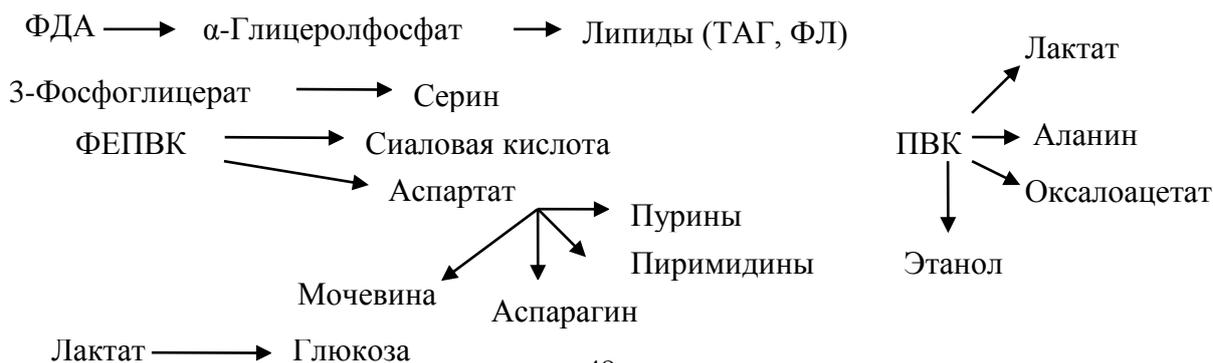
1. Генерирование АТФ. Гликолиз — единственный процесс в клетках, продуцирующий АТФ без потребления кислорода. Клетки, имеющие мало или не имеющие вообще митохондрий, получают АТФ только в ходе гликолиза.

Значение гликолиза для эритроцитов. Гликолиз — единственный процесс, продуцирующий АТФ в эритроцитах и поддерживающий их целостность и функции.

Наследственный дефект пируваткиназы сопровождается *гемолитической анемией*. При этой патологии эритроциты имеют от 5 до 25 % нормальной пируваткиназной активности и, следовательно, скорость гликолиза низкая.

Промежуточный продукт гликолиза в эритроцитах — 2,3-дифосфоглицерат (2,3-ДФГ) — понижает сродство гемоглобина к кислороду, способствуя диссоциации кислорода из оксигемоглобина и переходу его в ткани. Нарушения гликолиза в эритроцитах могут оказывать влияние на транспорт кислорода. Так, при недостаточности гексокиназы наблюдается понижение уровня 2,3-ДФГ и ненормально высокое сродство гемоглобина к кислороду. И, наоборот, при недостаточности пируваткиназы содержание 2,3-ДФГ вдвое превышает норму, что обуславливает низкое сродство гемоглобина к кислороду.

2. Является источником углеводородных радикалов для процессов биосинтеза в клетках: (рис. 8.2):



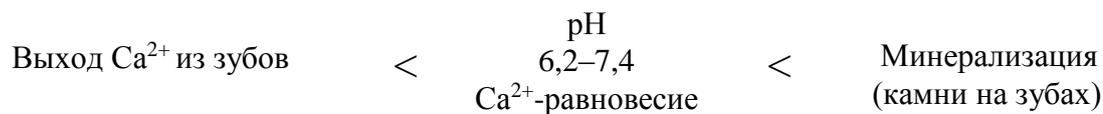
Патогенетическая взаимосвязь углеводов пищи и кариеса

Потребление легкоферментируемых углеводов, в частности сахарозы, инициирует кислотную деминерализацию эмали зубов. У бактерий имеются два альтернативных пути использования пирувата: первый — путь восстановления ПВК в молочную кислоту с участием лактатдегидрогеназы (ЛДГ), второй — расщепление ПВК на уксусную и муравьиную кислоту с участием пируватформатлиазы (ПФЛ) (рис. 8.3).



Рис. 8.3 Схема расщепления сахарозы под влиянием ферментов бактерий полости рта

Существует определенная зависимость между pH ротовой жидкости и выходом кальция из зубов:



АЭРОБНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ

Это основной путь катаболизма глюкозы у аэробных организмов. Процесс осуществляется в три этапа (рис. 8.4). В аэробных условиях глюкоза окисляется до CO_2 и H_2O .

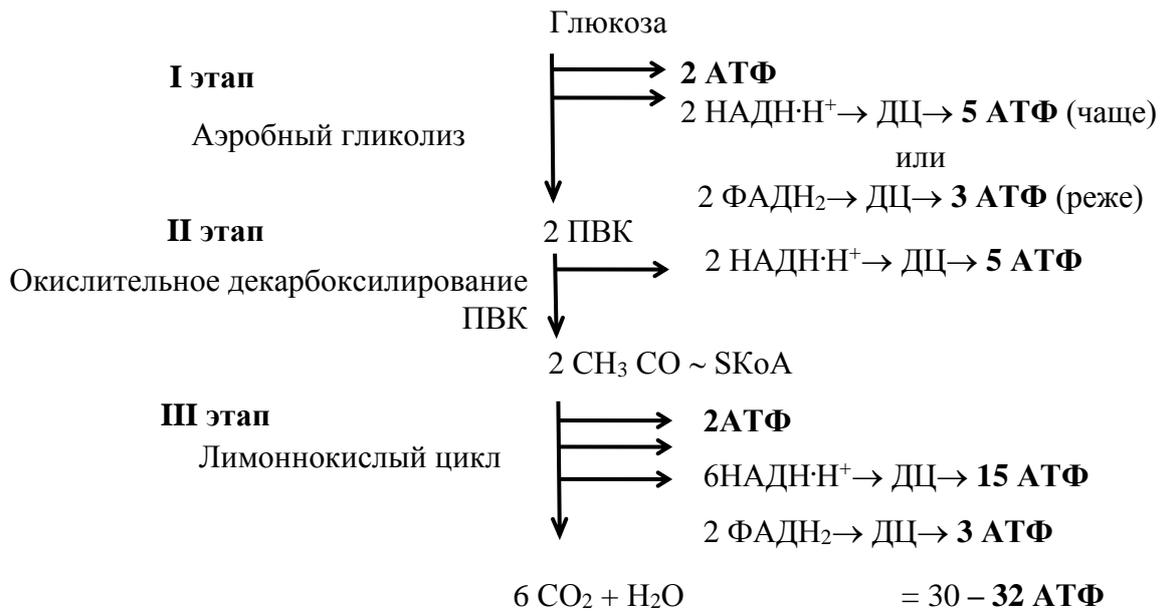


Рис. 8.4. Этапы аэробного окисления глюкозы

Энергетический баланс. Энергетический баланс аэробного окисления глюкозы — 30 – 32 моля АТФ на молекулу глюкозы

Челночные механизмы переноса восстановительных эквивалентов через митохондриальные мембраны. В аэробных условиях окисление гликолитического восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАДН·Н⁺) осуществляется в митохондриях в ходе тканевого дыхания. Цитозольный НАДН·Н⁺ не может передавать водород непосредственно на дыхательную цепь, поскольку внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для НАДН·Н⁺. Перенос водорода с цитозольного НАДН·Н⁺ в митохондрии происходит при участии специальных механизмов, называемых челночными (рис. 8.5). Суть этих механизмов состоит в том, что НАДН·Н⁺ в цитозоле восстанавливает некоторое соединение, способное проникать в митохондрию; в митохондрии это соединение окисляется, восстанавливая при этом внутримитохондриальный НАД (*малатный челночный механизм*) или ФАД (*глицеролфосфатный челночный механизм*), и вновь переходит в цитозоль.

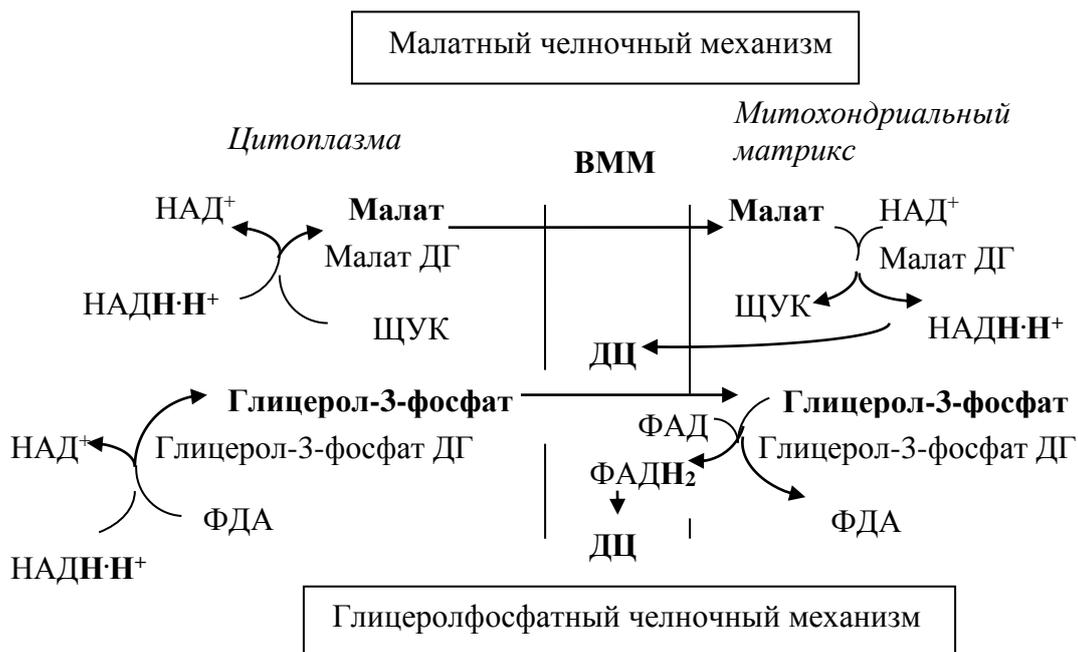


Рис. 8.5. Челночные механизмы транспорта цитоплазматического НАДН·Н⁺

ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ

Глюконеогенез — синтез глюкозы из соединений неуглеводной природы.

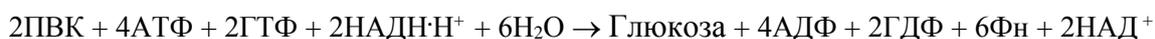
В организме взрослого человека за сутки может синтезироваться до 250 г глюкозы.

Глюконеогенез осуществляется главным образом в печени (синтезируется до 90 % всей глюкозы), корковом веществе почек, эритроцитах (совсем незначительно).

Глюконеогенез стимулируется при длительном голодании, при ограничении поступления углеводов с пищей, в период восстановления после мышечной нагрузки, у новорождённых в первые часы после рождения.

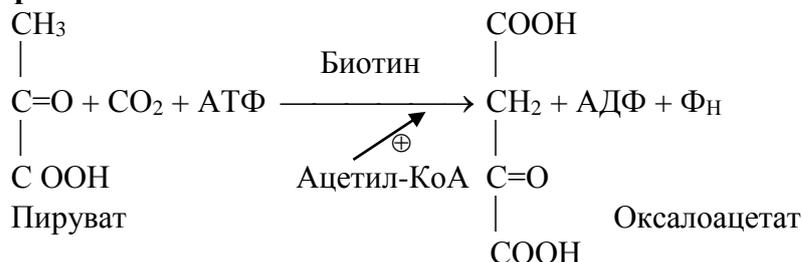
Субстраты глюконеогенеза. Истинными субстратами глюконеогенеза являются **пируват**, **оксалоацетат**, **фосфодиоксиацетон**, которые непосредственно включаются в этот процесс. Все вещества неуглеводной природы, дающие эти метаболиты, являются субстратами глюконеогенеза: лактат→ПВК, метаболиты цикла Кребса→ЩУК, глицерол→фосфодиоксиацетон, пропионил-КоА→метаболиты цикла Кребса→ЩУК, глюкогенные аминокислоты→ПВК или ЩУК. Главный источник субстратов глюконеогенеза — глюкогенные аминокислоты. К глюкогенным аминокислотам относятся все протеиногенные аминокислоты, кроме лейцина и лизина.

Стехиометрия:

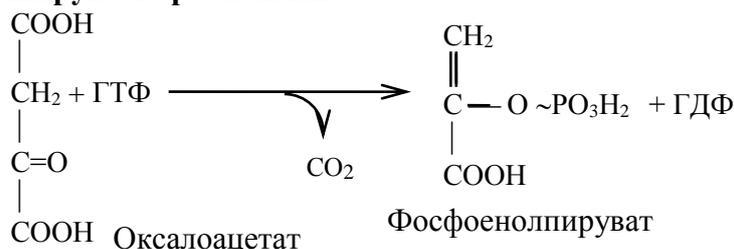


Глюконеогенез протекает, в основном, по тому же пути, что и гликолиз, но в обратном направлении. Для обхода трех ключевых реакций гликолиза используются четыре специфических фермента глюконеогенеза.

1. Пируваткарбоксилаза



2. Фосфоенолпируваткарбоксикиназа



3. Фруктозо-1,6-дифосфатаза



4. Глюкозо-6-фосфатаза

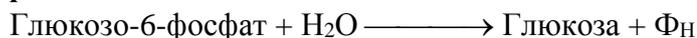


Рис. 8.6. Ключевые ферменты и ключевые реакции глюконеогенеза:

Энергетический баланс. На синтез молекулы глюкозы из двух молекул пирувата расходуется 4АТФ и 2ГТФ (6АТФ). Энергию для глюконеогенеза поставляет процесс β-окисления жирных кислот.

Регуляция глюконеогенеза. Глюконеогенез стимулируется в условиях гипогликемии при низком уровне инсулина и преобладании его антагонистов (глюкагона, катехоламинов, глюкокортикоидов).

1. Регуляция активности ключевых ферментов:

- фруктозо-1,6-дифосфатаза по аллостерическому механизму активируется АТФ, ингибируется фруктозо-2,6-дифосфатом и АМФ;

- пируваткарбоксилаза активируется $\text{CH}_3\text{CO}\sim\text{SKoA}$ (аллостерический активатор).

2. Регуляция количества ключевых ферментов: глюкокортикоиды и глюкагон индуцируют синтез ключевых ферментов, а инсулин — репрессирует.

3. Регуляция количества субстрата: количество субстратов глюконеогенеза увеличивается под действием глюкокортикоидов (катаболическое действие на белки мышечной и лимфоидной ткани, на жировую ткань), а также глюкагона (катаболическое действие на жировую ткань).

Биологическая роль глюконеогенеза:

1. Поддержание уровня глюкозы в крови. При длительном голодании (голодание более суток) глюконеогенез является единственным процессом, поставляющим глюкозу в кровь.

2. Возвращение лактата в метаболический фонд углеводов. Лактат, образующийся в процессе анаэробного окисления глюкозы в эритроцитах и скелетных мышцах, транспортируется кровью в печень и превращается в гепатоцитах в глюкозу. Это так называемый межорганый *цикл Кори* (рис. 8.7).

3. Предотвращение лактатного ацидоза, то есть в ходе глюконеогенеза лактат крови превращается в глюкозу.



Рис. 8.7. Цикл Кори

Тема 9. ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ. ГЛЮКУРОНОВЫЙ ПУТЬ. ОБМЕН ФРУКТОЗЫ И ГАЛАКТОЗЫ. МЕТАБОЛИЗМ ЭТАНОЛА

ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ

Пентозофосфатный путь (ПФП) обмена углеводов нередко называют апотомическим путём, так как обмен глюкозы идёт по первому (C₁) атому углерода.

Доля ПФП в количественном превращении глюкозы в клетках обычно невелика (в большинстве клеток не более 10 %) и варьирует в зависимости от типа ткани и её функционального состояния. Так, в клетках печени по этому пути превращается около 30 % глюкозы, в адипоцитах — 20 %, в эритроцитах — 7 %, в клетках мозга — около 2 %. Этот процесс идет в клетках многих органов и тканей.

Ферменты ПФП локализованы в цитоплазме клеток.

Превращение глюкозы по ПФП не требует присутствия кислорода. Если по ПФП пре-

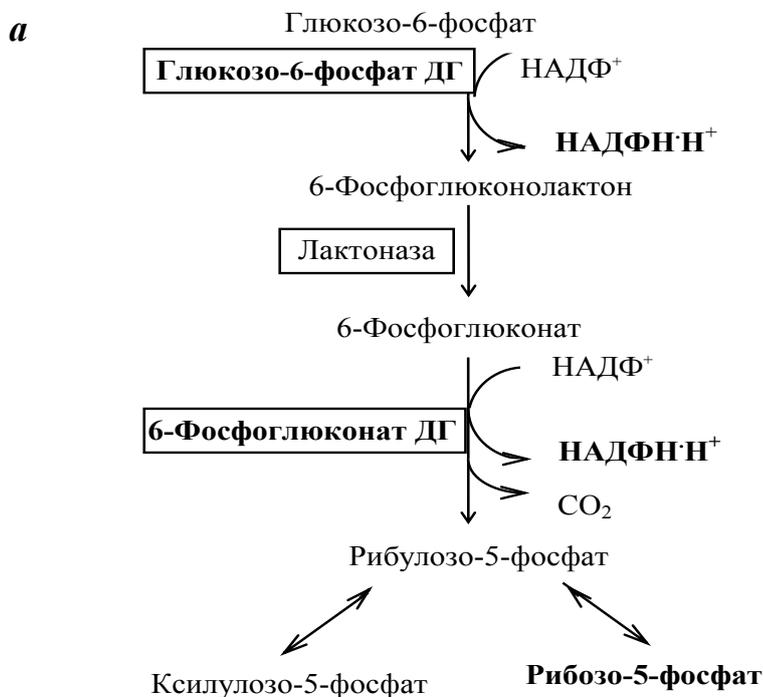
вращается шесть молекул Гл-6-Ф, то за один цикл молекула Гл-6-Ф катаболизирует до 6 CO₂.

Суммарное уравнение:



Последовательность реакций ПФП разделяют на два этапа:

1. Окислительный этап. На этом этапе осуществляются две дегидрогеназные реакции и одна реакция декарбоксилирования с образованием рибозо-5-фосфата и восстановлением двух молекул НАДФ⁺ (2 НАДФ⁺ → 2 НАДФН·Н⁺) (рис. 9.1а)



Таким образом, при окислении молекулы глюкозы образуется 2 НАДФН·Н⁺ и рибозо-5-фосфат. В некоторых клетках катаболизм глюкозы на этом и заканчивается.

Ключевые ферменты:

- 1) глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа — главный ключевой фермент;
- 2) 6-фосфоглюконатдегидрогеназа.

Значение окислительного этапа:

1. Главный поставщик рибозо-5-фосфата для биосинтетических процессов:
 - биосинтез мононуклеотидов (АМФ, ГМФ, УМФ, ЦМФ, ТМФ и др.);
 - синтез нуклеиновых кислот (ДНК, РНК);
 - синтез коферментов (НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД, КоА-SH).
2. Основной источник НАДФН·Н⁺ в клетках. ПФП на 50 % обеспечивает потребности клетки в НАДФН·Н⁺.

НАДФН·Н⁺ в клетках используется:

- 1) в реакциях биосинтеза веществ как восстановитель:
 - синтез жирных кислот;
 - биосинтез холестерина, стероидных гормонов, желчных кислот;
 - синтез заменимых аминокислот (НАДФН·Н⁺ как кофермент глутаматдегидрогеназы в реакциях восстановительного аминирования α-кетоглутаровой кислоты);
 - в глюкуроновом пути и др.
- 2) в обезвреживании веществ: в реакциях гидроксилирования различных ксенобиотиков, лекарственных веществ, этанола и других веществ, которые осуществляются с участием микросомной цитP₄₅₀-зависимой системы окисления;
- 3) как антиоксидант: используется на восстановление окисленного глутатиона. Глута-

тион — важный антиоксидант клеток;

4) в фагоцитозе: генерирование активных форм кислорода. Фагоциты с использованием НАДФНН⁺ генерируют супероксидные анион-радикалы, выполняющие основную роль в разрушении поглощённых бактериальных клеток. При недостаточной продукции НАДФНН⁺ при нарушении ПФП отмечается хроническое течение инфекционных заболеваний.

Интенсивность протекания реакций ПФП зависит от потребности клеток в продуктах реакций и различается в разных тканях. Реакции окислительного этапа активно протекают в клетках печени, жировой ткани, эмбриональной ткани, в коре надпочечников, щитовидной железе, половых железах, лактирующей молочной железе, костном мозге, эритроцитах.

2. Неокислительный этап (этап межмолекулярных перегруппировок). На этом этапе происходят взаимопревращения сахаров (фосфотриоз, фосфотетроз, фосфопентоз, фосфогексоз, фосфогептулоз, фосфооктулоз), в результате которых регенерирует глюкозо-6-фосфат (рис. 9.1б).

Два основных фермента катализируют превращения на неокислительном этапе:

1) транскетолаза катализирует перенос двухуглеродных фрагментов. В качестве кофермента использует тиаминпирофосфат;

2) трансальдолаза катализирует перенос трёхуглеродных фрагментов.

Варианты неокислительных превращений:

– классический или F-вариант (от англ. *fat* — жир) — осуществляется в клетках жировой ткани;

– октулозный или L-вариант (от англ. *liver* — печень) — осуществляется в клетках печени и других тканей.

Реакции (L-вариант):

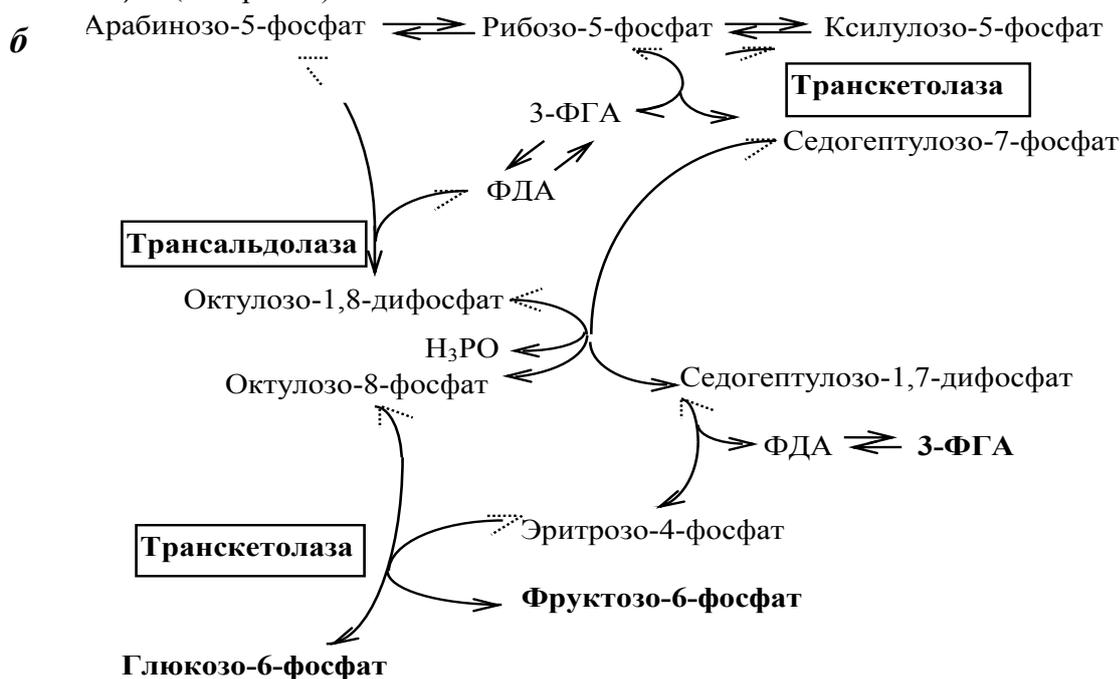


Рис. 9.1. Пентозофосфатный путь:

а — окислительный этап; б — неокислительный этап (L-вариант)

Итак, на неокислительном этапе неостребованные в клетках пентозофосфаты в результате межмолекулярных перегруппировок превращаются в глюкозо-6-фосфат, а также образуются фруктозо-6-фосфат и 3-ФГА.

Все реакции неокислительного этапа обратимы.

На неокислительном этапе ПФП связан с гликолизом (посредством глюкозо-6-фосфата, фруктозо-6-фосфата и 3-ФГА), то есть возможно переключение этих процессов.

Значение неокислительного этапа:

1. Стабилизирует концентрацию фосфопентоз в клетке, то есть утилизирует лишние фосфопентозы. Благодаря связи с гликолизом лишние пентозы катаболизируют по гликолитическому пути, давая клеткам энергию.

2. Синтез фосфопентоз в клетке при торможении окислительного этапа благодаря обратимости реакций неокислительного превращения.

Регуляция пентозофосфатного пути, в основном, осуществляется на уровне дегидрогеназ. Инсулин индуцирует синтез глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы. Жирные кислоты — аллостерические ингибиторы глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Увеличение уровня НАДФН·Н⁺ в клетке тормозит окисление глюкозы по ПФП.

ГЛЮКУРОНОВЫЙ ПУТЬ

Глюкуроновый путь («Путь уроновых кислот») осуществляется в печени и в клетках соединительной ткани. Первая часть процесса (до образования УДФ-глюкозы) совпадает с реакциями синтеза гликогена, заключительный этап (от ксилулозо-5-фосфата до глюкозо-6-фосфата) совпадает с неокислительным этапом ПФП (рис. 9.2).

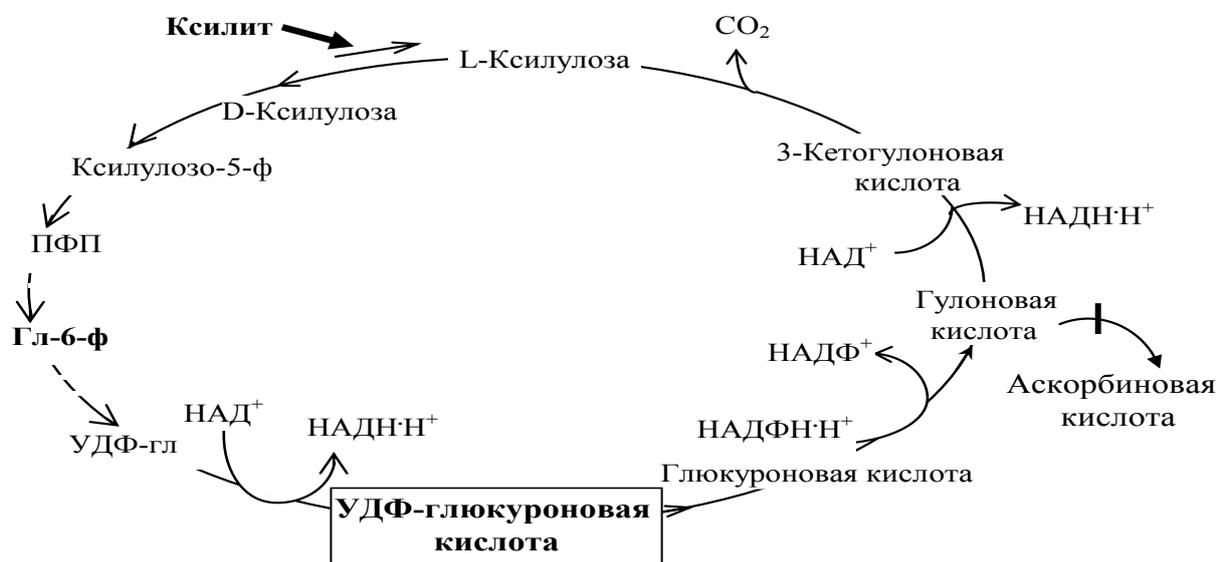


Рис. 9.2. Глюкуроновый путь

Значение глюкуронового пути:

1. Образование активированного глюкуроната.

В гепатоцитах УДФ-глюкуроновая кислота используется на процессы обезвреживания (реакции конъюгации с билирубином, продуктами гниения белков, лекарствами и др.).

В фибробластах УДФ-глюкуроновая кислота используется на синтез гетерополисахаридов (гиалуриновая кислота, хондроитинсульфат, дерматансульфат, гепарин).

2. Дополнительный источник пентоз.

3. Путь включения пищевого ксилита в метаболизм.

4. Поставляет гулоновую кислоту на синтез аскорбата. Аскорбат синтезируется из гулоновой кислоты с участием двух специфических ферментов. Один из этих ферментов отсутствует у человека (отсутствует также у высших приматов, морской свинки, индийской летучей мыши), поэтому аскорбат не синтезируется и должен поступать с пищей.

ОБМЕН ФРУКТОЗЫ

Пищевая фруктоза по портальной венозной системе поступает в печень и у здорового

человека практически вся превращается в глюкозу. В усвоении фруктозы участвуют следующие ферменты печени: **фруктокиназа, альдолаза В, глицеральдегидкиназа** (рис. 9.3).

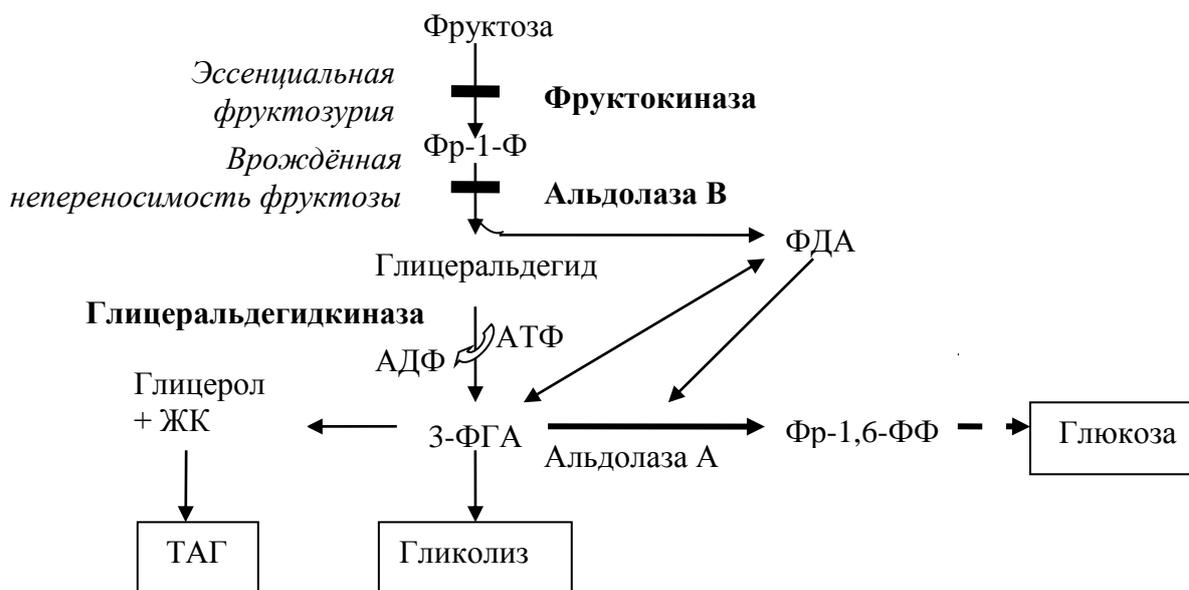


Рис. 9.3. Основной путь превращения фруктозы

Эссенциальная фруктозурия возникает при врождённой недостаточности фруктокиназы. При повышении концентрации фруктозы в крови излишек выводится с мочой. Клиническое значение имеет *врождённая непереносимость фруктозы*, возникающая при недостатке альдолазы В. Для этой патологии характерна рвота и судороги после еды (после приёма сахарозы, фруктозы, сорбита), фруктозурия, гипогликемия, печёночная и почечная недостаточность.

ОБМЕН ГАЛАКТОЗЫ

Почти вся пищевая галактоза после всасывания в кишечнике подвергается превращениям в печени. Три специфических фермента катализируют реакции включения галактозы в гликолитический путь: **галактокиназа, галактозо-1-фосфат-уридилтрансфераза и УДФ-галактозо-4-эпимераза** (рис. 9.4).

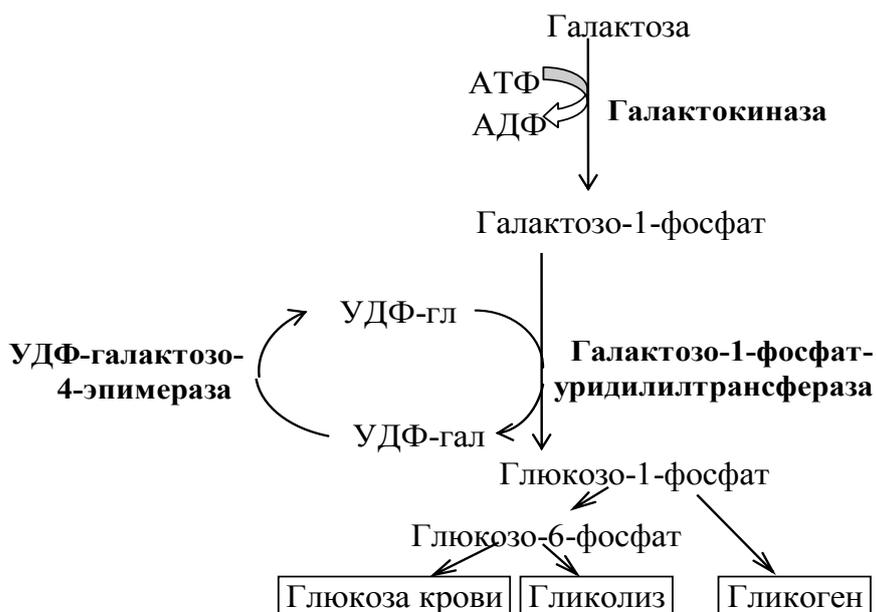


Рис. 9.4. Метаболизм галактозы в печени

Нарушения метаболизма пищевой галактозы сопровождаются галактоземией (значительное увеличение содержания галактозы в крови). *Галактоземия* может быть вызвана наследственными дефектами в любом из трёх специфических ферментов метаболизма галактозы. Наследственный дефицит галактозо-1-фосфат-уридилитрансферазы — наиболее частая причина галактоземии (1/40000). Дефицит этого фермента приводит к накоплению галактозо-1-фосфата в клетках и повышению уровня галактозы в крови. Симптомы: рвота и диарея после приема молока, увеличение печени, желтуха, катаракта (помутнение хрусталика), почечная недостаточность, отставание в умственном развитии.

СПИРТОВОЕ БРОЖЕНИЕ. МЕТАБОЛИЗМ ЭТАНОЛА

Спиртовое брожение более характерно для дрожжей и некоторых плесневых грибов, но осуществляется и в клетках млекопитающих. Конечными продуктами являются этанол и углекислый газ. Большинство реакций спиртового брожения совпадают с реакциями гликолиза. Расхождение начинается лишь после образования пирувата. При спиртовом брожении пируват при участии пируватдекарбоксылазы вначале подвергается декарбоксилации с образованием ацетальдегида. Далее ацетальдегид под действием алкогольдегидрогеназы и при участии кофермента НАДН⁺ восстанавливается в этанол (рис. 9.5). Длительное избыточное потребление алкоголя ведёт к торможению и деградации систем эндогенного синтеза этанола, к адаптивному усилению механизмов катаболизма этанола и ацетальдегида, что в итоге приводит к зависимости от экзогенного этанола.

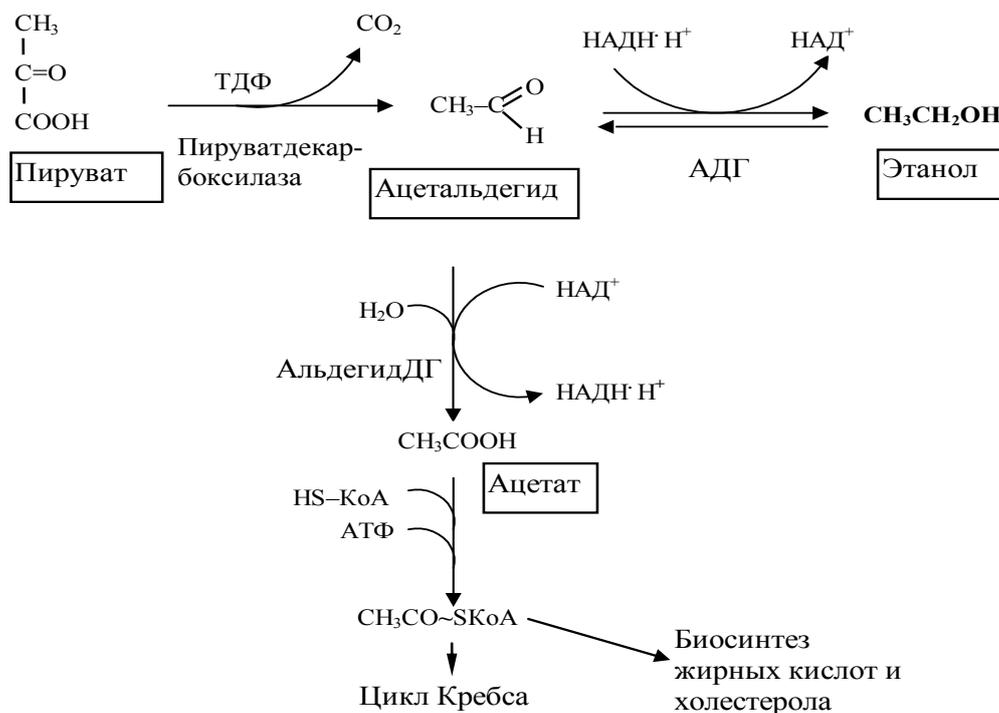


Рис. 9.5. Спиртовое брожение и метаболизм этанола

Окисление этанола включает две реакции дегидрирования с образованием уксусной кислоты, которая после активации включается в цитратный цикл. Поступивший в организм алкоголь в основном (90 %) окисляется в печени. Большее количество этанола (70-90 %) окисляется с участием алкогольдегидрогеназы (АДГ). В окислении экзогенного этанола участвуют микросомная этанолюкисляющая система (10 %) и каталаза (2-5 %).

Тема 10. ПЕРЕВАРИВАНИЕ ЛИПИДОВ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ, СИСТЕМА ИХ ДОСТАВКИ В КЛЕТКИ

Простые омыляемые липиды — воска и нейтральные жиры — при щелочном гидролизе дают соли жирных кислот (мыла) и спирты.

Воска — сложные эфиры высших жирных кислот и высших одноатомных спиртов (цетилового, церилового, миристилового).

Сложные липиды — фосфо-, глико- и сульфоллипиды:



Глицерофосфолипиды

Сфингомиелин (относится к сфингофосфолипидам)

Особенности физико-химических свойств — амфифильность.

КЛАССИФИКАЦИЯ ЛИПИДОВ ПО ХИМИЧЕСКОМУ СТРОЕНИЮ

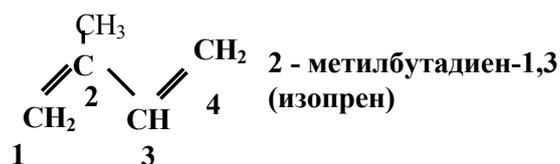


Гликолипиды — сложные липиды, в состав которых входит аминокислотный спирт сфингозин, аминогруппа которого ацилирована остатком жирной кислоты (церамид), а первичная спиртовая группа связана O-гликозидной связью с углеводами.

В цереброзидах к концевой гидроксильной группе церамида присоединен остаток глюкозы или галактозы. Остаток галактозы некоторых галактоцереброзидов может быть сульфирован по С-3 положению — сульфатиды. В ганглиозидах к церамиду через остаток гексозы присоединен олигосахарид, содержащий хотя бы один остаток нейраминной кислоты.

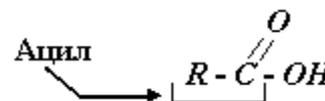
Неомыляемые липиды — однокомпонентны и не подвергаются щелочному гидролизу. Стероиды преобладают в липидах животного происхождения, терпены — в липидах растений.

Углеродный скелет терпенов и предшественника стероидов (скавалена) построен из остатков непредельного углеводорода — изопрена:



Терпены представлены терпеновыми углеводородами и их кислородсодержащими производными. Каротиноиды составляют особую группу терпенов; построены из 8 изопреновых единиц (β -каротин).

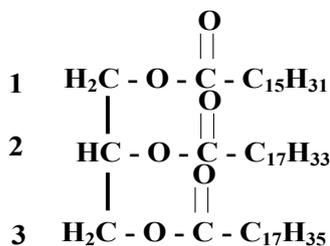
Высшие жирные кислоты — одноосновные карбоновые кислоты с длинной углеродной цепью, содержащей обычно четное число атомов углерода (от 14 до 24).



Насыщенные — пальмитиновая (16 C), стеариновая (18 C).

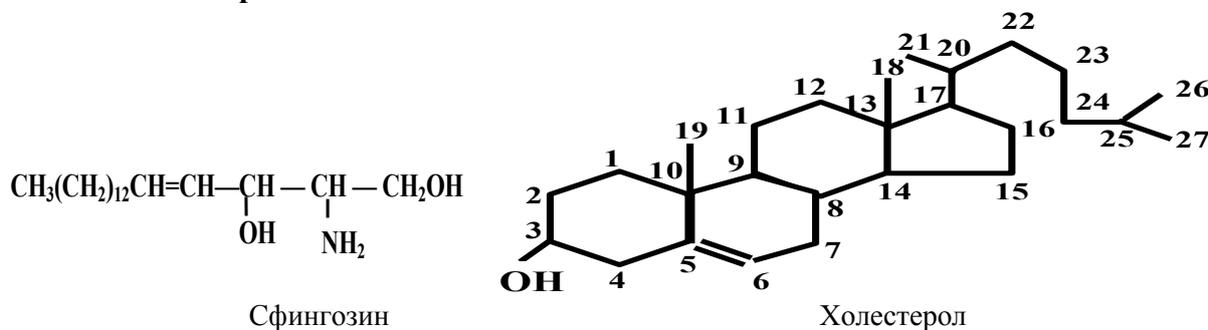
Ненасыщенные — олеиновая кислота (18:1 ω 9), линолевая кислота (18:2 ω 6), линоленовая кислота (18:3 ω 3), арахидоновая кислота (20:4 ω 6).

Номенклатура триацилглицеролов (ТАГ), их биологическое значение:



1-пальмитоил-2-олеоил-3-стеариоилглицерол

Высшие спирты:



ПЕРЕВАРИВАНИЕ, ВСАСЫВАНИЕ, РЕСИНТЕЗ ЛИПИДОВ

Гидролиз жиров пищи в просвете тонкого кишечника. Для последующего всасывания ТАГ сначала должны подвергнуться ферментативному гидролизу до свободных жирных кислот (СЖК) и моноацилглицеролов (МАГ). Гидролиз, хотя и в очень малой степени, начинается в желудке под действием кислой липазы. Всасывание жирных кислот инициирует высвобождение холецистокинина и других биологически активных веществ, которые вызывают выделение в составе панкреатического сока липазы и колипазы, секрецию желчных кислот, которые служат для образования эмульгированного жира и мицелл. Панкреатическая липаза катализирует гидролиз ТАГ. Высвобождающиеся при этом СЖК и МАГ всасываются в двенадцатиперстной кишке и проксимальном отделе тонкого кишечника (около 98 %). **Всасывание** СЖК осуществляют микроворсинки клеток слизистой. Гидролиз фосфолипидов и эфиров холестерина до их составных компонентов происходит под действием соответственно фосфолипаз и холестеролэстеразы. Всасывание холестерина (ХС) происходит менее эффективно, чем ТАГ. Затем в энтероцитах происходит **ресинтез** липидов (рис. 10.1).

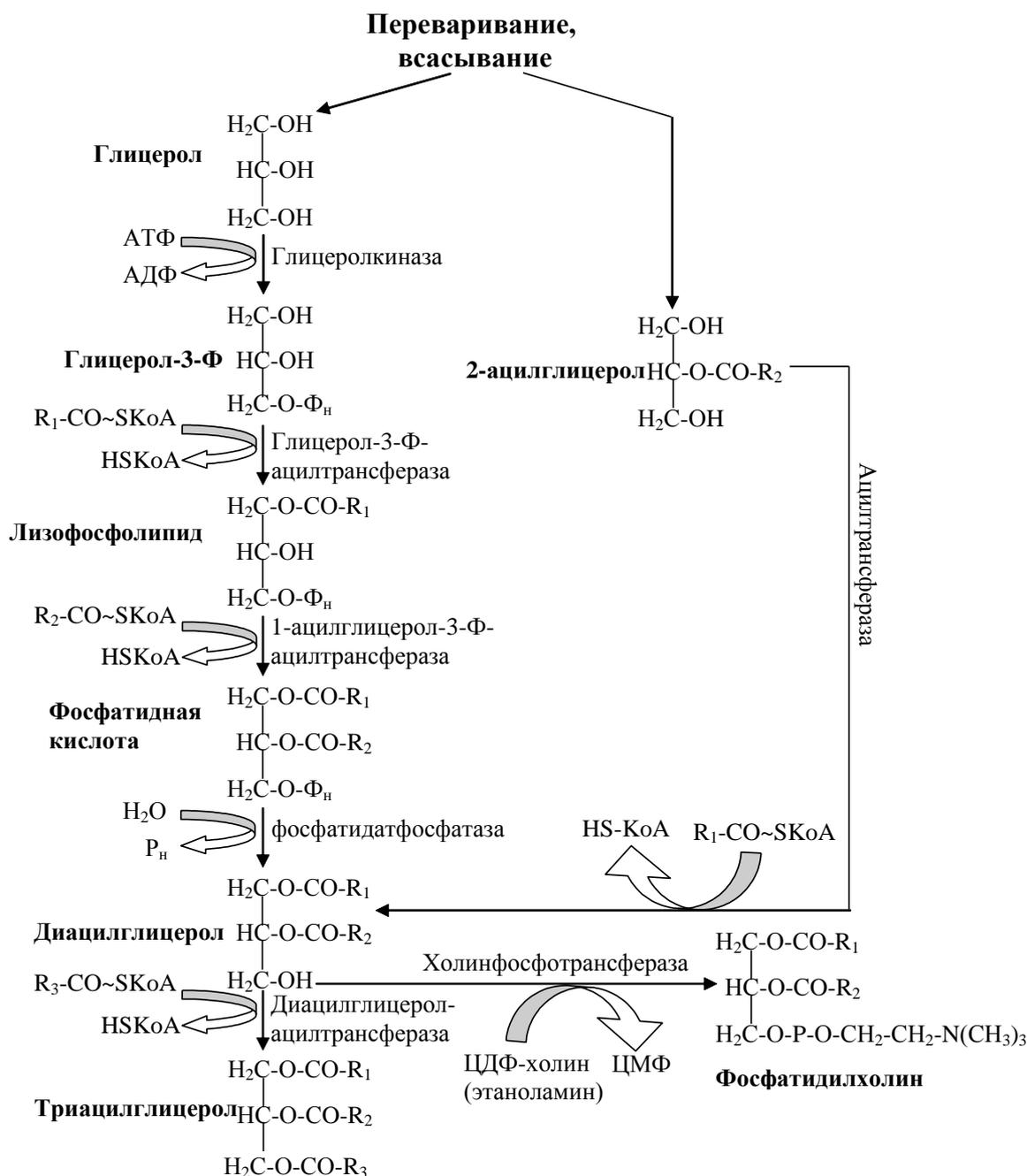
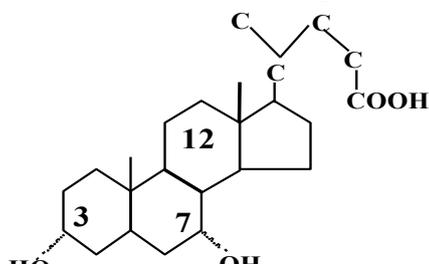
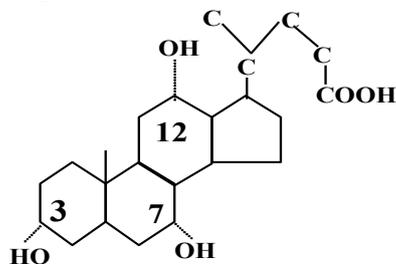
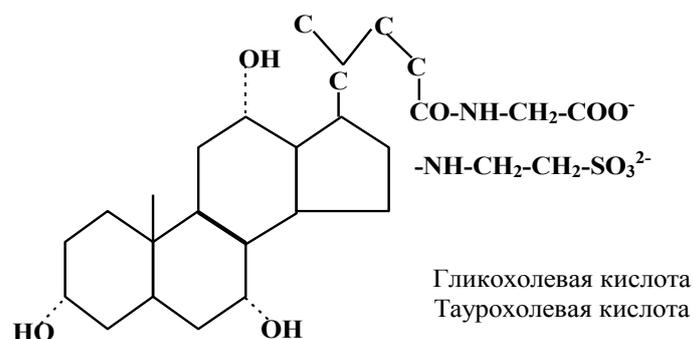


Рис. 10. 1. Синтез липидов в клетках слизистой тонкого кишечника

1. Первичные желчные кислоты синтезируются в печени из холестерина:



2. Конъюгированные формы первичных желчных кислот. Карбоксильная группа боковой цепи желчных кислот может образовывать амидные связи или с глицином, или с таурином. Это обуславливает их эмульгирующие свойства, так как рК ионной группы боковой цепи ниже, чем у исходной карбоксильной группы.



3. Вторичные желчные кислоты (дезоксихолевая, литохолевая) образуются в кишечнике под действием ферментов бактерий, которые катализируют отщепление 7-ОН группы и конъюгированной аминокислоты.

Тема 11. ТРАНСПОРТ ЛИПИДОВ В КРОВИ, ДЕПОНИРОВАНИЕ И МОБИЛИЗАЦИЯ ЛИПИДОВ ИЗ ЖИРОВЫХ ДЕПО

Состав липопротеинов. Липопротеины состоят из ядра, в котором находятся триацилглицеролы (ТАГ), эфиры холестерина (ЭХ), и поверхностного монослоя из фосфолипидов (ФЛ), свободного или неэстерифицированного холестерина (СХ) и апопротеинов. Функцией липопротеинов является транспорт липидов. Без этой транспортной формы липиды были бы нерастворимы в плазме крови.

Синтез хиломикрон (ХМ). В энтероцитах идет эстерификация 2-МАГ и ХС жирными кислотами (ЖК), образуются ТАГ и ЭХ, из которых затем формируются ХМ. Всосавшиеся ЖК активируются, преобразуясь в ацил-КоА. Это происходит в гладком эндоплазматическом ретикулуме. Важнейшим структурным компонентом ХМ является белок (апо В-48). В составе одной частицы ХМ находится одна молекула апо В-48.

ХМ секретируются с базолатеральной поверхности клеток кишечника в лимфу, а оттуда через грудной лимфатический проток попадают в систему кровообращения. После того как ХМ попадают в лимфу, они получают от ЛПВП апо С-II, С-III и апо Е.

Катаболизм ХМ. Попадая в систему кровообращения, ХМ быстро подвергаются катаболизму. Уровень ТАГ в плазме крови возрастает через 2 ч после приема пищи, а через 4 ч начинает постепенно снижаться. Время разрушения ХМ зависит от гидролиза ТАГ под действием липопротеинлипазы (ЛПЛ). Кофактором этого фермента является апо С-II. Гидролиз ТАГ приводит к уменьшению размеров ХМ, образуется избыточное количество поверхностных элементов по отношению к объему частиц.

Остатки ХМ разрушаются в печени. Таким образом, в процессе своего катаболизма в кровотоке ХМ поставляют ЖК клеткам периферических тканей (жировой и мышечной), в то время как ХС пищи попадает в печень.

Обмен липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеинов промежуточной плотности (ЛППП) и липопротеинов низкой плотности (ЛПНП). Основной функцией этих липопротеинов является транспорт жирных кислот в составе ТАГ из печени к периферическим тканям, особенно в жировую и мышечную. Для синтеза ЛПОНП в гепатоцитах требуется белок апо В-100 и липиды ЭХ, ТАГ и ФЛ.

Триацилглицеролы для ЛПОНП синтезируются путем эстерификации глицерола жирными кислотами. Жирные кислоты поступают в гепатоциты из плазмы крови (источником их является, например, липолиз в жировой ткани) или синтезируются *de novo* в печени. Образование ЛПОНП регулируется за счет контроля синтеза апо В-100.

Новосинтезированная частица ЛПОНП содержит одну молекулу белка — апо В-100. Другие белковые компоненты (апо С-II, апо С-III и апо Е) поступают на неё от ЛПВП после

того, как ЛПОНП попадают в плазму крови. Они требуются для ускорения метаболизма ЛПОНП.

Обмен ЛПОНП. На эндотелии сосудистой стенки ТАГ в составе ЛПОНП подвергаются действию фермента ЛПЛ. Необходимым кофактором для проявления активности ЛПЛ является апо С-II. ЛПЛ образуется в клетках многих тканей, среди которых наибольшее значение имеют жировая ткань, скелетная и сердечная мышцы, молочная железа во время лактации. ЛПЛ катализирует гидролиз ТАГ в составе ХМ и ЛПОНП до жирных кислот, моноацилглицеролов (МАГ), в результате ЛПОНП превращаются в кровотоке в ЛППП. Фермент проявляет слабую активность по отношению к МАГ и ФЛ.

В жировой ткани синтез ЛПЛ стимулирует инсулин. Тем самым обеспечивается поступление жирных кислот в адипоциты для синтеза и хранения в виде ТАГ. В мышцах ЛПЛ позволяет использовать жирные кислоты для окисления в периоды между приемами пищи, а инсулин подавляет образование этого фермента.

Липопротеины промежуточной плотности (ЛППП). Образование ЛППП происходит из ЛПОНП. Около 75 % ЛППП попадает в печень после связывания апо Е с соответствующими рецепторами. В печени они полностью разрушаются. Около 25 % ЛППП в кровотоке подвергается действию другого липолитического фермента, печеночной липазы (ПЛ). Этот фермент катализирует дальнейшее расщепление ТАГ в составе ЛППП. В результате ЛППП превращаются в ЛПНП.

Синтез триацилглицеролов. Клетки большинства тканей, особенно печени и жировой ткани, обладают способностью накапливать ТАГ. Жировая ткань функционально специализируется на хранении (запасании) и мобилизации ТАГ (рис. 11.1).

Предшественниками для синтеза ТАГ являются глицерол-3-фосфат и активированные жирные кислоты. В печени глицерол-3-фосфат может образовываться или в результате фосфорилирования глицерола, или из глюкозы как промежуточный продукт гликолиза. В жировой ткани единственным источником образования глицерол-3-фосфата является гликолиз.

Вслед за перевариванием пищи в плазме крови увеличивается концентрация глюкозы, инсулина, липопротеинов, богатых ТАГ. Стимулируется активность ЛПЛ для гидролиза ТАГ в составе липопротеинов, и снижается активность жиромобилизующей липазы в жировой ткани. Наряду с этим стимулируется образование ТАГ в жировой ткани. Натощак или при повышенной потребности в энергии во время физической работы, повышении уровня катехоламинов, гормона роста, АКТГ и глюкагона в плазме крови, снижении секреции инсулина эти процессы меняются на противоположные — увеличивается липолиз в жировой ткани и высвобождаются жирные кислоты. Они используются в качестве источника энергии. Глицерол используется для глюконеогенеза.

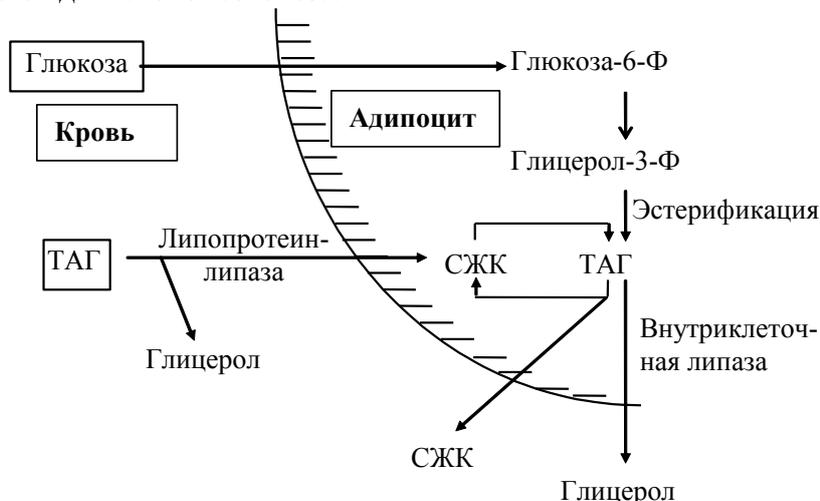


Рис. 11.1. Депонирование и расщепление нейтрального жира в адипоцитах

Липопротеины низкой плотности (ЛПНП). ЛПНП удаляются из кровотока путем взаимодействия с рецепторами для ЛПНП (другое их название апо В/Е рецепторы)

(рис. 11.2). Доля этого процесса в удалении всех ЛПНП составляет 75 %. Остальная часть удаляется с помощью «мусорных» рецепторов макрофагов, имеющих низкую способность связывания. Этот путь получил образное название «мусорный путь».

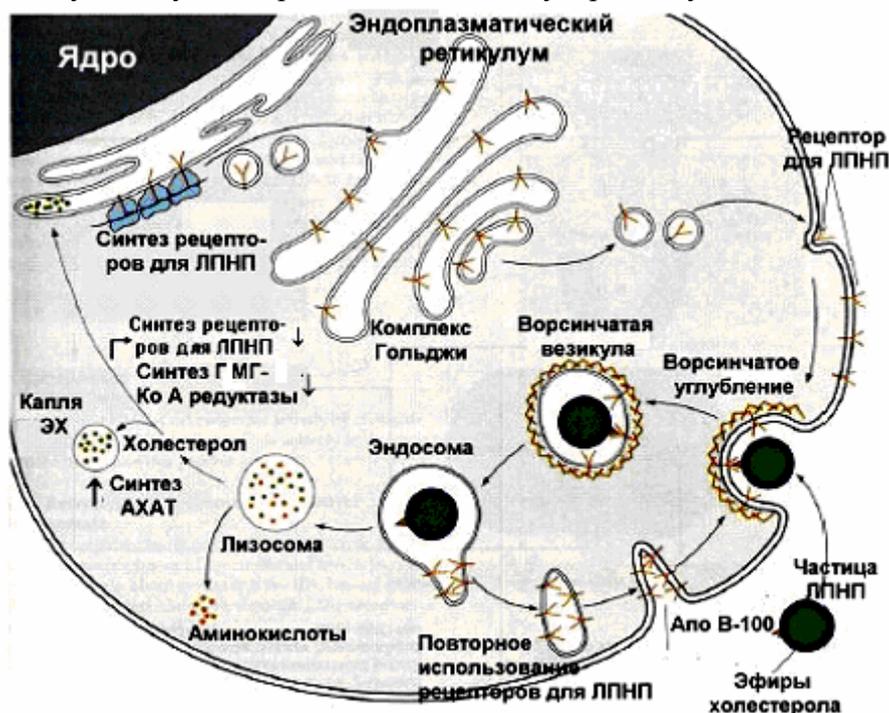


Рис. 11.2. Поступление ЛПНП в клетки и их внутриклеточный катаболизм

После связывания ЛПНП комплекс рецептор — ЛПНП переносится в клетку посредством эндоцитоза; затем он сливается с лизосомами и разрушается. Внутриклеточное высвобождение холестерина, происходящее таким путем, вызывает следующие эффекты: а) снижает синтез ключевого фермента образования собственного, клеточного, холестерина — гидроксиметилглутарил-КоА (ГМГ-КоА) редуктазы; б) снижает синтез рецепторов для ЛПНП; в) активирует фермент ацетил-КоА-холестерол ацилтрансферазу (АХАТ), который катализирует образование из метаболически активной формы — СХ — метаболически неактивной формы — ЭХ (рис. 11.3).

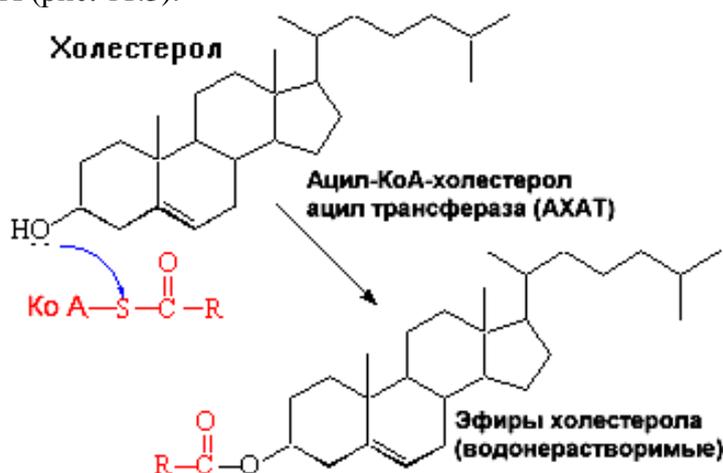


Рис. 11.3. Реакция, катализируемая АХАТ

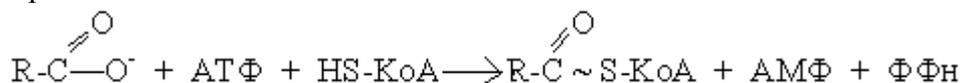
В отличие от регуляторного действия рецепторов к ЛПНП на обмен холестерина в клетках, мусорные рецепторы продолжают транспортировать ХС в клетку без торможения по принципу обратной связи. Тем самым макрофаги превращаются в пенистые клетки. Их образование рассматривается как начальный этап атеросклероза.

Метаболизм липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). ЛПВП синтезируются в клетках печени и кишечника. Сразу после секреции ЛПВП имеют вид плоских дисков, содержащих ФЛ. Белковым компонентом их является апо А. Из тканей и клеточных мембран на них поступает холестерол. Под действием фермента лецитин-холестерол ацилтрансферазы (ЛХАТ) из СХ и жирной кислоты фосфатидилхолина образуются ЭХ. В результате частицы ЛПВП созревают, принимая форму глобулы. Затем ЭХ транспортируются на ЛППП, ЛПНП, обломки ХМ с помощью липидпереносящего белка (ЛПБ) или апо D.

Тема 12. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Жирные кислоты проходят через клеточную мембрану путем диффузии по концентрационному градиенту.

Активация жирных кислот. Первым этапом на пути метаболизма длинноцепочечных жирных кислот в клетке является их активация за счет образования ацил-КоА. Эту реакцию катализирует фермент ацил-КоА синтетаза, который локализован на наружной мембране митохондрий:



Перенос ацил-КоА в митохондрии. Ацил-КоА, имеющий средней длины или короткую углеводородную цепь (<10), может проходить через митохондриальную мембрану путем диффузии (рис. 12.1). Перенос длинноцепочечного ацил-КоА происходит с помощью карнитин-ацил-трансфераз (КАТ), локализованных соответственно на наружной и внутренней мембранах митохондрий, и транслоказы (Т). Предшественник для процесса синтеза жирных кислот, малонил-КоА, является аллостерическим ингибитором активности КАТ.

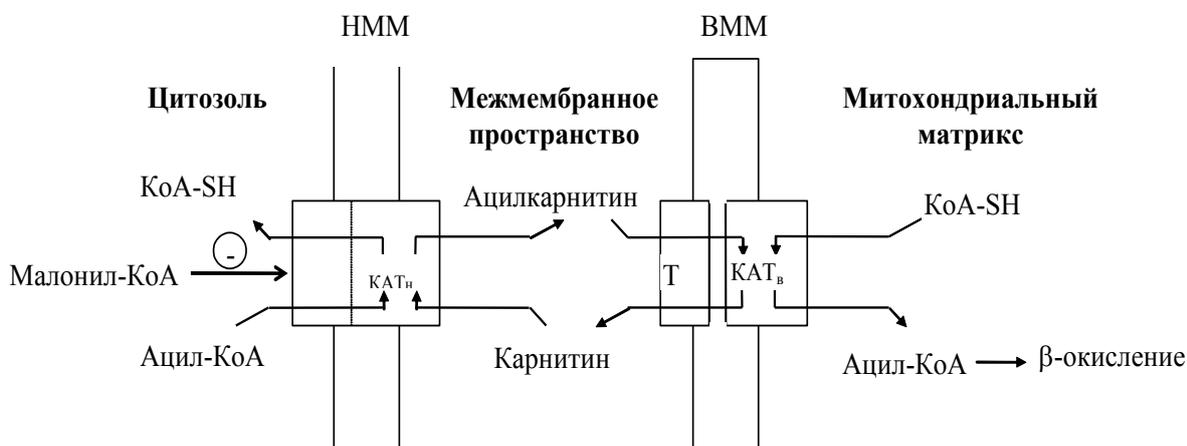


Рис. 12.1. Перенос ацил-КоА в митохондрии

β-ОКИСЛЕНИЕ АЦИЛ-КоА

Последовательность реакций β-окисления катализируется 4 ферментами. С их помощью идет дегидрирование, гидратация, образование β-кетокислоты и тиолитическое расщепление с высвобождением двухуглеродных фрагментов (ацетил-КоА) (рис. 12.2).

Энергетический выход β-окисления на примере пальмитиновой кислоты. Образование АТФ (1,5 АТФ/ФАДН₂; 2,5 АТФ/НАДН·Н⁺; 10 АТФ/ацетил-КоА; таким образом, для пальмитоил-КоА (жирная кислота с 16 С): 7 ФАДН₂, 7 НАДН·Н⁺ и 8 ацетил-КоА = 108 АТФ). Расход АТФ на активацию — 2 АТФ (используется энергия гидролиза двух макроэнергетических связей), в ходе которой пальмитат превращается в пальмитоил-КоА. Чистый энергетический выход для окисления пальмитата — 106 АТФ.

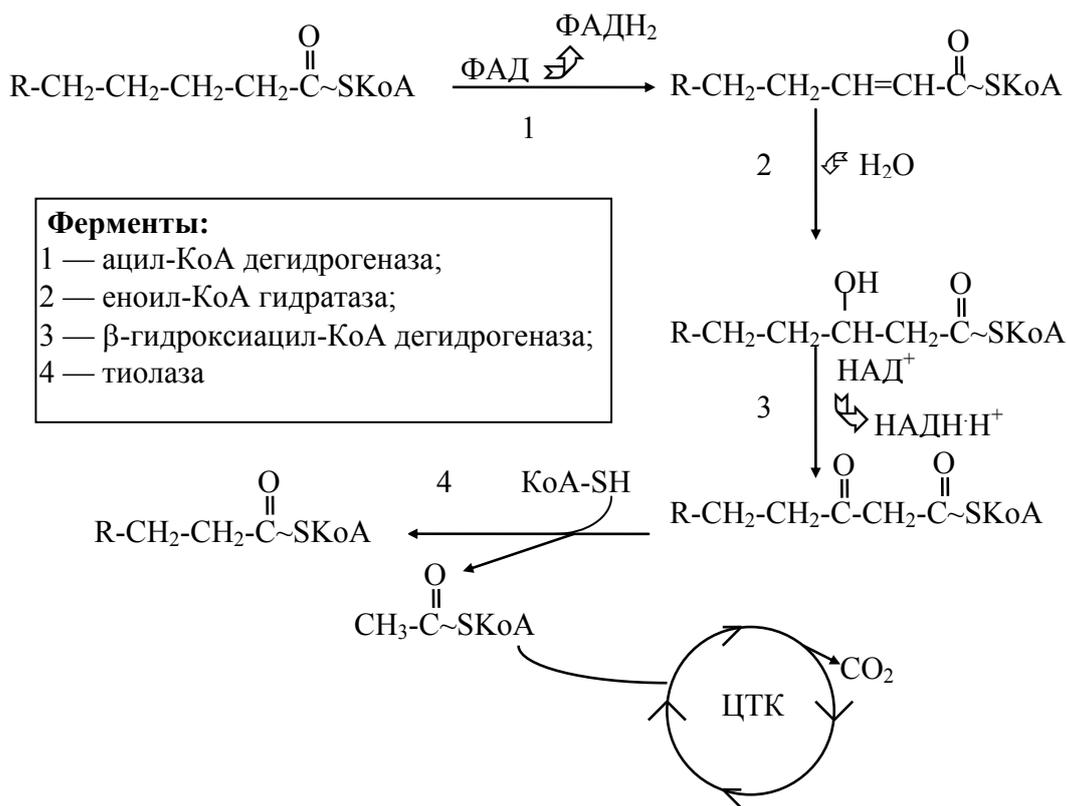


Рис. 12.2. Реакции β-окисления жирных кислот

Окисление ненасыщенных жирных кислот. В ходе β-окисления ненасыщенных жирных кислот отщепление двухуглеродных фрагментов ведет к образованию ацил-КоА с двойной связью в цис-положении между С₃ и С₄. Затем с помощью фермента еноил-КоА изомеразы происходит её превращение в транс-двойную связь между С-2 и С-3. Другой фермент, 2,3-диеноил-КоА редуктаза, может катализировать насыщение двойной связи между С-4 и С-5 в составе ацил-КоА с использованием в качестве кофермента НАДН·Н⁺. Образовавшийся промежуточный продукт подвергается дальнейшему превращению под влиянием еноил-КоА изомеразы.

ОКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ПЕРОКСИСОМАХ

Окисление жирных кислот в пероксисомах составляет около 30 % всего их окисления. В пероксисомах окисляются необычные жирные кислоты (с длинной углеводородной цепью, дикарбоновые, с разветвленным радикалом). Укорочение радикала в пероксисомах происходит до тех пор, пока не образуется ацил-КоА со средней длиной цепи. Образующийся ацил-КоА с С-8 впоследствии подвергается дальнейшему окислению в митохондриях.

Первоначальная стадия дегидрирования в ходе пероксисомного окисления жирных кислот протекает с образованием Н₂О₂, а не ФАДН₂. Перекись водорода удаляется с помощью каталазы. Все последующие реакции аналогичны происходящим в митохондриях, хотя катализируются они изоферментами пероксисом.

СИНТЕЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Субстраты синтеза жирных кислот. Предшественником является ацетил-КоА, процесс протекает в цитозоле (рис. 12.3). Ацетил-КоА образуется из пирувата под действием митохондриального пируватдегидрогеназного комплекса. Внутренняя митохондриальная мембрана непроницаема для ацетил-КоА. В митохондриях фермент цитратсинтаза катализирует реакцию образования цитрата из ацетил-КоА и ЩУК. Цитрат выходит из митохондрий

в цитоплазму. В цитозоле фермент АТФ-цитратлиаза расщепляет цитрат до ацетил-КоА и ЩУК.



Рис. 12.3. Субстраты для синтеза жирных кислот. Переход ацетил-КоА из митохондрий в цитозоль

Ферменты синтеза жирных кислот. В биосинтезе насыщенных жирных кислот участвуют два ферментных комплекса: ацетил-КоА карбоксилаза и ацилсинтетаза (рис. 12.4).

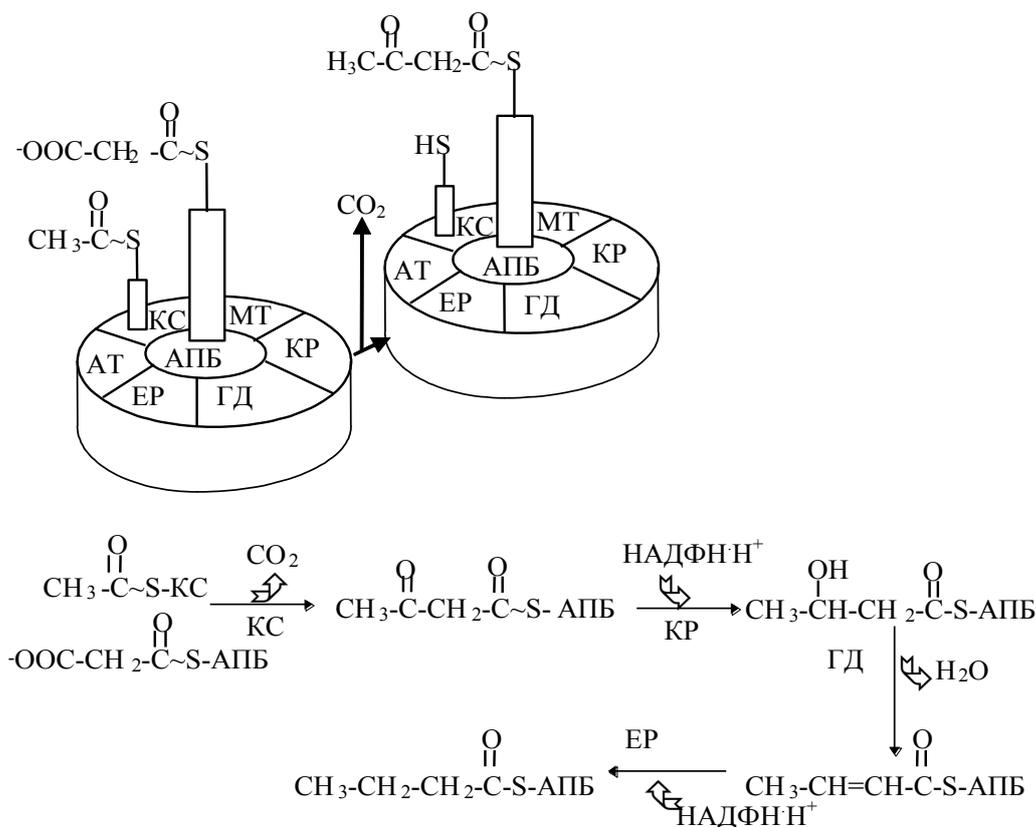
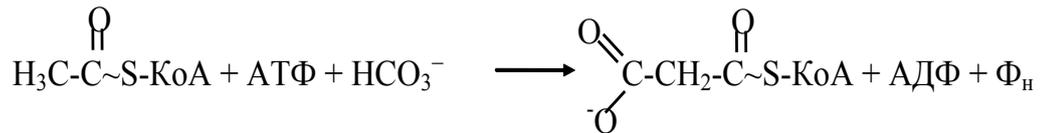


Рис. 12.4. Схема реакций синтеза жирных кислот

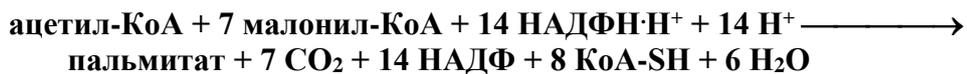
Ацилсинтетазный мультиферментный комплекс. Комплекс содержит ацилпереносящий белок (АПБ) в качестве своеобразного ядра. Другими ферментами комплекса являются β-кетоацилсинтетаза (КС), малонилтрансфераза (МТ), β-кетоацилредуктаза (КР), β-гидроксиацилдегидратаза (ГД), еноилредуктаза (ЕР) и ацилтрансацилиаза (АТ).

Ацетил-КоА карбоксилаза катализирует ключевую реакцию в синтезе жирных кислот:



Цитрат активирует фермент. Ацетил-КоА карбоксилаза подвергается обратимому фосфорилированию/дефосфорилированию; цАМФ-зависимая протеинкиназа ингибирует ферментативную активность, а фосфатаза — активирует. На этом основана гормональная регуляция активности ацетил-КоА карбоксилазы. Повышенные концентрации малонил-КоА и ацил-КоА аллостерически ингибируют активность этого фермента.

За 7 таких циклов образуется насыщенная жирная кислота с 16 углеродными атомами. В общем виде это выглядит следующим образом:



Потребность в НАДФНН⁺ для реакций восстановления в процессе синтеза жирных кислот. Источником восстановленного НАДФН⁺ является окислительный этап пентозофосфатного пути обмена глюкозы, а также реакции переноса водорода в пути расщепления цитрата. Последние протекают с участием фермента малатдегидрогеназы (кофермент НАДН·Н⁺) и малик-фермента (в реакции восстановления НАДФ⁺).

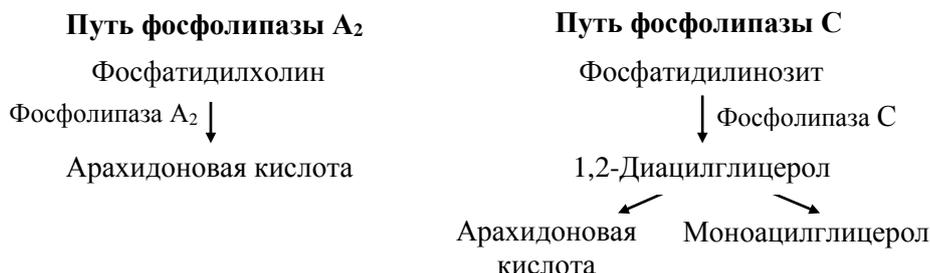
ПРОИСХОЖДЕНИЕ НЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В КЛЕТКАХ

Незаменимые и заменимые. В организме человека не могут синтезироваться ω-3 и ω-6 жирные кислоты в связи с отсутствием ферментной системы, которая могла бы катализировать образование двойной связи в положении ω-6 или любом другом положении, близко расположенном к ω-концу. К таким жирным кислотам относятся: линолевая кислота (18:2, Δ9, 12), линоленовая кислота (18:3, Δ9, 12, 15), арахидоновая кислота (20:4, Δ5, 8, 11, 14). Арахидоновая кислота является незаменимой только при недостатке линолевой кислоты.

Функции полиненасыщенных жирных кислот: придают жидкость мембранам, являются предшественниками эйкозаноидов

Эйкозаноиды (липидные гормоны). Простагландины, тромбоксаны и лейкотриены. Самым главным предшественником является арахидоновая кислота.

Схема высвобождения арахидоновой кислоты из мембранных фосфолипидов:



Судьба арахидоновой кислоты, которая высвободилась из состава мембранных фосфолипидов:



Ингибиторы синтеза эйкозаноидов. Кортикостероиды ингибируют фосфолипазу А₂, тем самым они ингибируют высвобождение арахидоновой кислоты из состава мембранных фосфолипидов. Ингибиторы из числа противовоспалительных препаратов нестероидной природы (аспирин, индометацин, фенилбутазон) ингибируют циклоксигеназу.

Простагландины стимулируют сокращение гладких мышц, липолиз, снижают секрецию желудочного сока, свертывание крови, вызывают расширение кровеносных сосудов.

Тромбоксаны стимулируют агрегацию тромбоцитов, сокращение стенки артерий, образование цАМФ в тромбоцитах, повышают кровяное давление.

Лейкотриены участвуют в формировании воспаления, аллергических реакций, в хемотаксисе.

Тема 13. СИНТЕЗ И НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ХОЛЕСТЕРОЛА, МЕТАБОЛИЗМ КЕТОНОВЫХ ТЕЛ

Значение холестерина для организма. Холестерол (ХС) является важным составным компонентом биомембран, он служит предшественником для синтеза стероидных гормонов, желчных кислот и витамина Д.

Распределение холестерина в тканях. Наиболее богаты холестерином мозг, печень, кожа и эндокринные железы.

Смесь свободного и эстерифицированного холестерина. И холестерол пищи, и холестерол в системе кровообращения являются смесью приблизительно 70 % эфиров холестерина (ЭХ) и 30 % свободного холестерина (СХ). Это соотношение остается постоянным в различных условиях (рис. 13.1).

Чаще других в эстерификации холестерина участвуют олеиновая (18:1, Δ 9) и линолевая (18:2, Δ 9, 12) кислоты.

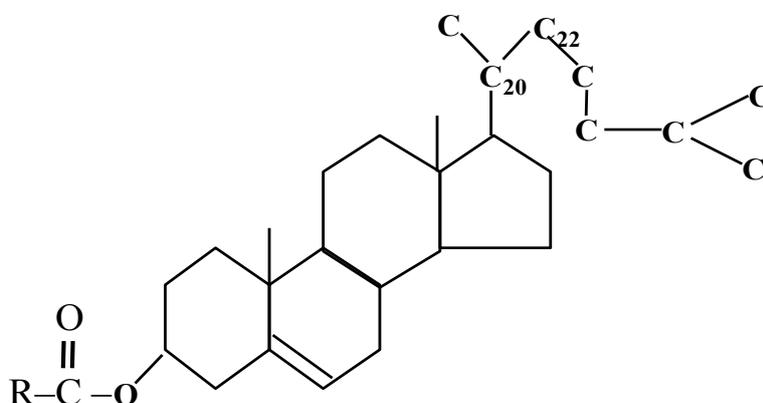


Рис. 13.1. Структура эфира холестерина

СИНТЕЗ ХОЛЕСТЕРОЛА *de novo*

1. Ацетил-КоА является источником всех углеродных атомов молекулы ХС.
2. ХС синтезируют все клетки, имеющие ядро.
3. Синтез ХС происходит в цитозоле и эндоплазматическом ретикулуме (рис. 13.2).

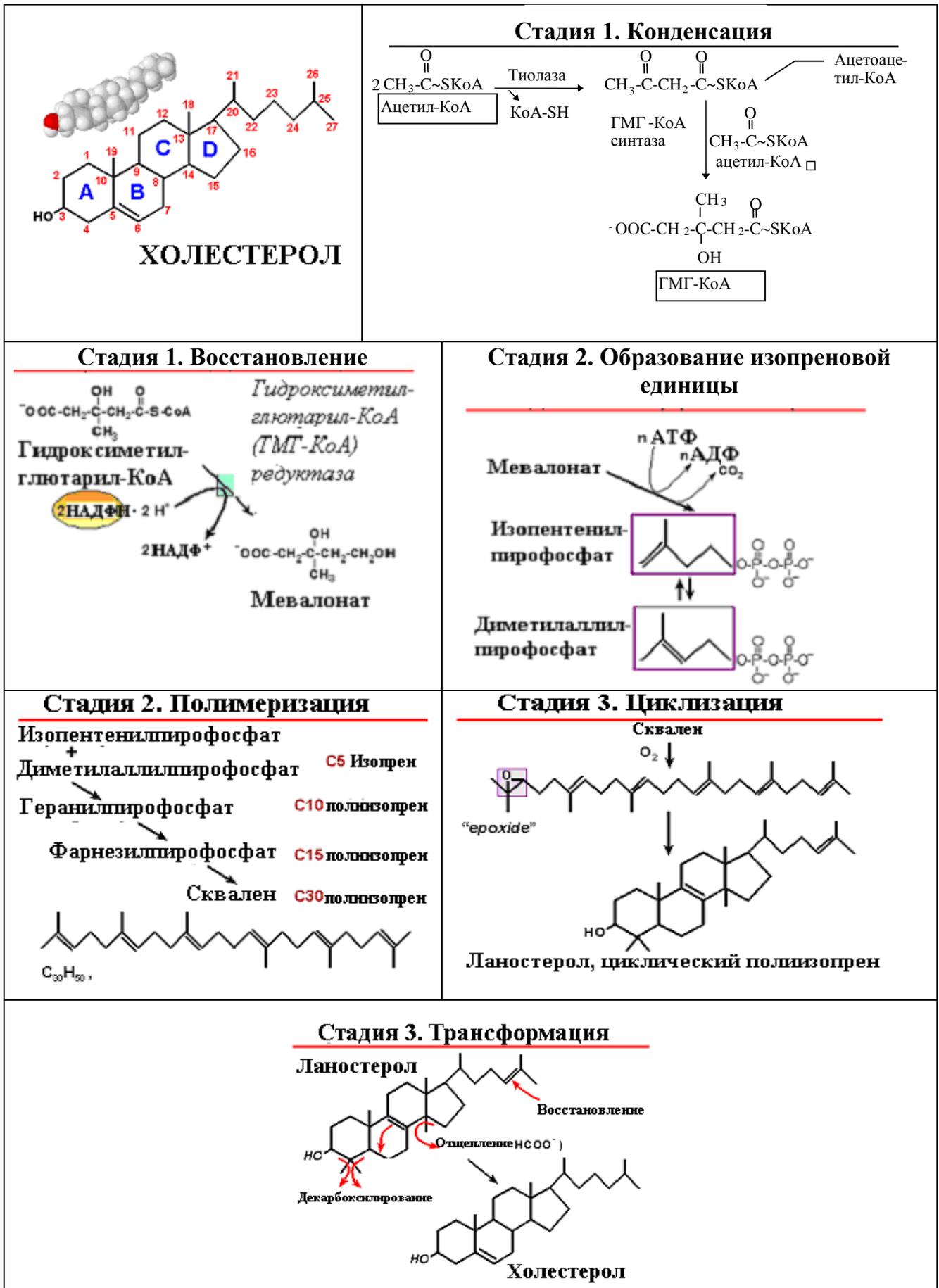


Рис. 13.2. Синтез холестерина

РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА ХОЛЕСТЕРОЛА

ГМГ-КоА-редуктаза: синтез фермента затормаживается холестерином; вариабельность активности в течение дня; активность усиливает инсулин, уменьшает глюкагон; активность регулируется за счет фосфорилирования/дефосфорилирования. Ингибиторы используются в качестве лекарственных препаратов для лечения атеросклероза (мевастатин, мевакор, ловастатин).

РОЛЬ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА ХОЛЕСТЕРОЛА В РАЗВИТИИ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Аккумуляция холестерина в сосудистой стенке происходит вследствие дисбаланса между поступлением его в интиму сосудов и его выходом. В центрах накопления холестерина формируются структуры — атеромы. Существует два фактора, которые вызывают дисбаланс в обмене холестерина: изменения частиц ЛПНП (гликозилирование, перекисное окисление липидов, гидролиз фосфолипидов, окисление апо В); неэффективное высвобождение холестерина из эндотелия сосудистой стенки циркулирующими в крови ЛПВП. Факторы, влияющие на уровень ЛПНП, и факторы, связанные с низким или высоким уровнем ХС ЛПВП у человека, представленные в таблицах 13.1 и 13.2 соответственно.

Таблица 13.1

Факторы, влияющие на уровень ЛПНП у человека

Повышение ЛПНП	Снижение ЛПНП
Пол — у мужчин выше, чем у женщин в пременопаузе, и ниже, чем у женщин в постменопаузе	
Старение	Новорожденные
Насыщенные жиры в диете	Полиненасыщенные жиры в диете
Высокое потребление холестерина	Низкое потребление холестерина
Диета с низким содержанием грубых волокнистых продуктов	Диета с высоким содержанием грубых волокнистых продуктов
Потребление алкоголя	Воздержание от алкоголя
Беременность	Роды
Ожирение	Потеря массы тела
Диабет	Эффективное лечение диабета
Гипотиреоз	
Болезнь Кушинга	
Уремия	
Нефроз	
Наследственные гиперлипидемии	

Таблица 13.2

Факторы, связанные с низким или высоким уровнем ХС ЛПВП

Связь с низким уровнем ХС ЛПВП	Связь с высоким уровнем ХС ЛПВП
Принадлежность к мужскому полу	Принадлежность к женскому полу
Прогестагены, андрогены	Эстрогены
Ожирение	Снижение массы тела
Гипертриацилглицеролемиа	Высокая физическая активность
Потребление большого количества углеводов	Умеренное потребление алкоголя
Диабет у взрослых	
Курение	

ОБРАЗОВАНИЕ И УТИЛИЗАЦИЯ КЕТОНОВЫХ ТЕЛ

Кетоновые тела являются водорастворимыми формами липидных энергетических источников. Двумя основными видами кетоновых тел являются ацетоацетат и β -гидроксибутират. β -гидроксибутират — это восстановленная форма ацетоацетата. Третьим видом является ацетон.

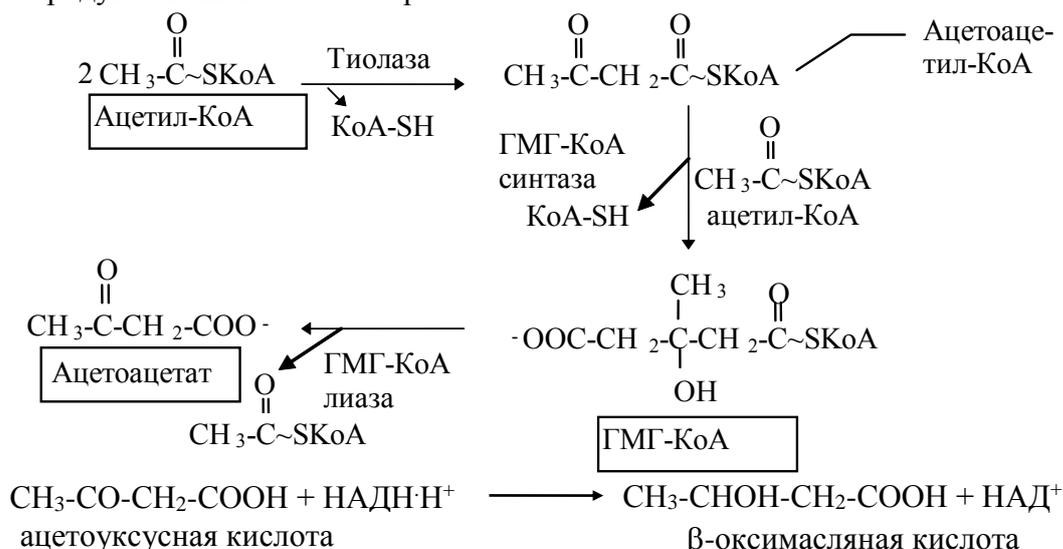
1. *Свойство кетоновых тел*: кетоновые тела растворимы в воде.

2. *Функция кетоновых тел*: источники энергии для мышц; при продолжительном голодании может использоваться центральной нервной системой.

Ацетоацетат образуется в клетках печени из ацетил-КоА (рис. 13.3). Образование происходит в митохондриальном матриксе. Печень служит главным местом образования кетоновых тел благодаря высокому содержанию ГМГ-КоА синтазы в митохондриях гепатоцитов.

При голодании усиливается липолиз, растет уровень глюкагона и концентрация цАМФ в печени. Происходит фосфорилирование и активация ГМГ-КоА синтазы. Аллостерическим ингибитором ГМГ-КоА синтазы выступает сукцинил-КоА.

Обратите внимание: эти реакции происходят в митохондриях. В цитозоле имеются изоферменты, которые также катализируют образование ГМГ-КоА, но в качестве промежуточного продукта в синтезе холестерина.



Ацетон образуется из ацетоуксусной кислоты при декарбоксилировании:



Рис. 13.3. Синтез кетоновых тел в митохондриях печени

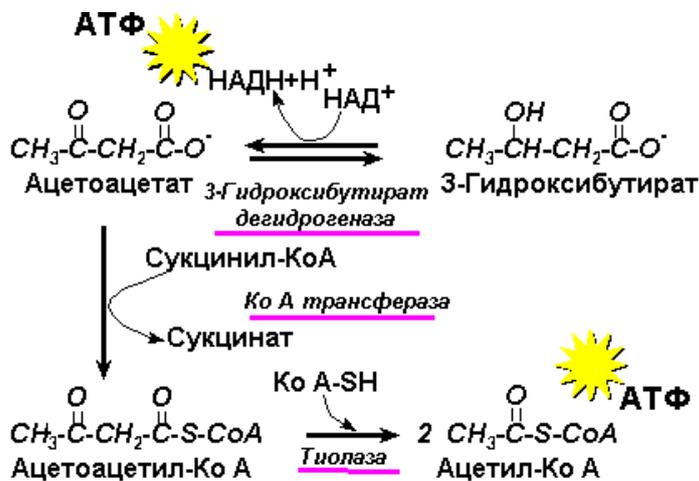


Рис. 13.4. Использование кетоновых тел

Синтез кетоновых тел происходит в печени, но их использование в качестве источников энергии ограничивается только периферическими тканями (рис. 13.4).

ТЕМА 14. ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОБМЕНА БЕЛКОВ, ПРОТЕОЛИЗ

АЗОТИСТЫЙ БАЛАНС

Азотистый баланс — общий показатель обмена белка в организме. Азотистый баланс — это разница между поступлением азота (обычно в форме белка) и его выведением (обычно в форме неусвоенного белка из кишечника и мочевины — почками). Положительный азотистый баланс наблюдается при задержке азота в организме, что отмечается при росте, беременности или в послеоперационном периоде. Отрицательный азотистый баланс отражает общую потерю белков, нередко связанную с неполноценным белковым питанием. У здорового взрослого человека отмечается азотистое равновесие, при котором потери азота компенсируются поступлением белков с пищей.

Норма белка в питании — 80–100 г.

Биологическая ценность белков определяется наличием и соотношением незаменимых аминокислот: вал, лей, илей, тре, мет, фен, три, лиз (для детей еще арг и гис).

ПРОТЕОЛИЗ, СВОЙСТВА ПРОТЕАЗ. ОГРАНИЧЕННЫЙ И ТОТАЛЬНЫЙ ПРОТЕОЛИЗ

Протеолитические ферменты вовлекаются в большое число разнообразных физиологических процессов. Протеолиз может протекать вне клеток и внутриклеточно. Действие протеолитических ферментов может быть разделено на две различные категории:

1) *ограниченный протеолиз*, в котором протеаза специфически расщепляет одну или несколько пептидных связей в белке-мишени, что обычно приводит к изменению функционального состояния последнего: ферменты, например, при этом становятся активными, а прогормоны превращаются в гормоны;

2) *неограниченный или тотальный протеолиз*, при котором белки распадаются до своих аминокислот.

Протеазы классифицируются по типу их механизма катализа. Международный союз по биохимии и молекулярной биологии выделяет четыре класса протеаз:

1. Сериновые протеиназы.
2. Цистеиновые протеиназы.
3. Аспарагиновые протеиназы.
4. Металлопротеиназы.

ПЕРЕВАРИВАНИЕ БЕЛКОВ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ

Компоненты желудочного сока:

- 1) HCl — секретируется обкладочными клетками вместе с электролитами;
- 2) гастрин — полипептидный гормон, секретируемый слизистыми клетками желудка;
- 3) пепсиноген — неактивный предшественник пепсина, секретируется главными клетками желудка.

Функции желудочного сока:

- 1) *Гастрин* секретируется в ответ на поступление химуса в желудок; два места приложения действия гастрина:
 - обкладочные клетки: стимулирует секрецию HCl;
 - главные клетки: стимулирует секрецию пепсиногена.
- 2) *HCl* снижает pH химуса, поступающего в желудок; денатурирует пищевые белки, создает оптимальный pH для действия пепсина и инициирует ограниченный протеолиз пепсиногена.

Протеолитические ферменты. В желудочно-кишечном тракте расщепление белков происходит под действием протеолитических ферментов. Они имеют различную специфич-

ность и последовательно гидролизуют белки до аминокислот (рис 14.1).

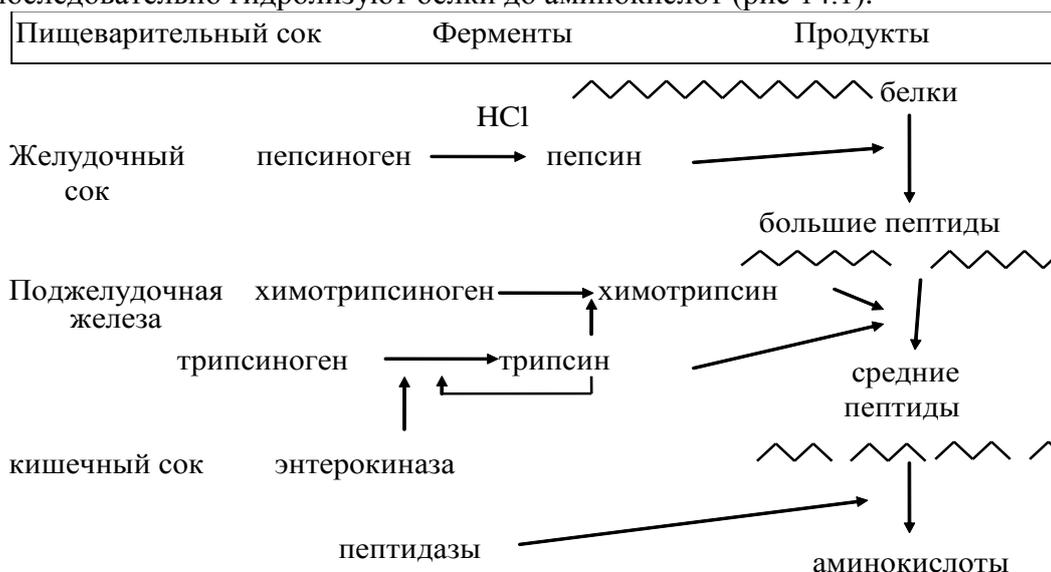


Рис. 14.1. Переваривание белков в ЖКТ

Специфичность протеиназ. Каждая протеиназа способна расщеплять только определенные пептидные связи (табл. 14.1). Кроме того, по месту гидролиза, выделяют два типа пептидаз: эндопептидазы разрушают пептидные связи внутри белковой молекулы, а экзопептидазы действуют только на концевые аминокислоты.

Таблица 14.1

Специфичность протеиназ

Эндопептидазы	
Пепсин	гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами ароматических, больших алифатических и дикарбоновых аминокислот — асп и глу
Трипсин	гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами основных аминокислот — лиз и арг
Химотрипсин	гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами ароматических аминокислот — фен, тир, три
Эластаза	гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами маленьких алифатических аминокислот — гли, ала, сер
Экзопептидазы	
Карбоксипептидаза А	отщепляет нейтральные аминокислоты от С-конца пептидов
Карбоксипептидаза В	отщепляет основные аминокислоты от С-конца пептидов

ТРАНСПОРТ АМИНОКИСЛОТ В КЛЕТКИ

γ -Глутамильный цикл. Главную роль в этой транспортной системе играет мембрано-связанный фермент γ -глутамилтрансфераза. Фермент катализирует перенос γ -глутамильной группы от глутатиона на транспортируемую аминокислоту. Затем комплекс γ -глутамиламинокислота поступает в клетку. Далее с помощью еще пяти внутриклеточных ферментов происходит освобождение из дипептида свободной аминокислоты и ресинтез затраченной на транспорт молекулы глутатиона.

Тема 15. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ

ОБЩИЕ ПУТИ КАТАБОЛИЗМА АМИНОКИСЛОТ

Внутри клетки аминокислоты могут вовлекаться в три типа химических реакций:

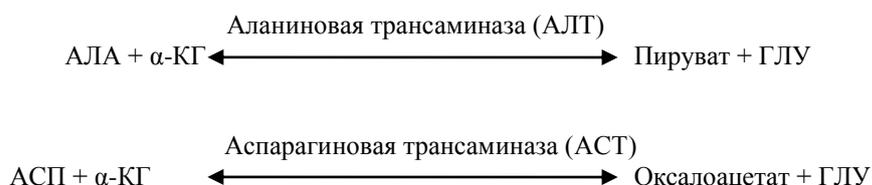
1. Переаминирование
2. Дезаминирование
3. Декарбоксилирование.

Реакции переаминирования

Распад большинства аминокислот начинается с переаминирования. При этом не высвобождаются аммиак, а аминокислотная группа с аминокислоты переходит на кетокислотный акцептор. Ферменты, катализирующие реакции переаминирования, называются аминотрансферазы (трансаминазы). В качестве кофермента используют пиридоксальфосфат – активная форма витамина В₆. Это главный путь удаления азота у аминокислот. Существуют трансаминазы для большинства аминокислот. После поступления пищевых аминокислот из воротной вены печень трансаминирует значительную часть аминокислот. Исключением являются аминокислоты с разветвленным углеводородным радикалом, для них в печени нет соответствующей трансаминазы. Концентрация таких аминокислот в крови, оттекающей от печени, выше, чем в системе воротной вены.

Стратегия реакции переаминирования — перенос аминокислотной группы от различных групп донорных аминокислот на ограниченное число α -кетокислотных акцепторов, что позволяет выделить центральный путь метаболизма аминокислот. Большинство трансаминаз использует α -кетоглутаровую кислоту как основной акцептор аминокислотной группы. Трансаминазы обычно называют по аминокислотам, которые служат донором аминокислотной группы.

Субстратная специфичность трансаминаз. Каждая трансаминаза специфична для одного или нескольких аминокислотных доноров.



Акцептором аминокислотной группы для большинства трансаминаз является α -кетоглутаровая кислота. Однако оксалоацетат и ПВК также можно рассматривать в качестве важных акцепторов аминокислотных групп. Важное диагностическое значение имеет определение активности в крови трансаминаз, поскольку эти ферменты обладают органоспецифичностью: АлАТ преобладает в печени, а АсАТ — в миокарде. И при инфаркте миокарда активность АсАТ в крови \uparrow в 8-10 раз, а АлАТ — в 1,5-2 раза, а при гепатитах активность АлАТ в сыворотке крови \uparrow в 8-10 раз, а АсАТ — в 2-4 раза.

Реакции дезаминирования

Отщепление аминокислотной группы у аминокислоты называют дезаминированием. Различают два типа реакций: прямое и непрямое дезаминирование. Имеется несколько типов прямого дезаминирования. Эти реакции генерируют свободный аммиак — токсическое соединение, подлежащее связыванию и обезвреживанию.

Прямое дезаминирование — это процесс непосредственного отщепления аммиака от

аминокислоты. Такая реакция может катализироваться двумя типами ферментов — оксидазами и дегидрогеназами. Процесс окислительного дезаминирования (рис. 15.1) под действием оксидаз осуществляется следующим образом:

Окислительное дезаминирование:

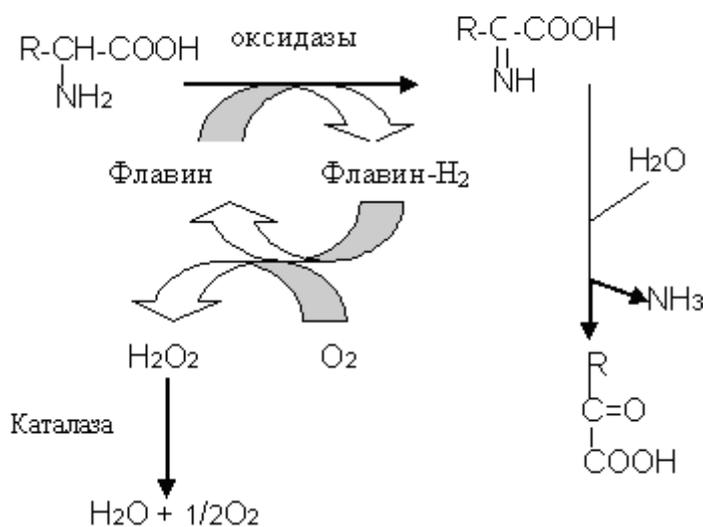


Рис. 15.1. Прямое окислительное дезаминирование аминокислот

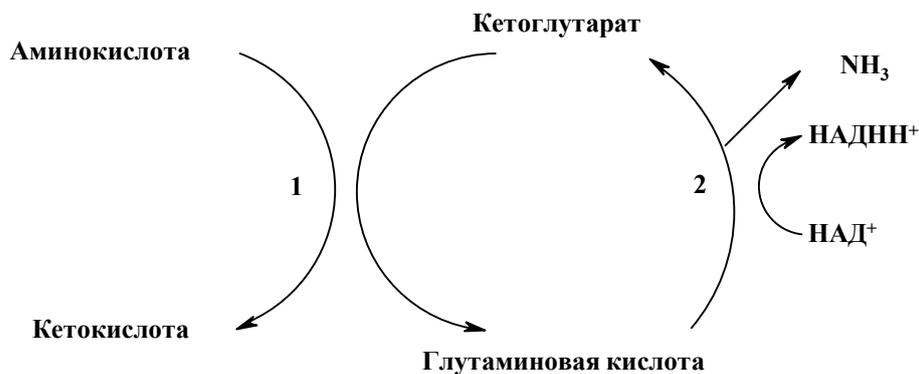
Выделены ферменты, катализирующие окислительное дезаминирование с участием флавиновых коферментов. Эти ферменты обладают выраженной специфичностью к D- и L-аминокислотам. Они получили название оксидаз аминокислот из-за их способности взаимодействовать с молекулярным кислородом с образованием пероксида водорода. Особо высокой активностью в клетках обладают оксидазы D-аминокислот. Окислительное дезаминирование L-аминокислот при помощи оксидаз аминокислот у большинства млекопитающих обнаружено только в печени и почках. Некоторые из этих реакций не играют важной роли у человека, а некоторые аминокислоты дезаминируются при помощи специальных реакций.

Окислительное дезаминирование второго типа — под действием дегидрогеназ — это дезаминирование глутаминовой кислоты с образованием α -кетоглутарата и аммиака:



Эта реакция протекает с участием НАД⁺ или НАДФ⁺. Фермент — глутаматдегидрогеназа присутствует в митохондриальном матриксе в высоких концентрациях и обладает высокой активностью. Аммиак, полученный в печеночных митохондриях, используется для синтеза мочевины.

Непрямое дезаминирование — это двухстадийный процесс отщепления аминогруппы в виде аммиака (рис. 15.2). Первая стадия — переаминирование аминокислоты с участием α -кетоглутарата с образованием глутаминовой кислоты. Вторая стадия — окислительное дезаминирование образовавшейся глутаминовой кислоты:



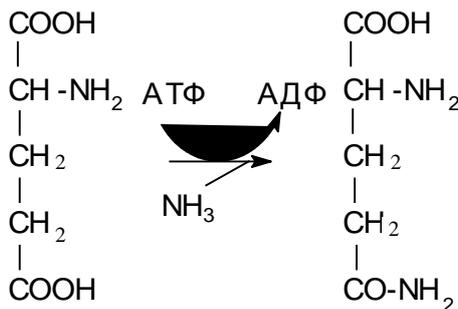
1. Реакция переаминирования
2. Глутаматдегидрогеназная реакция

Рис. 15.2. Непрямое дезаминирование аминокислот

Аммиак, образующийся при дезаминировании аминокислот, является токсическим соединением. Существует несколько способов связывания аммиака с целью его обезвреживания.

Пути обезвреживания аммиака в организме:

1. Синтез глутамина. Реакция катализируется глутаминсинтетазой:



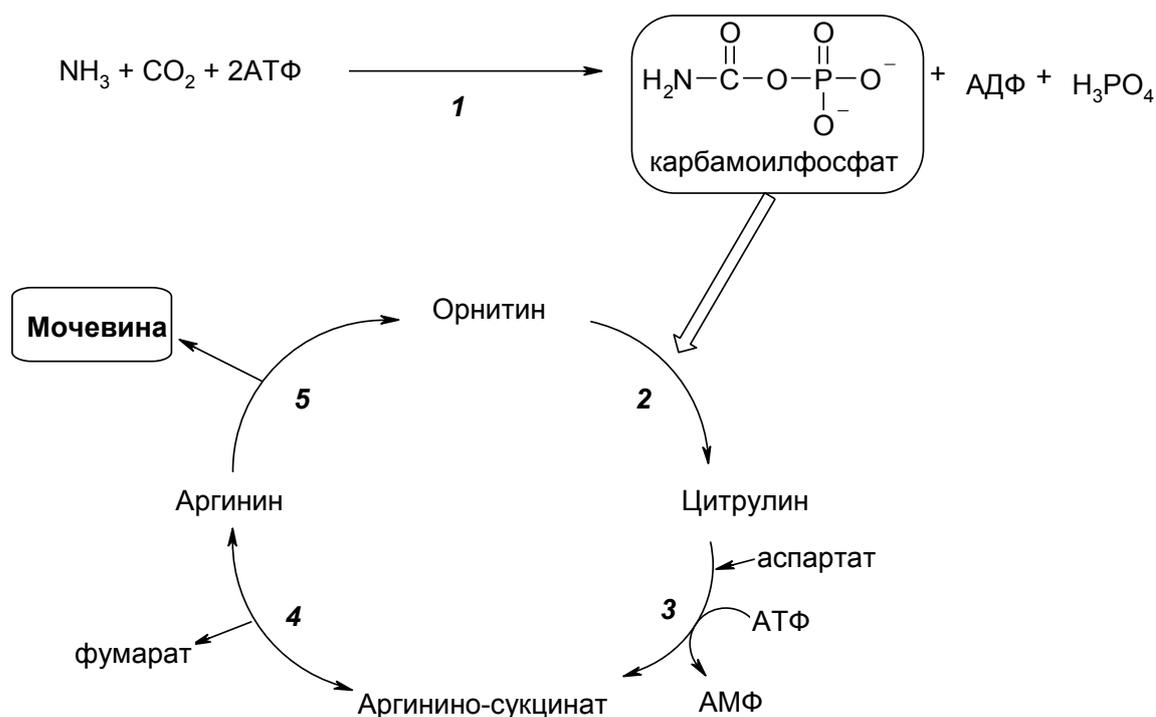
Распределение и субклеточная локализация. Реакция протекает в цитозоле клеток всех тканей, но особенно выражена в мозге, где аммиак наиболее токсичен, и мышцах, где обмен белков мышц сопровождается образованием значительных количеств аммиака.

Функции глутамина:

- а) во всех тканях **глутамин** является донором азота для синтеза важных молекул, в частности, для пуринового и пиримидинового синтеза;
- б) является нетоксичной формой транспорта аммиака из разных тканей к клеткам печени, где он превращается в мочевины;
- в) в кишечнике служит источником энергии для энтероцитов;
- г) в почках участвует в поддержании кислотно-щелочного равновесия. Гидролиз амидной группы в боковой цепи глутамина глутаминазой позволяет связывать протоны. Это особенно важно в условиях метаболического ацидоза.

2. Синтез мочевины. Печень — единственный орган, клетки которого содержат все ферменты синтеза мочевины и, следовательно, являются главным местом ее синтеза. Участвуют митохондриальные ферменты и ферменты цитозоля (рис. 15.3).

Энергетический баланс. **4 молекулы АТФ** расходуется на синтез каждой молекулы мочевины



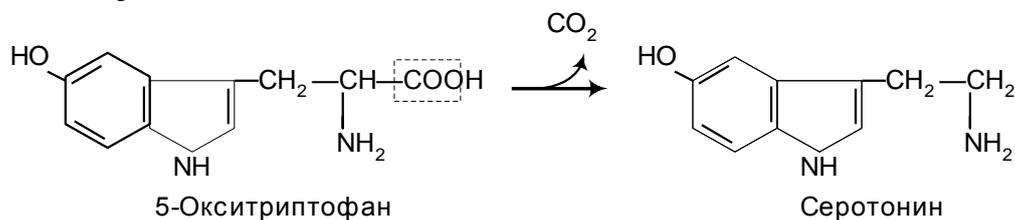
- Ферменты:
1. Карбамоилфосфатсинтетаза I
 2. Орнитин-карбамоилтрансфераза
 3. Аргинино-сукцинатсинтетаза
 4. Аргининосукцинатлиаза
 5. Аргиназа.

Рис. 15.3. Орнитиновый цикл мочевинообразования

Реакции декарбоксилирования

Декарбоксилирование аминокислот приводит к удалению молекулы CO_2 и образованию амина. Реакции катализируются специальными ферментами — декарбоксилазами, коферментом является пиридоксальфосфат (активная форма витамина B_6). Примеры декарбоксилирования аминокислот:

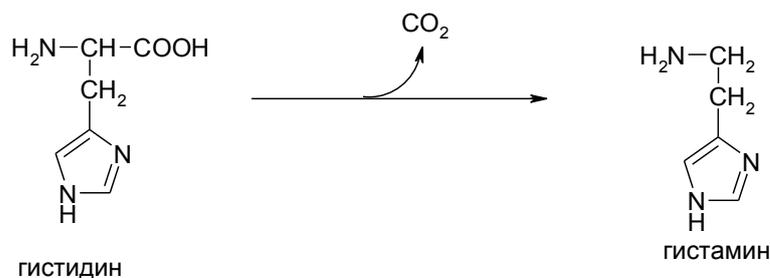
Синтез серотонина:



Биологическая роль серотонина:

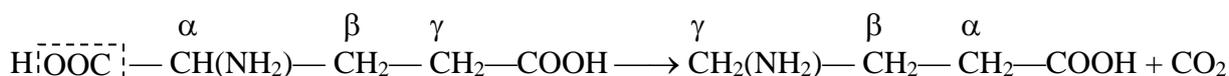
1. Центральное действие (ЦНС) — повышение аппетита, регуляция памяти, настроения, поведения, функций сердечно-сосудистой и эндокринной систем.
2. Периферическое действие — активирует перистальтику, повышает агрегацию тромбоцитов, проницаемость мелких сосудов, оказывает радиопротекторное действие.

Синтез гистамина:



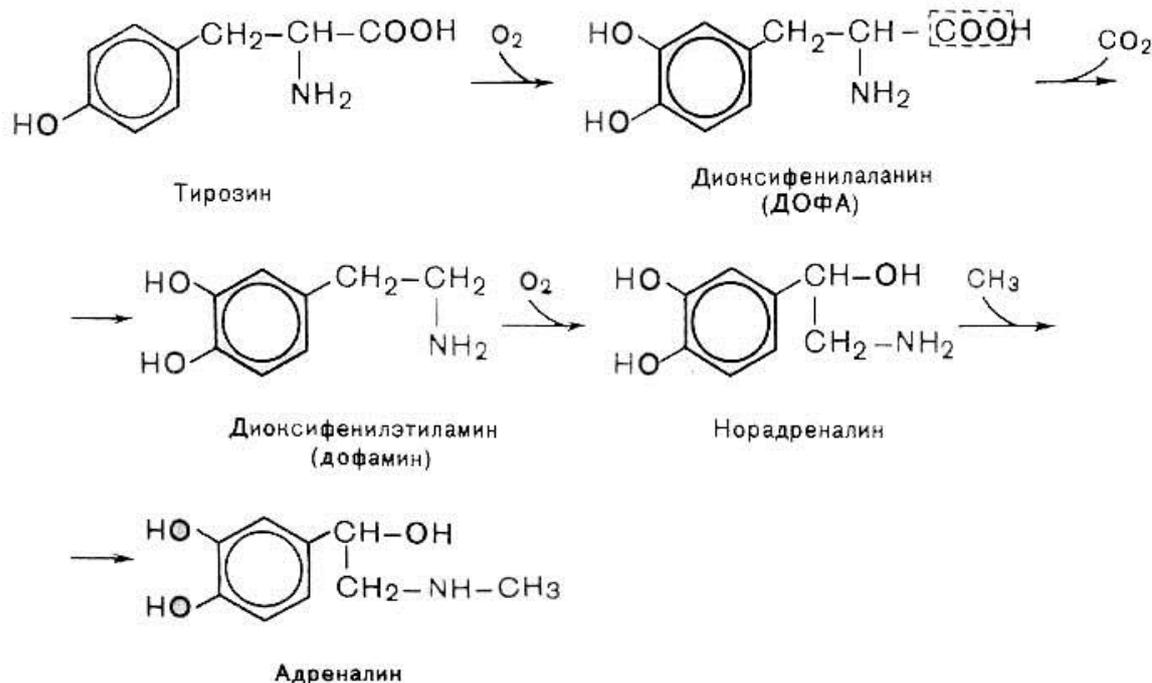
Биологическая роль гистамина: повышает тонус гладкой мускулатуры, расширяет капилляры, снижает АД, повышает секрецию желудка и выделение желчи, участвует в развитии воспаления и развитии боли.

Синтез γ -аминомасляной кислоты (ГАМК):



Биологическая роль ГАМК: медиатор торможения.

Синтез дофамина, норадреналина и адреналина:



Биологическая роль катехоламинов: увеличивают потребление кислорода клетками, органами и организмом; повышают активность ферментов цикла Кребса, дыхательной цепи; стимулируют синтез АТФ; повышают АД.

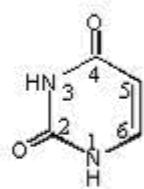
Тема 16. ХИМИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) — биополимеры, мономерами которых являются нуклеотиды.

Нуклеотид состоит из: 1) азотистого основания; 2) сахара (пентозы) и 3) остатков фосфорной кислоты.

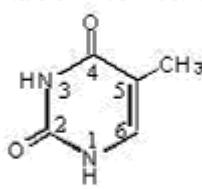
Азотистые основания представляют собой гетероциклические соединения, которые, в зависимости от их строения, делят на две группы: пуриновые (аденин, гуанин) и пиримидиновые (урацил, тимин, цитозин).

ПИРИМИДИНОВЫЕ



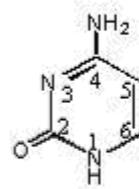
Урацил

U



Тимин

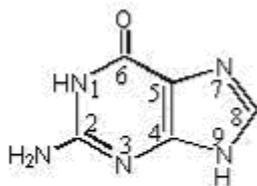
T



Цитозин

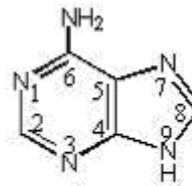
C

ПУРИНОВЫЕ



Гуанин

G



Аденин

A

Основными свойствами азотистых оснований являются их гидрофобность, копланарность, способность поглощать УФ при 260 нм.

Нуклеозид = азотистое основание + пентоза (рибоза или дезоксирибоза). Между азотистым основанием и 1'-углеродным атомом пентозы образуется N-гликозидная связь. При нумерации атомов в составе азотистого основания используют цифры 1, 2, 3 и т.д., тогда как в пентозе – 1', 2', 3', и т.д. По свойствам нуклеозиды гидрофильны.

Нуклеотид = нуклеозид + 1-3 остатка фосфорной кислоты (рис. 16.1).

Свойства нуклеотидов: кислотность, отрицательный заряд.

Номенклатура нуклеозидов и нуклеотидов представлена в таблице 16.1.

Таблица 16.1

Номенклатура нуклеозидов и нуклеотидов

АЗОТИСТОЕ ОСНОВАНИЕ	НУКЛЕОЗИД (азотистое основание + рибоза)	НУКЛЕОТИД (нуклеозид + фосфат)
<i>Пурины</i> АДЕНИН	АДЕНОЗИН*	АДЕНОЗИНмонофосфат (АМФ)*
ГУАНИН	ГУАНОЗИН	ГУАНОЗИН монофосфат (ГМФ)
ГИПОКСАНТИН	ИНОЗИН	ИНОЗИН монофосфат (ИМФ)
<i>Пиримидины</i> УРАЦИЛ	УРИДИН	УРИДИН монофосфат (УМФ)
ЦИТОЗИН	ЦИТИДИН	ЦИТИДИН монофосфат (ЦМФ)
ТИМИН	ТИМИДИН (тимин + дезоксирибоза)	ТИМИДИН монофосфат (ТМФ)

* - если сахар дезоксирибоза - **дезокс**АДЕНОЗИН, дАМФ.

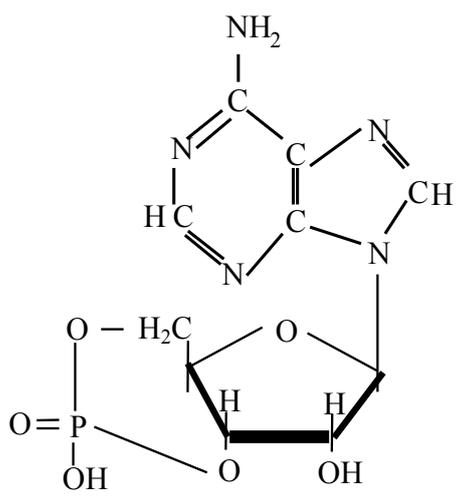
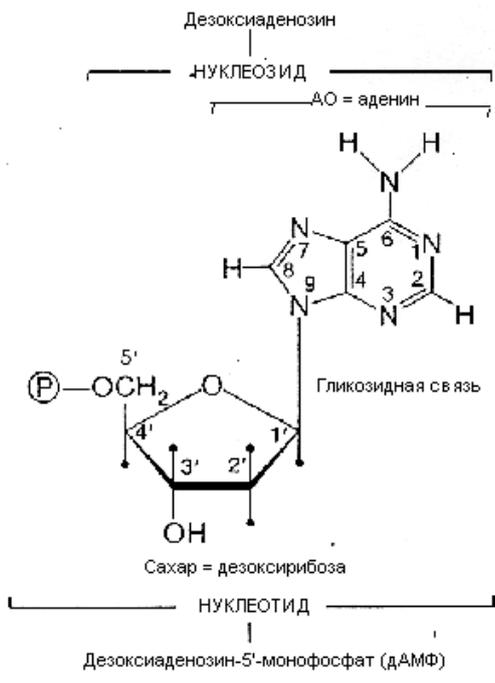


Рис. 16.1. Строение нуклеозидов, нуклеотидов, циклического 3', 5'- АМФ

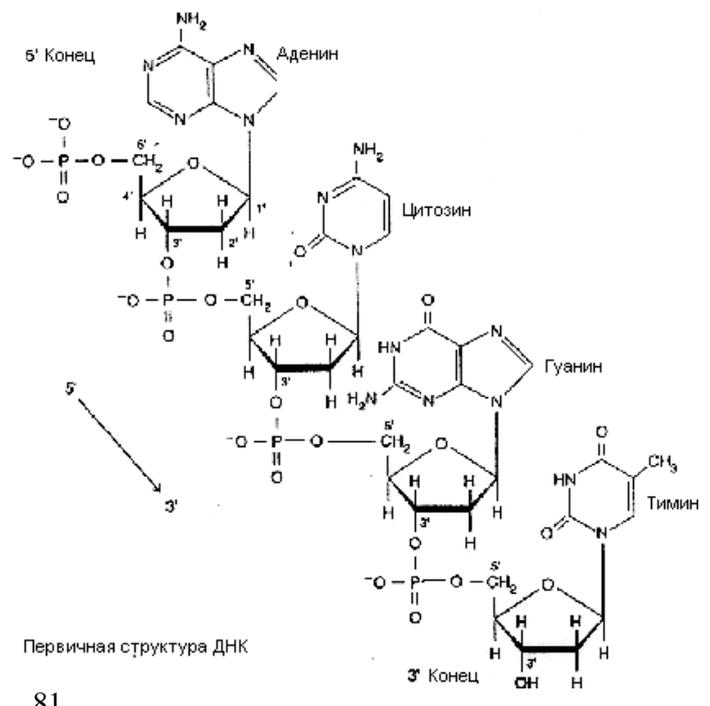
Биологическая роль нуклеотидов:

1. Являются универсальными источниками энергии в клетке (АТФ, ГТФ).
2. Являются активаторами и переносчиками мономеров в клетке (напр., УДФ-глюкоза, ЦДФ-холин).
3. Являются аллостерическими регуляторами активности ферментов.
4. Входят в состав коферментов (НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД, КоА- SH).
5. Циклические мононуклеотиды (цАМФ, цГМФ) являются вторичными посредниками действия гормонов и других сигналов на клетку.
6. Являются мономерами в составе нуклеиновых кислот.

СТРОЕНИЕ ДНК

В ДНК входят 4 типа азотистых оснований: А, Т, Г, Ц; сахар — дезоксирибоза. При образовании полимера связь между нуклеотидами образуется с участием 3'-ОН-группы одного нуклеотида и 5'-остатком фосфорной кислоты другого (**3'-5' фосфодиэфирная связь**). В результате молекула полинуклеотида приобретает направленность — у нее есть 3'-конец и 5'-конец.

Под *первичной структурой ДНК* понимают последовательность нуклеотидов в одной полинуклеотидной цепи.



Вторичная структура ДНК (1953 г., Д. Уотсон, Ф. Крик) — двойная спираль, построенная по принципам комплементарности (А – Т, Г – Ц) и антипараллельности (3'-концу одной цепи соответствует 5'-конец другой). В двойной спирали гидрофобные азотистые основания обращены внутрь, к оси спирали, а полярные пентозы и фосфаты — наружу.

Силы, стабилизирующие двойную спираль: 1) горизонтальные водородные связи между азотистыми основаниями (А = Т, Г ≡ Ц); 2) вертикальные гидрофобные взаимодействия между азотистыми основаниями.

Силы, дестабилизирующие двойную спираль: электростатические взаимодействия между отрицательно заряженными фосфатами: а) в пределах одной цепи, и б) между цепями.

Поверхность двойной спирали имеет две спиральные бороздки — большую и малую. В большую бороздку выступают азотистые основания, а в малую — пентозы и фосфаты. Таким образом, азотистые основания доступны для контакта в области большой бороздки без предварительного раскручивания цепей ДНК, и именно там происходит связывание с ДНК сайт-специфических регуляторных белков.

Процесс расхождения нитей ДНК и формирования одноцепочечных молекул называют денатурацией (плавлением) ДНК. Это происходит при нагревании (около 70°C), при репликации и транскрипции (в отдельных участках). При постепенном снижении температуры наблюдается ренатурация.

Третичная структура ДНК — формируется только в связи с белками и служит для компактной упаковки ДНК в ядре. Белки, входящие в состав нуклеопротеинов:

1. Гистоновые: богаты аргинином и лизином, имеют «+» заряд (основные), поэтому легко связываются с ДНК ионными связями; участвуют в упаковке ДНК.

5 классов гистонов – Н1, Н2А, Н2В, Н3, Н4.

Модификации гистонов (фосфорилирование, ацетилирование) приводят к уменьшению их заряда, в результате чего гистоны легче отсоединяются от ДНК, и она становится доступна ферментам репликации и транскрипции.

2. Негистоновые: для связывания с ДНК имеют специальные домены («цинковые пальцы» или др.), которые «узнают» специфические последовательности нуклеотидов; регулируют процессы репликации, репарации, транскрипции

Уровни упаковки генетического материала:

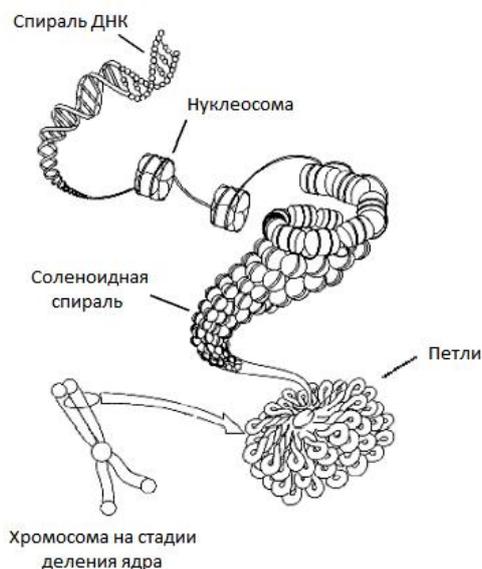
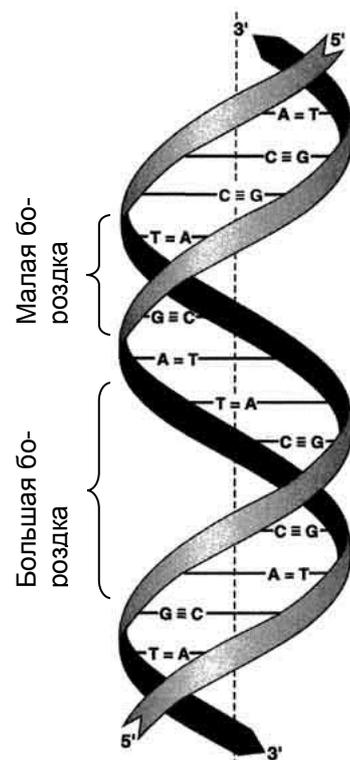
1. Нуклеосомный. Нуклеосома состоит из октамера гистонов (содержит 8 молекул гистонов — по 2 каждого класса, кроме Н1), вокруг этого ядра молекула ДНК делает 1,5 – 2 оборота.

2. Соленоидный. Обеспечивается гистонами Н1.

3. Петлевой — в образовании петель принимают участие негистоновые белки.

4. Уровень метафазной хромосомы — высший уровень спирализации хроматина.

Функции ДНК: хранение, воспроизводство и передача по наследству генетического материала.



СТРОЕНИЕ РНК

Отличия от ДНК:

- по локализации (цитоплазма);
- по функциям (обеспечивает биосинтез белка);
- по размерам;
- по строению: содержит У вместо Т, сахар — рибоза.

РНК бывает нескольких типов — иРНК, рРНК, тРНК, гяРНК (гетерогенная ядерная РНК), мяРНК (малая ядерная РНК).

Вторичная структура — у эукариот всегда одна цепь, которая имеет форму, например, «листа клевера» (для тРНК) (рис.16.2).

Третичная структура — у тРНК формируется самостоятельно и похожа на объемную букву L. У рРНК и иРНК — образуется в связи с белками (рРНК+белок = рибосома, иРНК+белок = информосома).

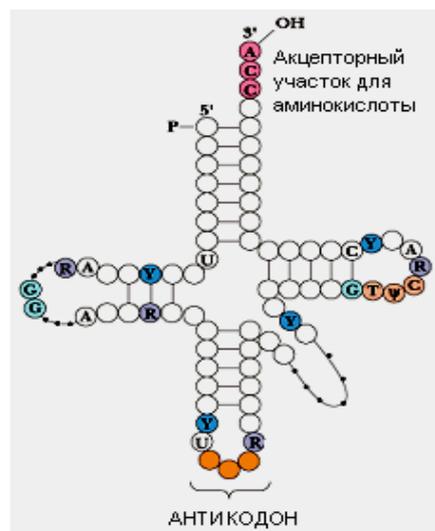


Рис 16.2. Вторичная структура тРНК

Тема 17. ОБМЕН НУКЛЕОПРОТЕИНОВ

На рисунке 17.1 представлена схема переваривания и всасывание нуклеопротеинов в ЖКТ.

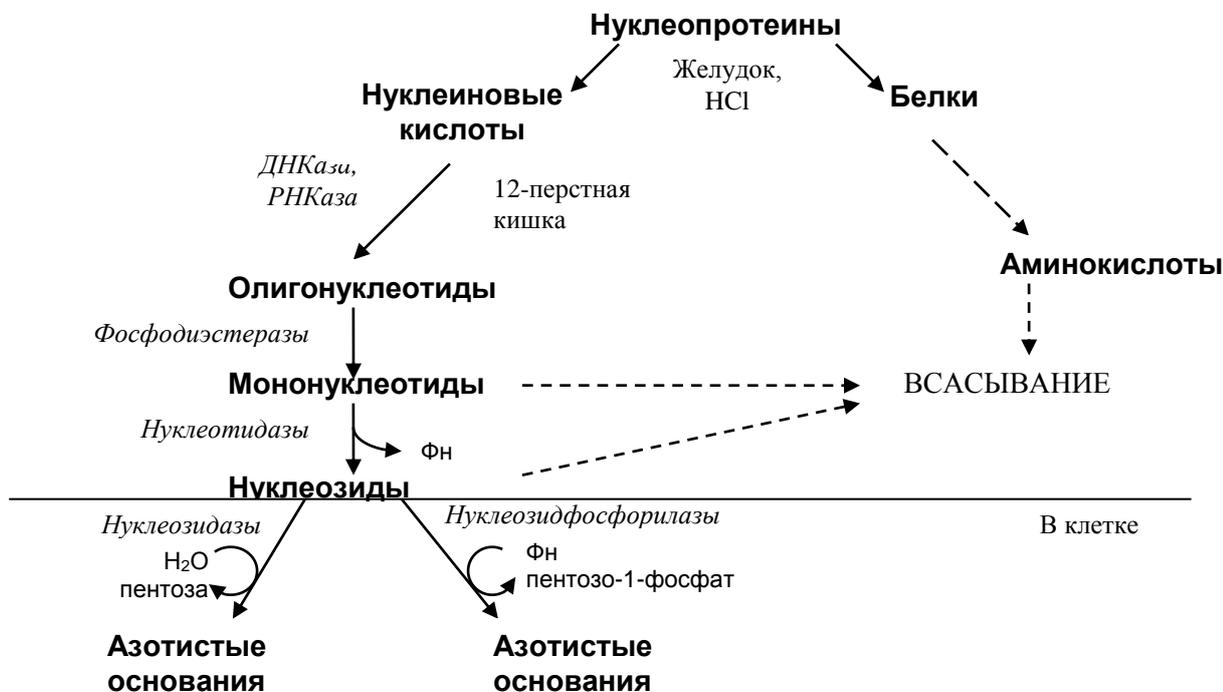


Рис. 17.1. Переваривание и всасывание нуклеопротеинов в ЖКТ

Как правило, экзогенные АО, нуклеозиды и нуклеотиды не используются в клетке для синтеза собственных нуклеиновых кислот. Они разрушаются до конечных продуктов и выводятся из организма.

Конечные продукты распада пиримидинов: β -аланин, β -аминоизомасляная кислота, NH_3 , CO_2 .

Конечный продукт распада пуринов — мочевая кислота (рис. 17.2).

Мочевая кислота содержит нерасщепленное пуриновое кольцо, поэтому плохо растворяется в воде. У человека мочевая кислота является конечным продуктом метаболизма и выводится с мочой.

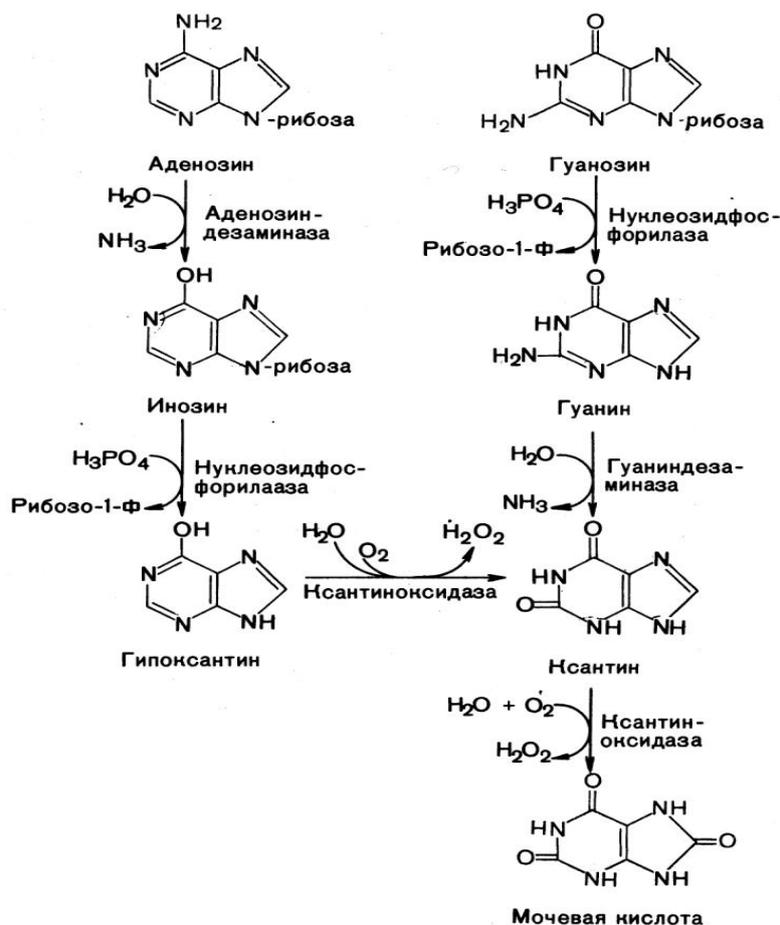


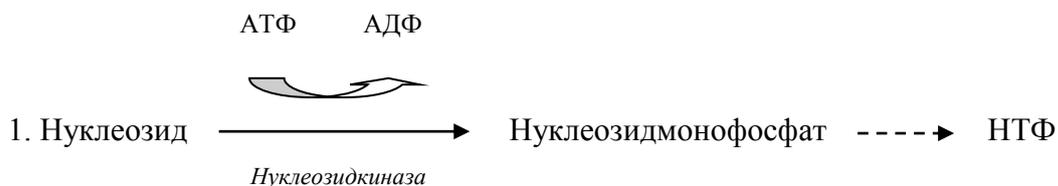
Рис. 17.2. Распад пуринов

БИОСИНТЕЗ НУКЛЕОТИДОВ

Существует 2 пути биосинтеза нуклеотидов в клетке:

- путь повторного использования азотистых оснований и нуклеозидов (не только экзогенных, но и образовавшихся в клетке в процессе репарации ДНК или при распаде «отработавших» РНК). Наиболее активно протекает в интенсивно размножающихся клетках (эмбриональных, регенерирующих, эпителиальных, опухолевых);
- синтез *de novo* (из низкомолекулярных предшественников).

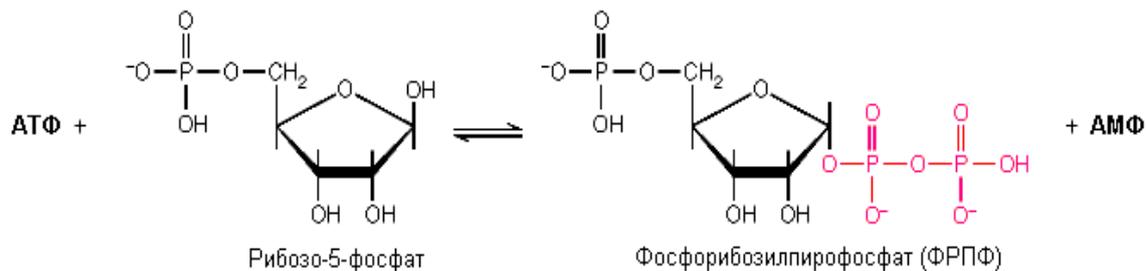
Пути повторного использования АО и нуклеозидов: наличие этих путей позволяет использовать синтетические аналоги пуринов и пиримидинов для химиотерапии опухолей и лечения вирусных инфекций (например, 5-фторурацил, меркаптопурин, ацикловир, АЗТ и др.). Такие препараты включаются клеткой в состав нуклеотидов, встраиваются в молекулу ДНК и вызывают цитотоксический эффект.



Этот путь чаще используется для реутилизации пиримидинов (тимидинкиназа, цитидинкиназа).

2. Синтез нуклеотидов на основе готовых азотистых оснований больше характерен для пуринов и проходит в 2 этапа:

а) образование активной формы рибозо-5-фосфата (фосфорибозилпирофосфата):



б) взаимодействие ФРПФ с азотистым основанием:



Дефект фермента гипоксантин/гуанин фосфорибозилтрансферазы приводит к развитию тяжелой врожденной патологии — *синдрома Леша – Найхана*.

De novo синтез пуриновых нуклеотидов

Источниками атомов для образования пуринового кольца являются **глицин, глутамин, аспарат, CO₂, формил-ТГФК и метенил-ТГФК**. (ТГФК — тетрагидрофолиевая кислота, активная форма витамина B₉, является переносчиком одноуглеродных фрагментов). Синтез начинается с рибозо-5-фосфата, на ранних этапах синтеза образуется N-гликозидная связь, а лишь затем формируется пуриновое кольцо. Общим предшественником для адениловых и гуаниловых нуклеотидов является инозинмонофосфат (ИМФ) (рис. 17.3).

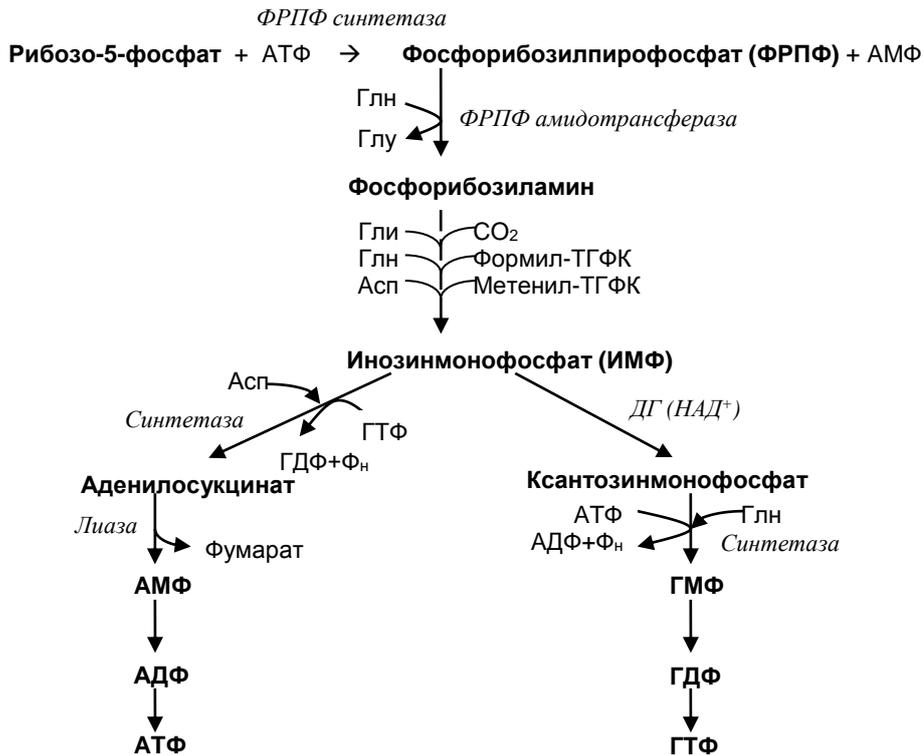


Рис. 17.3. De novo синтез пуриновых нуклеотидов

Ключевой фермент синтеза пуринов: амидотрансфераза.

Регуляция:

- 1) аллостерическая: избыток конечных продуктов (АТФ, ГТФ) ингибирует ключевой фермент; избыток пиримидиновых нуклеотидов и ФРПФ его активируют;
- 2) ГМФ ингибирует образование ксантозинмонофосфата, а АМФ — аденилосукцината;
- 3) перекрестная: для синтеза АМФ требуется ГТФ, а для синтеза ГМФ требуется АТФ.

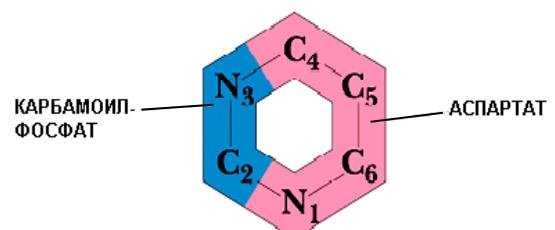
Наиболее распространенной формой нарушения обмена пуринов является подагра.

Основная причина — повышение уровня мочевой кислоты в крови (гиперурикемия) и ее отложение в суставах и почках. Причины:

- а) избыточный синтез пуриновых нуклеотидов (нечувствительность ферментов к регуляторам);
- б) дефект ферментов реутилизации пуринов;
- в) патология почек (недостаточное выведение). Способствует избыточное потребление пуринов с пищей. В лечении подагры используют ингибиторы ксантиноксидазы (например, структурный аналог гипоксантина — аллопуринол).

De novo синтез пиримидиновых нуклеотидов

В отличие от пуринов, при биосинтезе пиримидиновых *de novo* (рис. 17.4) вначале образуется пиримидиновое кольцо, а лишь затем к нему присоединяется рибозо-5-фосфат. Источниками атомов для пиримидинового кольца являются **глутамин, аспаргат и CO₂**. Синтез начинается с образования карбамоилфосфата под действием карбамоилфосфат-синтетазы II (*КФС II*). Отличия от *КФС I*:



<i>КФС I</i>	<i>КФС II</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Участвует в синтезе мочевины • Локализуется в митохондриях • Использует NH₃ как источник азота 	<ul style="list-style-type: none"> • Участвует в синтезе пиримидинов • Локализуется в цитоплазме • Использует глутамин (Глн) как источник азота

Карбамоилфосфатсинтетаза II (КФС II)

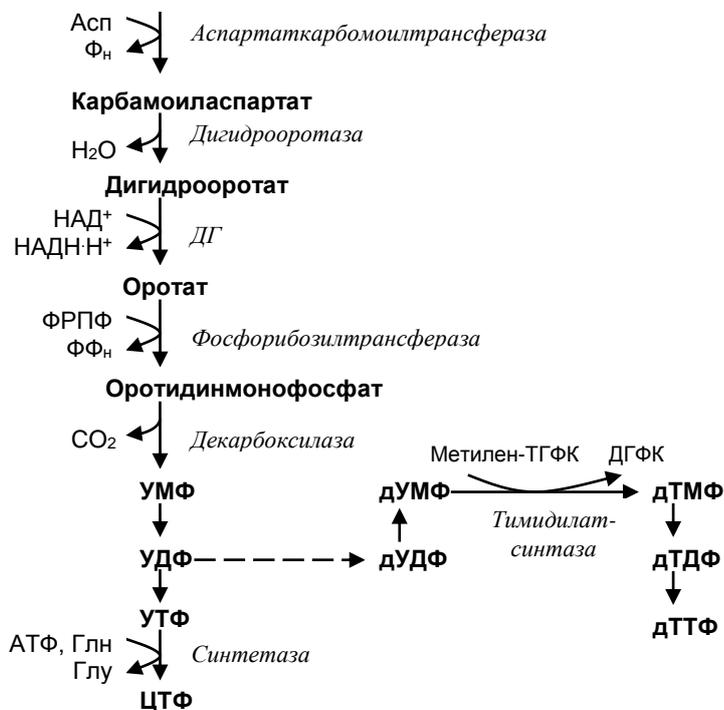


Рис. 17.4. De novo синтез пиримидиновых нуклеотидов

У млекопитающих первые три реакции процесса катализирует полифункциональный фермент, который, помимо карбамоилфосфатсинтетазного, содержит аспартаткарбамоилтрансферазный и дигидрооротазный каталитические центры; оротатфосфорибозилтрансфераза и ОМФ-декарбоксилаза также являются составляющими одного белка – УМФ-синтазы. Ключевым этапом в синтезе пиримидиновых нуклеотидов у млекопитающих считается образование карбамоилфосфата.

Регуляция: процесс ингибируется избытком пиримидиновых нуклеотидов, а избытком пуриновых и ФРПФ — активируется.

Оротовая ацидурия — причиной этого заболевания является дефект ферментов, превращающих оротовую кислоту в УМФ. Характерно отставание в физическом и умственном развитии, мегалобластическая анемия. В лечении используют уридин.

Образование дезоксирибонуклеотидов

Образование дезоксирибонуклеотидов, необходимых для биосинтеза ДНК, происходит на уровне нуклеозиддифосфатов (АДФ, ГДФ, ЦДФ, УДФ) с участием специального фермента (редуктаза) и белка тиоредоксина (рис. 17.5). Тиоредоксин содержит свободные SH-группы, которые являются донорами атомов водорода для реакции восстановления 2'-ОН

группы в рибозе. В результате реакции рибоза в составе НДФ превращается в дезоксирибозу. Затем дНДФ превращаются в дНТФ и используются для синтеза ДНК.

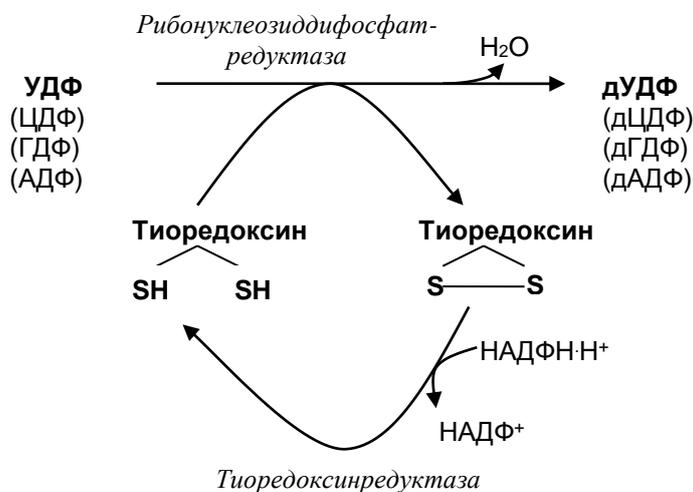


Рис. 17.5. Образование дезоксирибонуклеотидов

Тема 18. БИОСИНТЕЗ ДНК, РНК И БЕЛКА

Центральная догма молекулярной биологии отражает поток информации в клетке:



БИОСИНТЕЗ ДНК

Репликация — процесс удвоения ДНК (синтез ДНК на матрице ДНК) (рис. 18.1).

Принципы репликации:

- 1) комплементарность;
- 2) антипараллельность;
- 3) однонаправленность;
- 4) потребность в праймере (затравке);
- 5) прерывистость;
- 6) полуконсервативность.

Первые 3 принципа можно сформулировать одной фразой: синтез каждой дочерней цепи ДНК идет комплементарно и антипараллельно матричной цепи и всегда в направлении $5' \longrightarrow 3'$.

Ферменты и белки, участвующие в репликации (их > 40), объединены в единый комплекс — реплисому.

Хеликаза — раскручивает двойную спираль ДНК в репликационной вилке.

Топоизомераза — снимает напряжение, возникающее в репликационной вилке, и предотвращает обратное скручивание цепей.

Праймаза — синтезирует праймеры. Праймаза является РНК-полимеразой, поэтому образующиеся праймеры представляют собой олигорибонуклеотиды.

ДНК-полимераза — главный фермент процесса. Компоненты, необходимые для её работы: матрица, затравочный олигонуклеотид (праймер), субстраты (активированные нуклеотиды)

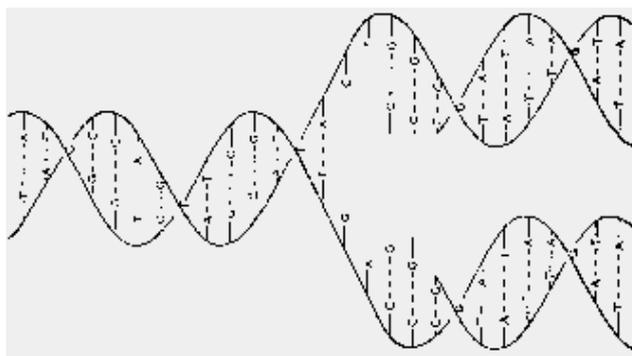
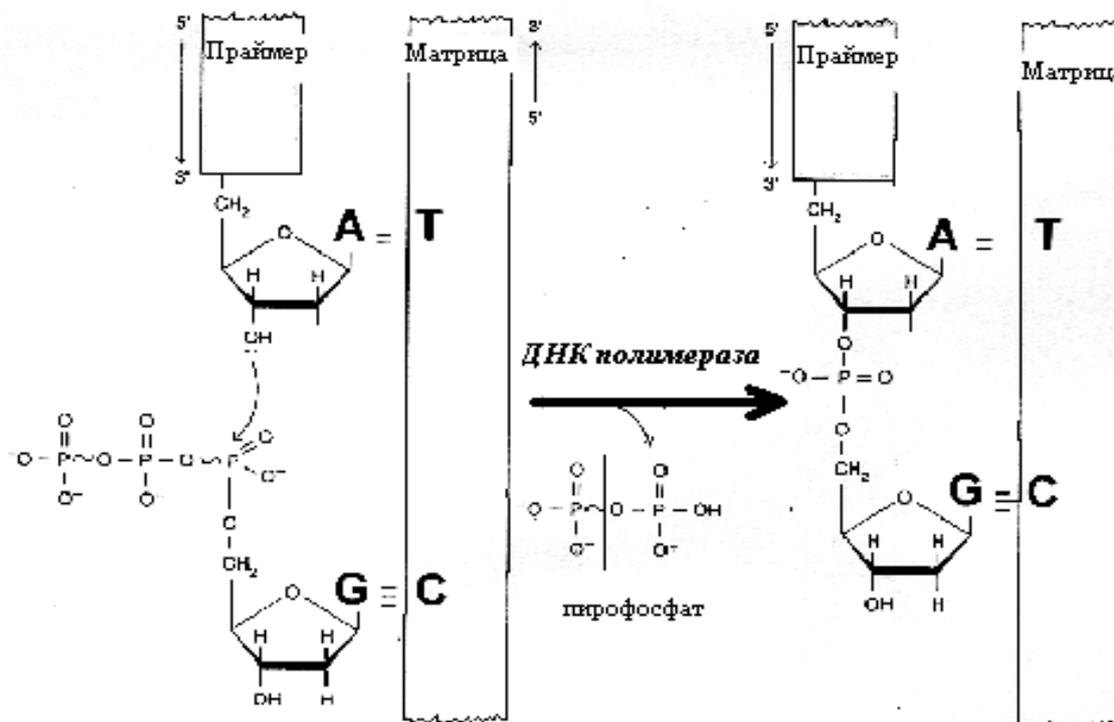


Рис. 18.1. Репликация ДНК

— дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ), ионы магния. ДНК-полимераза катализирует реакцию образования фосфодиэфирной связи с использованием энергии макроэргического субстрата:



Большинство ДНК-полимераз обладают способностью исправлять ошибки, допущенные при синтезе, путем отщепления неправильно присоединенного нуклеотида и замены его на нужный.

Поскольку цепи ДНК антипараллельны, а синтез идет только от 5'-конца к 3'-концу, одна из дочерних цепей синтезируется прерывисто, образуются фрагменты Оказаки (рис. 18.2). Впоследствии праймеры (участки РНК) из дочерней цепи удаляются, на их месте достраивается ДНК.

ДНК-лигаза — сшивает фрагменты, образующиеся после удаления праймеров и достройки ДНК.

После окончания репликации ДНК подвергается метилированию (защита от нуклеаз).

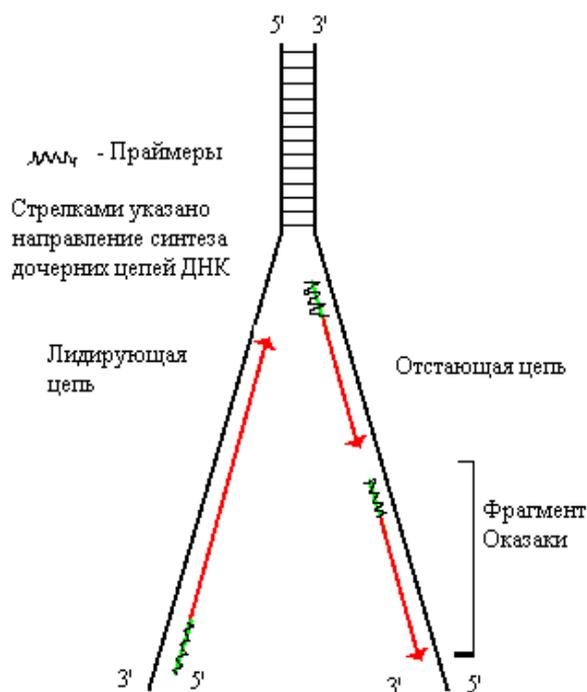


Рис. 18.2. Репликативная вилка

У прокариот есть три ДНК-полимеразы – ДНК-полимераза III (непосредственно ведет репликацию), ДНК-полимераза II (участвует в репарации), ДНК-полимераза I (отвечает за удаление праймеров и достройку на их месте ДНК). У эукариот одновременно с репликацией идет синтез гистонов. Ферменты: ДНК-полимераза α (отвечает за инициацию процесса и синтез праймеров), β (репаративная), γ (митохондриальная), δ (синтезирует лидирующую цепь), ϵ (наращивает отстающую цепь). На концах линейных хромосом эукариот имеются теломеры (неинформативные повторяющиеся последовательности нуклеотидов). В соматических клетках с каждым актом репликации теломеры укорачиваются из-за невозможности достроить ДНК на месте 5'-праймера. Это своеобразные «молекулярные часы» клетки.

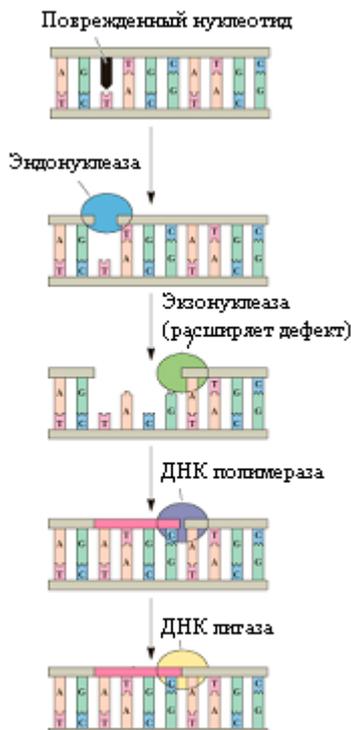


Схема эксцизионной репарации

Рис. 18.3. Эксцизионная репарация

Стабильность и неизменность структуры ДНК обеспечивается: 1) высокой точностью репликации; 2) специальными механизмами исправления повреждений, возникших в ДНК, – это **пострепликационная репарация**. Возможна прямая репарация (химические реакции, восстанавливающие исходную структуру поврежденного нуклеотида) и эксцизионная репарация (вырезание поврежденного нуклеотида или азотистого основания с последующим заполнением дефекта) (рис. 18.3).

В природе существует путь синтеза ДНК на матрице РНК с участием обратной транскриптазы (или РНК-зависимой ДНК-полимеразы). Благодаря наличию этого фермента некоторые РНК-содержащие вирусы имеют возможность переписывать свою генетическую информацию на ДНК клеток хозяина.

БИОСИНТЕЗ РНК

Транскрипция — биосинтез РНК на матрице ДНК. В отличие от репликации, транскрипции подвергается не вся молекула ДНК. Единицей транскрипции является оперон (у прокариот) или транскриптон (у эукариот).

Фермент транскрипции — РНК-полимераза — не требует праймера, синтезирует РНК в направлении от 5'-конца к 3'-концу, комплементарно и антипараллельно матричной цепи ДНК. В ядре у эукариот имеется 3 типа РНК полимераз (I — синтезирует рРНК, II — для иРНК, III — для тРНК). Субстратами для синтеза РНК являются активированные нуклеотиды (АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ).

Инициация транскрипции: РНК-полимераза прокариот имеет специальную субъединицу (σ – фактор), которая отвечает за узнавание промотора. У эукариот связывание РНК-полимеразы с промотором обеспечивается в присутствии дополнительных белков — факторов транскрипции. После связывания фермента с матрицей происходит локальное плавление промотора и начинается синтез РНК. Праймер для инициации синтеза не требуется.

Элонгация: РНК-полимераза перемещается вдоль матричной цепи ДНК и проводит полимеризацию рибонуклеотидов с образованием фосфодиэфирных связей в растущей цепи РНК. Механизм работы фермента аналогичен ДНК-полимеразе, однако, контроль правильности считывания информации и исправление ошибок не производится.

Терминация: отсоединение РНК-полимеразы от матрицы происходит после копирования терминирующей последовательности гена. Точный механизм данного процесса у эукариот не установлен.

У прокариот образовавшаяся молекула РНК содержит информацию о нескольких белках (полицистронный транскрипт) и сразу же подвергается трансляции. У эукариот образуется моноцистронный транскрипт, при этом все виды РНК синтезируются в виде предшественников и нуждаются в процессинге (созревании). После процессинга РНК транспортируется из ядра в цитоплазму.

Созревание иРНК (рис. 18.4). Во время синтеза пре-иРНК происходит модификация концов молекулы — кэпирование на 5'-конце и полиаденилирование на 3'-конце. Кэп («шапочка» из трифосфометилгуанозина) и полиадениловый «хвост» защищают иРНК от действия нуклеаз. Следующим этапом созревания РНК является сплайсинг — удаление интронов (неинформативных вставок) и сшивание экзонов (информативных участков). В сплайсинге участвует малая ядерная РНК, которая содержит последовательности, комплементарные интронам.

Созревание тРНК. От предшественника тРНК отщепляются дополнительные олигонуклеотиды на 3'- и 5'-концах, вырезаются интроны, достраивается акцепторный участок (ЦЦА), формируется петля антикодона, проводится модификация нуклеотидов (образуются псевдоуридин, дигидроуридин и т. п.).

Созревание рРНК. рРНК синтезируется в виде крупных предшественников, из которых затем удаляются интроны, молекулы разрезаются на фрагменты разного размера, метилируются, объединяются с белками (образуются малая и большая субъединицы рибосом).

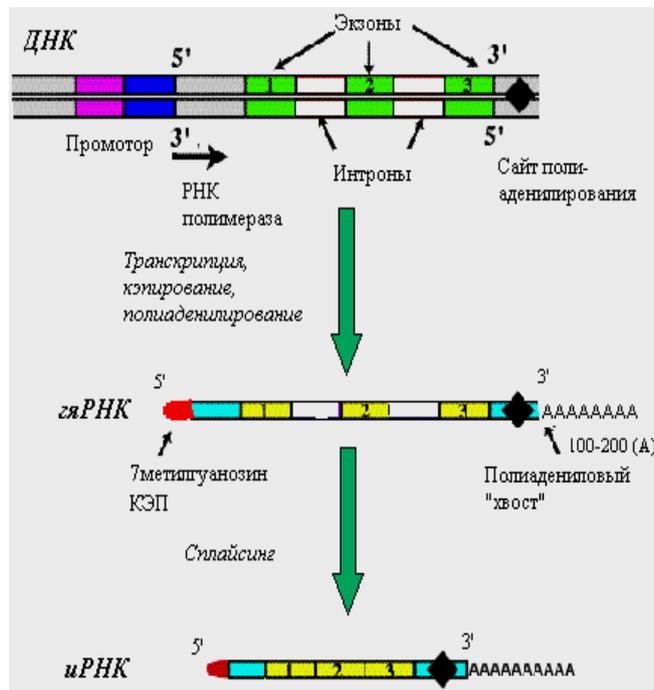


Рис. 18.4. Созревание иРНК

БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

Трансляция — биосинтез белка на матрице иРНК. Участники трансляции: иРНК, рибосомы, белковые факторы инициации, элонгации и терминации, ГТФ, аминокил-тРНК.

Последовательность нуклеотидов иРНК определяет последовательность включения аминокислот в синтезируемый белок. При этом одну аминокислоту кодирует последовательность из трех нуклеотидов (триплет, кодон). Существует $4^3 = 64$ кодонов (3 из них не кодируют аминокислоты — бессмысленные или нонсенс-кодона). Общий набор кодонов составляет *генетический код*. Свойства генетического кода: триплетность; специфичность (1 кодон — 1 аминокислота); вырожденность (или избыточность, 61 кодон для 20 аминокислот); однонаправленность; неперекрываемость; отсутствие знаков препинания; универсальность.

Роль тРНК в биосинтезе белка: 1) транспорт аминокислот на рибосомы; 2) адапторная функция, т. е. тРНК является посредником при переводе с языка нуклеиновых кислот (последовательность нуклеотидов) на язык белков (последовательность аминокислот). Адапторная функция осуществляется благодаря наличию в структуре тРНК акцепторного участка для аминокислоты и антикодона для связи с иРНК.

Рекогниция — процесс узнавания аминокислотой своей тРНК. Специфичность связывания обеспечивает фермент АРСаза (аминоацил-тРНК-синтетаза), который катализирует 2 реакции:

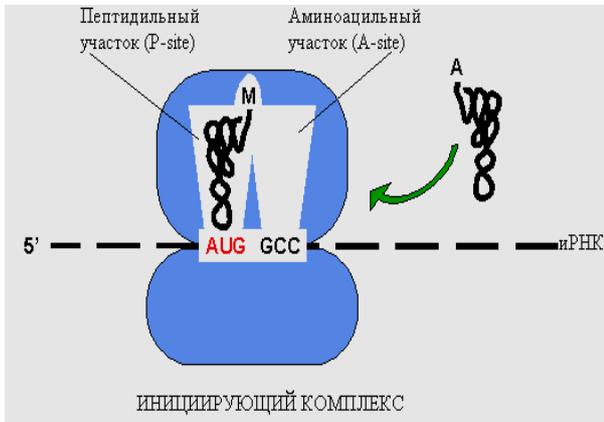
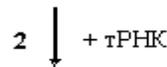
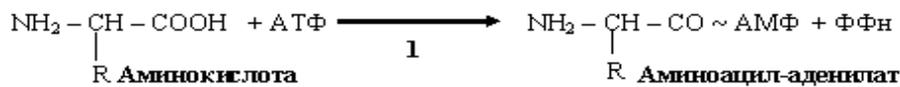


Рис. 18. 5. Иницирующий комплекс

Аминоацил-тРНК — это активная форма аминокислот, которая участвует в биосинтезе белка.

Собственно трансляция проходит в три этапа: инициация, элонгация и терминация.

Инициация: иРНК поступает на малую субъединицу рибосомы 5'-концом, к иницирующему кодону (АУГ) присоединяется первая аминоацил-тРНК (мет-тРНК), и комплекс «закрывается» большой субъединицей рибосомы. В образовании иницирующего комплекса (рис. 18.5) участвуют белковые факторы инициации (IF-1, 2, 3) и используется энергия ГТФ.

Элонгация: в аминоацильный участок поступает следующая аминоацил-тРНК. Фермент пептидилтрансфераза образует пептидную связь между активированной карбоксильной группой первой аминокислоты и аминогруппой второй аминокислоты (рис. 18.6). Образованный при этом дипептид «зависает» в аминоацильном центре. Затем с помощью транслоказы и энергии ГТФ рибосома перемещается по иРНК на один кодон, аминоацильный участок освобождается, и туда поступает новая аминоацил-тРНК.

Терминация наступает тогда, когда в аминоацильном участке оказывается один из завершающих (нонсенс) кодонов. К таким кодонам присоединяются специальные белки (рилизинг-факторы), которые высвобождают синтезированный пептид и вызывают диссоциацию субъединиц рибосомы.

Многие белки синтезируются в неактивном виде (в виде предшественников) и после схождения с рибосом подвергаются постсинтетической модификации. Виды модификации белков:

- 1) частичный протеолиз (удаление N-концевого мет и сигнального пептида, образование активных форм ферментов и гормонов);
- 2) объединение протомеров и формирование четвертичной структуры белков;
- 3) образование внутри- и межцепочечных S–S связей;
- 4) ковалентное присоединение кофакторов к ферментам (пиридоксальфосфат, биотин);
- 5) гликозилирование (гормоны, рецепторы);
- 6) модификация остатков аминокислот:
 - гидроксирование про и лиз (коллаген);
 - йодирование тир (тиреоидные гормоны);
 - карбоксилирование глу (факторы свертывания крови);
- 7) фосфорилирование (казеин молока, регуляция активности ферментов);

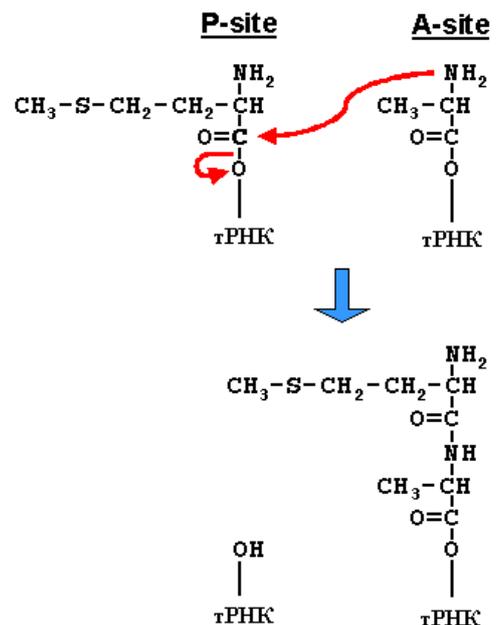


Рис. 18.6. Образование пептидной связи

- 8) ацетилирование (гистоны);
- 9) пренилирование (G-белки).

Регуляция биосинтеза белка в клетке

Синтез белка в клетке можно регулировать на этапе транскрипции, созревания иРНК, транспорта ее из ядра в цитоплазму, изменяя стабильность иРНК, в процессе трансляции и посттрансляционной модификации. Регуляция на самых ранних этапах (на уровне экспрессии генов) является наиболее выгодной и потому широко используется.

Примером регуляции экспрессии генов является работа *lac*-оперона у *E. coli*. *Lac*-оперон содержит 3 структурных гена ферментов, участвующих в метаболизме лактозы. В отсутствие лактозы оперон заблокирован белком-репрессором (рис. 18.7).

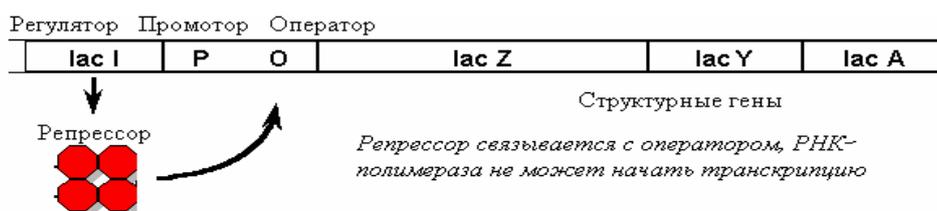


Рис. 18.7. Работа *lac*-оперона в отсутствие лактозы

В присутствии индуктора (лактозы) репрессор меняет свою конформацию и отсоединяется от ДНК. Однако если в этот момент в среде имеется глюкоза (более доступный источник энергии), транскрипция не идет. В том случае, если глюкоза отсутствует, в клетке увеличивается уровень цАМФ (сигнал «голода») и цАМФ в комплексе со специальным белком (catabolite activator protein) связывается с промотором. Только присутствие данного фактора позволяет РНК-полимеразе образовать прочную связь с промотором и начать транскрипцию (рис. 18.8).

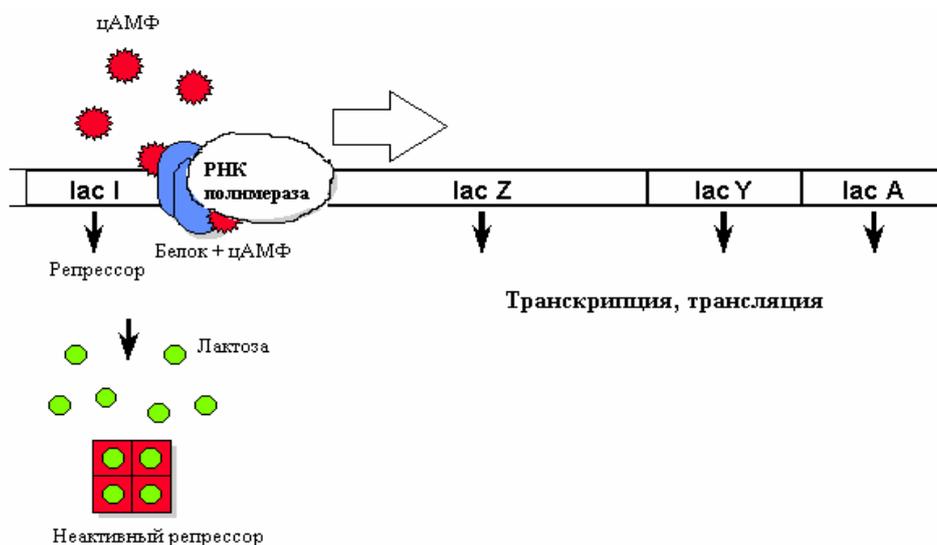


Рис. 18.8. Работа *lac*-оперона при наличии лактозы и в отсутствие глюкозы

Регуляторная часть генов эукариот устроена более сложно. Имеются энхансеры (элементы, усиливающие транскрипцию), сайленсеры (ослабляющие), гормон-респонсивные элементы (hormone response element). Факторы транскрипции могут связываться с любым из этих элементов, и, тем самым, регулировать функции генов. В качестве индукторов биосинтеза белка на генетическом уровне могут выступать не только субстраты (лактоза для лактазы), но и стероидные гормоны, витамины D, A, тиреоидные гормоны, ионы металлов и др. Активность факторов транскрипции может регулироваться также путем ковалентной модификации (напр., фосфорилированием).

Ингибиторы биосинтеза белка

Механизм действия многих антибиотиков и токсинов заключается в подавлении биосинтеза белка в клетках. Примеры таких ингибиторов приведены в таблице 18.1.

Таблица 18.1

Ингибиторы биосинтеза белка

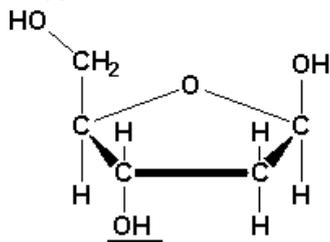
Ингибитор	Механизм действия
Антибиотики	
Доксорубицин Актиномицин D	Внедряются между парами оснований ДНК и нарушают раскручивание цепей (репликацию и транскрипцию)
Рифампицин	Ингибирует РНК-полимеразу прокариот
Стрептомицин	Ингибирует инициацию трансляции (связываясь с 30S-субъединицей)
Тетрациклины	Блокируют поступление aa-тРНК в А-центр
Левомецетин	Ингибирует пептидилтрансферазу
Эритромицин	Подавляет транслокацию
Токсины	
α -Аманитин	Ингибирует РНК-полимеразу II эукариот
Рицин	Катализирует распад рРНК большой субъединицы рибосом эукариот
Дифтерийный токсин	Подавляет транслокацию рибосом (модифицирует EF-2)

Тема 19. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

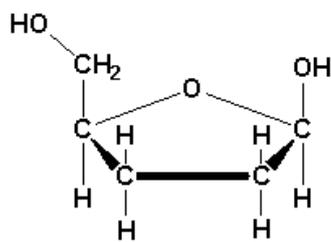
Основными инструментами в работе молекулярного биолога с нуклеиновыми кислотами являются ферменты. Используют *рестриктазы* (эндонуклеазы, которые узнают специфические последовательности в ДНК и разрезают молекулу ДНК в этом месте), *ДНК-полимеразы* (в том числе, РНК-зависимую ДНК-полимеразу), *ДНК-лигазы*, *экзонуклеазы* и другие.

Исследование последовательности нуклеотидов ДНК (метод Сэнджера)

Метод основан на моделировании ДНК-полимеразной реакции, где исследуемая молекула ДНК (с неизвестной последовательностью нуклеотидов) используется в качестве матрицы (рис. 19.1). В модельную систему входят: одноцепочечный фрагмент исследуемой ДНК (матрица), небольшой затравочный олигонуклеотид (праймер), субстраты для синтеза дочерней цепи (дНТФ четырех типов: дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ) и фермент ДНК-полимераза. ДНК-полимераза ведет синтез дочерних цепей комплементарно матрице. Для останова синтеза протокол секвенирования, предложенный Ф. Сэнджером, предполагает использование 2', 3'-дидезоксирибозидов (ддНТФ). После включения такого нуклеотида дальнейшее наращивание цепи невозможно из-за отсутствия свободной ОН-группы в 3'-положении пентозы.



Дезоксирибоза



Дидезоксирибоза

Реакция проводится одновременно в четырех отдельных пробирках, в каждой из которых содержатся все 4 дНТФ и один тип ддНТФ. В примере, приведенном ниже, по окончании реакции все фрагменты, синтезированные ДНК-полимеразой в первой пробирке, будут заканчиваться на

Г, во второй — на А, третьей — на Т, в четвертой — на Ц.

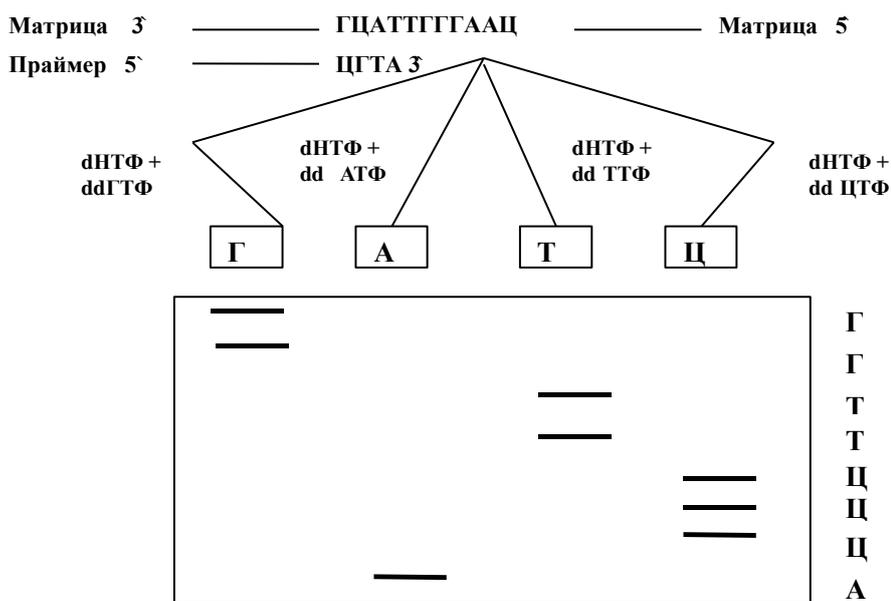


Рис. 19.1. Протокол секвенирования по Сэнджеру

Во все пробы добавляют радиоактивно меченый «нормальный» дНТФ, либо используют меченый праймер, чтобы можно было по окончании синтеза обнаружить продукты реакции. Разделяют полученные фрагменты методом электрофореза в геле, при этом небольшие синтезированные молекулы проходят дальше, а крупные остаются ближе к линии старта (вверху). После ауторадиографии (проявки геля) «читают» полученную электрофореграмму снизу вверх и определяют, в какой последовательности ДНК-полимераза включала нуклеотиды в растущую цепь. Последовательность нуклеотидов в исследуемой молекуле ДНК легко установить (она комплементарна той, которую синтезировала ДНК-полимераза).

В настоящее время можно проводить реакцию в одной пробирке, используя флюоресцентные метки разных цветов для четырех типов ддНТФ. Методика автоматизирована и позволяет быстро и эффективно расшифровывать довольно большие геномы.

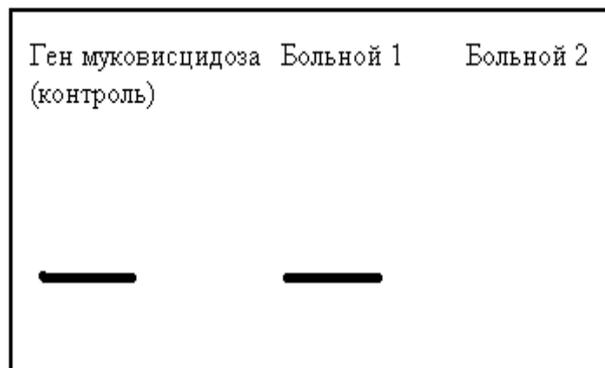
Блот-анализ ДНК (Саузерн-блот)

В геноме человека уже открыты гены и установлены последовательности, отвечающие за развитие муковисцидоза, гемофилии, серповидноклеточной анемии, болезни Альцгеймера, семейной гиперхолестеролемии, болезни Гоше и др. Саузерн-блот позволяет диагностировать такие наследственные заболевания путем обнаружения в геноме «дефектных» генов, отвечающих за их развитие. В основе метода лежит технология гибридизации (образование гибридов зонд – мишень). Зондом служит одноцепочечная молекула ДНК, меченная радиоактивным P^{32} и комплементарная искомому гену

Этапы проведения Саузерн-блота:

- выделение ДНК из биологического материала;
- разрезание ДНК на более мелкие фрагменты с помощью рестриктаз;

Пример



- разделение фрагментов в агарозном геле;
- перенос на нитроцеллюлозу;
- блокирование «пустых» зон избытком ДНК;
- обработка зондом и образование гибридов;
- отмывка несвязавшегося зонда, ауторадиография и расшифровка результатов. Если проявляется полоска, значит, произошло связывание специфического зонда с ДНК пациента.

Такая диагностика наследственной патологии может проводиться и пренатально, в качестве биологического материала в этом случае используют клетки амниотической жидкости.

Принцип гибридизации с радиоактивным зондом лежит и в основе широко используемого метода **"отпечатков пальцев ДНК"**. Каждый организм имеет свою неповторимую последовательность нуклеотидов в ДНК с уникальным расположением сайтов для действия рестриктаз. Поэтому после выделения ДНК и разрезания ее рестриктазами образуются фрагменты разной величины. Эти фрагменты разделяют методом электрофореза в агарозном геле и проводят гибридизацию с пробами радиоактивной ДНК (обычно используют несколько зондов). Каждый зонд специфически присоединяется только в одном или двух местах. Такая разновидность метода получила название «анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов» (RFLP, restriction fragment length polymorphism). Конечная картина состоит из ряда полосок, их расположение уникально и характерно только для одного человека. Одинаковые «отпечатки пальцев ДНК» могут иметь только однояйцевые близнецы.

Применение метода «отпечатков пальцев ДНК»:

1. Для идентификации личности.
2. В судебно-медицинской практике — неопровержимое доказательство принадлежности пятен крови, спермы, др. биологического материала.
3. Комплексная диагностика ряда наследственных заболеваний, в том числе в генетических консультациях для оценки вероятности рождения больного ребенка.
4. Поиск участков в ДНК, ответственных за развитие патологии (одновременное обследование больного и его родственников позволяет обнаружить изменения в ДНК, ведущие к развитию болезни).
5. Установление отцовства. В приведенном на рисунке примере — «отпечатки пальцев ДНК» матери (М), ребенка (Р), и двух предполагаемых отцов (О₁ и О₂). Легко установить, что только один из них (О₂) может быть биологическим отцом данного ребенка.

Если ДНК присутствует в биологическом материале в минимальных количествах, используется способ искусственного умножения ДНК — **полимеразная цепная реакция (ПЦР)**. Для проведения ПЦР в пробирке смешиваются компоненты, необходимые для размножения ДНК: исследуемый материал (образец ДНК, который послужит матрицей), субстраты для синтеза (дезоксинуклеозидтрифосфаты), праймеры, ДНК-полимераза (Таq-полимераза). Каждый цикл удвоения ДНК включает в себя несколько этапов (рис 19.2).



1. Нагревание до 90 °С (денатурация ДНК).
2. Охлаждение до 55 °С (присоединение или «отжиг» праймеров).
3. Нагревание примерно до 72 °С (удвоение ДНК).

Затем цикл повторяется. В течение 3 часов можно получить 1 миллион копий ДНК для последующего анализа.

Метод используется в судебной медицине, позволяет выявлять носительство мутантных генов, широко применяется для диагностики инфекционных заболеваний (туберкулез, хламидиоз, цитомегаловирусная инфекция, СПИД и др.). ПЦР позволяет обнаружить возбудителя в биологическом материале даже тогда, когда другие методы оказываются неэффективны.

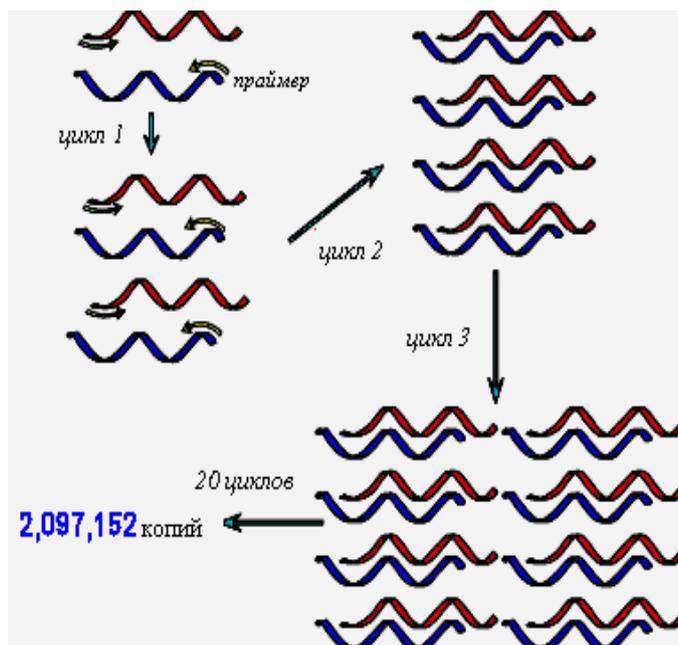
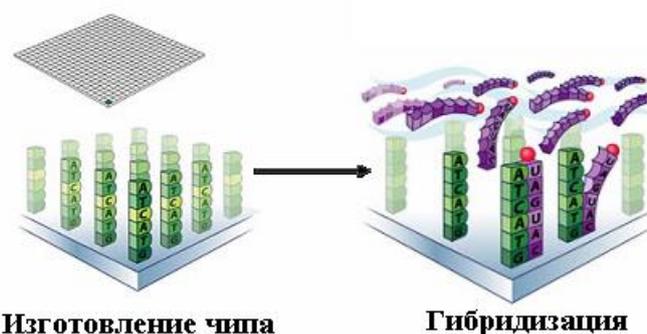


Рис. 19.2. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

ДНК-чипы (биочипы, DNA microarray technology)

Данная технология позволяет проводить анализ большого числа генов одновременно. ДНК-чип представляет собой пластинку, на которой зафиксированы небольшие одноцепочечные фрагменты ДНК. Эти фрагменты — комплементарные копии генов, анализ которых представляет интерес для исследователя. Метод основывается на проведении реакции гибридизации флуоресцентно-меченых исследуемых образцов ДНК с чипом. В дальнейшем проводится считывание информации и компьютерный анализ результатов.



Изготовление чипа

Гибридизация

Клонирование — способ получения большой популяции идентичных молекул, клеток, организмов — потомков одного предка.

Для клонирования отдельных генов используются технологии рекомбинантных ДНК: нужный ген на специальном носителе вводят в бактериальную клетку. В процессе размножения бактерий получают огромное число копий гена.

Вектор — носитель (плазмида или бактериофаг), в который может быть введена чужеродная ДНК с целью клонирования.

Плазмида — небольшая кольцевидная двухцепочечная ДНК, которая реплицируется независимо от ДНК хозяина.

Принципиальный подход к клонированию генов (рис. 19.3): в плазмиде создают дефект (брешь) с помощью рестриктазы. С помощью этой же рестриктазы вырезают участок ДНК с нужным геном. На рисунке приведены последовательности, распознаваемые рестриктазой *EcoRI*, и указаны сайты, где этот фермент производит «разрезание» ДНК. Благодаря образующимся «липким концам» происходит включение чужеродной ДНК в вектор, ДНК-лигаза восстанавливает целостность плазмиды, и образованная гибридная молекула помещается в бактериальную клетку.

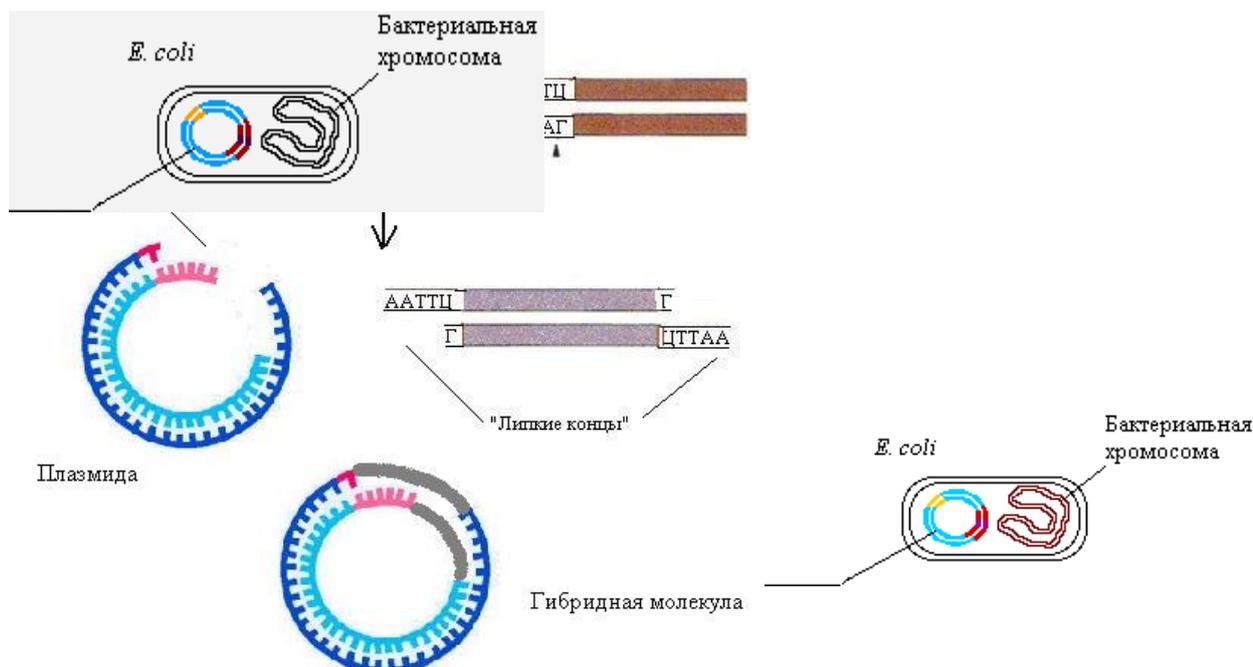


Рис. 19.3. Генная инженерия. Получение рекомбинантной ДНК

Экспрессия гена, включенного в плазмиду, приводит к образованию бактериями нужного белка, его можно выделить и использовать. Технологии рекомбинантных ДНК позволяют получать для медицинской практики вакцины, лекарственные препараты белковой природы (инсулин, соматотропный гормон, интерфероны, эритропоэтин, тканевый активатор плазминогена и др.).

Тема 20. ГОРМОНЫ. ОБЩИЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ

Гормоны — это класс регуляторных молекул, синтезируемых специальными клетками.

Классификация гормонов по химической структуре:

1. **Производные аминокислот:** производные тирозина: тироксин, трийодтиронин, дофамин, адреналин, норадреналин; производные триптофана: мелатонин, серотонин; производные гистидина: гистамин.

2. **Белково-пептидные гормоны:** полипептиды: глюкагон, кортикотропин, меланотропин, вазопрессин, окситоцин, пептидные гормоны желудка и кишечника; простые белки: инсулин, соматотропин, пролактин, паратгормон, кальцитонин; сложные белки (гликопротеины): тиреотропин, фоллитропин, лютропин.

3. **Стероидные гормоны:** кортикостероиды (альдостерон, кортизол, кортикостерон); половые гормоны: андрогены (тестостерон), эстрогены и прогестерон.

4. **Производные жирных кислот:** арахидоновая кислота и ее производные: простагландины, простациклины, тромбоксаны, лейкотриены.

Классификация гормонов по механизму действия:

1. Взаимодействующие с рецепторами на поверхности мембраны (пептидные гормоны, адреналин, эйкозаноиды);
2. Гормоны, взаимодействующие с внутриклеточными рецепторами (стероидные и тиреоидные гормоны).

Для гормонов характерны следующие **особенности биологического действия**:

1. низкая концентрация в крови (10^{-6} – 10^{-12} М);
2. регуляция секреции по принципу прямой и (или) обратной связи;
3. обязательная, высокоспецифичная связь с рецептором, включающим каскадный механизм усиления гормонального сигнала;
4. реализация клеточного ответа путем изменения количества или активности ферментов.

Гормональный сигнал способен «выключаться» в результате инактивирования **рецептора** путём его фосфорилирования, либо удаления с поверхности клетки (эндоцитоз). Множество разных сигналов, воспринимаемых клеткой, суммируется в один определённый ответ.

Рецепторы по своей химической природе являются белками и, как правило, состоят из нескольких доменов. Рецепторы можно подразделить на:

МЕМБРАННЫЕ	ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ
<ul style="list-style-type: none">• 7-ТМС• 1-ТМС• Ионные каналы: лигандзависимые, потенциалзависимые, щелевые контакты	<ul style="list-style-type: none">• Класс I – ядерные и цитозольные рецепторы, связанные с белками теплового шока (hsp)• Класс II – ядерные рецепторы, не связанные с белками теплового шока

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С 7-ТМС-РЕЦЕПТОРАМИ

Наиболее распространенная группа рецепторов (рецепторы α - и β -адренергические, гистамина, серотонина, гликопротеиновых гормонов, глюкагона, паратирина, кальцитонина, гормонов гипоталамуса). Механизм усиления гормонального сигнала, реализуемого через данный вид рецепторов достигается синтезом небольших молекул - вторичных посредников (цАМФ, ИТФ, ДАГ, Ca^{2+}).

Рецептор состоит из 7 трансмембранных спиральных сегментов и соединяющих их гидрофильных вне- и внутриклеточных петель. Последние содержат центры связывания с G-белками. Мембраносвязанный G-белок в неактивном состоянии — гетеротример ($\alpha\beta\gamma$), α -субъединица которого связана с ГДФ.

Известно приблизительно 20 классов G-белков, но максимально распространены:

G_s — активируют аденилатциклазу;

G_i — ингибируют аденилатциклазу;

G_q — активируют фосфолипазу С.

Связывание гормона с рецептором изменяет конформацию последнего, что приводит к замене ГДФ в α -субъединице на ГТФ и последующей диссоциации G-белка ($\alpha + \beta\gamma$). Передвигаясь по мембране α -субъединица взаимодействует с эффекторным белком-ферментом (аденилатциклазой, фосфолипазой С или каналом). Продолжительность эффекта определяется ГТФ-азной активностью $G\alpha$ -субъединицы.

Gs-белки

1. α -субъединица G_s -белка контактирует и активирует мембранный фермент — аденилатциклазу, катализирующий образование из АТФ внутриклеточного проводника сигнала

– цАМФ (рису 20.1). Повышение его концентрации в клетке кратковременно, цАМФ под действием фосфодиэстераз распадается до 5'-АМФ.

2. цАМФ, в свою очередь активирует цитозольный фермент протеинкиназу А, гетеротетрамер из 2-х регуляторных и 2-х каталитических субъединиц. Присоединение цАМФ к регуляторным субъединицам вызывает высвобождение каталитических.

3. Каталитические субъединицы протеинкиназы А:

- фосфорилируют ферменты, изменяя их каталитическую активность,
- активируют, фосфорилируя, фактор транскрипции CREB, взаимодействующий с цАМФ-респонсивным элементом ДНК и усиливающий транскрипцию определенных генов,
- вызывают открытие цАМФ-зависимых ионных каналов.

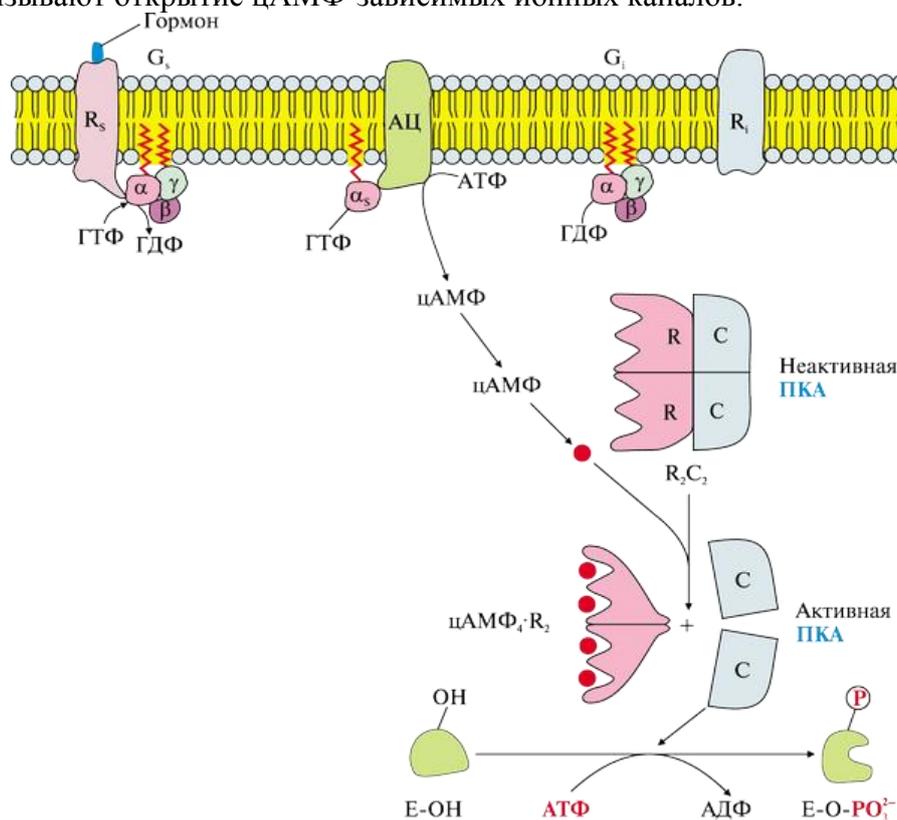


Рис. 20.1. Проведение гормонального сигнала через 7-ТМС-рецепторы и аденилатциклазную эффекторную систему

Gq-белки

1. α-Субъединица Gq-белка контактирует и активирует мембранный фермент — фосфолипазу С, расщепляющую фосфатидилинозитолдифосфат на инозитолтрифосфат (ИТФ) и диацилглицерол (ДАГ).

2. ИТФ связывается со своим рецептором на кальциосомах (лиганд-зависимый кальциевый канал), что приводит к открытию канала и выходу в цитозоль ионов Ca²⁺. Последние присоединяются к специальному связывающему белку кальмодулину или другим Ca-связывающим белком и образующийся комплекс оказывает влияние на ряд ферментов (адеанилатциклазу, ФЛА₂, множество киназ, NO-синтазу и др.), а также изменяет активность Ca²⁺-насосов.

3. ДАГ, остающийся в мембране, либо активирует протеинкиназу С, фосфорилирующую и тем самым модулирующую активность различных ферментов, либо служит источником арахидоновой кислоты-субстрата для синтеза простагландинов.

Модификация G-белков может сопровождаться патологическими проявлениями:

1. Холерный токсин приводит к постоянной активации аденилатциклазы (подавляя ГТФ-азную активность α-субъединицы G_s-белка).

2. Коклюшный токсин вызывает модификацию Gi-белка, что препятствует его взаимодействию с рецепторами.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С 1-ТМС-РЕЦЕПТОРАМИ

1-ТМС-рецепторы — это интегральные мембранные белки с одним трансмембранным сегментом и глобулярными доменами на вне - и внутриклеточной поверхности мембраны. Их можно подразделить на:

- рецепторы, обладающие каталитической активностью (гуанилатциклазы, тирозинкиназы, протеинфосфатазы, серин/треонин киназы);
- рецепторы, не обладающие каталитической активностью, но ассоциированные с цитозольными тирозинкиназами.

ТИРОЗИНКИНАЗЫ

Самой распространённой группой 1-ТМС-рецепторов являются тирозинкиназы. Через них свое действие опосредуют инсулин, колониестимулирующий фактор макрофагов, тромбоцитарный фактор роста и др. К особенностям проведения сигнала посредством тирозинкиназ относятся:

1. Димеризация рецептора (**исключение: инсулин и инсулиноподобные факторы роста**). После связывания с лигандом рецептор димеризуется, и один рецептор катализирует фосфорилирование остатков ТИР другого.

2. Прямой контакт между участниками, осуществляемый при помощи специфических адапторных белков (имеют SH-домены, способные взаимодействовать с фосфорилированными аминокислотами). Так, адапторный белок **Grb2** имеет два SH-домена: SH2-домен для связи с фосфорилированным рецептором и SH3-домен для связи с **SOS**-белком — фактором обмена гуаниловых нуклеотидов. SOS далее вызывает замену ГДФ на ГТФ в неактивном белке Ras-ГДФ, в результате чего образуется активный **Ras-ГТФ**, передающий сигнал далее. Ras-белок является белком-реле, так как, обладая ГТФ-азной активностью (ГТФ → ГДФ + Фн), способен инактивироваться и выключить трансдукцию сигнала. В этом ему может помочь **БАГ**-белок (белок, активирующий ГТФазу), усиливающий степень гидролиза. От активного Ras-белка сигнал передаётся Raf-белок (сер/тре-киназа), далее активируется MEK (тир/сер/тре-киназа) и наконец МАП-киназа (митоген активируемая протеининаза), фосфорилирующая различные цитозольные белки-мишени: протеинкиназу pp90S6, белки рибосом, фосфолипазу A₂, активаторы транскрипции (рис. 20.2).

Протеинкиназа pp90S6, в частности, фосфорилирует протеинфосфатазу, связанную с гранулами гликогена. При фосфорилировании протеинфосфатаза активируется и дефосфорилирует киназу гликогенфосфорилазы, гликогенфосфорилазу и гликогенсинтазу. Дефосфорилированные формы киназы фосфорилазы и гликогенфосфорилазы неактивны, вследствие чего мобилизация гликогена замедляется. Гликогенсинтаза, напротив, активируется, и синтез гликогена ускоряется.

Являясь классической тирозинкиназой, рецептор инсулина имеет ряд особенностей:

1. Исходно — димер (состоит из α и β цепей. β -Цепь инсулина обладает *тирозинкиназной* активностью).

2. После присоединения инсулина рецептор автофосфорилируется и фосфорилирует специальные белки — субстраты инсулинового рецептора (IRS₁ и IRS₂). Активация IRS₂ запускает вышеописанный каскад реакций, в то время как активация IRS₁ приводит к запуску протеинкиназы В- и протеинкиназы С ζ -зависимого сигнального пути. Активация данных протеинкиназ стимулирует транслокацию ГЛЮТ 4 в плазматическую мембрану и таким образом ускоряет трансмембранный перенос глюкозы в клетки жировой и мышечной ткани. В жироро-

вой ткани их активация приводит к торможению липолиза, вследствие стимуляции фосфодиэстеразы и уменьшения внутриклеточной концентрации цАМФ.

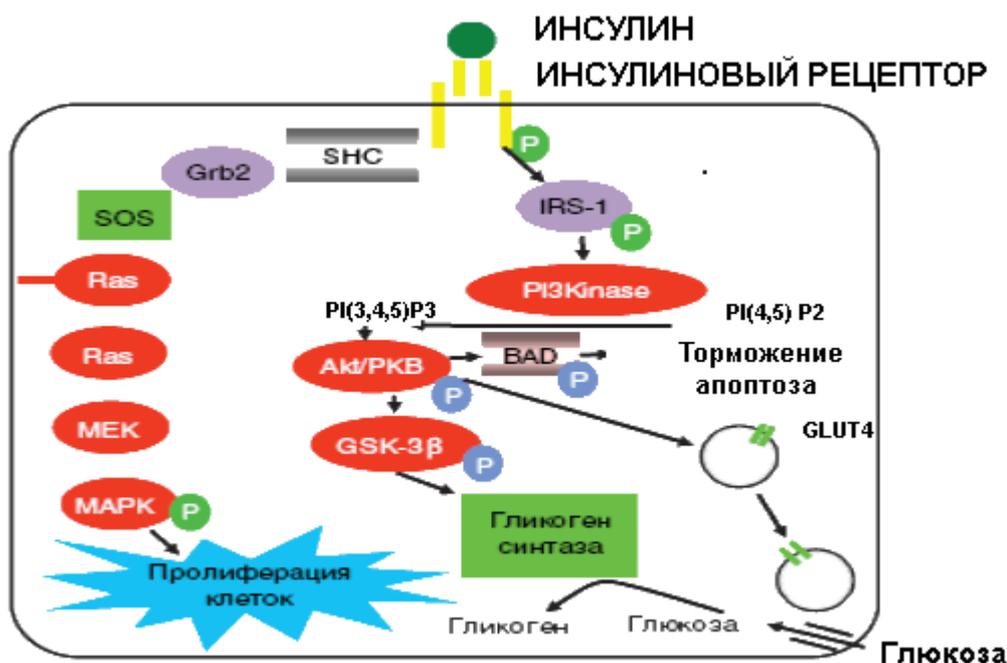


Рис. 20.2. Проведение гормонального сигнала после связывания инсулина с рецептором

ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ

Еще одним видом 1-ТМС-рецептора являются гуанилатциклазы, встречающиеся в сердце, легких, почках, надпочечниках, эндотелии кишечника, сетчатке и др. тканях и органах. Различают растворимую (цитозольную) и мембраносвязанную формы фермента.

1. Цитозольная гуанилатциклаза активируется монооксидом азота — NO, образующимся в организме из аргинина под действием фермента NO-синтазы. Также источниками NO являются нитраты и нитроглицерин.

2. Мембраносвязанная гуанилатциклаза активируется предсердным Na-уретическим пептидом, продуцирующимся кардиомиоцитами в ответ на растяжение предсердий и стимуляцию β-адренорецепторов.

Функцией гуанилатциклазы является образование из ГТФ циклического ГМФ. цГМФ в свою очередь:

1. Фосфорилирует белки, например, киназу лёгкой цепи миозина, что приводит к релаксации гладких мышц сосудов и снижению кровяного давления.

2. В дистальном извитом канальце нефрона вызывает цГМФ-зависимое фосфорилирование эпителиальных натриевых каналов, что угнетает реабсорбцию ионов натрия и тем самым усиливает диурез.

3. Открывает цГМФ-зависимые $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ионные каналы для света и одорантов.

4. Повышает активность цАМФ-зависимой фосфодиэстеразы, разрушающей цАМФ (т.е. является антагонистом цАМФ).

1-ТМС-РЕЦЕПТОРЫ, НЕ ОБЛАДАЮЩИЕ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Посредством данного сигнального пути осуществляют свое действие соматотропный гормон, пролактин и цитокины. После соединения лиганда с рецептором происходит димеризация рецептора и связывание димера с Янус-киназами (JAK-белки), имеющими 2 домена с тирозинкиназной активностью. Одним доменом JAK-белки фосфорилируют и, тем самым, активируют рецептор, в то время как другой домен фосфорилирует остатки Тир в STAT-

белках (Signal transducer and activator of transcription), которые, в свою очередь, димеризуются и транспортируются в ядро, где активируют транскрипцию определенных генов (рис. 20.3).

Кроме STAT-белков Янус-киназы способны фосфорилировать инсулиноподобные факторы роста IGF₁ и IGF₂, что включает МАП-киназный путь.

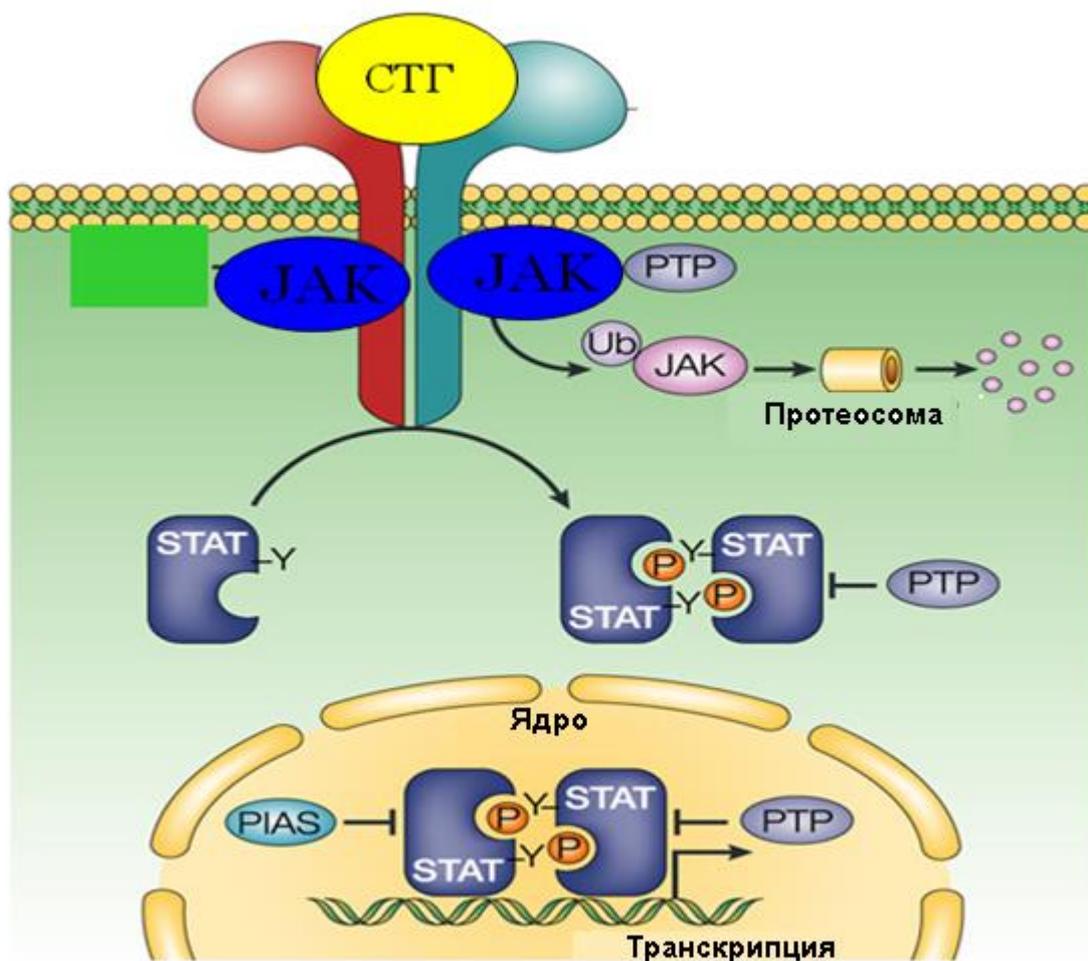


Рис. 20.3. Сигнальная трансдукция соматотропного гормона

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С ВНУТРИКЛЕТОЧНЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ

КЛАСС I

К данному классу относятся ядерные и цитозольные рецепторы, связанные с белками теплового шока (hsp 90). Посредством цитозольных рецепторов I класса реализуют свое действие кортикостероиды, андрогены и прогестерон, а ядерных — эстрогены.

Рецепторы вышеперечисленных гормонов имеют сходное строение, в их составе различают (рис. 20.4):

Домен А/В — регуляторный домен - активирующий факторы транскрипции

Домен С — домен, связывающий ДНК - имеет два Zn-пальца, участвующие в димеризации рецептора и узнающие специфический «гормон респонсивный элемент» ДНК

Домен Е — домен, связывающий гормон и взаимодействующий с белками теплового шока (белками-шаперонами). В «молчащем» состоянии (вне связи с лигандом) белки теплового шока закрывают Zn-пальцы рецептора, инактивируя его.

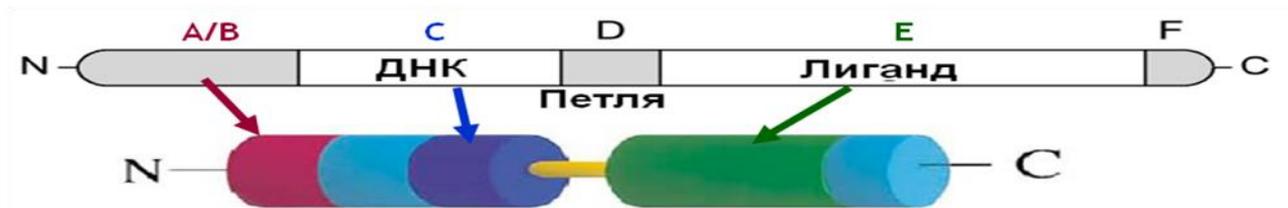


Рис. 20.4. Строение внутриклеточного рецептора, связанного с белками теплового шока

Взаимодействие гормона с центром связывания на С-концевом участке полипептидной цепи рецептора вызывает конформационные изменения и освобождение рецептора от шаперона. Происходит объединение 2 молекул рецептора с образованием гомодимера (рис. 20.5). Димер рецептора транслоцируется в ядро (в случае цитозольных рецепторов), где узнаёт специфическую последовательность нуклеотидов, расположенную в промоторной области гена. Активация транскрипции включает взаимодействие доменов рецептора с коактиваторами и стимуляцию РНК полимеразы II.

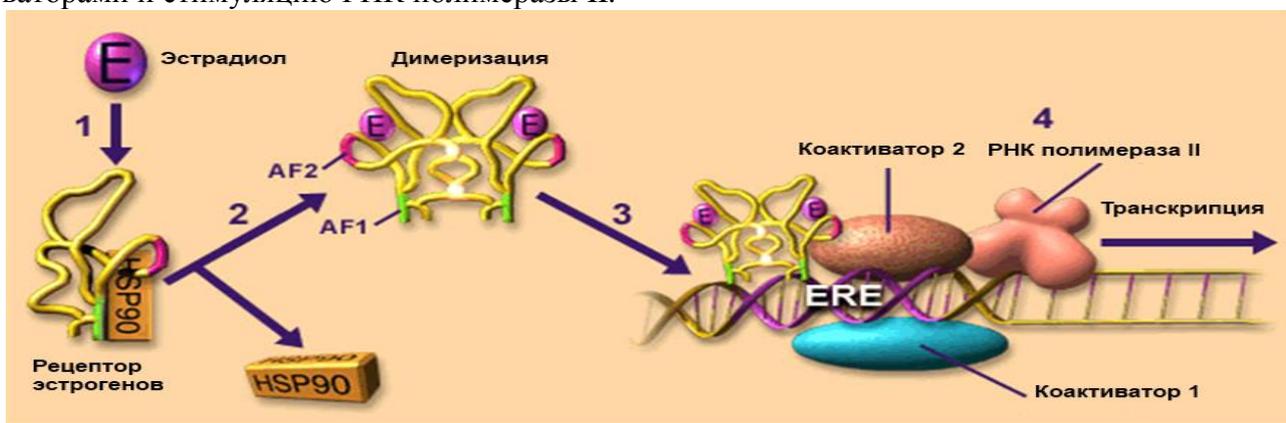


Рис. 20.5. Механизм реализации гормонального сигнала эстрогенов

КЛАСС II

К данному классу относятся ядерные рецепторы, не связанные с белками теплового шока. Посредством рецепторов II класса реализуют свое действие тиреоидные гормоны, ретиноевая кислота и витамин D. Рецепторы тиреоидных гормонов всегда связаны с ДНК. В отсутствие гормонов соответствующие рецепторы ингибируют экспрессию генов (рис. 20.6). Взаимодействие гормона с рецептором сопровождается образованием гетеродимерного комплекса с рецептором ретиноевой кислоты, при этом происходит снятие репрессии, присоединение коактиватора, что проявляется в индукции синтеза белка (рис.20.7).

- T3

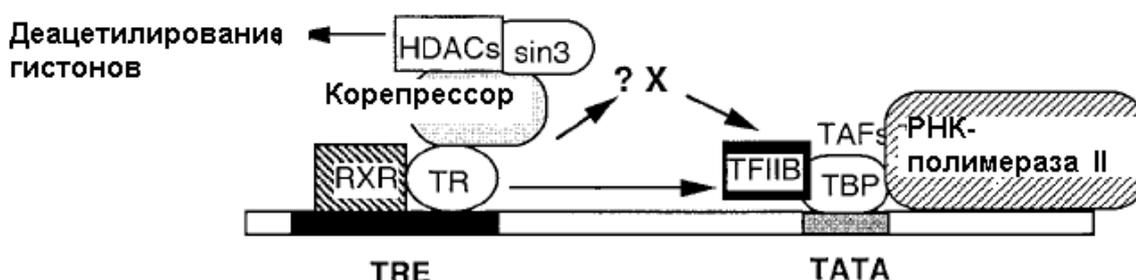


Рис. 20.6. Механизм реализации гормонального сигнала в отсутствие йодсодержащих тиреоидных гормонов

+ T3

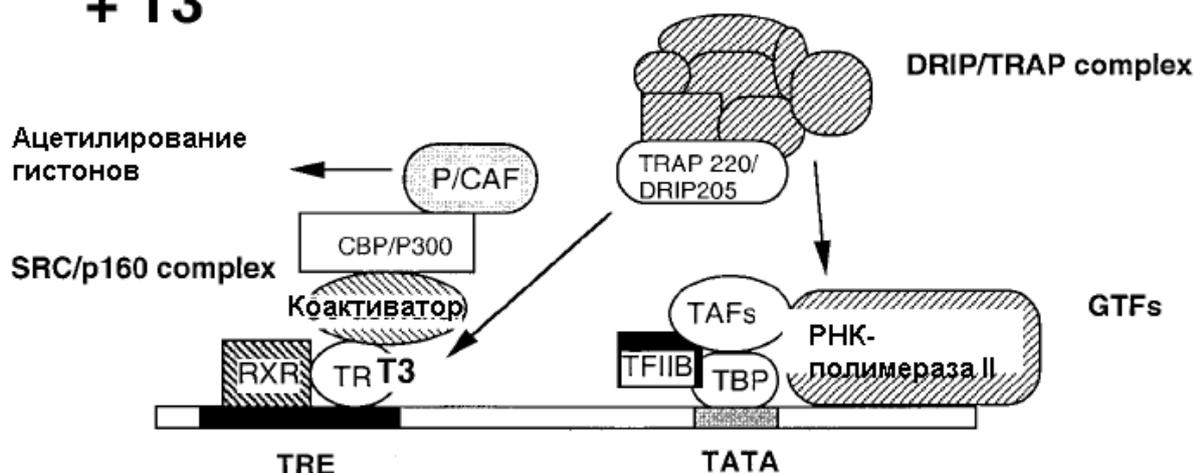


Рис. 20.7. Механизм реализации гормонального сигнала в присутствии йодсодержащих тиреоидных гормонов

ГОРМОНЫ ГИПОТАЛАМУСА

Все гормоны гипоталамуса имеют пептидное строение и делятся на 3 подкласса:

1. Рилизинг-гормоны (либерины) — стимулируют секрецию гормонов передней доли гипофиза. К этой группе относятся кортиколиберин, тиреолиберин, люлиберин, фоллилиберин, соматолиберин, пролактолиберин, меланолиберин. Реализуют свой эффект посредством 7-ТМС-рецепторов, связанных с Gs-белком.

2. Статины — тормозят секрецию гормонов передней доли гипофиза - соматостатин, пролактостатин и меланостатин. Реализуют свой эффект посредством 7-ТМС-рецепторов, связанных с Gi-белком.

3. Гормоны задней доли гипофиза:

- А. Вазопрессин (антидиуретический гормон) — влияющий в основном на клетки трех типов: клетки почечных канальцев, гладкомышечные клетки сосудов и клетки печени. Рецепторы АДГ в почках известны как V₂-рецепторы (подробнее см. раздел «Водно-минеральный обмен»). В кровеносных сосудах и печени вазопрессин активирует V₁-рецепторы, связанные с Gq-белком, активируется ФЛС, что вызывает рост внутриклеточной

концентрации Ca^{2+} и вазоконстрикцию. Таким образом, вазопрессин участвует в гомеостатическом поддержании артериального давления. В печени эффект АДГ сходен с таковым глюкагона, т.е. он стимулирует гликогенолиз и глюконеогенез.

Б. Окситоцин — действуя посредством активации 7-ТМС-рецепторов, связанных с Gq-белком, вызывает рост внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и повышает сократительную активность гладкой мускулатуры матки. В лактирующей грудной железе окситоцин вызывает сокращение миоэпителиальных клеток, окружающих альвеолы и протоки молочной железы. В миндалевидном теле, вентральной части гипоталамуса, стволе мозга человека также обнаружены рецепторы к окситоцину, отвечающие за формирование полового поведения, моногамность, материнский инстинкт.

ГОРМОНЫ АДЕНОГИПОФИЗА

К этой группе гормонов относятся следующие гормоны белково-пептидной природы:

1. Кортикотропин, гонадотропины (фоллитропин и лютропин), тиреотропин реализуют свое действие через 7 ТМС-рецепторы.
2. Пролактин и соматотропин — через 1-ТМС-рецепторы, не обладающие собственной каталитической активностью.

Так, **тиреотропный гормон** действует на 7-ТМС-рецепторы тироцитов, активируя АЦ и ФЛС. Активация АЦ и последующее увеличение уровня цАМФ усиливают потребление йода клетками железы и повышают активность тиреопероксидазы, участвующей в биосинтезе T_3 и T_4 . Активация ФЛС необходима для секреции образовавшихся гормонов в кровоток. ТТГ увеличивает также экспрессию гена гексокиназы-1. Спустя несколько часов после введения ТТГ увеличивается синтез ДНК, иРНК, ускоряется синтез белков и фосфолипидов, которые необходимы для роста и увеличения числа тироцитов и образования фолликулов. Тиреотропин воздействует и на периферические рецепторы, повышая активность селензависимой монодейодиназы периферических тканей и чувствительность рецепторов тканей к тиреоидным гормонам.

АКТГ — действует на рецепторы адренокортикальных клеток коры. Рецепторы к АКТГ — это 7-ТМС-(R), включающие механизм синтеза цАМФ. Под контролем данного механизма находится поступление в клетки холестерина в составе ЛПНП, гидролиз в коре надпочечников эфиров холестерина, транспорт холестерина в митохондрии (синтез STAR-протеина), синтез ферментов стероидогенеза (десмолаза). Также АКТГ присуща жиромобилизующая и меланоцитстимулирующая активность.

Гонадотропины действуют на 7-ТМС-рецепторы, ассоциированные с Gs-белком, т.е. активируют АЦ систему. У женщин ФСГ стимулирует рост и созревание фолликулов яичника, а также образование рецепторов ЛГ на поверхности тека-клеток и клеток гранулезы, стимулируя таким образом синтез эстрогенов. ЛГ способствует синтезу андрогенов в тека-клетках, которые затем под действием ФСГ превращаются в эстрогены в клетках гранулезы. В больших дозах ЛГ стимулирует разрыв доминантного фолликула, т.е. непосредственно овуляцию. После овуляции ЛГ способствует развитию и поддержанию функции желтого тела и стимулирует синтез прогестерона в лютеинизированных клетках гранулезы. У мужчин ФСГ стимулирует эпителий канальцев яичка и активно влияет на сперматогенез. Он действует на клетки Сертоли и стимулирует продукцию ими белков и питательных субстратов, необходимых для созревания сперматозоидов. ЛГ инициирует развитие и созревание интерстициальных клеток (клеток Лейдига) и стимулирует биосинтез ими андрогенов.

Гормон роста (СТГ) — опосредует свое действие через 1-ТМС-рецепторы по описанному выше механизму. Срочный эффект СТГ (инсулиноподобный), реализуемый посредством IGF, проявляется в усилении липогенеза и гликолиза. Продолжительное действие СТГ, напротив, активирует липолиз и глюконеогенез, снижает поступление в клетку глюкозы, но

усиливает транспорт аминокислот, активность ДНК-полимеразы, синтез белков в костях, хрящах, внутренних органах. Патология проведения гормонального сигнала: синдром Ларона – дефект рецептора к СТГ, африканские пигмеи — пострецепторное нарушение передачи сигнала.

Лактогенный гормон (пролактин) — также связывается с 1-TMS-рецептором и передает сигнал аналогично СТГ. Пролактин — это анаболический гормон, усиливающий синтез лактальбумина, казеина, триацилглицеролов, фосфолипидов и снижающий экскрецию воды. Пролактин стимулирует иммунозащитные реакции, удлиняет лютеиновую фазу менструального цикла, тормозит овуляцию и наступление беременности, путем взаимодействия с рецепторами к пролактину в клетках Лейдига регулирует в них синтез тестостерона.

ЙОДСОДЕРЖАЩИЕ ГОРМОНЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В основе структуры данных гормонов лежит тирониновое ядро, состоящее из двух конденсированных молекул L-тирозина, иодированное 3 или 4 атомами йода. В фолликулах щитовидной железы образуются 2 основных гормона: T_3 (3,5,3'-трийодтиронин) и T_4 (3,5,3',5'-тетрайодтиронин).

Поступление I в ЩЖ происходит при помощи Na^+/I^- симпорта, для которого используется энергия Na^+/K^+ -АТФазы. Далее тиреопероксидаза катализирует окисление иодид-иона и присоединение йода к остаткам тиромина тиреоглобулина с образованием моно- и дийодтирозинов, которые далее конденсируются, приводя к формированию T_3 и T_4 . При этом молекулы тиреоглобулина перемещаются в просвет фолликула, где накапливаются; секреция гормонов происходит при участии гидролаз лизосом эпителиальных клеток.

В периферических тканях T_4 превращается в более метаболически активный T_3 под действием селенсодержащей 5'-дейодазы. В плаценте работает 5-дейодаза и образуется малоактивный rT_3 , что является механизмом защиты плода от тироксина матери.

Тиреоидные гормоны действуют на внутриклеточные рецепторы II класса по описанному выше механизму. Результатом является активация таких генов синтетазы жирной кислоты, малик-фермента, фосфоенолпируват карбоксиказы, белков разобщения окислительного фосфорилирования, гормона роста, и в то же время, ингибирование генов пролактина, ТТГ, тиреолиберина.

Биологическим ответом организма на действие тиреоидных гормонов является **усиление** основного обмена (повышает потребление O_2 клетками, кроме мозга, РЭС, гонад), теплопродукции на холоде, эффекта катехоламинов на сердце, моторики ЖКТ, стимуляция роста и клеточной дифференцировки. Тиреоидные гормоны необходимы для нормального развития ЦНС плода.

ГОРМОНЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Инсулин — анаболический гормон, способствующий сохранению глюкозы, жирных кислот и аминокислот и **глюкагон** — катаболический гормон, напротив, мобилизующий глюкозу, жирные кислоты и аминокислоты из тканевых запасов в кровоток.

Инсулин — состоит из двух полипептидных цепей (А-цепь содержит 21 аминокислоту, В-цепь — 30), связанных двумя дисульфидными мостиками.

Рецепторы к инсулину относятся к 1-TMS-рецепторам, тирозинкиназам и передают гормональный сигнал, описанным выше механизмом. Эффекты инсулина тканеспецифичны, многообразны, имеют временную зависимость:

1) *быстрый* (сек) — ускорение транспорта глюкозы, аминокислот и калия в инсулин-зависимые ткани;

2) *промежуточный* (мин) — стимуляция синтеза белков и торможение их распада, активирование ферментов гликолиза и гликогенсинтазы, угнетение ферментов глюконеогенеза и фосфоорилазы;

3) *длительный* (ч) — увеличение синтеза иРНК, ферментов липогенеза и др.

Комплекс нарушений, вызванных недостаточностью функций инсулина, называется **сахарным диабетом**. Две формы диабета:

1) *Инсулинзависимый сахарный диабет* (диабет 1-го типа), развивается вследствие дефицита инсулина, вызываемого аутоиммунным разрушением β -клеток поджелудочной железы;

2) *Инсулиннезависимый сахарный диабет* (диабет 2-го типа), характеризуется снижением чувствительности к инсулину. Он встречается чаще, развивается у пожилых лиц и, как правило, ассоциирован с ожирением.

Характерный признак диабета — гипергликемия, возникающая из-за невозможности транспорта глюкозы в клетки инсулинзависимых тканей. Концентрация глюкозы в плазме крови больного диабетом после глюкозной нагрузки значительно выше, чем у здорового, а возвращение к начальному уровню проходит медленнее. Гипергликемия >10 ммоль/л превышает реабсорбционные возможности почек и становится причиной глюкозурии. Выделение осмотически активных молекул глюкозы влечет за собой потерю больших количеств воды (осмотический диурез). Дегидратация организма приводит к развитию дефицита катионов натрия, калия, кальция и магния. У больного появляется жажда, полиурия, слабость, повышенная утомляемость, мышечные подергивания, сердечные аритмии и др.

В силу недостаточности в клетках **глюкозы** нарушается гликолиз и стимулируется образование глюкозы из аминокислот (глюконеогенез), поставляемых за счет активации процессов катаболизма белков, вследствие чего больной теряет вес. Потребности в энергии удовлетворяются за счет увеличения скорости липолиза и, как результат, возросшее образование в печени кетоновых тел, их накопление в крови, так как скорость образования превышает возможности клеток по их использованию. Это приводит к развитию метаболического ацидоза.

Длительная гипергликемия способствует также неферментативному гликозилированию белков. В результате нарушается функционирование многих жизненно важных белков, и как следствие развиваются многочисленные патологические изменения в разных органах, например, диабетическая нефропатия.

Определение уровня гликозилированной формы гемоглобина — HbA1C — является маркером для оценки эффективности лечения инсулином.

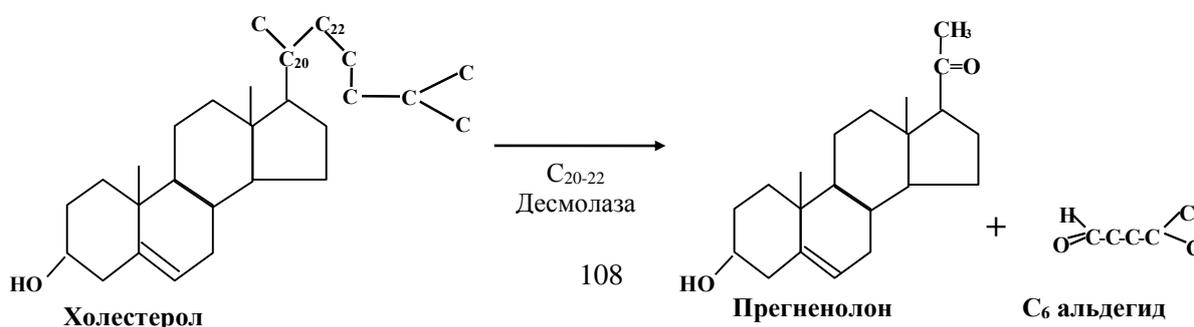
Глюкагон — пептид (29 аминокислот), синтезируемый α -клетками поджелудочной железы и опосредующий свое действие, главным образом, через специфические 7-ТМС-рецепторы печени, по АЦ механизму, приводящему к активации гликогенфосфорилазы и ингибированию гликогенсинтазы. Таким образом, глюкагон в печени, стимулируя распад гликогена, способствует поддержанию глюкозы в крови на постоянном уровне. Глюкагон также активизирует глюконеогенез, липолиз и кетогенез в печени.

СТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ

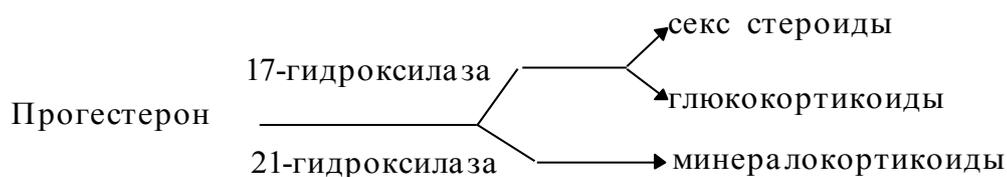
Стероидные гормоны синтезируются из холестерина, главным образом, в коре надпочечников, тестикулах, яичниках и плаценте и действуют на внутриклеточные рецепторы I класса. Общими в синтезе всех стероидных гормонов являются первые две реакции:

1. Превращение холестерина в прегненолон в результате отщепления 6-углеродного фрагмента от боковой цепи (ключевой фермент — C_{20-22} десмолаза, активируется АКГГ).

2. Окисление и изомеризация прегненолона в прогестерон.



Прогестерон далее подвергается гидроксигированию в положениях С-17 или С-21, в результате чего образуются различные функциональные классы стероидов.



Глюкокортикоиды (кортизол и гидрокортизон):

- стимулируют образование глюкозы в печени, усиливая глюконеогенез, и, одновременно, увеличивая скорость освобождения аминокислот - субстратов глюконеогенеза из периферических тканей;

- в гепатоцитах стимулируется синтез белков и нуклеиновых кислот, в то время как, в мышцах, лимфоидной и жировой ткани, коже и костях их синтез, напротив, тормозится.

- избыточное количество кортизола стимулирует липолиз в конечностях и липогенез в других частях тела (лицо и туловище);

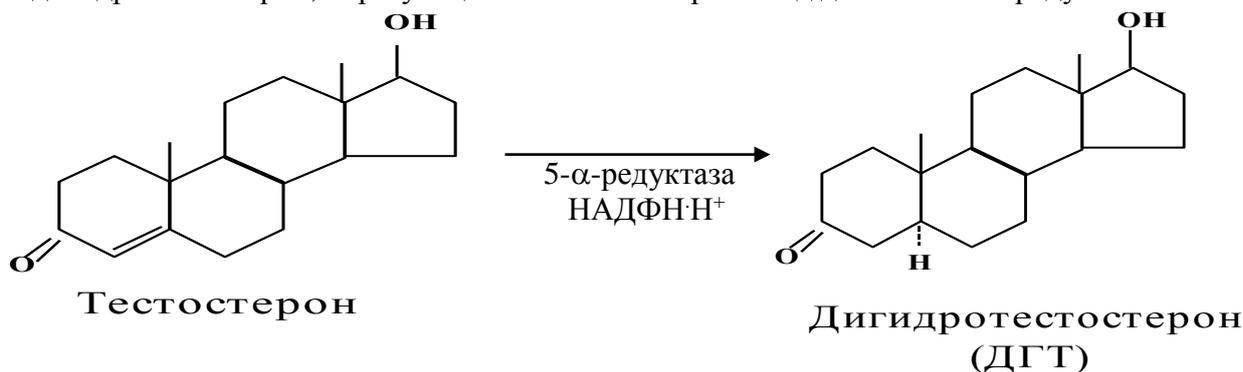
- при высокой концентрации глюкокортикоиды подавляют воспалительную реакцию, снижая число циркулирующих лейкоцитов, а также индуцируя синтез липокортинов, которые ингибируют фосфолипазу А₂ и угнетают синтез медиаторов воспаления - простагландинов и лейкотриенов;

- высокая концентрация глюкокортикоидов вызывает также торможение роста и деления фибробластов, а также синтез коллагена и фибронектина, в связи с чем для гиперсекреции глюкокортикоидов типичны истончение кожи, плохое заживление ран, мышечная слабость и атрофия мышц.

Минералокортикоиды (альдостерон) регулируют реабсорбцию Na⁺ и воды, увеличение секреции K⁺, H⁺, повышение кровяного давления (подробнее см. раздел «Водно-минеральный обмен»).

Андрогены (изомеры дигидроэпиандростерон, андростендион и тестостерон) образуются из 17-гидроксипрогестерона благодаря отрыву боковой цепи с помощью С₁₇₋₂₀ лиазы.

Однако в большинстве периферических тканей основным активным андрогеном является дигидротестостерон, образующийся из тестостерона под действием 5α-редуктазы.



Мужские половые гормоны влияют на дифференцировку тканей, развитие вторичных половых признаков, участвуют в процессах сперматогенеза. Они оказывают выраженное анаболическое действие, усиливая процессы синтеза белков, что выражается в увеличении мышечной массы, росте костей; способствуют задержке натрия, калия, воды, кальция, сульфата и фосфата, стимулируют эритропоэз.

Эстрогены (эстрадиол, эстрон, эстриол) синтез эстрогенов осуществляется из андро-

генов под действием ароматазного комплекса. Данные гормоны участвуют в формировании женского облика, улучшают трофику кожи, определяют рост молочной железы, матки и пролиферацию эндометрия, усиливают кальцификацию костей, индуцируют синтез факторов свертывающей системы крови.

Тема 21. БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ

Печень играет центральную роль в обмене веществ. У взрослого человека масса печени составляет $\approx 1,5$ кг, при этом более 70 % приходится на долю воды. Из сухого остатка свыше 50 % составляют белки, 90 % из них — глобулины. В печени содержатся 100-150 г гликогена и многие ферменты. Около 5 % от массы печени составляют липиды (триацилглицеролы, фосфолипиды, холестерол),

ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ

1. Гомеостатическая. Печень поддерживает постоянный состав крови (гомеостаз). Всасывание питательных веществ из желудочно-кишечном тракте в кровь происходит непостоянно, в связи с чем в портальном круге кровообращения могут наблюдаться изменения концентраций веществ в разные периоды времени, однако благодаря гомеостатической функции печени концентрации важнейших метаболитов (глюкозы, аминокислот и др.) в большом круге кровообращения практически постоянны.

2. Роль печени в обмене углеводов. Основная роль печени в углеводном обмене заключается в обеспечении постоянства концентрации глюкозы в крови. Это достигается благодаря регуляции процессов утилизации и образования глюкозы в печени, таких как:

- синтез и распад гликогена;
- глюконеогенез (синтез глюкозы из лактата, глицерола, аминокислот и других углеводовных источников);
- превращение гексоз (галактозы и фруктозы) в глюкозу;
- пентозофосфатный путь;
- образование и использование глюкуроновой кислоты.

3. Роль печени в обмене белков. Освобождающиеся в процессе пищеварения аминокислоты попадают с током крови в печень и используются для:

- синтеза большинства белков плазмы: альбуминов, глобулинов, транспортных, свертывающей системы и фибринолиза;
- образования α -кетокислот путём трансаминирования и окислительного дезаминирования аминокислот;
- глюконеогенеза (гликогенные аминокислоты);
- синтеза кетонных тел (кетогенные и смешанные аминокислоты);
- получения энергии, подвергаясь превращениям в цикле трикарбонных кислот;
- синтеза мочевины;
- синтеза мочевой кислоты;
- синтеза креатина, холина.

4. Роль печени в обмене липидов. Печень играет ключевую роль в метаболизме липидов, так как в печени:

- синтезируются, окисляются, удлиняются и укорачиваются жирные кислоты, поступающие с пищей или образующиеся при распаде простых и сложных липидов;
- синтезируются и распадаются триацилглицеролы и фосфолипиды;

- синтезируются ЛПОНП и ЛПВП;
- метаболизм остатков хиломикрон, ЛПОНП, ЛПНП и ЛПВП;
- синтезируется холестерол (90 % из общего количества в организме);
- синтезируются желчные кислоты, которые входят в состав желчи, необходимой для переваривания липидов в кишечнике;
- синтезируются кетоновые тела (только в печени!).

5. Роль печени в обмене витаминов.

- всасывание жирорастворимых витаминов (желчные кислоты), их депонирование и транспорт (липопротеины);
- активация витаминов: каротин → витамин А, холекальциферол → 25-гидроксихолекальциферол (предшественник витамина D₃);
- депонирование витамина В₁₂.

5. Антитоксическая функция. Поступающие в организм ксенобиотики (чужеродные вещества, в том числе лекарственные средства) и образующиеся в самом организме токсичные или непригодные для дальнейших превращений продукты метаболизма обезвреживаются в печени.¹

6. Роль печени в обмене желчных пигментов. Продолжительность жизни эритроцитов составляет приблизительно 120 дней, после чего происходит их разрушение и освобождение гемоглобина. При разрушении гемоглобина его белковая часть (глобин) гидролизуеться до аминокислот. Порфириновая часть гема (без железа) деградирует до образования желчных пигментов, которые выводятся из организма. Главным органом, в которых осуществляется разрушение эритроцитов, является печень, селезёнка и костный мозг. *Распад гемоглобина протекает* в макрофагах, в звёздчатых ретикулоэндотелиоцитах, а также в гистиоцитах соединительной ткани *по следующей схеме* (рис. 21.1):

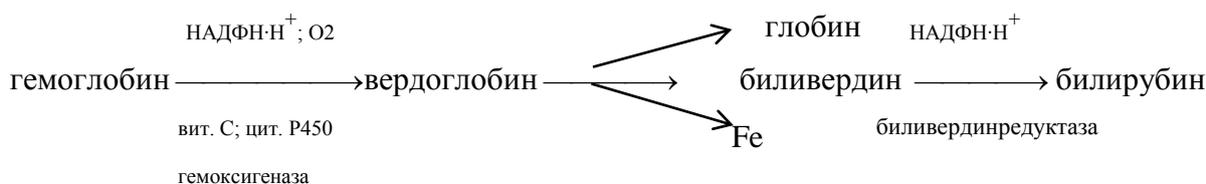


Рис. 21.1. Распад гемоглобина

Распад гемоглобина протекает с образованием гемоглобино-гаптоглобинового комплекса, который подвергается ферментативному окислению. Первая реакция катаболизма гема происходит при участии НАДФН-зависимого ферментативного комплекса **гемоксигеназы** (гем индуцирует транскрипцию гена гемоксигеназы). Ферментная система локализована в мембране ЭПР. В результате образуется вердоглобин (пигмент зеленого цвета). От вердоглобина освобождается атом железа и белок и образуется линейный тетрапиррол — **биливердин** (пигмент зеленого цвета) и монооксид углерода. Ионы железа, освобожденные при распаде гема, могут быть использованы для синтеза новых молекул гемоглобина или для синтеза других железосодержащих белков. Биливердин восстанавливается до билирубина

¹ Метаболизм ксенобиотиков подробно рассмотрен в разделе «Фармацевтическая биохимия» настоящего пособия.

НАДФН-зависимым ферментом **биливердинредуктазой**. Билирубин образуется не только при распаде гемоглобина, но также при катаболизме других гемсодержащих белков, таких как цитохромы и миоглобин. Билирубин, образованный в клетках РЭС (селезёнки и костного мозга), не растворяется в воде, токсичен, не проходит через почечные мембраны. Он составляет около 75% общего билирубина крови, по крови транспортируется в комплексе с альбумином. Этот билирубин называют **непрямым** (он даёт непрямую реакцию с диазореактивом Эрлиха), а также свободным, или **неконъюгированным**. Каждая молекула альбумина связывает 3 молекулы билирубина, одна из которых связана с белком более прочно (более высокое сродство), чем другие. При сдвиге рН крови в кислую сторону (повышение концентрации кетоновых тел, лактата) изменяются заряд, конформация альбумина, снижается сродство к билирубину. Поэтому билирубин, связанный с альбумином непрочно, может вытесняться из центров связывания и образовывать комплексы с коллагеном межклеточного матрикса и липидами мембран. Ряд лекарственных соединений конкурирует с билирубином за высокоаффинный, имеющий высокое сродство центр альбумина. Дальнейший метаболизм билирубина осуществляется в печени, где происходит процесс соединения (конъюгация) непрямого билирубина с 2 молекулами глюкуроновой кислотой при участии фермента УДФ-глюкуронилтрансферазы. Донором глюкуроновой кислоты является УДФ-глюкуронат. Индуктором синтеза УДФ-глюкуронилтрансферазы служит фенobarбитал. Образовавшийся билирубиндиглюкуронид называется **прямой, связанный, или конъюгированный билирубин**. Он не токсичен, растворяется в воде, проходит через почечный барьер, даёт прямую реакцию с диазореактивом. В норме в крови его содержание не более 25% от общего билирубина. Секреция конъюгированного билирубина в жёлчь идёт по механизму активного транспорта, т.е. против градиента концентрации. Поступившие с желчью билирубинглюкурониды в кишечнике гидролизуются специфическими бактериальными ферментами β-глюкуронидазами, которые гидролизуют связь между билирубином и остатком глюкуроновой кислоты. Освободившийся в ходе этой реакции билирубин восстанавливается с образованием *мезобилирубина*. Последний в дистальных отделах тонкого кишечника под действием кишечной микрофлоры восстанавливается с образованием *уробилиногена* (бесцветное тетрапиррольное соединение). Часть уробилиногена в тонкой кишке всасывается и через систему воротной вены переносится в печень, расщепляясь там до дипирролов. Основное количество *уробилиногена* в толстом кишечнике при участии анаэробной микрофлоры восстанавливается до *стеркобилиногена*. 80% стеркобилиногена выделяется с калом, окисляясь кислородом воздуха с образованием *стеркобилина*, придающего характерную окраску стулу. Часть стеркобилиногена адсорбируется в средней и нижней геморроидальных венах, поступает в систему нижней полой вены, а затем выводится с мочой. В норме уробилиноген в общий кровоток не поступает и с мочой не выделяется.

Норма общего билирубина в крови — 8,55–20,52 мкмоль/л, из них более 75 % приходится на долю свободного билирубина. При повышении концентрации общего билирубина в крови более 25 мкмоль/л у человека желтеют кожные покровы, слизистые оболочки и склеры. Такое состояние называется «**желтуха**» (*icterus*). Сведения о видах желтух и их дифференциальной диагностике представлены в таблице 21.1.

Таблица 21.1

Желчные пигменты в дифференциальной диагностике «желтух»

Желчные пигменты Виды желтух	Кровь		Моча				Кал
	Прямой билирубин	Непрямой билирубин	Прямой билирубин	Непрямой билирубин	Стеркобилин	Уробилин	Стеркобилин
Норма	±	+	—	—	+	—	+
Гемолитическая	±	↑↑↑	—	—	↑↑	—	↑↑

желтуха							
Паренхиматозная желтуха	↑↑↑	↑	+	—	±	↑↑	±
Обтурационная желтуха	↑↑↑	↑	+	—	—	—	—

7. Синтез гемоглобина. Гемоглобин — сложный белок, состоящий из белка глобина и небелковой части — гема. Глобин синтезируется как обычный белок, а синтез гема представляет собой сложный многостадийный процесс (рис. 21.2). Все клетки, имеющие ядро, могут синтезировать гем, но наиболее интенсивно синтез гема протекает в печени и костном мозге.

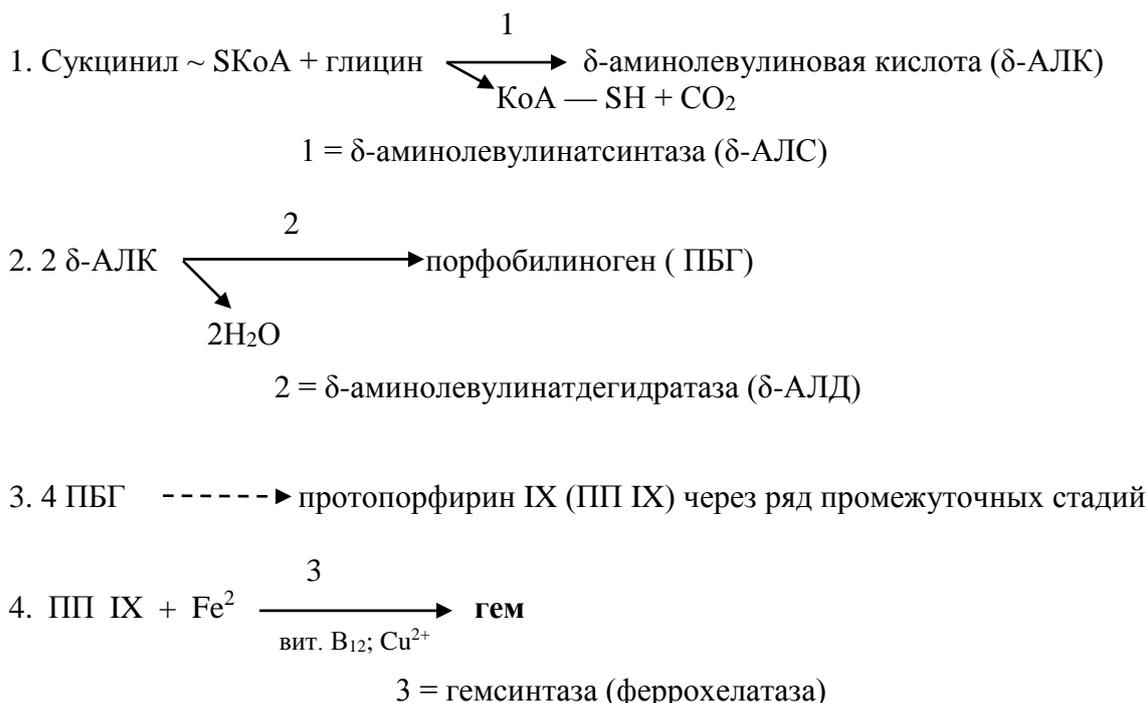


Рис. 21.2. Этапы синтеза гема

Регуляция синтеза гема. δ -АЛС — фермент, лимитирующий скорость синтеза гема. Фермент активируется стероидными гормонами и ингибируется по принципу обратной связи конечным продуктом — гемом. Также ингибируется гемом δ -АЛД и гемсинтаза. Последняя к тому же очень чувствительна к свинцу, а δ -АЛД — вообще ко всем тяжёлым металлам.

Гем + белок \rightarrow гемопroteины: гемоглобин, миоглобин, цитохромы

Соединение гема с глобином происходит после окончания синтеза глобина. Синтез полипептидных цепей происходит только в присутствии гема. При низкой концентрации гема синтез глобина замедляется. Синтез гема и глобина происходит координированно.

8. Экскреторная функция. Из печени с желчью выделяются различные гидрофобные соединения. Эндогенные и экзогенные гидрофильные вещества из печени попадают в кровь, откуда выводятся почками.

БИОХИМИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПОРАЖЕНИЙ ПЕЧЕНИ

1. Синдром цитолиза. Позволяет судить о тяжести и остроте поражения гепатоцитов.

1.1. *Гиперферментемия:* увеличивается активность **АлАТ** и в меньшей степени —

АсАТ, ЛДГ₅, сорбитолдегидрогеназы. При остром гепатите в 10 – 20 раз возрастает активность **фруктозо-1-фосфат альдолазы** (органоспецифический фермент), **γ-глутамилтрансферазы** (особенно при алкогольной интоксикации), **глутаматдегидрогеназы** (митохондриальный фермент), снижается активность **холинэстеразы**.

1.2. Гипербилирубинемия (преимущественно за счет связанного билирубина).

2. Синдром печеночно-клеточной недостаточности.

2.1. Исследование белкового спектра сыворотки крови. В норме альбумин-глобулиновый коэффициент (А/Г) $\approx 1,5-1,7$. При острых поражениях печени коэффициент снижен — за счет уменьшения количества альбуминов, при хронических — за счёт увеличения глобулинов. При длительном декомпенсированном поражении печени в крови снижается общее содержание белков (альбуминов, протромбина, фибриногена).

2.2. Определение коллоидной устойчивости белков. На самых ранних стадиях развития патологических состояний, когда еще нельзя отметить изменений в величине А/Г коэффициента с помощью осадочных проб выявляются нарушения коллоидной устойчивости сывороточных белков.

— **тимоловая проба** основана на определении степени помутнения сыворотки крови при ее взаимодействии с насыщенным раствором тимола. Большое значение эта проба приобретает при вирусном гепатите, т.к. становится положительной до развития желтухи;

— **сулемовая проба** основана на определении степени помутнения, развивающегося при взаимодействии раствора сулемы и карбоната натрия с сывороткой крови. Проба положительна при циррозе печени, острых токсических гепатитах;

— **проба Вельтманна** (коагуляционная проба) основана на появлении помутнения при добавлении к сыворотке крови раствора хлористого кальция;

— **проба Самая** на β-липопротеины (ЛПНП). В присутствии раствора хлористого кальция и гепарина нарушается коллоидоустойчивость белков сыворотки крови и осаждаются фракция β-липопротеинов.

2.3. Снижение активности холинэстеразы, ЛХАТ.

3. Синдром холестаза

3.1. Гипербилирубинемия (преимущественно за счет связанного билирубина).

3.2. Повышение активности в крови γ-глутамилтрансферазы и щелочной фосфатазы.

4. Синдром нарушения поглотительно-экскреторной функции

4.1. Введение красителей (бромсульфалеин, бенгалроз) и определение скорости их элиминации (выведения)

4.2. Антитоксическую функцию печени оценивают:

— **по количеству животного индикана** — конъюгата окисленного индола (индоксила) и ФАФС — в моче после приема белковой пищи;

— **проба Квика-Пытеля:** бензоат натрия соединяется в печени с глицином с образованием **гиппуровой кислоты**, которую определяют в моче. При поражении паренхимы печени синтез этой кислоты снижен, и в моче её определяется меньше;

— **по коэффициенту азот мочевины / остаточный азот** (в норме = 0,5). При нарушении функции печени коэффициент снижен.

4.3. Функциональные пробы

— нагрузка галактозой — в норме выведение галактозы с мочой не превышает 8% через 12 часов;

— нагрузка глюкозой;

— оценка клиренса кофеина (методом жидкостной высокоэффективной хроматографии исследуют концентрацию кофеина и его метаболитов в плазме крови, моче и слюне, взя-

тых натошак).

Тема 22. ИНТЕГРАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА

Живой организм его функционирование находится в постоянной зависимости от окружающей среды. Интенсивность обмена с внешней средой и скорость внутриклеточных процессов обмена веществ поддерживают постоянство внутренней среды и целостность организма.

Обмен веществ в организме человека протекает не хаотично; он интегрирован и тонко настроен. Все превращения органических веществ, процессы анаболизма и катаболизма тесно связаны друг с другом, координированы и регулируются нейрогормональными механизмами, придающими химическим процессам нужное направление.

Принципиальные составляющие интеграции метаболизма:

1. Наличие общих промежуточных продуктов в большей части метаболических путей и возможность взаимопревращений через общие метаболиты (глюкозо-6-фосфат, пироват, ацетил-КоА).
2. Использование общих коферментов и необходимость их постоянной циркуляции.
3. Наличие общего пути катаболизма и единой системы освобождения и использования энергии.
4. Наличие сходных механизмов регуляции: обеспечение субстратами, аллостерические взаимодействия, ковалентная модификация, количество фермента, разделение метаболических процессов по отдельным отсекам (компартаментам).

Центральную роль в поддержании гомеостаза организма играет печень. Направление метаболических путей в печени и других органах изменяется в зависимости от поступления их с пищей.

Основные особенности метаболизма в печени в состоянии после принятия пищи

После принятия пищи концентрация глюкозы в крови достигает 6-8 ммоль/л.

Уровень инсулина в крови увеличивается.

Глюкоза поступает в печень и превращается в глюкозо-6-фосфат под действием глюкокиназы, которая активируется инсулином.



Для снижения уровня глюкозы в крови стимулируются процессы ее использования в печени, а избыток глюкозы превращается в жирные кислоты:

- 1) Синтезируется гликоген, так как увеличивается активность гликогенсинтетазы под действием инсулина и высоких концентраций глюкозо-6-Ф.
- 2) Стимулируется гликолиз, так как под действием инсулина и аллостерических регуляторов увеличивается активность ключевых ферментов:
 - высокая концентрация *фруктозо-2,6-ФФ* аллостерически активирует фосфофруктокиназу-1;

– пируваткиназа активируется фруктозо-1,6-ФФ (аллостерически) и инсулином (ковалентная модификация и индукция синтеза фермента).

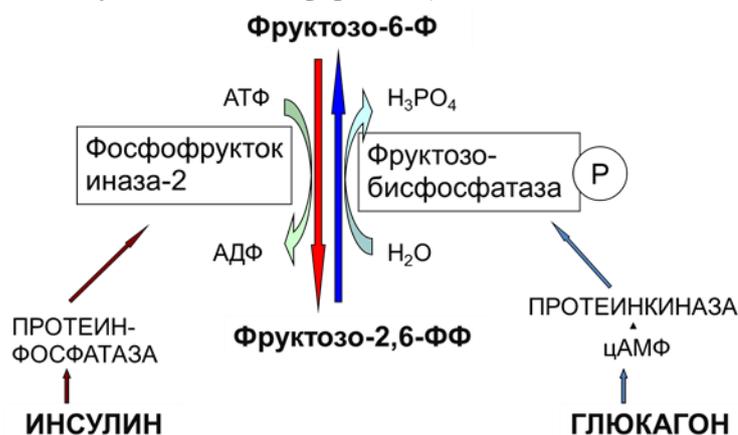


Рис. 22.1 Регуляция образования фруктозо-2,6-бисфосфата под действием бифункционального фермента

3) Интенсивный гликолиз (образование избытка ПВК) и инсулин (путем дефосфорилирования) стимулируют пируватдегидрогеназный комплекс и образование ацетил-КоА.

4) Активируется пентозофосфатный путь, так как под действием инсулина индуцируется синтез глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы.

5) Активируется синтез жирных кислот, субстратом для которого является ацетил-КоА, и ингибируется β -окисление, так как :

– ацетил-КоА карбоксилаза активируется путем дефосфорилирования под действием инсулина и аллостерически высокими концентрациями цитрата;

– инсулин индуцирует синтез ферментов ацилсинтазного комплекса;

– высокая концентрация малонил-КоА ингибирует (аллостерический механизм) ацилкарнитинтрансферазу, которая транспортирует жирные кислоты в митохондрию для окисления.

6) Жирные кислоты используются для синтеза триацилглицеролов, фосфолипидов, которые в составе липопротеинов (ЛПОНП и ЛПВП) секретируются в кровь.

7) В качестве основного источника энергии печень использует аминокислоты пищи с неразветвленными радикалами (главным образом, глутамат).

Особенности метаболизма внепеченочных тканей в состоянии после приема пищи

Мышечная ткань:

1) Под действием инсулина стимулируется встраивание ГЛЮТ4 в мембрану клетки и увеличивается поступление глюкозы.

2) Активируется синтез гликогена.

3) В мышечную ткань поступают аминокислоты преимущественно с разветвленной цепью. Подвергаясь дезаминированию, они превращаются в кетокислоты, которые окисляются в цикле Кребса.

4) Основной источник энергии — жирные кислоты, которые поступают из крови и подвергаются β -окислению.

Жировая ткань:

1) Интенсивно идет синтез ТАГ.

2) Источником глицерол-3-фосфата является глюкоза, которая поступает в жировую ткань при участии ГЛЮТ 4.

3) Ингибируется липолиз, так как инсулин дефосфорилирует гормон-чувствительную липазу.

Нервная ткань для энергетических потребностей использует глюкозу (аэробное окисление) и аминокислоты.

Для почек основными источниками энергии являются жирные кислоты (β -окисление).

Эритроциты:

1) Не имеют митохондрий, поэтому невозможен аэробный метаболизм.

2) Единственным источником энергии для них является глюкоза, которая окисляется в анаэробных условиях до лактата.

3) Интенсивно протекает пентозофосфатный путь, который поставляет восстановленные коферменты для реакций, участвующих в поддержании железа в гемоглобине в восстановленном состоянии.

В плазме крови под действием инсулина активируется ЛПЛ и идет катаболизм ТАГ в ХМ и ЛПОНП. Высвобождаются жирные кислоты и поступают в жировую ткань для депонирования.

Изменение метаболизма в печени и внепеченочных тканях в состоянии натошак

В период натошак концентрация глюкозы в крови снижается до 4 ммоль/л, вследствие этого:

- снижается секреция инсулина;
- уменьшается использование глюкозы всеми тканями, кроме нервной;
- увеличивается секреция глюкагона

Метаболические процессы, происходящие в это время в организме, перестраиваются таким образом, чтобы поддержать нормальный уровень глюкозы в крови.

Печень:

1) Печень препятствует дальнейшему падению концентрации глюкозы в крови за счет:

— расщепления гликогена и выхода глюкозы в кровь (активируется гликогенфосфорилаза путем фосфорилирования под действием глюкагона и увеличивается синтез глюкозо-6-фосфатазы);

— стимуляции глюконеогенеза (активируется фруктозобисфосфатаза за счет снятия ингибирования фруктозо-2,6-ФФ и пируваткарбоксилаза — за счет увеличения количества ацетил-КоА); основные субстраты для глюконеогенеза — лактат, аминокислоты (аланин), глицерол;

— ингибирования гликолиза и синтеза гликогена.

2) Ингибируется гликолиз (снижается количество фруктозо-2,6-ФФ)

3) Ингибируется окислительное декарбоксилирование ПВК (пируватдегидрогеназа ингибируется ацетил-КоА (аллостерически) и глюкагоном (путем фосфорилирования));

4) Основной источник энергии — жирные кислоты (стимулируется β -окисление, так как ингибируется синтез малонил-КоА)

5) Избыток ацетил-КоА, который образуется в результате β -окисления, используется на синтез кетоновых тел.

6) Интенсивно протекает дезаминирование аминокислот. Увеличивается синтез мочевины.

Скелетные мышцы (не имеют рецепторов к глюкагону):

1) Источники энергии — жирные кислоты, кетоновые тела.

2) При мышечной нагрузке под действием адреналина мобилизуются запасы гликогена и активируется анаэробный гликолиз.

Сердечная мышца (не имеет запасов гликогена):

- 1) Главный источник энергии — жирные кислоты.
- 2) Могут быть использованы кетоновые тела и лактат.

Жировая ткань:

- 1) Снижается использование глюкозы, так как не работает ГЛЮТ 4.
- 2) Активируется липолиз (глюкагон активирует гормон-чувствительную липазу).

Нервная ткань:

- 1) Глюкоза является основным источником энергии, так как транспорт глюкозы в клетки нервной ткани происходит при участии ГЛЮТ 3, который имеет очень высокое сродство к глюкозе ($K_m = 1,6$ ммоль). Это обеспечивает постоянное поступление глюкозы.
- 2) Нет запасов гликогена.
- 3) Нет возможности использовать жирные кислоты, так как они не проникают через гематоэнцефалический барьер.

Межорганный метаболизм в динамике голодания

Через 12 часов после приема пищи

В плазме крови:

- уменьшается соотношение инсулин/глюкагон;
- увеличивается уровень жирных кислот (в 4 раза);
- снижается концентрация глюкозы;
- увеличивается уровень кетоновых тел (~ в 3-4 раза).

В жировой ткани под действием глюкагона увеличена активность гормон-чувствительной липазы. Происходит высвобождение жирных кислот и глицерола.

В мышечной ткани снижается использование глюкозы и стимулируется распад белков. Высвобождаются глутамин и аланин и поступают в кровь. В качестве источника энергии мышечные клетки используют кетоновые тела и жирные кислоты.

В печени в этих условиях стимулируется глюконеогенез (в качестве субстратов используются аминокислоты, лактат и глицерол). Стимулируется β -окисление жирных кислот и образуется избыток ацетил-КоА, который используется для образования кетоновых тел.

В почках в качестве источников энергии используются жирные кислоты и кетоновые тела.

В нервной ткани продолжается окисление глюкозы, как основного источника энергии.

Через 3 суток после приема пищи

В плазме крови:

- уменьшается соотношение инсулин/глюкагон и составляет около 10% от состояния сразу после приема пищи;
- снижается концентрация глюкозы (около 60% от нормального уровня);
- увеличивается уровень кортизола;
- увеличивается уровень жирных кислот (в 8-10 раз);
- увеличивается уровень кетоновых тел (~ в 20 раз).

В жировой ткани под действием глюкагона и кортизола резко увеличена активность гормон-чувствительной липазы. Растет высвобождение жирных кислот и глицерола.

В мышечной ткани стимулируется распад белков и выход аминокислот в кровь. Резко сокращается использование глюкозы. В качестве источника энергии мышечные клетки используют кетоновые тела и жирные кислоты.

В печени в этих условиях активно протекает глюконеогенез (в качестве субстратов используются аминокислоты, лактат и глицерол). Стимулируется β -окисление жирных кис-

лот и образуется избыток ацетил-КоА, который используется для образования кетоновых тел. Увеличивается синтез мочевины.

В почках также активно протекает глюконеогенез, субстратами для которого являются аминокислоты (в большей степени глутамин). Источниками энергии для почек служат кетоновые тела и жирные кислоты.

В нервной ткани продолжается окисление глюкозы, как основного источника энергии. Также возрастает поступление кетоновых тел, которые могут покрывать до 1/3 энергетических потребностей нервной ткани.

Через 3 недели после приема пищи

В плазме крови:

- соотношение инсулин/глюкагон в 10 раз ниже, чем в состоянии после приема пищи;
- увеличивается уровень кетоновых тел (~ в 100 раз), что ведет к развитию метаболического ацидоза;
- снижен уровень мочевины.

В жировой ткани под действием глюкагона и кортизола резко увеличена активность гормон-чувствительной липазы. Растет высвобождение жирных кислот и глицерола.

В мышечной ткани уменьшается распад белков и снижается поступление аминокислот в кровь. В качестве источника энергии мышечные клетки используют кетоновые тела и жирные кислоты.

В печени в этих условиях протекает глюконеогенез (в качестве субстратов используются аминокислоты, лактат и глицерол). Резко возрастает интенсивность кетогенеза.

В почках также активно протекает глюконеогенез, субстратами для которого являются аминокислоты (в большей степени глутамин). При длительном голодании до 50% глюкозы крови образуется в почках. Источниками энергии для почек служат кетоновые тела и жирные кислоты. При длительном голодании концентрация кетоновых тел в крови (кетонемия) ведет к развитию метаболического ацидоза и потере организмом катионов. Для борьбы с ацидозом в почках происходит усиленная утилизация глутамина с целью образования иона аммония (NH_4^+), способного удаляться с мочой.



В нервной ткани продолжается окисление глюкозы, но увеличивается поступление кетоновых тел, которые могут покрывать до 2/3 энергетических потребностей.

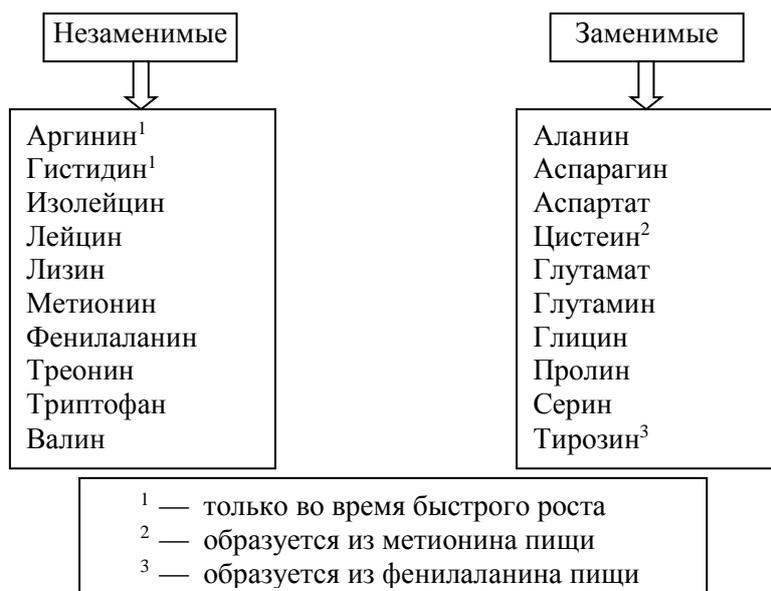
Тема 23. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ. ВИТАМИНЫ И ДРУГИЕ НЕЗАМЕНИМЫЕ ФАКТОРЫ ПИТАНИЯ. СИНДРОМ НЕДОСТАТОЧНОГО ПИТАНИЯ

Питательное вещество — компонент пищи, который обеспечивает организм структурно-функциональными компонентами или энергией.

Условно различают три важнейших категории питательных веществ:

- энергодающие (белки, углеводы и липиды);
- микрокомпоненты (витамины и минеральные соединения, необходимые для биохимических процессов);
- волокнистые соединения (неперевариваемые полисахариды).

Потребность в аминокислотах



Незаменимый фактор питания — вещество, поступающее в организм с пищей, поскольку в самом организме оно не может образовываться в достаточном количестве (рис. 23.1).

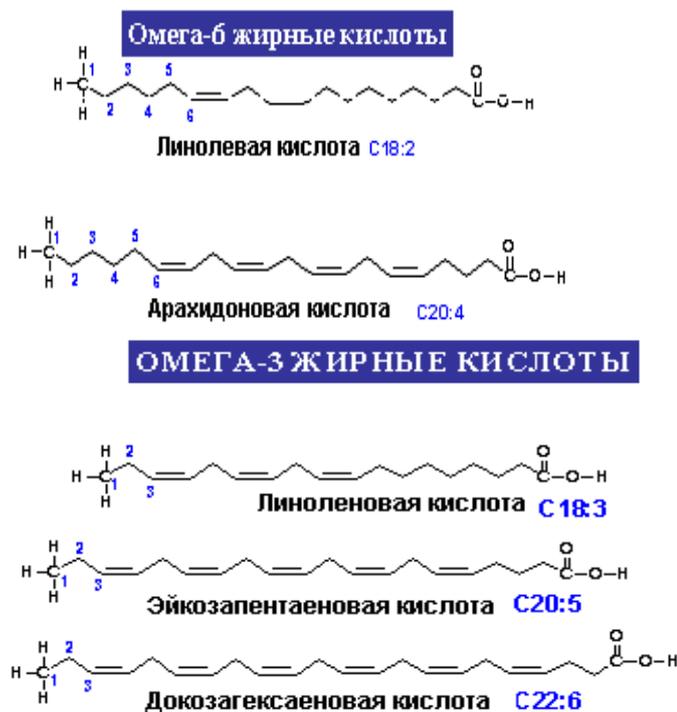


Рис. 23.1. Незаменимые факторы питания

Известные на сегодняшний день незаменимые факторы питания для человека:

- вода;
- энергия или калории из углеводов, жиров или белка;
- 8–10 незаменимых аминокислот;
- незаменимые жирные кислоты;
- 13 витаминов;
- 16–20 минеральных компонентов-микроэлементов;
- пищевые волокна.

Энергетические потребности организма взрослого человека в состоянии покоя состав-

ляют 1300–1800 ккал. Они увеличиваются при ожогах, травмах, инфекционных заболеваниях, в послеоперационный период. При голодании они снижаются. Основными источниками энергии являются углеводы — 42 %, жиры — 40 %, белки — 15 % и алкоголь — 3 %. Желательно, чтобы 55 % АТФ образовывалось в результате расщепления углеводов, 30 % — липидов, 15 % — белков (рис. 23.2).

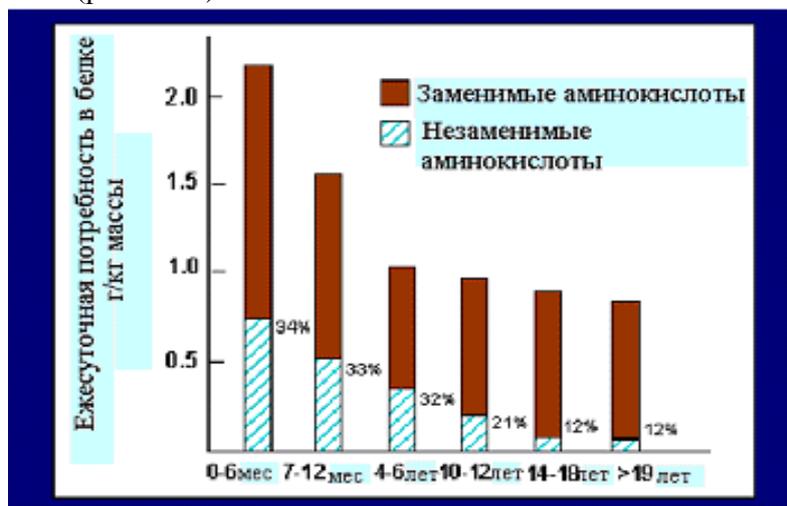


Рис. 23.2. Потребность организма в белке в зависимости от возраста

Часть **белка**, поступающего с пищей, является источником энергии для обеспечения процессов метаболизма в клетках органов и тканей:

- **гликогенные аминокислоты** могут превращаться в глюкозу;
- **кетогенные аминокислоты** могут превращаться в жирные кислоты или кетокислоты, кетоновые тела;
- если достаточно много углеводов и жиров, потребность в аминокислотах для энергопродукции невелика. Тогда они превращаются в триацилглицеролы и запасаются в жировых депо.

Самое важное значение **углеводов** пищи — продукция **энергии**:

- поли- и олигосахариды (за исключением фибриллярных компонентов пищи) расщепляются на моносахариды, которые затем окисляются по гликолитическому пути;
- моносахариды подвергаются гликолитическому окислению в присутствии и отсутствии кислорода. В результате высвобождается энергия;
- внутриклеточный метаболизм углеводов может привести к высвобождению энергии из различных моносахаридов, однако мозг способен использовать **только глюкозу** в качестве источника энергии;
- когда количество поступивших в организм с пищей углеводов превышает необходимое для сиюминутного удовлетворения потребностей в энергии, они превращаются в гликоген и триацилглицеролы для депонирования;
- когда количество углеводов в клетках ограничено, из ацетил-КоА образуются кетоновые тела, которые выполняют роль источника энергии, в том числе, для мозга.

Жирные кислоты и триацилглицеролы могут использоваться в качестве источника энергии клетками большинства органов и тканей организма человека. Избыток жиров пищи депонируется в виде триацилглицеролов в жировой ткани.

Энергия, выделяющаяся в ходе расщепления в организме продуктов питания — источников энергии, запасается в виде АТФ. В состоянии покоя 36 % образовавшегося АТФ расходуется на ферментативные реакции; 22 % — на работу Na^+ , K^+ -АТФазы; 21 % — на биосинтез белка; 11 % — на мышечное сокращение и 10 % — на перенос ионов кальция через биологические мембраны.

Витамины — органические вещества, которые необходимы в малом количестве для

нормального функционирования организма в поддержании его метаболической интеграции; не синтезируются в организме и должны поступать с пищей. Дефицит того или иного витамина в организме приводит к появлению специфических признаков и симптомов; устранение дефицита приводит к их исчезновению. Сведения о водорастворимых витаминах представлены в таблице 23.1.

Таблица 23.1

Водорастворимые витамины

Витамин		Функции	Гиповитаминоз
В1	Тиамин Важнейший кофермент – ТПФ (ТДФ) Суточная потребность – 1,1-1,5 мг	Кофермент пируват- и α -кетоглутарат дегидрогеназ, транскетолазы; участвует в проведении нервного импульса, регулируя Cl^- -каналы, Na^+ -каналы	Поражение периферической нервной системы (берибери) или ц.н.с. (синдром Вернике-Корсакофф). При отёчной форме – тахикардия и одышка, отёки
В2	Рибофлавин Коферменты – ФАД, ФМН Суточная потребность – 1-3 мг	Кофермент в окислительно-восстановительных реакциях; простетическая группа флавопротеинов	Повреждение уголков рта, губ и языка, себорейный дерматит. Катаракта
РР	Ниацин, никотиновая кислота, никотинамид Коферменты – НАД, НАДФ Суточная потребность – 20-25 мг	Окислительно-восстановительные реакции; роль в регуляции внутриклеточного Ca^{2+} и проведении сигнала в клетку	Пеллагра – синдром 3-х «Д», чаще у лиц с недостатком белка в диете (синтез в организме – из триптофана)
В6	Пиридоксин, пиридоксаль, пиридоксамин Кофермент – пиридоксальфосфат, пиридоксаминфосфат Суточная потребность – 2-2,2 мг	Кофермент в реакциях трансаминирования и декарбоксилирования аминокислот, синтеза гема (аминолевулинат синтаза), гликогенфосфориллазы	Нарушение метаболизма аминокислот, судороги. Гипохромная анемия
	Фолиевая кислота Кофермент – ТГФК Суточная потребность – 200-400 мкг	Кофермент в транспорте одноуглеродных фрагментов (синтез нуклеотидов, аминокислот)	Мегалобластическая анемия. Дефекты развития нервной трубки. Гомоцистинемия
В12	Кобаламин Коферменты – метил-, дезоксиаденозилкобаламин Суточная потребность – 3 мкг	Кофермент в транспорте одноуглеродных фрагментов и метаболизме фолиевой кислоты	Пернициозная анемия = мегалобластическая анемия и дегенерация спинного мозга. ЦНС и периферическая нейропатия
	Пантотеновая кислота Активная форма – 4-фосфопантетеин Суточная потребность – 10-15 мг	Функциональная часть КоА и ацилпереносящего белка в составе ацилсинтетазы	Поражение периферической нервной системы («синдром жжения стоп»). Практически, не встречается (синтез. м/ф кишечника)
Н	Биотин Пируват \rightarrow оксалоацетат Ацетил-КоА \rightarrow малонил-КоА	Кофермент в реакциях карбоксилирования (глюконеогенез, синтез жирных кислот); роль в регуляции клеточного цикла.	Нарушение липидного и углеводного обменов, дерматит. Жирная себорея, алопеция (очаговое облысение). Авидин (белок яй-

	Пропионил-КоА → метил-малонил-КоА Суточная потребность – 150 – 200 мкг		ца) препятствует всасыванию.
С	Аскорбиновая кислота Образование гидроксиПРО и гидроксиЛИЗ, катехоламинов ТРИ→ серотонин Суточная потребность – 100-200 мг	Кофермент в гидроксилировании пролина и лизина (синтез коллагена); антиоксидант; усиливает всасывание железа	Цинга (плохое заживление, потеря цемента зубов, подкожные кровоизлияния). Железодефицитная анемия. Ослабление иммунитета и усиление реакций свободнорадикального окисления

Источником витаминов В₁, В₆, РР является чёрный хлеб, нежирное мясо, бобовые, орехи; витамина В₂ — молоко и молочные продукты. Ценным витаминоносителем (фолата, витамина РР и др.) является куриное яйцо. Дрожжи богаты витаминами группы В.

ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

К жирорастворимым витаминам относятся витамины групп А, D, Е, К, F и некоторые другие. Всех их объединяет ряд общих особенностей. Так, в каждой группе имеется несколько аналогов близкой химической структуры, обладающих одинаковыми свойствами и действием (у витамина А обнаружено два аналога, у витамина D — около десяти). Жирорастворимые витамины всасываются в желудочно-кишечном тракте только в присутствии липидов и желчи и способны накапливаться в организме, что может привести к развитию гипervитаминозов. Наконец, в отличие от водорастворимых, механизм действия жирорастворимых витаминов до конца не выяснен, но хорошо известны процессы, на которые они оказывают влияние. Важной особенностью действия жирорастворимых витаминов является их участие в транскрипции генов. Коферментная функция им, в отличие от водорастворимых витаминов, не свойственна. Исключением являются витамин **К** и альдегидная форма витамина **А** (в составе родопсина).

Витамин А (ретинол), антиксерофтальмический, витамин роста

Жирорастворимый витамин А — это циклический непредельный одноатомный спирт, состоящий из β-иононового кольца и боковой изопреновой цепи (рис. 23.3).

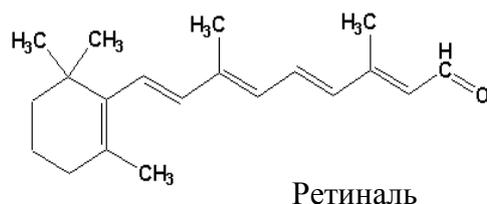
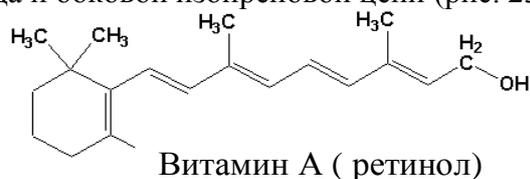


Рис.23.3. Витамин А и его производные

Метаболизм. Витамин А может образовываться в слизистой кишечника и печени из провитаминов — α -, β - и γ -каротинов под воздействием каротиноксигеназы. Наибольшей активностью обладает β -каротин (из него образуется 2 молекулы ретинола, из других — по одной). Всасывание витамина и его провитаминов происходит в составе мицелл, затем в энтероцитах они включаются в состав хиломикронов. В крови витамин А связывается с ретинолсвязывающим белком, который транспортирует его в ткани.

Биохимические функции:

- является структурным компонентом клеточных мембран;
- регулирует рост и дифференцировку клеток эмбриона и молодого организма, а также деление и дифференцировку эпителиальных тканей, хряща и кости;
- контролирует синтез белков цитоскелета, реакции распада и синтеза гликопротеинов и мукопротеинов (поэтому недостаток витамина А приводит к нарушению синтеза гликопротеинов, что проявляется потерей защитных свойств слизистых оболочек);
- стимулирует иммунитет;
- участвует в *фотохимическом акте зрения*. В сетчатке глаза имеются специализированные фоторецепторные клетки — палочки и колбочки. Наибольшей светочувствительностью обладают палочки, которые обеспечивают черно-белое зрение. Колбочки обеспечивают цветное зрение. Квант света стимулирует мембранные рецепторы наружного сегмента палочек сетчатки, содержащих цис-ретиноль (рис. 23.4). На свету цис-ретиноль превращается в транс-форму. Транс-ретиноль активирует G-белок — *трансдуцин*. Комплекс трансдуцин-ГДФ активирует специфическую фосфодиэстеразу, расщепляющую ГТФ с образованием цГМФ. В свою очередь, цГМФ стимулирует каскад событий, приводящий к возникновению зрительного сигнала в мозге (перекрытие Na^+ - K^+ -каналов \rightarrow деполяризация мембраны \rightarrow возникновение электрического импульса \rightarrow преобразование импульса в зрительное восприятие).

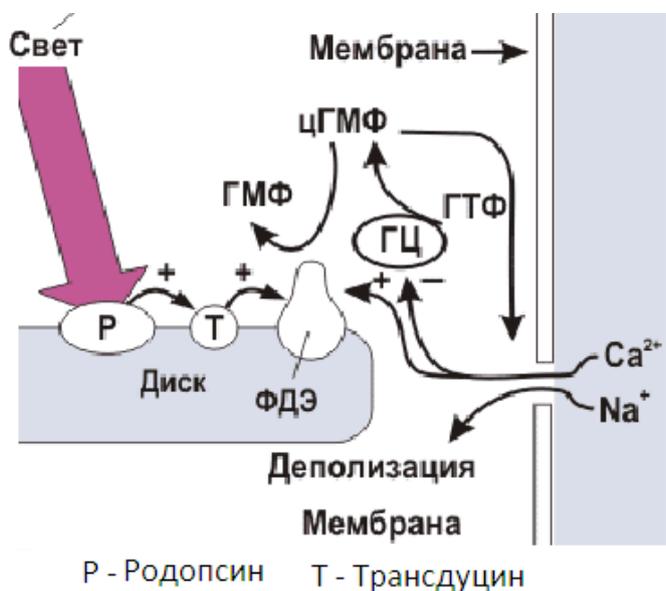


Рис 23.4. Участие ретиноля в фотохимическом акте зрения

- витамин А является важнейшим компонентом *антиоксидантной* защиты организма, поскольку благодаря наличию сопряжённых двойных связей в своей молекуле он способен взаимодействовать со свободными радикалами кислорода и другими. Ретинол значительно усиливает антиоксидантное действие витамина Е, способствует поддержанию SH-групп в восстановленном состоянии (в частности, препятствуя окислению SH-групп кератина, ретинол тем самым препятствует кератинизации эпителия, т.е. раннему старению кожи).
- витамин А может проявлять себя и как *прооксидант*, так как он легко окисляется кислородом с образованием высокотоксичных перекисных продуктов. Полагают, что симп-

томы *гипервитаминоза А* как раз и обусловлены его прооксидантным действием на биомембраны. Витамин Е, предохраняя ненасыщенные двойные связи ретинола от окисления, тем самым препятствует проявлению его нежелательных, прооксидантных, свойств.

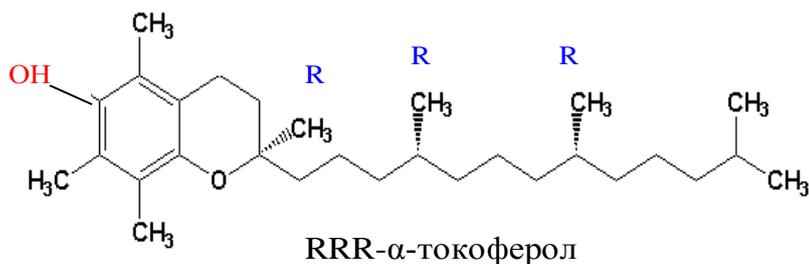
Гиповитаминоз. Наиболее ранний симптом — «куриная слепота» (резкое снижение темновой адаптации). Поражаются эпителиальные ткани (кожа, бронхи, слизистая оболочка кишечника — вплоть до развития язв). Усиленное слущивание эпителия слёзных каналов приводит к их закупорке и уменьшению смачивания роговицы глаза слёзной жидкостью — она высыхает (ксерофтальмия) и размягчается (кератомалация) с образованием язв.

Гипервитаминоз А проявляется дерматитом, потерей аппетита, тошнотой (при остром отравлении — рвотой), поносом, головными болями, болями в суставах, увеличением печени.

Суточная потребность — 1,5-2 мг. Ретинол присутствует только в животной пище: рыбий жир, сливочное масло, печень морских рыб и млекопитающих. Источником витамина А для человека являются также каротины (провитамины А). Витамин А может накапливаться в печени.

Витамин Е (токоферол), витамин размножения

Основной биологически активной формой витамина Е является α -токоферол, содержащий хромановое ядро и гидрофобный радикал. Свободная ОН-группа обуславливает свойства этого витамина как антиоксиданта.



Витамин Е всасывается вместе с липидми в составе хиломикронов, поступает в лимфатическую систему и кровяное русло. В печени витамин связывается с токоферол-связывающими белками и затем в составе ЛПНП поступает в периферические ткани.

Биохимические функции токоферола многообразны:

1. Антиоксидант:

— защищает ненасыщенные липиды клеточных мембран от перекисного окисления. Подвижный гидроксил хроманового ядра молекулы токоферола способен непосредственно взаимодействовать со свободными радикалами кислорода и ненасыщенных жирных кислот, а также с перекисями жирных кислот;

— мембраностабилизирующее действие витамина проявляется и в его свойстве предохранять от окисления SH-группы мембранных белков;

— Защищает от окисления двойные связи в молекулах каротинов и витамина А;

— токоферол (совместно с витамином С) способствует включению селена в состав активного центра глутатионпероксидазы — важнейшего фермента антиоксидантной защиты клеток.

2. Токоферол является также антигипоксантом, что объясняется его способностью стабилизировать митохондриальную мембрану и экономить потребление кислорода клетками. Вследствие мембраностабилизирующего эффекта токоферола в митохондриях увеличиваются сопряжённость окислительного фосфорилирования, образование АТФ и креатинфосфата. Витамин Е участвует в биосинтезе убихинона — компонента дыхательной цепи и главного антиоксиданта митохондрий.

3. Токоферол контролирует синтез нуклеиновых кислот (на уровне транскрипции), а также гема, микросомных цитохромов и других гем-содержащих белков.

4. Витамин Е обладает способностью угнетать активность фосфолипазы А₂ лизосом, стабилизируя тем самым мембраны лизосом (и другие биомембраны).

5. Витамин Е является эффективным иммуномодулятором.

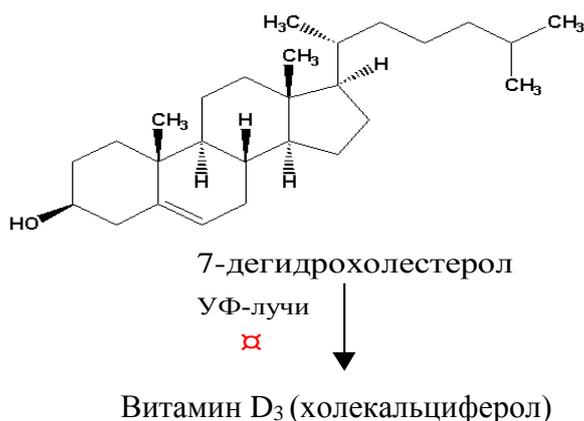
Гиповитаминоз Е — весьма распространённое явление. При Е-витаминной недостаточности наблюдается частичный гемолиз эритроцитов, повышается проницаемость мембран всех клеток и субклеточных структур, происходит накопление в организме продуктов ПОЛ. Именно этим объясняется разнообразие симптомов недостаточности токоферола — от мышечной дистрофии и бесплодия вплоть до некроза печени и размягчения мозжечка.

Гипервитаминоз. Витамин Е не токсичен даже при 50-100-кратных превышениях его суточной дозировки, так как избыток токоферола выводится из организма с желчью.

Суточная потребность — 20-40 мг. Основным источником токоферола — свежие (!) растительные масла, орехи, семечки, икра, сливочное масло, печень. Тем не менее избыток масел в рационе усиливает недостаточность витамина Е в организме, так как он расходуется на «защиту» ненасыщенных жирных кислот масла от ПОЛ.

Витамин D (кальциферол), антирахитический

В животных жирах содержится холекальциферол (витамин D₃), в растительных — эргокальциферол D₂ (*кальциферол* означает *несущий кальций*). В организме человека витамин D₃ образуется в качестве промежуточного продукта при биосинтезе холестерина (из 7-дегидрохолестерола) в клетках кожи под влиянием УФ-лучей.



Метаболизм. Кальциферолы поступают в печень в составе хиломикров. В печени витамин D₃ подвергается первой реакции гидроксирования с участием микросомной системы оксигеназ по С-25 (образуется **25(ОН)-D₃**, т.е. 25-гидроксихолекальциферол), затем **25(ОН)-D₃** попадает в кровь и, связываясь специфическим транспортным белком, переносится в почки. В почках осуществляется вторая реакция гидроксирования по С-1 и образуется **1,25(ОН)₂-D₃**, (1,25-дигидроксихолекальциферол, или **кальцитриол** — активная форма D₃). Эта реакция активируется паратиреоидным гормоном. Если уровень кальция адекватен физиологической потребности организма, вторичное гидроксирование происходит по С-24 (вместо С-1), при этом образуется неактивный метаболит **1,24(ОН)₂-D₃**. В реакциях гидроксирования принимает участие витамин С. Витамин D₃ накапливается в жировой ткани.

Биохимические функции:

— регулирует содержание кальция и фосфатов в крови, воздействуя на определенные органы-мишени. Общий эффект — увеличения содержания кальция и фосфатов в крови (подробнее см. раздел «Водно-минеральный обмен»);

— принимает участие в регуляции роста и дифференцировке клеток костного мозга;

— обладает антиоксидантным и антиканцерогенным действием.

Гиповитаминоз. Недостаток витамина D у детей приводит к заболеванию рахитом. Основные проявления этого заболевания сводятся к симптоматике недостаточности кальция: нарушение остеогенеза, развивается остеомалация — размягчение костей (искривление конечностей, рахитические четки на ребрах, деформация черепа), гипотония мышц, задержка прорезывания зубов.

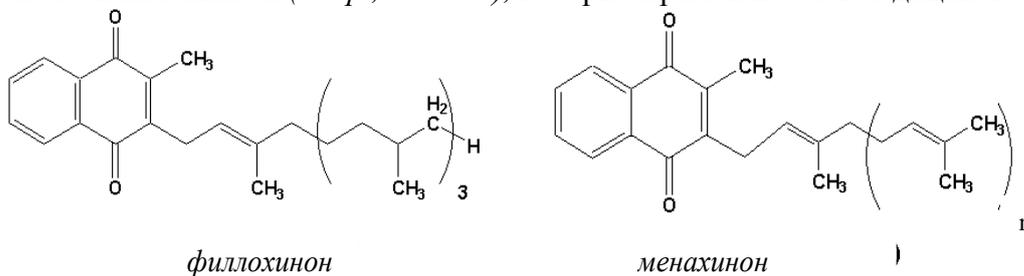
У взрослых недостаточность кальция в организме приводит к кариесу и *остеомалации*; у пожилых — к развитию *остеопороза* (снижение плотности костной ткани вследствие нарушения остеосинтеза).

Гипервитаминоз D. Избыточный приём витамина D приводит к интоксикации и сопровождается выраженной деминерализацией костей – вплоть до их переломов. Содержание кальция в крови повышается. Это приводит к кальцификации мягких тканей, особенно почек (вторичный гиперпаратиреозидизм).

Суточная потребность: для детей колеблется от 10 до 25 мкг (500-1000 ME), у взрослых — 5 мкг. Витамин D₃ содержится исключительно в животной пище. Богаты им рыбий жир, печень, желток яиц. В растительных маслах, молоке, дрожжах присутствует витамин D₂ (биологически он менее активен).

Витамин К (нафтохиноны), антигеморрагический

Витамин К — это 2 группы хинонов с боковыми изопреноидными цепями: витамин К₁ (растительные филлохиноны) и витамин К₂ (менахиноны животных тканей). Они различаются строением и количеством изопреновых единиц в боковой цепи. Синтезированы водорастворимые аналоги витамина К (*напр., викасол*), которые применяются в медицинской практике.



Биохимические функции.

Витамин К является *коферментом* γ -глутаматкарбоксилазы, которая катализирует карбоксилирование глутаминовой кислоты с образованием γ -карбоксиглутаминовой кислоты.

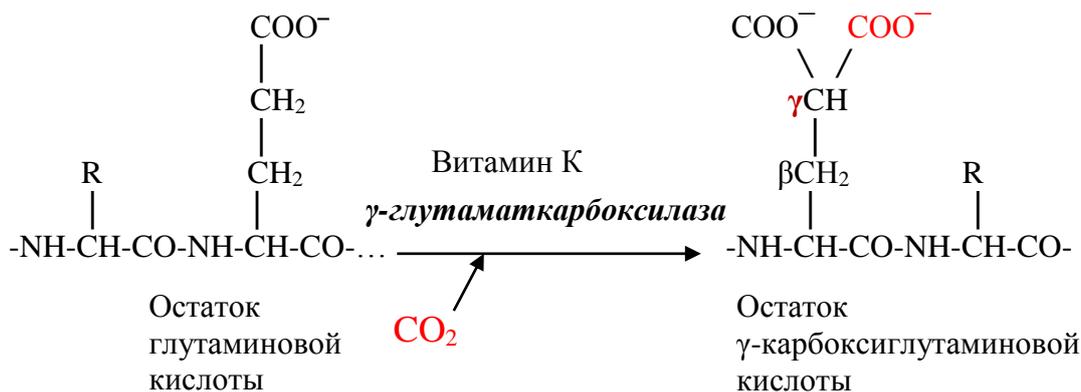


Рис. 23.5. Синтез γ -карбоксиглутаминовой кислоты

γ -Карбоксиглутаминовая кислота — Ca^{2+} -связывающая аминокислота, которая необходима для функционирования *кальций-связывающих белков*. К таковым относятся:

- факторы свёртывающей системы крови (II, VII, IX и X), подробнее см. раздел «Гемостаз. Свертывание крови»;
- регуляторные протеины С и S (антикоагулянты), нуждающиеся в γ -карбоксиглутаминовой кислоте для взаимодействия с поверхностью клеточной мембраны;
- белки, участвующие в процессах минерализации костной ткани.

Гиповитаминоз К проявляется повышенной кровоточивостью. У взрослого человека он встречается редко, так как витамин К синтезируется микрофлорой кишечника. У новорождённых недостаточность витамина К — явление нередкое из-за низкого его содержания в материнском молоке и недостаточно развитой микрофлоры кишечника и сопровождается развитием геморрагической болезни новорожденных.

Гипервитаминоз К не описан.

Суточная потребность — 0,1 мг/сутки. Им богаты свежая капуста, зеленые томаты, тыква, шпинат, ягоды рябины, из животных продуктов — печень.

Витаминоподобные вещества — не являются незаменимыми и не являются витаминами, но чрезвычайно важны для организма или оказывают защитное действие. Сведения о некоторых из них представлены в таблице 23.2.

Таблица 23.2

Витаминоподобные вещества

Биофлавоноиды («витамин Р»)	Антиоксидантное действие
Карнитин	Переносчик ацилов в митохондри
Холин	Компонент фосфолипидов, ацетилхолина
Инозитол	Компонент фосфатидилинозитола, инозитолтрифосфата
Таурин	Компонент конъюгированных желчных кислот
Убихинон (коэнзим Q)	Антиоксидантное действие
Полифенолы	Антиоксидантное действие
Антоцианины	Антиоксидантное действие
Глюкозинолаты, гликозиды	Изменяют метаболизм чужеродных соединений (канцерогенов)
Сквален, политерпены	Ингибируют синтез холестерина
Фитоэстрогены	Антиэстрогенное действие
Витамины В ₁₃ (оротовая кислота), В ₁₅ (пангамовая кислота), В ₁₇ (летрил, амигдалин), Т, U	

Уровни определения насыщенности организма витамином и потребности в нем

I. Клинически выраженная форма дефицита:

- явные анатомические и функциональные нарушения;
- тяжелые метаболические расстройства.

II. Скрытый дефицит:

- в обычных условиях клинической симптоматики нет;

— любая травма или стресс обнажают ограниченность резервов и появляется клиническая симптоматика.

Вит. С: 10 мг/сут достаточно, чтобы предотвратить цингу; 20 мг/сут требуется для оптимального заживления ран.

III. Субклинический дефицит:

— имеются метаболические расстройства без клинической симптоматики. При дефиците вит. В₁₂ с мочой выделяется метилмалоновая кислота

IV. Ненормальный ответ на метаболическую нагрузку:

— неспособность организма метаболизировать тестовую дозу гистидина при недостатке фолиевой кислоты (Гис → глу);

— неспособность метаболизма тестовой дозы триптофана при дефиците витамина В₆ (три → 3-гидроксиантралиловая к-та → НАД⁺).

V. Недостаточное насыщение ферментов из эритроцитов коферментами-производными витаминов. Используется для трех витаминов: тиамина (транскетолаза), рибофлавина (глутатион редуктаза), витамина В₆ (трансаминазы).

Принцип: ткани содержат холофермент (каталитически активный), апофермент (каталитически неактивный)

а) инкубация образца ткани и субстрата → измеряется холофермент;

б) добавляют кофермент + образец + субстрат → измеряется холофермент + апофермент;

в) рассчитывают соотношение б/а = коэффициент активации.

VI. Низкая концентрация витамина в плазме крови — показывает на недостаточную обеспеченность тканей витамином.

VII. Низкая концентрация витамина в моче (низкая экскреция) — показывает на недостаточное потребление и изменение метаболического превращения витамина.

VIII. Неполное насыщение организма витамином С. Определение концентрации витамина С в моче исходно → нагрузка 500 мг витамина С → сбор мочи в течение последующих 6 ч → измерение: сколько из 500 мг дозы экскретировалось. В норме должно быть около 500 мг.

IX. Токсичность — при передозировке, ненормальной аккумуляции в тканях.

Ниацин — гиперемия, головная боль, судороги, тошнота, рвота, повышение уровня мочевой кислоты, сахарный диабет.

Аскорбиновая кислота (1-10г/сут) — диарея, ↑ всасывания железа, ↑ образование оксалатов (оксалатные камни в почках); ↑ АД, бессонница, ↓ зрение, риск сахарного диабета, при беременности — опасность выкидыша, ↑ протромбин крови.

X. Фармакологический эффект витаминов в терапевтических дозах

Аскорбиновая кислота — иммуностимулирующее и антиоксидантное действие (для профилактики и лечения простудных заболеваний, рака) — спорно!

Пиридоксин — для лечения предменструального синдрома, депрессии, мышечной слабости

Фолиевая кислота — профилактика нейроэктодермии у новорожденных, профилактика атеросклероза (превращение гомоцистеина вместе с В₆ и В₁₂)

Синдром недостаточного питания — патологическое состояние, обусловленное несоответствием поступления и расхода питательных веществ, приводящее к снижению массы тела и изменению компонентного состава организма (табл. 23.3).

Причины: социальные, экономические, биологические, экологические.

Биологические причины — внешние факторы (плохое питание, травмы, инфекции) и внутренние (нарушение переваривания, всасывания и усвоения пищевых веществ в организме). Существуют 2 основные клинических формы недостаточности питания: **квашиноркор и маразм (кахексия).**

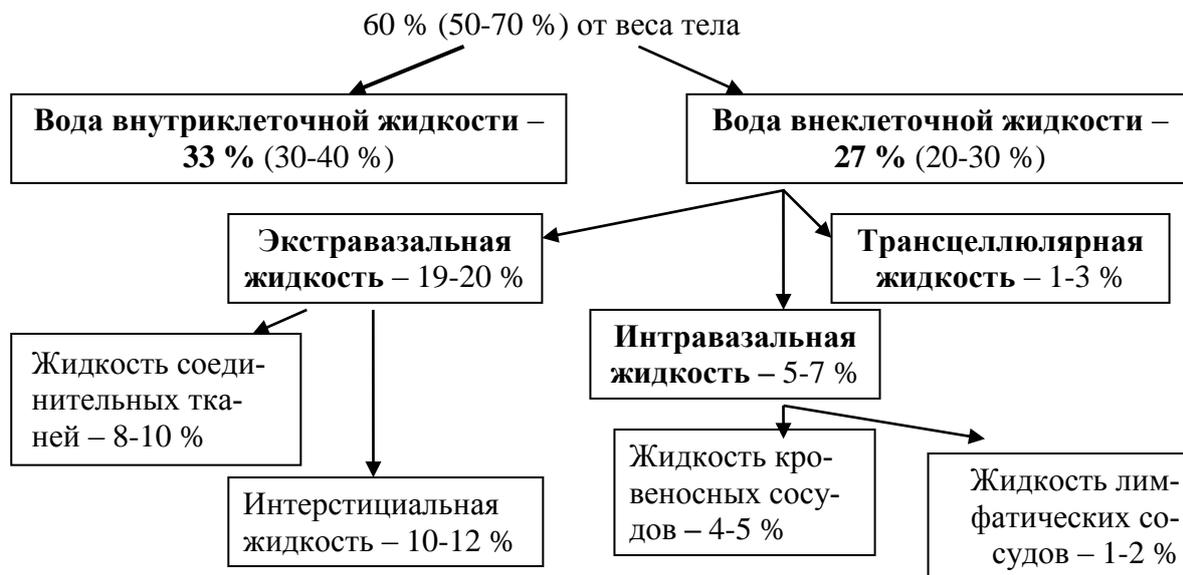
Клинические формы недостаточности питания

Клинические формы	Квашиоркор (ранний период после тяжелых травм, ожогов, обширных хирургических вмешательств)	Маразм (например, при онкологических заболеваниях)
Первопричина	Дефицит белка из-за отсутствия его в пище или нарушения всасывания	Общая нехватка источников энергии
Отек	<i>Имеет место</i> вследствие снижения онкотического давления в кровеносных сосудах (<i>гипоальбуминемия</i>)	Отсутствует
Гипоальбуминемия	«Низкий альбумин» в плазме крови — основной симптом. В печени сокращается продукция альбумина, чтобы сохранить потерю белка	Отсутствует
Ожирение печени	<i>Имеет место</i> низкое содержание белка в пище, как правило, сочетается с высоким потреблением углеводов	Отсутствует
Уровень инсулина в крови	Поддерживается на нормальном уровне	<i>Низкий</i> — в организме преобладают катаболические процессы, направленные на извлечение энергии из любых оставшихся депо
Уровень адреналина в крови	Нормальный	<i>Высокий</i>
Потеря мышечной массы	Отсутствует или слабая	<i>Да</i> — может быть выраженной вследствие катаболизма белков
Жировые запасы	Некоторая потеря	<i>Их нет</i>
Характер течения в зависимости от времени	Острое — выраженный катаболический ответ в короткий период времени	<i>Постепенно</i> — нерезкий катаболический ответ на голодание (может занимать длительный период времени)
Сниженная пигментация	Может иметь место — для пигментации нужны аминокислоты (тирозин). Бледный вид	

Тема 24. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ. ВОДНО-МИНЕРАЛЬНЫЙ ОБМЕН

ВОДА

Вода является важнейшей составной частью живых организмов. У взрослого человека на долю воды приходится в среднем 60-65 % веса тела. В органах и тканях содержание воды различно. В мышечных тканях содержится до половины общего количества воды организма, в скелете – 1/8, в коже – 1/16, в крови – 1/20. 2/3 всей воды организма – вода внутриклеточной жидкости, 1/3 всей воды располагается внеклеточно:



Роль воды в организме. Вода является универсальным растворителем, способствует диссоциации веществ, участвует в реакциях обмена (реакции гидролиза и гидратации) и транспорте веществ, в формировании и стабилизации нативной структуры биополимеров; является регулятором теплового баланса, выполняет структурную (входит в структуру надмолекулярных образований) и механическую (обеспечивает тургор клеток и межклеточного пространства) функции. Без поступления воды жизненные функции у человека поддерживаются 7-10 дней.

Взрослому человеку в обычном состоянии в сутки необходимо 2,5 литра воды, из которых 1-1,5 литра приходится на питьевую воду, 1 литр поступает с пищей и 0,3 литра образуется в самом организме (метаболическая вода).

Основной способ выведения воды из организма – через почки. С мочой ежедневно взрослый человек выделяет около 1500 мл воды, через лёгкие с выдыхаемым воздухом – 600 мл, при испарении с кожи – 300 мл, через кишечный тракт – 100 мл.

В организме здорового человека поддерживается водное равновесие. Избыточное потребление воды сопровождается повышенным её выведением из организма. Задержка воды в организме (*гипергидратация*) ведёт к повышению кровяного давления и отёкам. *Обезвоживание (гипогидратация)* происходит при выведении воды в больших количествах, чем поступает в организм. Потеря организмом 20 % воды несовместима с жизнью. Основным регулятором выведения воды из организма – вазопрессин.

ВАЗОПРЕССИН

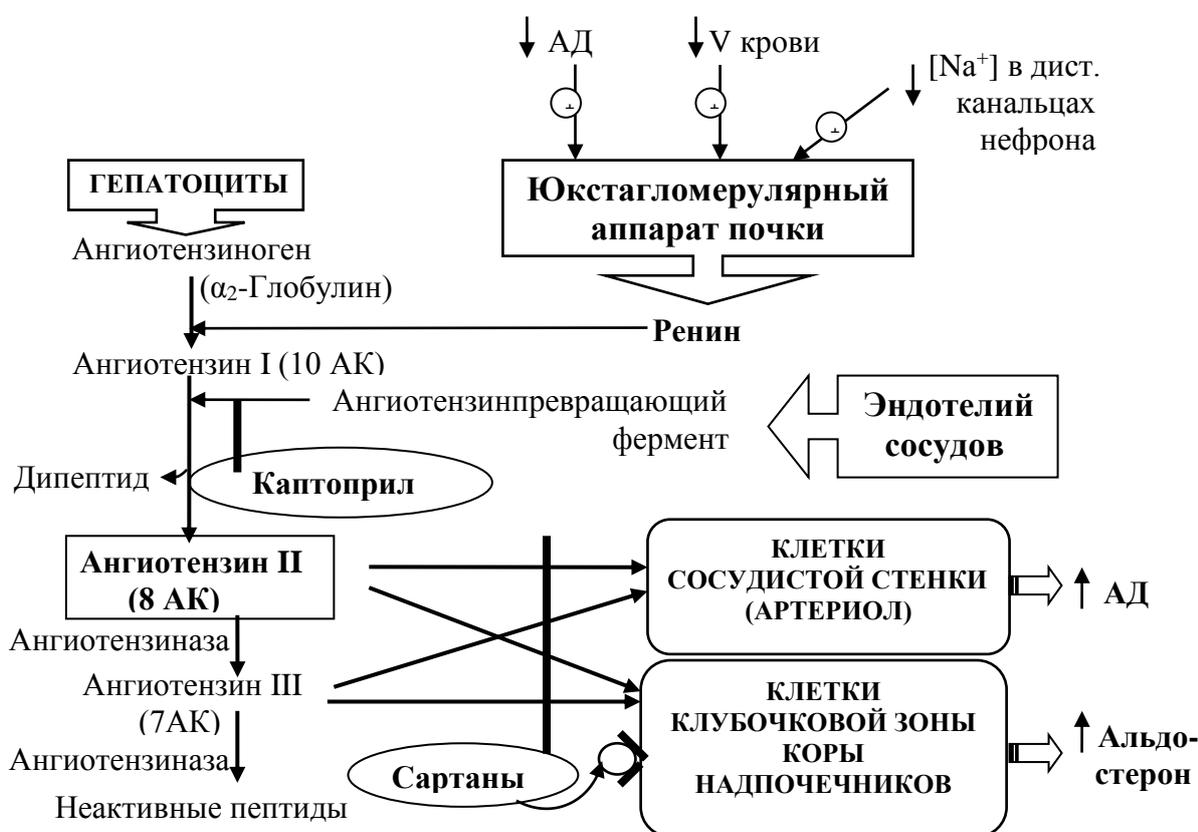
Вазопрессин, или антидиуретический гормон (АДГ) – нанопептид (9 АК), вырабатывается нейросекреторными клетками супраоптического (и паравентрикулярного) ядра гипоталамуса, по аксонам этих клеток белком-переносчиком (нейрофизин-2) транспортируется в заднюю долю гипофиза (нейрогипофиз) и оттуда секретируется в кровь. Вазопрессин увеличивает реабсорбцию воды в собирательных трубочках почек. Антидиуретическое

действие вазопрессина: связывание вазопрессина с V_2 -рецептором на мембране клеток собирательных трубочек через аденилатцикласную систему вторичных посредников приводит к фосфорилированию аквапоринов в этих клетках. Аквапорины – это интегральные белки клеточных мембран, образующие водные каналы. Фосфорилированные аквапорины пропускают воду и в результате вода диффундирует во внеклеточное пространство, окружающее собирательные трубочки.

Главным стимулом для секреции вазопрессина является увеличение осмолярности плазмы крови. Его секреция также повышается при уменьшении объема циркулирующей крови.

Снижение секреции вазопрессина, дефект (дефицит) V_2 -рецепторов вазопрессина или почечных аквапоринов приводит к развитию *несахарного диабета (Diabetes insipidus)*. Для несахарного диабета характерно резкое увеличение объема мочи (10 л/сут и более) и, соответственно, снижение осмолярности мочи и повышенное потребление воды.

РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВАЯ СИСТЕМА



Ренин-ангиотензиновая система (РАС) или ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС) представляет собой систему ферментов и гормонов, которая регулирует кровяное давление и объем крови в организме. Ренин — это протеолитический фермент, синтезируемый юкстагломерулярным аппаратом почек. Его часто называют ренин-гормоном. При недостаточном поступлении крови в почечные клубочки (вследствие падения кровяного давления) происходит возбуждение заложенных в стенках артериол клеток юкстагломерулярного аппарата, которые начинают усиленно секретировать ренин. Высвобождение ренина регулируют также такие факторы, как изменение электролитного баланса, почечного кровотока, симпатическая активность, ангиотензин II, простагландины и некоторые другие. В кровяном русле ренин захватывается ангиотензиногеном — плазматическим гликопротеином из класса α₂-глобулинов, образующимся в печени. Отщепляемый декапептид называется «ангиотензин I». Под действием ангиотензин-превращающего фермента (синтезируется эндотелием сосу-

дов в легких и других тканях) не обладающий прессорной активностью ангиотензин I путём отщепления двух аминокислот превращается в октапептид — ангиотензин II (Ан II), являющийся наиболее активным эндогенным прессорным соединением. Распад Ан II осуществляется очень быстро ангиотенгиназой, которая синтезируется многими тканями.

Ключевая роль в этой системе принадлежит ангиотензину II. Ан II связывается мембранными рецепторами почек, ствола мозга, гипофиза, надпочечников, стенок сосудов и сердца. Оказывает сильное сосудосуживающее действие и таким образом вызывает быстрое повышение кровяного давления. Под влиянием Ан II в надпочечниках увеличивается синтез и высвобождение альдостерона, а при высоких концентрациях в гипофизе стимулируется высвобождение вазопрессина. Ан II также индуцирует чувство жажды, стимулирует натриевый-аппетит и всасывание натрия в кишечнике.

Поскольку основной механизм действия ангиотензина II прямо или косвенно сводится к повышению кровяного давления и увеличению объёма крови, при лечении гипертонической болезни используют блокаторы рецепторов ангиотензина. Одним из *блокаторов ангиотензиновых рецепторов* является простой пептид **саралазин**. По структуре он близок к ангиотензину II и является его конкурентным антагонистом. В настоящее время создан целый ряд синтетических *ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента* (**каптоприл**, **лизиноприл**, **эналаприл**, **рамиприл**, **цилазаприл**, **пивалоприл** и другие).

МАКРОЭЛЕМЕНТЫ И МИКРОЭЛЕМЕНТЫ

Все минеральные вещества организма в зависимости от их концентрации подразделяются на макро- и микроэлементы. Содержание макроэлементов превышает 50 мг/кг массы тела (натрий и калий, кальций, магний, фосфор, хлор, сера). Содержание микроэлементов составляет менее 50 мг/кг массы тела (медь, цинк, селен, йод, марганец, кобальт, молибден, фтор и другие). К микроэлементам относят также и железо, хотя его концентрация превышает указанную величину.

МАКРОЭЛЕМЕНТЫ

Калий, натрий, хлор

Электролиты **калий**, **натрий** и **хлориды** важны для поддержания электролитного баланса и надлежащего осмотического давления, участвуют в механизмах возбудимости, влияют на обменные процессы (активирование или ингибирование ферментов), участвуют в регуляции кислотно-основного состояния организма (Na^+/H^+ -обмен в почках, конкуренция экскреции K^+ и H^+ при реабсорбции Na^+ в почках), натрий используется также в процессах минерализации костей скелета и зубов, ионы хлора – в синтезе HCl желудочного сока.

Концентрация электролитов вне и внутри клетки существенно различается: натрий, хлориды и кальций преобладают во внеклеточном пространстве, калий и магний — внутри клетки.

Разность концентраций одновалентных катионов Na^+ и K^+ на клеточных мембранах поддерживает фермент плазматической мембраны **Na^+/K^+ -АТФаза** (250 кДа). Этот фермент присутствует практически во всех клетках животных. Выкачивает из клетки три иона Na^+ и переносит в клетку два иона K^+ за счёт энергии гидролиза молекулы АТФ.

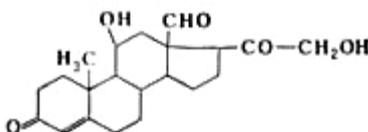
Сердечные гликозиды (**дигиталис**, **строфантин G** (**уабаин**)) являются ингибиторами Na^+/K^+ -АТФазы. Сердечные гликозиды оказывают кардиотоническое действие: ингибирование Na/K -насоса кардиомиоцитов приводит к увеличению содержания Na^+ внутри клетки, включающего Na/Ca -обменник, который в свою очередь увеличивает содержание Ca^{2+} в

клетке, стимулирующего сокращения сердца.

Содержание натрия в плазме крови составляет 135 – 150 ммоль/л. Пищевая недостаточность натрия у здоровых людей не встречается. Обычно с пищей поступает 5-15 г/сут поваренной соли (NaCl). Больным гипертонической болезнью рекомендовано ежедневное потребление поваренной соли в количестве не более 4-5 г. Потребление поваренной соли в больших количествах может сопровождаться гипертонией и гиперкальциурией. Дефицит натрия чаще возникает из-за различных потерь. Клинически проявляется преимущественно снижением объёма внеклеточной жидкости. *Гипонатриемия* часто осложняется отёками. При значительной гипонатриемии может возникать гипергидратация клеток и их повреждение. Наиболее частая причина перегрузки натрием организма – нарушение почечной экскреции.

Калий – основной внутриклеточный катион. Хронический дефицит калия может сопровождаться дистрофией. Потребление калия с пищей в количестве 2-3 г/сут полностью обеспечивает потребности взрослого человека. Содержание калия в плазме крови – 3,4-5,6 ммоль/л. В клинической практике изменение внеклеточной концентрации K^+ чрезвычайно важно. При концентрации калия в плазме крови более 10 ммоль/л наступает *блокада сердца*. *Остановка сердца* наступает при содержании калия в плазме крови более 20 ммоль/л. Главными факторами, регулирующими экскрецию натрия и калия почками, являются альдостерон и натрийуретические пептиды.

Альдостерон



Стероидный гормон, синтезируется из холестерина в клетках клубочкового слоя коры надпочечников. Альдостерон – самый сильнодействующий минералокортикоид и наиболее важный регулятор K^+ - Na^+ баланса.

Регуляция секреции альдостерона осуществляется преимущественно ангиотензином II, а также зависит от содержания адреногломерулотропина, адренокортикотропина, предсердного натрийуретического пептида, калия, натрия и магния в крови.

Альдостерон увеличивает реабсорбцию натрия в дистальных отделах нефрона и вызывает экскрецию ионов калия и водорода. Механизм действия альдостерона состоит в прямом влиянии на генетический аппарат ядра клеток со стимуляцией синтеза соответствующих РНК и активации синтеза транспортирующих катионы белков. Альдостерон является компонентом ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Конечным результатом действия минералокортикоидов является увеличение объёма циркулирующей крови и повышение системного артериального давления.

В патологических случаях *гиперальдостеронизма* (например, при опухолях надпочечников, некоторых заболеваниях сердца, почек) наблюдается гипернатриемия и гипокалиемия, увеличивается объём крови и развивается артериальная гипертензия, возникают отёки. *Недостаток альдостерона* (например, при удалении надпочечников, аддисоновой болезни), приводящий к резкой потере натрия, угрожает организму гибелью.

Спиронолактоны (синтетические структурные аналоги альдостерона) являются антагонистами альдостерона и используются как *калийсберегающие диуретики*.

Натрийуретические пептиды

Натрийуретические пептиды (НУП) – группа пептидов (21-35 АК), стимулирующих выведение натрия и воды с мочой. Синтезируются в сердце (предсердия, желудочки) (28 АК), мозге (22 АК), эндотелии кровеносных сосудов.

Предсердный натрийуретический пептид (ПНУП) синтезируется преимущественно в предсердиях и секретируется в кровь при увеличении объема крови и растяжении предсердий. При связывании со своим рецептором (1-TMS-(R), мембраносвязанная гуанилатциклаза) ПНУП стимулирует натрийурез и диурез: увеличивает скорость клубочковой фильтрации, снижает реабсорбцию натрия в почечных канальцах, вызывает периферическую вазодилатацию, снижает секрецию ренина, альдостерона и вазопрессина.

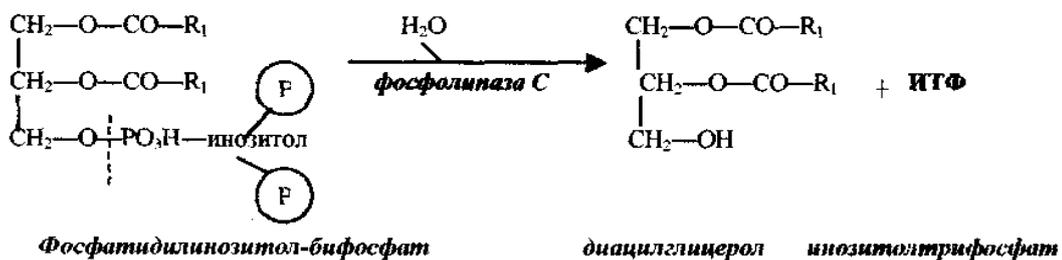
Кальций

Общее содержание кальция в плазме крови — 2,2–2,7 ммоль/л. Половину составляет диффузионный Ca^{2+} (способен проходить через биомембраны), часть Ca^{2+} связана с белками крови (недиффузионный кальций), некоторое количество находится в составе цитратов и фосфатов плазмы крови. Основное депо кальция — Са-апатиты костной ткани.

Кальций всасывается из кишечника в кровь с помощью специального Ca^{2+} -связывающего протеина, синтезируемого слизистой кишечника. Этот белок осуществляет свою функцию совместно с Ca^{2+} -зависимой АТФазой. Стимулятором синтеза Ca^{2+} -связывающего протеина является 1,25-(ОН)₂-D₃ (кальцитриол, активная форма витамина D₃).

Роль кальция в организме. Соли кальция составляют основу скелета и зубов. Ионы кальция принимают участие в многочисленных процессах: регуляции нервно-мышечной возбудимости, сократительной и секреторной активности, проницаемости клеточных мембран. Кальций участвует в работе ферментов (кофактор, активатор), в гемостазе, активирует адгезию и рост клеток. Наряду с циклическими нуклеотидами Ca^{2+} считается вторичным посредником в реализации механизма действия гормонов.

Поступление кальция в клетку регулируется нейрогормональными сигналами, одни из которых увеличивают скорость вхождения Ca^{2+} в клетку из межклеточного пространства, другие — высвобождения его из внутриклеточных депо. Из *внеклеточного* пространства Ca^{2+} попадает в клетку через кальциевый канал (белок, состоящий из 5 субъединиц). Кальциевый канал активируется гормонами, механизм действия которых реализуется через цАМФ. Высвобождение Ca^{2+} из *внутриклеточных* депо происходит под действием гормонов, активирующих фосфолипазу С. Этот фермент способен гидролизовать фосфолипид плазматической мембраны ФИФФ (*фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат*) на ДАГ и ИТФ:



ИТФ присоединяется к специфическому рецептору кальцисомы. При этом изменяется конформация рецептора, что влечёт за собой открытие ворот, запиравших канал для выхода Ca^{2+} из кальцисомы. Высвободившийся из депо кальций связывается с *протеинкиназой С*, активность которой увеличивает ДАГ. Протеинкиназа С, в свою очередь, фосфорилирует различные белки и ферменты, изменяя тем самым их активность.

Ионы кальция действуют двумя путями: 1) связывают отрицательно заряженные группы на поверхности мембран, изменяя тем самым их полярность; 2) связываются с белком кальмодулином, активируя тем самым множество ключевых ферментов обмена углеводов и липидов.

Недостаток кальция приводит к развитию *остеопороза* (хрупкости костей). К недостатку кальция в организме приводят дефицит его в пище и гиповитаминоз D.

Суточная потребность (мг/сут): дети – 500-1000, растущие молодые люди – 1300, женщины (25-50 лет) – 800-1000, женщины старше 50 лет – 1200-1500, беременные – 1500, кормящие – 2000, мужчины (25-60 лет) – 800-1000, мужчины старше 60 лет – 1500.

Регулируется уровень кальция в крови гормонами-антагонистами: паратирином и тиреокальцитонином, а также кальцитриолом.

Кальцитонин

Кальцитонин секретируется С-клетками щитовидной железы. Это полипептид, содержащий 32 остатка аминокислот. Регулятор его секреции — повышение концентрации Ca^{2+} в крови более 2,25 ммоль/л. Основной эффект гормона — снижение уровня кальция и фосфора в крови. Своё действие он реализует путём связывания с 7-ТМС-(R) и последующей активации аденилатциклазы и фосфолипазы С. Кальцитонин ускоряет минерализацию *костной ткани* и стимулирует включение в неё фосфора. В *почках* гормон усиливает выведение кальция с мочой, но не фосфатов. Кальцитонин ингибирует активность и уменьшает количество остеокластов.

Паратирин (паратгормон)

Гормон синтезируется паращитовидными железами. Он является полипептидом, состоящим из 84 аминокислотных остатков. Краткосрочная регуляция секреции паратгормона осуществляется Ca^{2+} , а в течение длительного времени — $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ совместно с кальцием.

Основная функция паратгормона заключается в поддержании постоянного уровня кальция. Эту функцию он выполняет, влияя на кости, почки и (посредством витамина D) кишечник.

В *костной ткани* паратгормон взаимодействует с 7-ТМС-(R) остеобластов, что приводит к активации аденилатциклазы и повышению уровня цАМФ. Помимо этого, в механизм действия паратгормона включается Ca^{2+} , а также ИТФ и ДАГ. Стимуляция остеобластов приводит к активации остеокластогенеза и резорбции костей. В *проксимальных канальцах почек* паратгормон угнетает реабсорбцию фосфатов, что ведет к фосфатурии и гипофосфатемии, но увеличивает реабсорбцию кальция. Кроме того, в почках паратгормон повышает активность 1 α -гидроксилазы, а этот фермент участвует в синтезе активной формы витамина D₃.

Витамин D (кальциферол), антирахитический

Кальциферол можно рассматривать как *прогормон*, так как его действие во многом сходно с действием стероидных гормонов. Так, проникая в клетки-мишени, он связывается с внутриклеточными ядерными рецепторами. В *энтероцитах* этот гормон-рецепторный комплекс стимулирует транскрипцию иРНК, передающую информацию для синтеза Ca^{2+} -связывающего протеина. При этом всасывание кальция, как уже упоминалось, осуществляется как путём облегченной диффузии с участием этого переносчика, так и путём активного транспорта с помощью Ca^{2+} -АТФазы. Одновременно ускоряется и всасывание фосфора.

Кроме кишечника органом-мишенью активной формы витамина D₃ является *костная ткань*, где $1,25(\text{OH})_2\text{-D}_3$ стимулирует процесс *демнерализации* (синергично с паратирином).

Ещё одним органом-мишенью кальцитриола являются *почки*, где он усиливает синтез кальциевой АТФазы мембран почечных канальцев, что приводит к увеличению реабсорбции Ca^{2+} и одновременно фосфатов.

Фосфор

Большая часть фосфора (85 %) содержится внеклеточно: в костной и хрящевой

тканях в основном в составе апатитов ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ и др.), а также в составе фосфатной буферной системы плазмы крови (в виде одно- и двузамещённых фосфатов). 15 % фосфора находится внутриклеточно: в составе органических соединений (органический фосфор) и в виде фосфат-иона неорганических соединений.

Участие в метаболизме. Органический фосфор входит в состав нуклеиновых кислот, фосфолипидов, фосфопротеинов, фосфорилированных сахаров, служит энергоносителем, входит в состав вторичных посредников гормонов, участвует в образовании коферментной формы водорастворимых витаминов. В клетках путём фосфорилирования осуществляется регуляция активности ключевых ферментов.

Обмен фосфора тесно связан с процессами поступления и освобождения из костей кальция. Увеличение поступления кальция в организм приводит к повышенному выведению фосфора с мочой. Контроль внеклеточной концентрации фосфора осуществляется почками: под влиянием паратирина реабсорбция фосфатов снижается. Основными причинами гипофосфатемии являются гиперпаратиреозидизм, врожденный дефект реабсорбции фосфора в почках, недостаточность питания, онкологические заболевания. Избыток фосфора в питании приводит к гипокальциемии и, следовательно, к вторичному гиперпаратиреозу, сопровождающемуся *остеопорозом* и кальцинозом тканей (*артериокальциноз, нефрокальциноз*).

Суточная потребность составляет 1200–1500 мг/сут.

Магний

Основными пищевыми источниками магния являются овощи с зелёными листьями, фрукты и сухофрукты, отруби, бобовые и злаковые, орехи, мясные продукты. В организме взрослого человека содержится 20–28 г магния. Основное количество магния (65 %) содержится в костях, 34 % магния расположено в клетках (преимущественно в мышцах – 27 %) и только 1 % магния находится во внеклеточных жидкостях, в том числе в плазме крови. При его дефиците магний частично высвобождается из костей. Избыток магния выводится через почки. Паратгормон усиливает реабсорбцию Mg^{2+} в почечных канальцах. Mg^{2+} – второй по содержанию после калия внутриклеточный катион.

Участие в метаболизме. Магний является структурным компонентом костей, участвует в работе многих ферментов (АТФазы, киназы, ДНК-полимеразы, РНК-полимеразы), стабилизирует биологические мембраны и поддерживает структуру нуклеиновых кислот и некоторых белков, способствует фиксации K^+ в клетках, угнетает нервную систему, участвует в функционировании мышц и сердца (в составе Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимых АТФаз), необходим для секреции паратирина.

Пищевая недостаточность встречается редко. В большинстве случаев дефицит магния является вторичным как следствие хронического алкоголизма, заболеваний почек, нарушения всасывания, неправильного питания или использования диуретиков. При дефиците магния повышается возбудимость нервной системы и проявляется слабостью и расстройством психики (спутанность сознания, раздражительность, беспокойство, нарушение сна); возникают судороги, аритмии. У детей первого года жизни при недостатке магния может развиваться рахит, устойчивый к лечению витамином D. Повышенное содержание магния у здорового человека встречается редко и бывает при заболеваниях почек или приёме фармакологических препаратов магния. Избыток магния ведет к угнетению нейромышечной передачи. Повышение уровня магния в плазме крови (более 1,5 ммоль/л) вызывает тошноту и рвоту. Концентрации выше 5 ммоль/л (нормальное содержание магния в плазме крови составляет 0,75–1,0 ммоль/л) могут вызвать летальный исход (паралич дыхания, блокада проводимости в миокарде).

Суточная потребность взрослого человека составляет около 300 мг, беременных и

кормящих — до 500 мг/сут. Потребность в магнии до 400 мг/сут возрастает в пожилом и старческом возрасте. Магнитерапия оказывает положительное влияние на эмоциональный статус пожилых людей.

Сера

Сера в организме функционирует в составе анионов (сульфат-анионы, сульфит-анионы) и как компонент органических соединений: серусодержащие аминокислоты и белки, сульфатированные гетерополисахариды, сульфолипиды, биологически активные вещества (глутатион, коэнзим А, биотин, тиамин, липоевая кислота, S-метилметионин, таурин, S-аденозилметионин, фосфоаденозинфосфосульфат, металлотионеин, некоторые антибиотики. *Дефицит серы* возникает при недостаточном потреблении белка.

МИКРОЭЛЕМЕНТЫ

Железо

Содержание железа в организме — 3–5 г, наибольшее его количество (2/3) приходится на гемоглобин, 4,5 % — на миоглобин, 2 % находится в составе ферментов. Оно может быть геминовым (железо гема и других порфиринов) либо негеминовым (в составе фермента аконитазы и железосерных белков, входящих в комплексы дыхательной цепи). **Fe²⁺ принимает участие** в связывании, транспорте и депонировании кислорода (гемоглобин и миоглобин), в транспорте электронов в дыхательной цепи (цитохромы), в реакциях гидроксирования (цитохром P₄₅₀), обезвреживания перекисей (каталаза и пероксидазы) и других окислительно-восстановительных реакциях.

Железо всасывается в верхней части тонкого кишечника в форме Fe²⁺. При возрастании потребности в нём (кровопотери) Fe всасывается эффективнее. Улучшает всасывание железа витамин С, а фосфаты и фитаты зерновых растений затрудняют. Из просвета кишечника свободное железо захватывается *муцином* слизистой. *Интегрин* на поверхности мембраны щёточной каёмки энтероцита облегчает транспорт Fe внутрь клетки, где железо связывается с белком *мобилферрином*. Этот белок «собирает» железо из всех отсеков цитозоля энтероцита и переносит в кровь, где Fe³⁺ сразу же связывается с белком *апоферрином* и образуется *трансферрин* (гликопротеин). Трансферрин, помимо транспортной функции, защищает также ткани от токсического действия свободных ионов железа. Затем, связываясь со *специфическим мембранным рецептором*, трансферрин поступает вместе с ним в клетки кроветворных органов. После освобождения от Fe трансферриновый рецептор возвращается в плазматическую мембрану.

В клетках печени, костного мозга и селезёнки железо связывается с *апоферритином*. Этот белок состоит из 24 субъединиц, формирующих 6 каналов, через которые в центральную часть молекулы поступают ионы железа. Одна молекула апоферритина может заключать в себе до 4,5 тысяч атомов железа. Апоферритин, связанный с Fe, называется *ферритином*. Железо может быть снова использовано только после распада ферритина. При загрузке депо (ферритина) Fe откладывается в виде нерастворимого комплекса — *гемосидерина*.

Физиологические потери железа при обновлении эпителия кишечника незначительны. Особенностью обмена Fe является неспособность организма экскретировать его большие количества. В норме между скоростью всасывания и выведения железа существует равновесие. Существенный дефицит железа может возникать при кровопотере (с 1 мл крови теряется 0,5 мг Fe). Недостаток Fe возникает также при потреблении бедной железом пищи и нарушениях его всасывания. В результате развивается *железодефицитная гипохромная анемия*. Избыточное отложение Fe в виде гемосидерина в клетках печени и селезёнки отмечается при переливании больших объёмов крови или гемолизе эритроцитов.

Суточная потребность в железе для взрослых — 1–2 мг. Однако всасывается лишь 10 % содержащегося в рационе питания Fe.

Медь

Всасываясь в кишечнике, медь в portalном кровотоке адсорбируется альбуминами и белком транскупреином и поступает в печень — центральный орган обмена меди. В печени медь либо запасается, либо включается в Cu-содержащие ферменты. В плазме крови Cu связывается с ферментом церулоплазмином (α_2 -глобулин). Церулоплазмин обладает оксидантной активностью: окисляет аскорбиновую кислоту, адреналин, ДОФА и другие. Он играет ведущую роль во взаимосвязи обмена Cu и Fe.

Роль меди в обмене веществ. Медь входит в состав многих ферментов: цитохромоксидазы (фермент дыхательной цепи), моноаминоксидазы (обезвреживание биогенных аминов), церулоплазмина, каталазы (обезвреживание H_2O_2), тирозиназы (синтез меланина), супероксиддисмутазы (обезвреживание O_2^-), лизилоксидазы (синтез коллагена и эластина).

Суточная потребность — 2–3 мг. При недостатке меди в рационе может развиваться *железодефицитная анемия*, так как медь непосредственно участвует в метаболизме железа.

Цинк

Цинк обнаружен во всех органах и тканях человека. Общее содержание в организме — 2-3 г. Цинк является необходимым компонентом более чем 200 ферментов (супероксиддисмутаза, глутаматдегидрогеназа, щелочная фосфатаза, РНК-полимераза, карбоангидраза, алкогольдегидрогеназа); участвует в стабилизации структуры органических соединений (нуклеиновых кислот, инсулина, рибосом) и биологических мембран; играет важную роль в развитии и поддержании иммунного статуса организма (стимулятор тимулина), регулирует половое созревание и половую функцию (сперматогенез), участвует в кроветворении, необходим для вкусового восприятия и обоняния. Пищевыми источниками цинка являются субпродукты, грибы, устрицы, креветки, яйцо, дрожжи, мясо, горчица, орехи (фисташки), семена подсолнуха, зерновые, твёрдые сыры.

Дефицит цинка возникает при нарушении его всасывания (кишечные заболевания, гастрэктомия) или при хроническом алиментарном дефиците (*болезнь Прасада*).

Суточная потребность — 10-15 мг/сут.

Селен

Селен является дефицитным и абсолютно незаменимым микроэлементом. Он является мощным антиоксидантом, защищая ткани от свободнорадикальной деструкции как самостоятельно (например, защищая SH-группы от окисления), так и в составе глутатиопероксидазы (Se входит в состав её активного центра) — важнейшего фермента антиоксидантной системы организма. Селен — составная часть тироксин-5'-дейодазы, обеспечивающей превращение тироксина в трийодтиронин. Se работает в составе трансдуцина (участвует в акте зрения), входит в состав тиоредоксинредуктазы. Селен — классический антиканцероген, что объясняется его антиоксидантными свойствами.

Суточная потребность — 100 мкг (минимум 1мкг/кг/сут)

Йод

В организме взрослого человека содержится 20-30 мг йода (в составе тиреоидных гормонов и тиреоглобулина щитовидной железы). Йодный дефицит в организме ведёт к компенсаторному разрастанию щитовидной железы (*эндемический зоб*) и *гипотиреозу*. *Накопление* в щитовидной железе *радиоактивного йода* (I^{131}) ведёт к *раку щитовидной железы*. Йод поступает в организм с пищей (морепродукты и особенно морские водоросли (ламинария), грецкие орехи) и водой. Для детей грудного возраста основной источник йода — молоко. В Беларуси выявлен умеренный йодный дефицит в почве. Потребление йодирован-

ной соли и йодированных продуктов питания компенсирует этот недостаток.

Суточная потребность — 120-200 мкг.

Марганец

Является дублёром магния. Марганец работает как активатор ДНК-полимеразы и РНК-полимеразы, глутаминсинтетазы, пируваткарбоксихиназы; как кофактор аргиназы, супероксиддисмутазы митохондрий; участвует в обеспечении секреции инсулина поджелудочной железой, принимает участие в эритропоэзе и гемоглобинообразовании.

Суточная потребность — 6-10 мг

Кобальт

Рациональная суточная диета содержит 5-8 мг кобальта. Всасывается около 20 %.

Кобальт входит в структуру витамина В₁₂. Кобальт работает в составе некоторых ферментов (в форме витамина В₁₂), стимулирует процессы кроветворения (стимулирует всасывание Fe и включение его в гемоглобин, образование и созревание ретикулоцитов, увеличивает количество эритроцитов); регулятор активности ферментов (повышает активность костной и кишечной фосфатазы, аргиназы, амилазы; понижает активность сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы).

Молибден

Ежедневный приём молибдена составляет до 500 мкг. В организм поступает с бобовыми и зерновыми культурами, зелёными листовыми овощами, чесноком, цветной капустой, морковью и семечками подсолнуха, а также с нежирным мясом, молоком и субпродуктами. Молибден работает в составе ксантиноксидазы. При избытке молибдена в организме может развиваться *молибденовая подагра*. Избыток молибдена в организме может быть следствием производственной интоксикации или высокого содержания этого элемента в питьевой воде.

Тема 25. ГЕМОСТАЗ. СИСТЕМА СвёрТЫВАНИЯ КРОВИ

Гемостаз (греч. *haima* (кровь), *stasis* (стояние)) — все процессы, направленные на поддержание жидкого состояния циркулирующей крови, препятствующие кровоточивости, а также процессы, обуславливающие восстановление кровотока в случае обтурации сосуда тромбом. **Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз** (клеточный, микроциркуляторный, первичный) ведёт к образованию тромбоцитарного тромба. **Коагуляционный гемостаз** (плазменно-тромбоцитарный, макроциркуляторный, вторичный) заканчивается образованием коагуляционного тромба. Основными компонентами системы гемостаза являются стенка кровеносного сосуда, клетки крови (тромбоциты) и система свёртывания крови.

Система свёртывания крови по функциональному признаку делится на две системы: свёртывающую (гемокоагуляционную) и противосвёртывающую (антитромботическую). Противосвёртывающее действие обеспечивается антикоагулянтной и фибринолитической системами. Поддержание жидкого состояния циркулирующей крови обеспечивается взаимодействием свёртывающей и противосвёртывающей систем крови, которые в физиологических условиях находятся в динамическом равновесии.

СВЁРТЫВАЮЩАЯ (ГЕМОКОАГУЛЯЦИОННАЯ) СИСТЕМА КРОВИ

Назначение свёртывающей системы крови — образование нерастворимого фибрина. В свёртывающую систему крови входят ферментные и неферментные белки плазмы, тканей и форменных элементов крови (прежде всего тромбоцитов), надмолекулярные образования (фрагменты клеточных мембран) и ионизированный кальций. Международный комитет по выработке номенклатуры факторов свёртывания присвоил арабскую нумерацию тромбоцитарным (P_{1-11}) и римскую (ф. I–XIII) — плазменным и тканевым факторам.

Большинство плазменных факторов гемокоагуляции являются ферментами (сериновые протеиназы), синтезируются в печени и секретируются в кровь в неактивном состоянии, то есть в виде прокоагулянтов. Активирование большинства прокоагулянтов осуществляется путём частичного протеолиза. На определённых этапах процесс свёртывания резко ускоряется неферментными белками (ф. VIII и ф. V), выполняющими роль коферментов.

Свёртывание крови (гемокоагуляция) — цепной каскадный ферментативный процесс, в ходе которого происходит взаимодействие и последовательная активация ряда сериновых протеиназ на фосфолипидных матрицах (тромбопластинах), заканчивающийся превращением растворимого фибриногена в нерастворимый фибрин.

Время свёртывания крови составляет 5–7 минут.

Выделяют три фазы гемокоагуляции и посткоагуляционную фазу.

Первая фаза — образование протромбиназы или активного тромбопластина крови (4 мин 50 с – 6 мин 50 с).

Вторая фаза — образование тромбина (2–5 с).

Третья фаза — образование фибрина (2–5 с).

Четвертая (посткоагуляционная) фаза — ретракция тромба, то есть образование гемостатически полноценного тромба (55–85 мин).

В зависимости от механизма первой фазы различают внешнюю и внутреннюю системы свёртывания крови (рис. 25.1).

Внутренний путь образования протромбиназы. Во внутреннем пути все необходимые факторы присутствуют в движущейся крови и реакции свёртывания начинаются при контакте крови с измененной или чужеродной поверхностью, по смачиваемости отличающейся от эндотелия (повреждённая сосудистая стенка или измененная вследствие васкулитов, атеросклероза, интоксикации; поврежденный эндокард). Кроме контакта с чужеродной поверхностью активирование фактора XII может осуществляться ферментом калликреином, а также иммунными комплексами, адреналином, жирными кислотами, холестерином, триацилглицеролами, эндотоксинами, бактериальными липопротеинами и другими веществами. Во внутренней активирующей системе источник тромбопластинов — плазматические мембраны активированных тромбоцитов (P_3 — тромбоцитарный тромбопластин).

Внешний путь образования протромбиназы. Появление в кровотоке обломков клеточных мембран (ф. IIIa — активный тканевый тромбопластин) при травме и других патологических состояниях или активация тканевого тромбопластина в эндотелиоцитах (при стазе крови, гипоксии, ацидозе, действии протеиназ и токсинов на эндотелий) быстро запускает внешний механизм свёртывания крови.

Продукт второй фазы — тромбин. **Тромбин** — главный ключевой фермент гемокоагуляции, количество которого строго контролируется.

ВНУТРЕННИЙ ПУТЬ СВЁРТЫВАНИЯ КРОВИ

ВНЕШНИЙ ПУТЬ СВЁРТЫВАНИЯ КРОВИ

Контакт с аномальной поверхностью

Коллаген, поверхность активированного тромбоцита

Повреждение ткани

Тканевый тромбопластин (ф.IIIa)

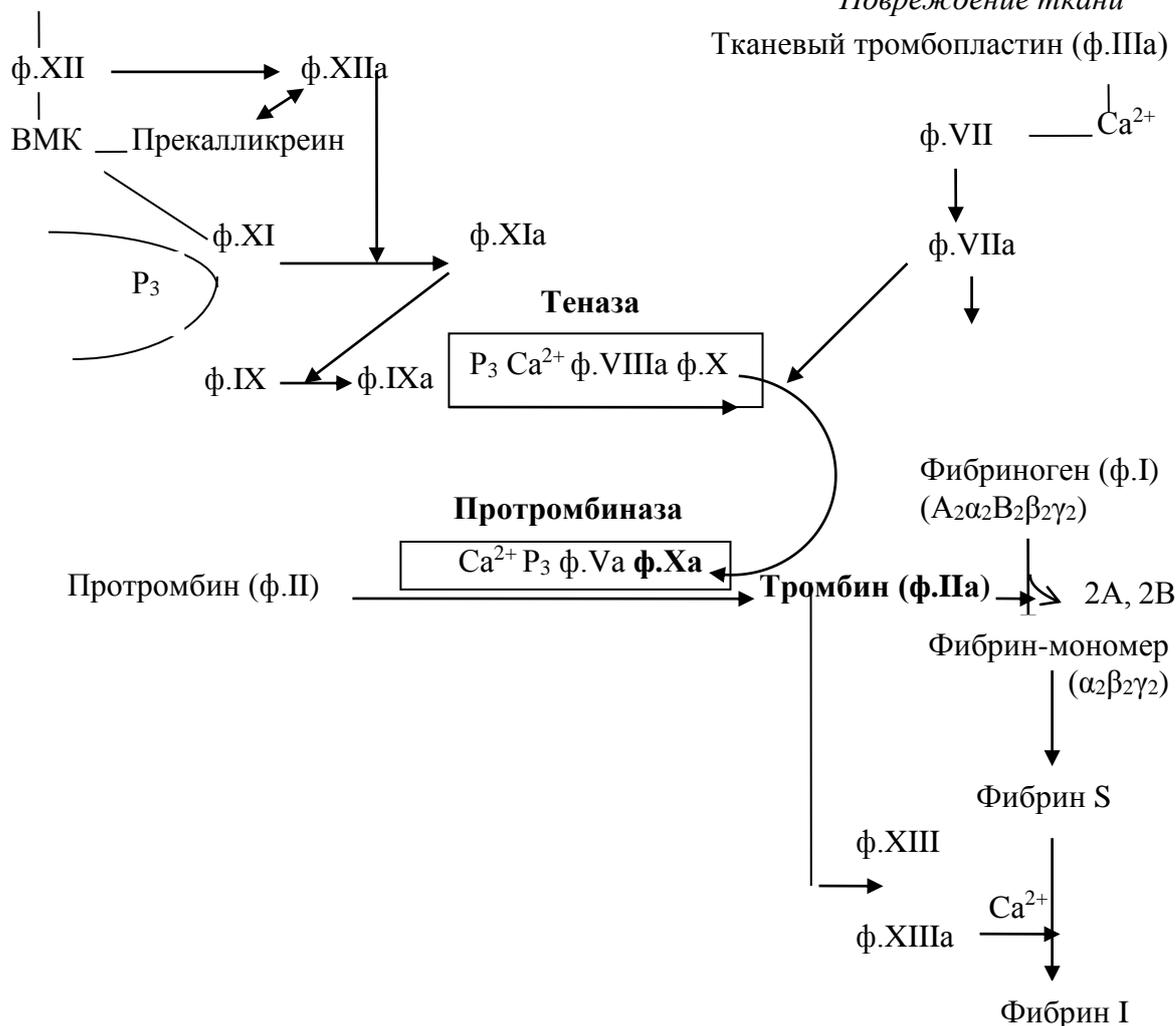
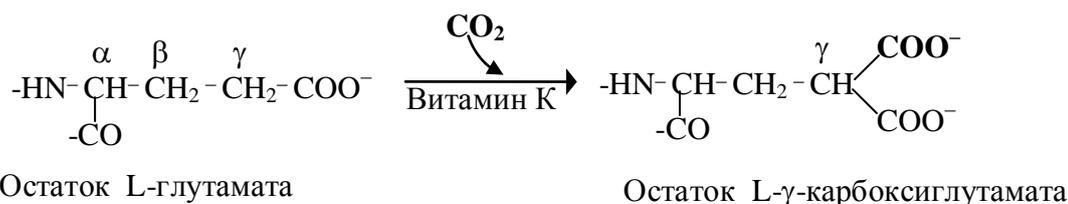


Рис. 25.1. Свертывающая система крови

Витамин К (К₁, К₂, К₃, викасол и другие) является антигеморрагическим фактором. Он принимает участие в посттрансляционном созревании факторов II, VII, IX и X свёртывающей системы крови (а также в созревании витамин К-зависимых антикоагулянтов — протеинов С и S). Гамма-карбоксилирование остатков глутаминовой кислоты в молекуле этих белков протекает после трансляции, в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов с участием γ -глутамилкарбоксилазы. Роль кофактора в составе этого фермента выполняет восстановленная (гидрохиноновая) форма витамина К:



Наличие дополнительной γ -карбоксильной группы в остатках глутаминовой кислоты придает этим белкам способность при посредстве ионов кальция связываться на фосфолипидной поверхности и участвовать в реакциях гемокоагуляции. При авитаминозе К содержа-

ние витамин К-зависимых факторов системы свёртывания в плазме крови не изменяется, но нарушается их способность связываться на поверхности тромбопластинов.

Длительная и выраженная гиперкоагуляция создает благоприятные условия для тромбообразования. Аномалии или дефицит факторов гемокоагуляции (коагулопатии) ведут к нарушению коагуляционного гемостаза, что сопровождается кровотечениями.

АНТИКОАГУЛЯНТНАЯ СИСТЕМА

Антикоагулянтная система — это ряд ингибиторов свёртывания (антикоагулянтов), осуществляющих контроль скорости активирования факторов свёртывания и реакций между ними.

Практически каждому из участников процесса фибринообразования противостоят специфические ингибиторы. Многие антикоагулянты обладают антитромбиновым действием.

По механизму образования в организме все *естественные (физиологические) антикоагулянты* разделяют на первичные и вторичные. *Первичные* антикоагулянты постоянно синтезируются и с постоянной скоростью выделяются в кровоток. Первичные антикоагулянты ингибируют активные факторы коагуляции и не действуют на неактивные формы этих факторов. *Вторичные* антикоагулянты образуются из факторов свёртывания и других белков в процессе свёртывания крови, фибринолиза или активации других протеолитических систем.

Из физиологических антикоагулянтов функционально наиболее значимыми являются антитромбин III, гепарин, протеины С и S, α_2 -макроглобулин, антиконвертин.

Гликопротеин **антитромбин III (АТ-III)** синтезируется в печени и эндотелиальных клетках. АТ-III — главный ингибитор тромбина. Он также необратимо ингибирует большинство сериновых протеиназ свёртывающей системы (факторы Ха, XIIa, XIa, IXa), слабый ингибитор калликрейна, а также плазмина. На долю АТ-III приходится почти 90 % всей антиромбиновой и более 75 % всей антикоагулянтной активности крови. АТ-III активируется **гепарином** в 1000 раз.

Протеины С и S — витамин К-зависимые гликопротеины, синтезируемые гепатоцитами. Протеин С синтезируется в неактивной форме и превращается в активную протеиназу тромбином. Протеин С расщепляет неферментные факторы VIIa и Va. Функция протеина С усиливается под влиянием протеина S, выполняющего роль кофактора.

α_2 -Макроглобулин является конкурентным ингибитором взаимодействия тромбин-фибриноген. На его долю приходится 3,5 % всего антиромбинового потенциала крови.

Антиконвертин (ингибитор пути тканевого фактора) синтезируется в основном эндотелиальными клетками, и большее его количество находится на поверхности эндотелия. Антиконвертин ингибирует внешний механизм свёртывания крови: связывает в неактивный комплекс фактор Ха и комплекс ф. VIIa/ Ca²⁺/ тканевый тромбопластин.

В физиологических условиях содержание антикоагулянтов достаточно для сдерживания процессов гемокоагуляции. При усиленном тромбообразовании компенсаторно растёт и уровень антикоагулянтов.

В медицинской практике для антикоагулянтной терапии используются *искусственные антикоагулянты* прямого и непрямого действия. Искусственные антикоагулянты *прямого действия* непосредственно предотвращают реакции гемокоагуляции (**гепарин**). Природный антикоагулянт **гирудин** (от лат. *hirudo* — пиявка) — секрет слюнных желез медицинской пиявки — специфический ингибитор тромбина. В лабораторной практике используются кальцийсвязывающие вещества **цитрат, оксалат** и **ЭДТА**, выключающие ионизированный кальций (ф. IV) из реакций гемокоагуляции. Искусственные антикоагулянты *непрямого действия* (**варфарин, дикумарол, синкумар**) — это структурные аналоги витамина К (антагонисты витамина К), блокирующие превращение хиноновой формы витамина К в его активную гидрохиноновую форму.

ФИБРИНОЛИТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА

Фибринолиз — это процесс расщепления фибрина (фибриногена) на растворимые фрагменты (пептиды). По механизму фибринолиз может быть ферментативный (под действием плазима или ферментов клеток крови) и неферментативный (комплексы гепарина с белками (фибриногеном, тромбином, плазмином, плазминогеном) и некоторыми аминами (адреналином, норадреналином, гистамином, серотонином) плазмы крови разрушают нестабилизированный фибрин).

Основным звеном фибринолиза является **плазминовая система**. В плазминовую систему входят **плазмин**, его профермент плазминоген, активаторы плазминогена, проактиваторы плазминогена, ингибиторы плазима и ингибиторы активаторов плазминогена (рис. 25.2).

Плазмин обладает высокой специфичностью к фибрину и фибриногену. В результате действия плазима фибрин (фибриноген) распадается на растворимые фрагменты (продукты деградации фибрина), которые затем удаляются из кровотока ретикулоэндотелиальной системой.

В плазме крови содержится плазминоген — неактивный предшественник плазима.

Плазминоген — гликопротеин, синтезируемый в печени, костном мозге, почках. Превращение плазминогена в плазмин происходит в результате частичного протеолиза под действием активаторов плазминогена.



Рис. 25.2. Плазминовая система

Активаторы плазминогена (АП). Существует большое количество активаторов плазминогена, которые присутствуют в крови, других биологических жидкостях и тканях организма человека. Физиологические активаторы плазминогена классифицируются в зависимости от источника получения на тканевые (органные), сосудистые (тканевый активатор плазминогена), плазменные, кровяные, активатор из мочи — **урокиназа**, активаторы плазминогена, выделяемые культурами раковых и трансформированных онкогенами клеток. Важнейший внешний активатор плазминогена — **тканевый активатор плазминогена (тАП)** — синтезируется эндотелиальными клетками кровеносных сосудов. Практически все активаторы плазминогена продуцируются в виде проферментов (проактиваторов плазминогена).

Ингибирование фибринолиза осуществляется на каждом этапе активации этого процесса. Основные физиологические ингибиторы фибринолиза подразделяют на *ингибиторы плазмينا* (**α_2 -антиплазмин**, **α_2 -макроглобулин**, **α_1 -протеиназный ингибитор** (α_1 -антитрипсин), антитромбин III, С1-инактиватор, интер- α_2 -антитрипсин) и **ингибиторы активаторов плазминогена (ПАИ-1, ПАИ-2, ПАИ-3, ПАИ-4)**.

В условиях нормы активаторная и ингибиторная функции фибринолитической системы находятся в динамическом равновесии. Локальное или системное снижение фибриноли-

тической активности приводит к тромбозам. С другой стороны, чрезмерное повышение фибринолитической активности может сопровождаться кровотечениями.

Тема 26. БИОХИМИЯ МЫШЕЧНЫХ ТКАНЕЙ

Мышцы составляют у взрослого человека приблизительно 40 % от массы тела.

Функция мышц — напряжение и укорочение с последующим расслаблением.

Значение мышц — обеспечение подвижности организма и сопротивление механической силе, в том числе и статические нагрузки.

Механизм работы мышц — превращение химической энергии в механическую.

К мышечной ткани относятся:

- скелетная мускулатура;
- сердечная мышца;
- гладкая мускулатура.

Скелетная и сердечная мышцы под микроскопом имеют поперечно-полосатое строение, а гладкая — нет. Мышечные клетки состоят из *миофибрилл*, а функциональной единицей миофибрилл является *саркомер* (рис. 26.1).

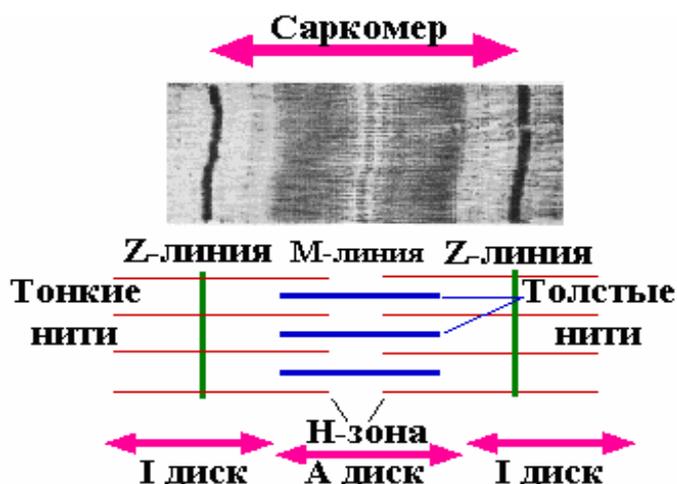


Рис. 26.1. Структура саркомера

При рассмотрении миофибриллы под электронным микроскопом видны темные и светлые полосы или диски (А и I диски). Центральная зона А диска (H зона) при этом кажется менее оптически плотной, чем остальная его часть. I участок (или I диск) как бы делится на две части очень плотной и узкой Z-линией. Также видны два типа вытянутых нитей. Один тип — это *толстая* нить, соответствующая А диску. Второй тип — *тонкая* нить, расположена в I диске и проходит в А диск, не достигая H зоны.

Около 25 % массы мышц составляют белки. Белки мышц делят на 3 группы:

- миофибрилярные (сократительные) белки;
- белки саркоплазмы;
- белки стромы.

МИОФИБРИЛЛЯРНЫЕ (СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ) БЕЛКИ

1. *Миозин* — основа толстых нитей. Молекулярная масса $\approx 500\ 000$ Да. Молекула миозина имеет вытянутую часть, состоящую из двух спиралей, накрученных одна на другую. Каждая спираль имеет на одном конце глобулярную головку и называется тяжёлой цепью. Возле головок спиралей располагается по 2 лёгких цепи (рис. 26.2).

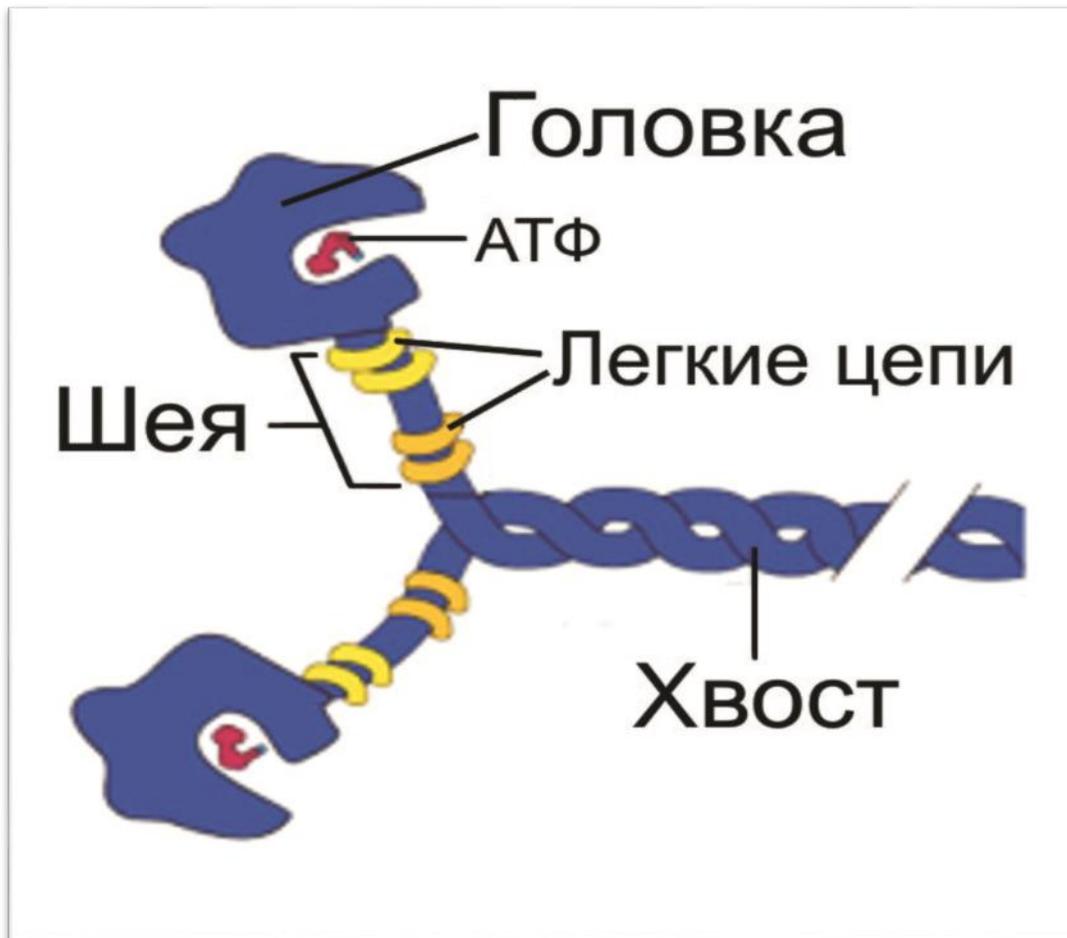


Рис. 26.2. Схематическое строение молекулы миозина

При обработке ферментами молекула миозина распадается на 2 больших фрагмента: *тяжёлый меромиозин* (обе головки и часть двойной спирали) и *лёгкий меромиозин* (остальная часть двойной спирали).

Функции миозина:

- структурная — около 400 молекул миозина соединяются между собой «хвост» в «хвост» и образуют толстую нить;
- каталитическая — головка миозина способна расщеплять АТФ;
- контактная — соединяется с актином своими головками, которые в таком случае называются «поперечные мостики».

2. *Актин* — белок тонких нитей. Молекулярная масса — 42 000 Да. Форма молекул — шаровидная, поэтому он и называется *G-актин* (от англ. globular). Молекулы G-актина соединяются между собой и образуют *F-актин* (фибрилярный) в виде двойной спирали (рис. 26.3).

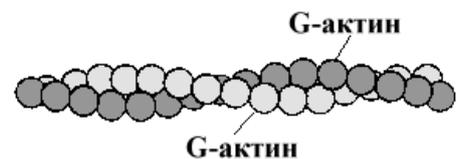


Рис. 26.3. Структура F-актина

3. *Тропомиозин* — также белок тонких нитей. Молекулярная масса — 65 000 Да. Состоит из двух α -спиралей в форме палочки. Располагается в бороздках, идущих вдоль обеих сторон актина. Каждая его молекула лежит на 7 молекулах актина.

4. *Тропонин* — ещё один белок тонких нитей. Молекулярная масса — 80 000 Да. Состоит из 3 субъединиц: С — для связывания с ионами кальция; I — ингибиторная, которая блокирует преждевременное соединение головок миозина с актином; Т — для связывания с тропомиозином (рис. 26.4).

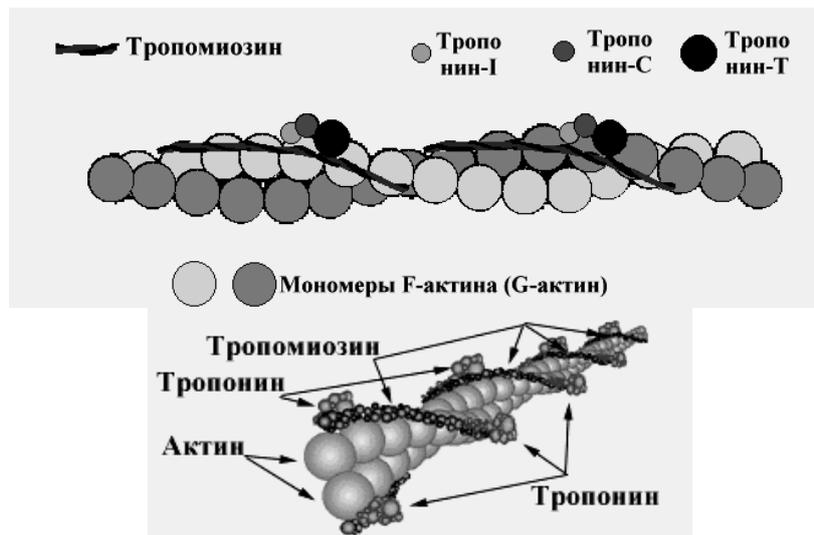


Рис. 26.4. Схематическое изображение расположения белков в тонких нитях саркомера

5. α -актинин. Входит в Z-линию и фиксирует там тонкие нити.
6. β -актинин. Регулирует длину тонких нитей.
7. М-белок. Входит в M-линию и фиксирует там толстые нити.
8. С-белок. Регулирует длину толстых нитей.
9. Десмин. Содержится между Z-линиями соседних миофибрилл, обеспечивая совпадение границ всех их саркомеров.
10. Небулин. Отходит от Z-линии и ассоциирован с тонкими нитями.
11. Титин. Связывает толстые нити с Z-линией и отвечает за их расположение в центре саркомера. Самый большой из изученных белков. Молекулярная масса — 2 800 000 Да.

Белки саркоплазмы. К ним относятся *миоглобин, ферменты гликолиза, тканевого дыхания, кальмодулин и кальсеквестрин*, способные обратимо связываться с ионами кальция.

Белки стромы. Это *коллаген и эластин*.

Мышцы, помимо белков, содержат небелковые азотистые соединения — *АТФ, КФ (креатинфосфат), фосфолипиды, глутамат, глутамин, карнозин и анзерин* (два последних способны увеличивать амплитуду мышечного сокращения); безазотистые соединения — *гликоген, лактат, пируват, нейтральные жиры, холестерол*. Остальная масса — H_2O .

Особенности гладких мышц:

- сократительный аппарат не содержит тропониновой системы, а содержит специальный белок *кальдесмон*, который выполняет функцию тропонина;
- миозиновая АТФазная активность в 10 раз ниже;
- миозин может соединяться с актином только при условии фосфорилирования лёгких цепей;
- богаты белками стромы, но бедны фосфолипидами и макроэргами.

Гладкие мышцы — медленные, но способны длительно поддерживать напряжение.

Кроме того, они похожи на сердечную мышцу тем, что сокращаются произвольно.

Источники энергии мышечного сокращения

В состоянии покоя. Свободные жирные кислоты (СЖК) и кетоновые тела (КТ).

При умеренной нагрузке. СЖК + КТ + глюкоза крови.

При максимальной нагрузке. СЖК + КТ + глюкоза крови + гликоген мышц.

Механизмы энергообеспечения мышечного сокращения

1. *Основной регулятор энергетики мышечной клетки — это отношение $[\text{АТФ}]/[\text{АДФ}] + [\text{Фн}]$.* В покое концентрация АТФ высокая, а АДФ — низкая, в результате чего тормозится активность ключевых ферментов гликолиза, цикла Кребса и работа дыха-

тельной цепи. С началом работы мышц концентрация АТФ падает, а АДФ возрастает, что приводит к активации вышеназванных процессов.

2. *Накапливающийся при работе мышц лактат* поступает из крови в печень, где путём глюконеогенеза превращается в глюкозу. Последняя выходит сначала в кровь и может давать при своем окислении АТФ, а затем поступает в мышцы, где служит для них источником АТФ или восстанавливает запас гликогена. В свою очередь при распаде гликогена до глюкозы и ее последующих превращениях также образуется АТФ.

3. *Аденилаткиназная (миокиназная) реакция:*



АТФ используется для мышечного сокращения, а АМФ стимулирует гликолиз.

4. *Креатинкиназная реакция:*



Покоящиеся мышцы содержат в 5–10 раз больше КФ, чем АТФ, но КФ, в отличие от АТФ, не может использоваться мышцами для сокращения. Роль КФ заключается в том, что он является не только транспортной формой энергии в мышцах, но и отдаёт свою богатую энергией связь АДФ для образования АТФ, который и расходуется при сокращении. Это система быстрого реагирования: она включается первой при нехватке АТФ в мышцах. Запаса КФ хватает только на 10 секунд, но за это время запускаются 1–3-й механизмы. Особенно эта система важна для миокарда, так как он очень чувствителен к недостатку кислорода и имеет исключительно аэробный характер обмена в отличие от скелетной мускулатуры.

Тема 27. БЕЛКИ СОЕДИНИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ (МОЛЕКУЛЫ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА)

Соединительная ткань состоит из **внеклеточного матрикса** и нескольких видов **клеток**:

- фибробласты — производят коллаген и другие вещества внеклеточного матрикса, способны делиться;
- фиброкласты — клетки, способные поглощать и переваривать межклеточный матрикс; являются зрелыми фибробластами, к делению не способны;
- меланоциты — содержат меланин;
- макрофаги;
- эндотелиоциты — окружают кровеносные сосуды, производят внеклеточный матрикс и продуцируют гепарин;
- тучные клетки — продуцируют гепарин и гистамин;
- мезенхимные клетки — клетки эмбриональной соединительной ткани

Особенностью соединительной ткани является **преобладание межклеточного матрикса**, который содержит множество разных **органических и неорганических соединений**. От их количества и состава зависит консистенция ткани.

Межклеточный матрикс выполняет разнообразные **функции**:

- обеспечивает механические контакты между клетками (базальные мембраны);
- образует механически прочные структуры (кости, хрящ, сухожилия);
- составляет основу фильтрующих мембран (например, в почках)
- скольжение в суставах и движение клеток;
- формирует пути миграции клеток (например, при эмбриональном развитии);
- индуцирует дифференцировку клеток.

Главными компонентами межклеточного матрикса являются: **структурные белки (коллагены и эластин)**, **адгезивные белки и протеогликаны**.

Белки соединительной ткани содержат в своем составе углеводы и являются белково-углеводными комплексами (БУК), которые различаются по химическому составу:

- протеогликаны (свыше 95 % углеводов);
- мукопротеины (10–50 % углеводов);
- гликопротеины (менее 10 % углеводов)

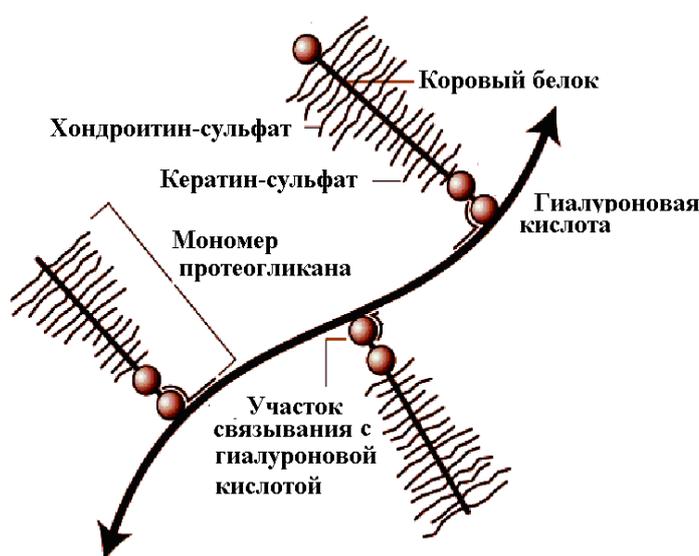


Рис.27.1. Строение протеогликана

По строению мономеров различают 7 типов глюкозаминогликанов.

1. Гиалуроновая кислота.
2. Хондроитин-4-сульфат.
3. Хондроитин-6-сульфат.
4. Дерматансульфат.
5. Кератансульфат.
6. Гепарансульфат.
7. Гепарин.

Все ГАГ, кроме гиалуроновой кислоты, сульфатированы.

Функции протеогликанов:

- являются структурными компонентами межклеточного матрикса;
- протеогликаны и гликозаминогликаны специфически взаимодействуют с коллагеном, эластином, фибронектином, ламинином и другими белками межклеточного матрикса;
- участвуют в формировании тургора различных тканей;
- протеогликаны и гликозаминогликаны играют роль молекулярного сита в межклеточном матриксе, они препятствуют распространению патогенных микроорганизмов;
- гиалуроновая кислота и протеогликаны выполняют рессорную функцию в суставных хрящах;
- гепарансульфатсодержащие протеогликаны способствуют созданию фильтрационного барьера в почках;
- кератансульфаты и дерматансульфаты обеспечивают прозрачность роговицы;
- гепарин — антикоагулянт;

ПРОТЕОГЛИКАНЫ — это комплексы (рис. 27.1), в которых с молекулами белка ковалентно связаны гликозаминогликаны (ГАГ).

Белковый компонент — это особый COR-белок (core — сердцевина, стержень). К нему при помощи трисахаридов (ксилоза-галактоза-галактоза) присоединяются глюкозаминогликаны. 1 молекула COR-белка может присоединить до 100 ГАГ.

Углеводы по своему строению являются *гетерополисахаридами* — **глюкозаминогликаны** (ГАГ). Эти гетерополисахариды построены из дисахаридных единиц (уроновая кислота – гексамин), которые являются их мономерами.

– гепарансульфаты — компоненты плазматических мембран клеток, где они могут функционировать как рецепторы и участвовать в клеточной адгезии и межклеточных взаимодействиях. Они также выступают компонентами синаптических и других пузырьков.

МУКОПРОТЕИНЫ (синоним мукоиды, муцины) — соединения белков с мукополисахаридами.

Углеводный компонент — это олигосахарид, мономерами которого являются минорные моносахариды: манноза, галактоза, гексозамины, арабиноза, ксилоза. На конце этого олигосахарида имеется еще одно производное моносахаридов: сиаловые кислоты (ацильные производные нейраминовой кислоты). Увеличение концентрации сиаловых кислот в крови свидетельствует о распаде межклеточного матрикса, что бывает при воспалении.

Функции мукопротеинов:

- уменьшают трение соприкасающихся поверхностей;
- обеспечивают групповую, видовую и тканевую специфичность;
- обладают ферментативной активностью.

ГЛИКОПРОТЕИНЫ

По химической структуре подобны мукопротеинам, но содержат меньшее количество углеводов в своем составе.

Функции мукопротеинов:

- структурная;
- транспортная;
- защитная;
- ферментативная;
- регуляторная;

МЕТАБОЛИЗМ БУК

СИНТЕЗ БУК

В зависимости от типа связи между белковым компонентом и сахаром различают два вида БУК.

1. БУК с O-гликозидной связью

Белковая часть синтезируется на рибосомах (матричный синтез)

Углеводная часть синтезируется путем последовательного присоединения к ОН-группе серина, треонина или гидроксипролина моносахаров.

В синтезе участвуют ферменты гликозилтрансферазы (специфичны), субстратами являются активированные моносахариды (УДФ-глю или УДФ-гал).

2. БУК с N-гликозидной связью

Белковая часть синтезируется на рибосомах (матричный синтез)

Углевод синтезируется на специальном носителе — долихоле (полиизопреновое соединение) и затем присоединяется к атому азота амидной группы аспарагина с помощью фермента олигосахаридтрансферазы.

РАСПАД БУК

Разрушение БУК происходит с участием лизосомных ферментов. Белковую часть расщепляют **протеиназы**, а углеводную цепь — **гликозидазы и сульфатазы**.

При врожденных дефектах в строении и функционировании этих ферментов развиваются заболевания — **мукополисахаридозы** (болезни накопления БУК; лизосомные болезни)

Наследуются с участием X-хромосомы и аутосомно. Частота возникновения —

1:100.000 новорожденных. У больных в лизосомах накапливаются продукты неполного расщепления БУК. Накапливаемые ГАГ видны в клетках хряща, фасций, сухожилий, периоста, кожи, оболочек мозга, сосудах, селезенке, печени и выделяются с мочой

Диагностика: выделение ГАГ с мочой; дефекты ферментов; накопление ГАГ в культуре фибробластов; медико-генетическое консультирование; пренатальная диагностика — амниоцентез

КОЛЛАГЕНЫ

Коллагены — основные гликопротеины соединительных тканей. Они составляют 25% всех белков организма человека и обеспечивают сопротивление растяжению в отличие от ПГ, которые противодействуют сжатию.

В геноме человека 30 генов, кодирующих коллагеновые α -цепи. Выделено свыше 20 типов коллагеновых молекул (изоколлагены).

Изоколлагены типов I–III получили название **фибрилформирующих** коллагенов, а изоколлагены IX и XII — **фибрилассоциируемых** коллагенов, так как они обычно связаны с коллагеновыми волокнами, которые образовали фибриллформирующие коллагены. Фибриллассоциируемые коллагены обеспечивают соединение волокон с другими молекулами матрикса. Типы IV и VII называют **сетьюформирующими коллагенами**. Они образуют сетевидные структуры и чаще всего находятся в базальных мембранах, обеспечивая связь клеточных слоев эпителия с подлежащей соединительной тканью. Это особенно важно для кожи.

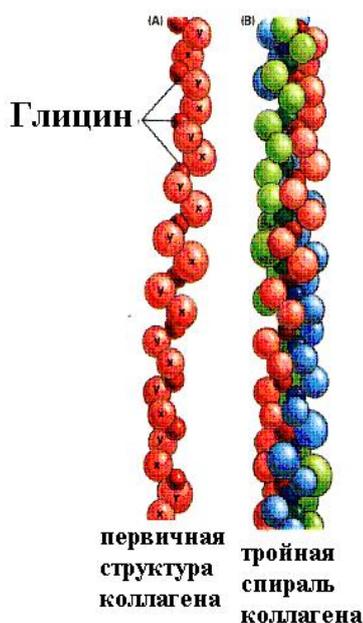
Структурная организация коллагена

Аминокислотный и углеводный состав

- ГЛИ (1/3)
- ПРО и ОН-ПРО – 1/5
- ОН-ЛИЗ
- Отсутствуют серусодержащие и ароматические аминокислоты
- Углевод — дисахарид (глюкоза + галактоза).

Первичная структура

Левозакрученная полипептидная цепь состоящая из триад аминокислот. В триадах третья аминокислота всегда глицин, вторая — пролин или лизин, первая — любая другая аминокислота, кроме трёх перечисленных. Из-за большого количества иминокислот в полипептидной цепи не возможно образование водородных связей.



Вторичная структура

3 полипептидные цепи коллагена сворачиваются в тройную, линейную, правозакрученную спираль.

Такая молекула называется тропоколлаген. Стабилизируется водородными связями между пептидными группировками и дисульфидными связями между остатками цистеина на N- и C-концах молекулы. Молекула тропоколлагена растворима в воде и не способна к образованию фибрилл.

Третичная и четвертичная структуры коллагена формируются внеклеточно.

После удаления дополнительных пептидов, богатых цистеином, тройные спирали коллагена становятся нерастворимыми и способными к агрегации. Это способствует формированию волокнистых структур, которые образованы многочисленными тройными спиралями коллагена. Между молекулами коллагена образуются поперечные сшивки, в результате чего волокна коллагена приобретают поперечную исчерченность.

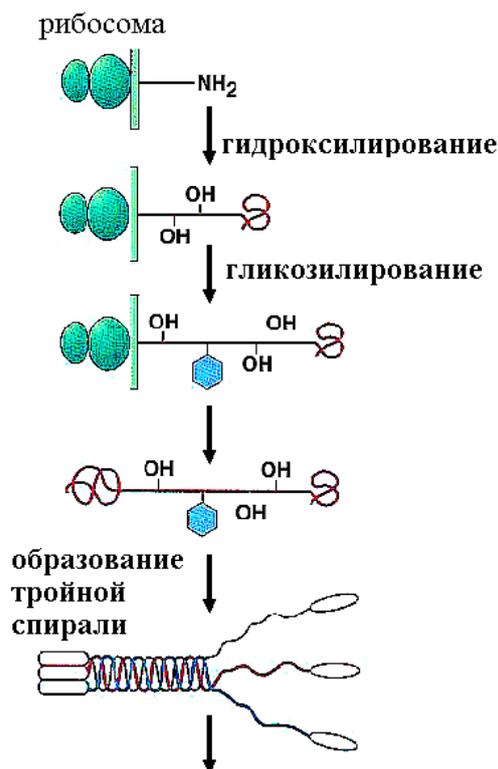


Рис.27.2. Процессинг препроколлагена: внутриклеточный этап

начинается **процессинг** препроколлагена (рис. 27.2), в котором выделяют внутриклеточный и внеклеточный этапы.

Внутриклеточно происходит удаление сигнального пептида и проколлаген поступает в ЭПР.

Полипептидные цепи гидроксилируются пролилгидроксилазой и лизингидроксилазой. Для работы этих ферментов в качестве кофакторов необходимы O_2 , Fe^{2+} , α -кетоглутарат и аскорбиновая кислота. Снижение содержания гидроксипролина клинически проявляется цингой (при дефиците аскорбиновой кислоты), которая является следствием нестабильности молекул из-за изменения их структуры и разрушения протеазами.

Происходит гликозилирование остатков гидроксилизина, что необходимо для секреции молекул проколлагена в межклеточное пространство.

В дополнительных пептидах на N- и C-концах формируются межцепочечные дисульфидные связи между радикалами цистеина, что сопровождается образованием тройной спирали коллагена.

Процессинг препроколлагена

Полипептидные цепи синтезируются на полисомах в виде **препроколлагена** («*пре*» указывает на наличие сигнального, лидирующего пептида; «*про*» — на наличие дополнительных пептидов на N- и C-концах, которые необходимы для формирования правильной пространственной структуры). Затем

Секреция проколлагена во внеклеточное пространство.

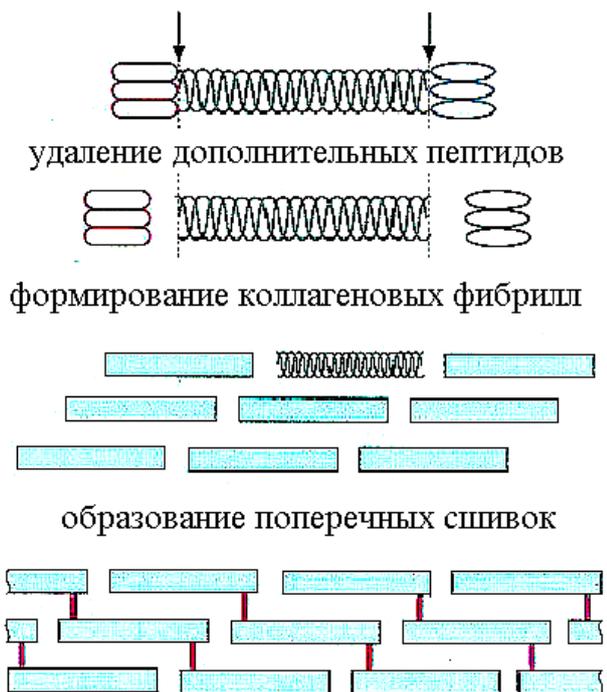


Рис.27.3. Процессинг коллагена: внеклеточный этап

Ферменты amino- и карбоксипептидазы удаляют дополнительные пептиды. После чего становится возможной организация молекул коллагена в фибриллы (микрофибриллы) и переплетение фибрилл с образованием коллагеновых волокон (рис.27.3).

Оксидазы (для них необходимы Cu^{2+} и витамин.В₆) катализируют окислительное дезаминирование ϵ -аминогрупп лизина и гидроксизина в молекулах коллагена с образованием альдегидных групп. Конденсация альдегидных групп сопровождается образованием поперечных связей в коллагеновых волокнах.

Эластин

Эластин — самый прочный из белков, известных в организме человека.

В отличие от коллагена у эластина один генетический тип, мало ОН-ПРО, нет ОН-ЛИЗ, дополнительных пептидов, углеводов, не образуется тройная спираль.

Молекула эластина состоит из двух типов фрагментов, чередующихся вдоль цепи:

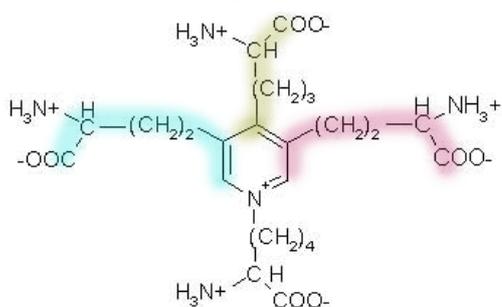


Рис. 27.4. Десмозин

гидрофобные (фибрилярные) сегменты, которые ответственны за эластические свойства молекулы и глобулярные сегменты, богатые АЛА и ЛИЗ, имеющие форму α -спирали и участвующие в формировании поперечных связей между молекулами эластина. Синтезируется эластин в виде мономера, а внеклеточно происходит фибрилlogenез с образованием поперечных связей. В образовании поперечных связей принимают участие 4 остатка ЛИЗ. С участием оксидаз происходит окислительное дезаминирование лизина и последующая межмолекулярная конденсация 4-х альдегидных групп. В результате чего образуется особый вид межмолекулярных сшивок — десмозин (рис. 27.4) или лизиннорлейцин, которые присущи только эластину.

Фибриллярные адгезивные белки

Внеклеточный матрикс содержит большое число адгезивных неколлагеновых белков, структурной особенностью которых является наличие доменов, способных специфически связываться с другими макромолекулами и рецепторами на поверхности клетки. Непременным компонентом доменов, обеспечивающих взаимодействие с клетками, является последовательность аминокислот АРГ-ГЛИ-АСП (R-G-D).

Фибронектин — высокомолекулярный гликопротеин. Существуют множественные формы фибронектина. Одна из них — *фибронектин плазмы* и других биологических жидко-

стей. Он принимает участие в механизмах свертывания крови и заживления ран. *Фибронектины тканей* располагаются на поверхности клеток, образуя фибронектиновые филаменты.

Фибронектин ускоряет клеточную миграцию, обеспечивая взаимодействие клеток с матриксом.

Фибриллин — структурный компонент микрофибрилл, обеспечивающих образование эластиновых волокон. Он найден в хрусталике, периосте, аорте. При мутации гена, кодирующего синтез фибриллина, развивается синдром Марфана: эктопия хрусталика, арахнодактилия («паучьи» пальцы), поражение суставов.

Ламинин и энтактин — гликопротеины базальной мембраны. Они связываются не только между собой, но и с изоколлагеном IV, гепарансульфатом, поверхностью эпителиальных клеток, причем для связывания с различными веществами имеются свои домены.

Каждый тип соединительной ткани имеет свои специфические наборы молекул: кроме соответствующих изоколлагенов, имеются и специфические неколлагеновые белки.

В хрящевой: *главный ПГ и минорные ПГ (фибромодулин* — регулятор фибриллогенеза; *бигликан* — значение его пока неизвестно; *декорин* — способен связываться с изоколлагеном II и играет роль ингибитора фибринолиза; *белки с разной молекулярной массой* и не очень изученными функциями, из известных функций — связывание с хондроцитами, кристаллами гидроксиапатита, изоколлагеном II для его фиксации к хондроцитам).

В костной: индукторы и ингибиторы остеогенеза, инициаторы минерализации. Это *неколлагеновые белки*.

Остеокальцин: 1) содержит 3 остатка γ -карбоксиглутаминовой кислоты → связывает Ca^{2+} ; 2) прочно связан с апатитом; 3) участвует в росте кристаллов.

Костный сиалопротеин: 1) содержит трипептид АРГ-ГЛИ-АСП (R-G-D) → способен связываться с другими клетками, макромолекулами и рецепторами клеточных мембран; 2) через специальный рецептор (10 остатков ГЛУ) связывается с Ca^{2+} ; 3) относится к фосфопротеинам, тесно связан с клетками и апатитом; 4) присоединяет остеобласты к кости в период ее синтеза.

Остеопонтин: 1) содержит трипептид R-G-D; 2) связывается с Ca^{2+} ; 3) прочно связан с апатитом.

Остеонектин: 1) имеет Са-связывающий домен, хотя в нем и нет γ -карбоксиглутаминовой кислоты; 2) связывается с коллагеном и апатитом.

Тромбоспондин: 1) содержит трипептид R-G-D; 2) связывается с поверхностями клеток и другими белками костной ткани.

Костный кислый гликопротеин: участвует в минерализации костной ткани.

ТЕМА 28. БИОХИМИЯ ЗУБОВ

Зубы — сложный орган, производный эпителия и соединительных тканей. В состав зубов входят три вида плотных тканей: эмаль, дентин, цемент, а также разновидность рыхлой соединительной ткани, входящей в пульпу зуба. Главный минеральный (неорганический) компонент твердых тканей зуба, как и костной ткани, — *кристаллы апатитов* (апатит в переводе — неизвестный). В их основе — *фосфат кальция*. Любой минеральный компонент формируется следующим образом:



Общая формула апатитов — $\text{A}_{10}(\text{BO}_4)_6\text{X}_2$, где А — Са, Ва, Sr, Cr, Pb, Cd; В — Р, As, Si; X — F, Cl, OH⁻, CO₃²⁻. Самый распространенный в минерализованных тканях — ГА, самый устойчивый к действию кислот — фторапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F})_2$. При концентрации F в средствах по уходу за зубами и полостью рта до 500 мг/л образуется *гидроксифторапатит* — $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})\text{F}$; 500–2000 мг/л — *фторапатит*; более 2000 мг/л — CaF_2 , а это уже не

кристаллы апатитов.

В «идеальном» апатите соотношение $Ca/P = 1,67$. Уменьшение этого соотношения приводит к неблагоприятным последствиям, в частности к снижению резистентности эмали. При замещении в ГА Ca на Sr, особенно на Sr^{90} , который является β -излучателем, развивается *стронциевый рахит*, для которого характерны хрупкость и ломкость костей и зубов, переломы, деформации скелета.

Обмен ионов кристаллов апатита на ионы, находящиеся в растворе, называется изоморфное замещение. Преимущественным фактором возможности замены является сходство размера атома, а сходство заряда имеет второстепенное значение. Кроме изоморфного замещения, состав кристалла апатита можно изменить путем заполнения другими ионами вакантных мест в кристаллической решетке апатита.

Этапы проникновения различных элементов в кристаллы ГА:

- проникновение элементов в воду гидратной оболочки кристалла (длится несколько минут);
- обмен между ионами гидратной оболочки и поверхностью кристалла (длится несколько часов);
- проникновение ионов в кристалл (длится месяцами и годами).

Минерализация твердых тканей зуба

В основе этого процесса — образование кристаллов апатита с участием фосфата кальция. В организме внеклеточная жидкость перенасыщена фосфатом кальция, и он начинает осаждаться. Выделяют 2 стадии осаднения фосфата кальция:

- нуклеация — образование плотного осадка (ядра);
- рост кристаллов из ядра — эпитаксис.

Нуклеация бывает *гомогенная* (кристаллы образуются без участия другой фазы) и *гетерогенная* (образование кристаллов инициирует другая фаза, играющая роль матрицы-затравки). Матрица может и направлять рост кристаллов. Роль матрицы выполняют протеогликаны, гликозаминогликаны, Ca-связывающие белки: фосфопротеины и белки, содержащие γ -карбоксиглутаминовую кислоту (γ -КГК), для синтеза которой нужен витамин К.

Теории минерализации твердых тканей зуба:

- 1) физико-химическая, в основе которой лежат названные выше 2 стадии;
- 2) ферментная: щелочная фосфатаза костной ткани гидролизует фосфорорганические эфиры, в результате этого освобождается фосфат-ион, что при наличии кальция и матрицы вызывает рост кристаллов ГА;
- 3) смешанная: сначала синтезируется внеклеточный матрикс, а затем наступает этап минерализации из-за перенасыщенного состояния раствора фосфата кальция и наличия матрицы.

ТКАНИ ЗУБА

В таблице 28.1 приведен химический состав тканей зуба.

Таблица 28.1

Химический состав тканей зуба (весовые %)

Ткани	Минеральные (неорганические) вещества	Органические вещества	Вода
Эмаль	95	1–1,5	4
Дентин	70	20	10
Цемент	60	25	15
Пульпа	5	40	55

Эмаль. Вода находится здесь в двух видах: свободная и связанная (гидратная оболочка кристаллов апатитов).

Минеральная основа — кристаллы апатитов: ГА — 75 %; остальное — фторапатит, карбонатный апатит, хлорапатит. В наружном слое много Са, Р и F (в 10 раз больше, чем в подлежащих слоях), поэтому он более устойчив к действию кислот. Кроме F, есть Zn, Pb, Sb, Fe. В глубоком слое много Na, Mg, карбонат-иона. По всей толщине эмали равномерно распределены Sr, Cu, Al, K. Химический состав минерального компонента эмали приведен в таблице 28.2.

Таблица 28.2

Химический состав минерального компонента эмали

Компонент	Содержание, весовые %	Компонент	Содержание, в частях на миллион
Са	33,6 – 39,4	Фтор	50 и > 5000 – на поверхности
Р	16,1 – 18	Железо	8 – 218
СО ₂	1,95 – 3,66	Стронций	50 – 400
Натрий	0,25 – 0,90	Медь	10 – 100
Магний	0,25 – 0,56	Марганец	0 – 18
Хлор	0,19 – 0,30	Серебро	0 – 100
Калий	0,05 – 0,30	Са/Р (моль)	1,5 – 1,67

Органический компонент — неколлагеновые белки, пептиды, липиды, моносахариды.

Неколлагеновые белки — амелогенины, энамелины, Са-связывающий белок эмали. В процессе созревания эмали количество амелогенинов уменьшается, а энамелинов — увеличивается. Энамелины прочно присоединяются к кристаллам апатитов.

Са-связывающий белок играет главную роль в формировании белковой матрицы — основы эмали. Трехмерная сеть эмали образуется путем объединения в пространстве молекул Са-связывающего белка с ионами Са. Эта сеть (матрица) — зона нуклеации для роста кристаллов ГА. Она фиксируется на волокнах амелогенинов (рис. 28.1).

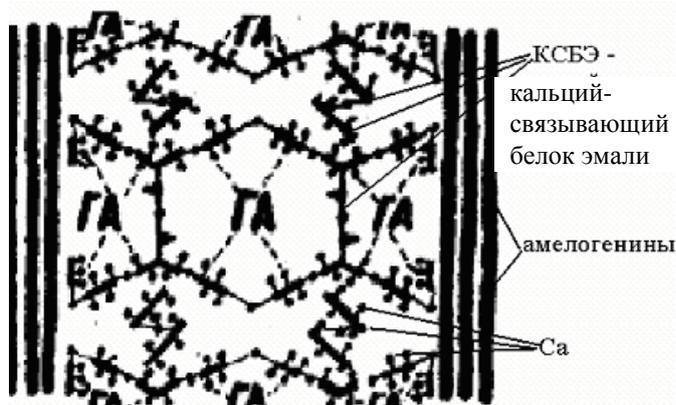


Рис. 28.1. Зона нуклеации для роста кристаллов ГА эмали

Дентин. *Первичный* дентин образуется в период прорезывания и формирования зубов, составляет основную часть дентина; *вторичный (физиологический вторичный)* образуется в сформированном зубе после прорезывания и является продолжением первичного; *третичный (репаративный вторичный)* образуется в ответ на действие раздражающих факторов напротив пораженного участка эмали. Отростки одонтобластов проходят через дентин до эмали и формируют каналы для трофики (питания) зуба. Они заполнены дентиновой жидкостью, которая выполняет минерализующую и сенсорную функции.

Минеральный компонент — ГА, но соотношение Са/Р не 1,67, а 1,5–1,67. F в 2 раза больше, чем в эмали, а Mg в 3 раза больше, чем в костях.

Органический компонент — изоколлаген I типа и *неколлагеновые белки (протеогликаны и фосфопротеины)*. Они способны связывать кальций и соединяться с изоколлагеном I.

В дентине есть и аморфная (некристаллическая) фаза, в которой имеются фосфат и карбонат кальция.

Цемент. Похож на костную ткань, поэтому называется «костаген», но в отличие от

нее не имеет сосудов и не подвергается постоянной перестройке.

Минеральный компонент — в основном ГА.

Органический компонент — изоколлаген I типа, протеогликаны, липиды.

Пульпа. Содержит сосуды и нервы и выполняет трофическую, защитную, репаративную функции.

Тема 29. БИОХИМИЯ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ

В полости рта находится *ротовая жидкость*, или *смешанная слюна* (в отличие от *чистой слюны*, которую продуцируют слюнные железы).

Ротовая жидкость, или смешанная слюна, — это суммарный секрет слюнных желез, детрит полости рта, десневая жидкость, зубной ликвор, микрофлора и продукты ее жизнедеятельности, лейкоциты и продукты их распада, остатки пищи, зубной пасты, ополаскивающих жидкостей, бронхиальные и назальные секреты. В русской речи используется термин «слюна», в медицинской и научной литературе — «ротовая жидкость» (табл. 29.1).

Таблица 29.1

Химический состав ротовой жидкости

Вода, %	98–99	Муцин, г/л	3
Плотные вещества, %	1,4–1,5	Глюкоза, мг/л	10–100
Органические в-ва, %	1	Амилаза, мг/л	380
Плотность, кг/м ³	1002–1017	Иммуноглобулин А, мг/л	190
рН	6,4–7,3	Иммуноглобулин G, мг/л	14
Количество, л/сут	0,7–1,5	Иммуноглобулин M, мг/л	2
Хлориды, 0 г/л	2,5–3,	Мочевина, мг/л	200
Ионы кальция, мг/л	40–50	Холестерол, мг/л	80
Фосфаты, мг/л	190–200	Остаточный азот, мг/л	100–200
Фтор, мг/л	0,6–1,8	Пировиноградная кислота, мг/л	9
Белок, г/л	2–3	Молочная кислота, мг/л	33
Фракции белков (электрофорез), %:		Углеводы гликопротеинов, мг/л:	
альбумины	7–8	гексозамины,	100
α-глобулины	11–12	фукоза	90
β-глобулины	45	нейраминовая кислота	12
γ-глобулины	18	общие гексозы	195
лизоцим	18–20		

Нестимулированная слюна — это секрет слюнных желез при отсутствии внешней стимуляции, *стимулированная* — в результате воздействия внешних стимуляторов. Сведения о скорости саливации и характера секрета слюны из протоков слюнных желез представлены в таблице 29.2

Таблица 29.2

Скорость саливации и характер секрета слюны из протоков слюнных желез

Нестимулированная слюна	Стимулированная слюна
0,3–0,5 мл/мин (ночью — в 10 раз меньше)	может быть в 10 раз больше
20 % — околоушные железы (серозный секрет): жидкая	50 %
70 % — подчелюстные железы (смешанный секрет: серозный + мукозный с преобладанием серозного): более вязкая	30 %
5 % — подъязычные железы (смешанный секрет с преобладанием мукозного): вязкая, тягучая	10 %
5 % — щечные СЖ и СЖ языка (мукозный секрет)	10 %

Серозный секрет содержит электролиты, энзимы, иммуноглобулины; мукозный — в основном мукопротеины и немного гликопротеинов.

ФУНКЦИИ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ

1. Защитная.
2. Минерализующая.
3. Очищающая.
4. Пищеварительная.
5. Регуляторная.
6. Выделительная.

БЕЛКИ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ И ИХ РОЛЬ

Муцины — защитные белки: защищают поверхность зуба от бактериального загрязнения и от растворения фосфатов кальция, придают вязкость слюне, связывая много воды.

Цистатины: ингибируют бактериальные протеазы и протеазы периодонтальных тканей.

Гистатины: богаты ГИС и являются мощными ингибиторами роста *Candida albicans* и *Str. mutans*.

Белки, богатые ПРО: содержат много H_3PO_4 , из-за «-» заряда тормозят рост кристаллов в слюне, связывая Ca^{2+} .

Лактоферрин: способен связывать ионы железа, лишая бактерии этого важного элемента и ограничивая их рост, хотя некоторые бактерии способны усваивать и такое, связанное с лактоферрином, железо.

ФЕРМЕНТЫ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ И ИХ РОЛЬ

По происхождению делятся: 1) на железистые; 2) лейкоцитарные; 3) на микробные.

Лизоцим: бактерицидное действие основано на том, что он гидролизует гликозидную связь в гетерополисахаридах микробной оболочки и вызывает агрегацию бактерий, уменьшая их адгезию к поверхности зубов.

Пероксидазы: обязательное условие действия — наличие H_2O_2 и анионов CNS^- , Cl^- , из которых образуются $OCNS^-$ и $HOCl$, действующие на аминокислоты микроорганизмов. Такие аминокислоты превращаются в токсичные альдегиды и оказывают повреждающее действие на микробы.

Нуклеазы — кислые и щелочные *ДНКазы* и *РНКазы*. Замедляют рост и размножение многих микроорганизмов в полости рта.

Десневая жидкость — это жидкое содержимое десневой бороздки. Представляет собой физиологическую среду сложного состава, содержащую лейкоциты, эпителий, микроорганизмы, электролиты, белки, ферменты. За сутки в ротовую полость поступает 0,5–2,5 мл десневой жидкости. В условиях здорового периодонта десневая жидкость — транссудат сыворотки крови, при поражении периодонта — экссудат, который образуется из-за повышения проницаемости сосудов и содержит продукты метаболизма бактерий и зубного налета.

Зубной ликвор — это жидкость, заполняющая свободные пространства всех зубных тканей. Включает в себя дентиновую и эмалевую (свободная вода эмали) жидкости. Именно через зубной ликвор и поступают все необходимые вещества для трофики зубных тканей. Белковый состав подобен белкам плазмы крови. В состав зубного ликвора входят и другие органические и неорганические молекулы. Дентиновая и эмалевая жидкости тесно связаны между собой: из дентиновой жидкости в эмалевую фильтруются различные вещества.

ПОВЕРХНОСТНЫЕ ОБРАЗОВАНИЯ НА ЭМАЛИ

Кутикула — после прорезывания зубов теряется.

Пелликула — тонкий слой органического материала, содержащего небольшое количество бактерий. Играет защитную функцию: многократно снижает растворимость эмали и предохраняет эмаль от повреждающего действия органических кислот. Полностью восстанавливается через 20 мин после чистки зубов, не исчезает в процессе жевания.

Зубной налет (зубная бляшка). *Зубная бляшка* — невидимый зубной налет. Покрывает мукоидной пленкой, поэтому устойчив к смыванию слюной и полосканию рта. Легко снимается зубной щеткой, не стирается при пережевывании пищи (исключение — твердая пища). Начинает накапливаться через 2 часа после чистки зубов. Это слой органической матрицы и бактериальных клеток на поверхности пелликулы. В зубном налете 80 % воды, 20 % — сухой остаток, из которого 40 % — минеральные вещества, а 60 % — органические. *Минеральные вещества* — гидрокси- и фторapatиты, CaF_2 . Из *органических веществ* главное значение имеют полисахариды: глюканы, леваны и гетерополисахариды. Зубной налет — обязательное условие развития кариеса. Быстрому образованию зубного налета способствует наличие в пище сахарозы. Компенсировать снижение pH зубного налета после приема пищи можно, стимулируя слюноотделение путем жевания сыра, орехов, жевательной резинки без сахара и с карбамидом: при этом увеличивается нейтрализующая сила слюны за счет гидрокарбонатного буфера и азотистых соединений (мочевина) и зубной налет превращается в щелочные продукты.

Зубной камень — это минерализованный зубной налет. Процесс минерализации длится ≈ 12 сут, но первые признаки минерализации появляются через 1–3 сут. Зубной камень образуется путем насыщения зубного налета кристаллами фосфата кальция. В зубном камне находятся аминокислоты, моносахариды, фосфолипиды, микроэлементы, ферменты, компоненты пищи, продукты распада лейкоцитов и эпителиальных клеток. Для образования зубного камня требуется локальное повышение pH ротовой жидкости. Камни являются частой причиной развития заболеваний периодонта.

Кариес (в переводе — гниение) — патологический процесс, проявляющийся после прорезывания зубов и характеризующийся деминерализацией твердых тканей зуба и образованием дефекта в виде полости под действием микроорганизмов (стрептококков) полости рта.

В настоящее время доминирующей является *ацидогенная, или химико-паразитическая теория*: механизм развития кариеса заключается в продукции органических кислот, которые растворяют минеральный компонент зубов. Выделяют *общие* (неполноценное и неправильное питание, болезни органов и тканей, ионизирующее излучение, стрессы) и *местные* (наличие зубного налета, микроорганизмов, остатков углеводистой пищи, снижение pH слюны и скорости саливации) кариесогенные факторы. Доказана неопровержимая связь между развитием кариеса и ролью в этом углеводов пищи и микрофлоры полости рта. Кариесогенными являются рафинированные углеводы — сахароза, глюкоза, фруктоза, мальтоза, лактоза, а натуральные пищевые продукты — полисахариды — практически не опасны для зубов, так как медленно гидролизуются. Скорость образования органических кислот невелика, и они нейтрализуются слюной.

Кариесогенные бактерии (*Str. mutans, salivarius, sanguis, mitis* и *лактобактерии*) характеризуются следующими признаками:

- способностью метаболизировать вышеназванные углеводы до органических кислот, при этом снижается pH ротовой жидкости до 4–5 и происходит деминерализация эмали;
- способностью синтезировать внутриклеточные запасы углеводов и использовать их при отсутствии углеводов в пище для своего жизнеобеспечения;
- способностью синтезировать внеклеточные углеводы — глюканы, леваны, гетерополисахариды — для прочного соединения с поверхностью зуба.

ФТОР (F) И ЕГО РОЛЬ В ОРГАНИЗМЕ

1. 99 % фтора в виде фторapatита входит в состав костей и зубов, придает им проч-

ность и кислотоустойчивость.

2. Стимулирует реминерализацию костей и зубов (поступление в них кальция и фосфора).

3. Стимулирует синтез костной ткани, иммунитет (в том числе полости рта), гемопоэз.

4. Блокирует *енолазу* микроорганизмов (прекращается синтез *лактата*, который снижает рН ротовой жидкости) и синтез микроорганизмами внеклеточных полисахаридов.

5. Изменяет электрический потенциал поверхности эмали и препятствует адгезии бактерий к эмали.

Концентрация F выражается в мг/л и ppm (parts per million): 1 мг/л = 1 ppm; 1 % = 10 000 ppm.

Рекомендации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), 1994 г.:

– за оптимум принято количество F, приближающееся к 4 мг/сут (1,5–4 мг/сут);

– 1,2 мг F — из воды (30 %); 2,0 мг — из пищи (50 %); 0,8 мг — из воздуха (20 %);

– в жарких странах F в воде должно быть 0,5–0,8 мг/л, с умеренным климатом — 0,8–1,0 мг/л, в северных — 1,0–1,2 мг/л.

Больше всего фтора содержится в морепродуктах, зеленом и черном чае, красном вине. Много F, в том числе в воздухе, в районах комбинатов по выпуску фосфорных удобрений, сжигания каменного угля.

В Республике Беларусь фтора содержится в воде 0,2 ppm (мг/л), в употребляемых продуктах — 0,6 ppm, в воздухе — 0,5 мг. В среднем мы получаем (0,6 + 0,8 + 0,5) мг = 1,9 мг фтора. Виды фтор-профилактики представлены в таблице 29.3.

Таблица 29.3

Виды фтор-профилактики

Системная (эндогенная)	Местная (экзогенная)
Фторирование питьевой воды, поваренной соли, молока, таблетки «Витафтор»	Фторсодержащие пасты, растворы, гели, лаки, герметики фиссур

В зубной пасте для взрослых фтора должно быть 1500 ppm, для детей — 500 ppm.

Недостаток фтора вызывает *кариес*, избыток — *флюороз*: «крапчатая», «пятнистая» эмаль зубов; минерализация хрящей и связок, остеосклероз скелета; раннее старение; снижение иммунитета и гормональной активности.

Тема 30. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

Фармацевтическая биохимия объединяет сведения по механизму действия, превращению, способам биологической детоксикации природных и чужеродных веществ и является основой для изучения фармацевтической, токсикологической химии, фармацевтической технологии, фармакологии и фармакотерапии.

Фармацевтическая биохимия, как совокупность биохимических знаний и методов, позволяет решить следующие задачи:

1) количественная оценка лекарственных веществ (ЛВ) и их метаболитов в организме;

2) изучение механизмов и локализации действия ЛВ на системном, органном, тканевом, клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях;

3) оценка эффективности лекарственных средств (ЛС) на основе изучения их метаболизма;

4) разработка новых эффективных ЛС;

5) анализ и производство ЛС;

6) стандартизация и контроль качества ЛС.

Лекарственное вещество — это отдельное химическое соединение или биологически активное вещество, которое при введении в организм способно предотвращать возникновение заболеваний, изменять течение патологического процесса, нормализовать функцию.

Лекарственное средство — вещество природного или синтетического происхождения или смесь веществ в виде лекарственной формы (таблетки, капсулы, раствор), разрешенное к применению для лечения, профилактики или диагностики болезней. Перед употреблением в медицинской практике ЛС проходят клинические исследования.

Биохимические методы, используемые в стандартизации и контроле качества лекарственных средств

Стандартизация ЛС — разработка и применение унифицированных требований и методов исследования лекарственных форм (стандартов).

Контроль качества ЛС — установление соответствия качества ЛС утвержденным нормативным документам.

Основной документ, регламентирующий фармацевтический анализ, — **Государственная фармакопея**. Общая фармакопейная статья включает перечень нормируемых показателей или методов испытания для конкретной лекарственной формы, описание физических, физико-химических, химических, биохимических, биологических, микробиологических методов анализа ЛС, требование к используемым реактивам, титрованным растворам, индикаторам.

Биохимические исследования с использованием гомогенатов органов и тканей, клеточных культур и субклеточных фракций позволяют оценить биологическую активность ЛС. На основе специфических белок-лигандных взаимодействий (фермент-субстрат, антиген – антитело, лиганд – рецептор) используются биохимические методы: радиоиммунный, иммуноферментный, хемилюминесцентный анализ, аффинная хроматография. Использование биохимических методов обеспечивает стандартизацию и контроль качества ЛС на этапах их производства и хранения. Для стандартизации и оценки качества ЛС применяется спектрофотометрия, флуоресцентный анализ, высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия.

Требования к биохимическим методам:

- правильность — близость результатов к истинному значению, что может быть проведено при сравнении с результатами, полученными с помощью иной методики;
- точность — согласованность между отдельными результатами испытаний (отклонение отдельных результатов от среднего значения — относительное стандартное отклонение);
- сходимость — точность методики при ее выполнении одним и тем же аналитиком при одних и тех же условиях (реактивы, оборудование, лаборатория);
- воспроизводимость — точность методики при использовании ее в различных условиях для идентичных образцов (разные лаборатории, исполнители, оборудование, время).
- надежность — способность методики давать результаты анализа с приемлемой правильностью и точностью при изменении условий работы для предположительно идентичных образцов из одной и той же однородной серии материала;
- чувствительность — способность методики испытания регистрировать небольшие изменения концентрации;
- предел обнаружения — наименьшее содержание, при котором анализируемое вещество может быть обнаружено.

Фармакокинетика изучает всасывание, распределение в организме, депонирование, метаболизм и выведение веществ.

Фармакодинамика изучает механизмы действия, характер, силу и длительность фармакологических эффектов лекарственных веществ.

Все лекарственные средства делят на **природные** (биогенные) и **чужеродные** (ксенобиотики). Природные являются естественными продуктами живых организмов (аминокислоты, глюкоза, жирные кислоты, витамины, гормоны и др.). К ксенобиотикам относятся лекарства, химические вещества промышленной и сельскохозяйственной деятельности. Все вещества проходят в организме ряд общих этапов: поступление, всасывание, транспорт, распределение и метаболизм, выведение.

ПУТИ ВВЕДЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ. ВСАСЫВАНИЕ

Применение ЛС начинается с их введения в организм или нанесения на поверхность тела. Пути введения подразделяют на **энтеральный** (через пищеварительный тракт) и **парентеральный** (минуя пищеварительный тракт). От путей введения зависит скорость развития эффекта, его выраженность, продолжительность, а в отдельных случаях и характер действия.

Энтеральные пути введения: пероральный, сублингвальный, суббуккальный, ректальный.

Парентеральные пути введения: ингаляционный, интраназальный, трансдермальный, инъекционный (подкожный, внутримышечный, внутривенный, внутриартериальный), внутрисуставной, внутрисплевральный, под оболочки мозга (субарахноидальный, субдуральный, субокципитальный).

Всасывание (абсорбция) — процесс поступления ЛС в кровеносную или лимфатическую систему из места его введения. Всасывание происходит при всех путях введения ЛС, за исключением внутривенного и внутриартериального.

Основные механизмы всасывания ЛС.

1. Пассивная диффузия через мембрану клеток (липофильные, неполярные вещества).
2. Активный транспорт (аминокислоты, сахара, гидрофильные полярные молекулы, неорганические ионы, пиримидины).
3. Фильтрация через поры мембран (вода, мочевины и другие мелкие гидрофильные молекулы).
4. Пиноцитоз (комплекс витамина В₁₂ с внутренним фактором Касла).

Пассивная диффузия — наиболее важный и основной механизм всасывания ЛС. Для всасывания ЛС не требуется затрат энергии, и объём всосавшегося вещества пропорционален градиенту концентрации веществ. Всасывание ЛС путём пассивной диффузии происходит в ротовой полости, в желудке, ободочной и прямой кишке, а также с поверхности кожи.

Активный транспорт подразумевает энергетические затраты для перемещения вещества через клеточную мембрану, против градиента концентрации и с участием транспортных систем клеточных мембран. Наиболее распространены в плазматической мембране клеток человека Na⁺,K⁺-АТФаза, Ca²⁺-АТФаза и H⁺,K⁺-АТФаза слизистой оболочки желудка. Активный транспорт характеризуется избирательностью к определенным соединениям, конкуренцией веществ за один транспортный механизм, насыщенностью. Этот высокоспецифичный механизм обуславливает транспорт таких природных веществ, как аминокислоты, глюкоза, пиримидины и некоторые витамины (В₁, В₂).

Р-гликопротеин представляет собой АТФ-зависимый насос, локализованный на цитоплазматических мембранах различных клеток (энтероцитах, гепатоцитах, клетках проксимальных почечных канальцев, эндотелиоцитах гистогематических барьеров). Гликопротеин Р, выполняя роль своеобразного насоса, осуществляет выброс из клетки во внеклеточное пространство различных липофильных ксенобиотиков.

Фильтрация. Вещества, нерастворимые в липидах, плохо диффундируют через биологические мембраны и могут проникать внутрь клетки путем фильтрации через поры клеточных стенок. Диаметр пор в мембранах эпителия кишечника не превышает 0.4 нм. Поэтому через них проникает только вода, некоторые ионы (Cl⁻), а также мелкие гидрофильные

молекулы. Интенсивность фильтрации зависит от гидростатического и осмотического давления.

Пиноцитоз — механизм всасывания, в процессе которого происходит инвагинация клеточной мембраны с последующим образованием вакуоли (пузырька) вокруг транспортируемого вещества. Везикула мигрирует сквозь толщу мембраны и высвобождает содержимое пузырька во внеклеточное пространство или плазму. Путем пиноцитоза клетки могут захватывать макромолекулы (белки, нуклеиновые кислоты с диаметром частиц не более 750 нм).

Факторы влияющие на всасывание.

1. Характеристика ЛС: лекарственная форма (таблетки, капсулы), физико-химические свойства (растворимость, степень ионизации, рКа), путь введения.

2. Функциональное состояние желудочно-кишечного тракта: рН, площадь абсорбирующей поверхности, кровоснабжение, моторика, скорость опорожнения, взаимодействие с пищей, и с другими ЛС.

Растворимость и степень ионизации ЛС зависят от рН желудочного и кишечного сока. При снижении рН лучше всасываются слабые кислоты (ацетилсалициловая кислота, барбитураты), так как в кислой среде они находятся в менее ионизированной форме. Напротив, повышение рН (при ахлоргидрии) облегчает всасывание слабых оснований и задерживает всасывание слабых кислот. ЛВ — слабые основания, в кислой среде полностью диссоциированы и не могут всасываться из желудка, их всасывание будет происходить в тонком кишечнике. Этанол ускоряет всасывание и потенцирует действие ряда нейро- и психотропных ЛВ и нарушает всасывание тиамина. Усиление кровотока способствует всасыванию веществ.

Транспортные системы ЛВ. Попадая в кровеносное русло ксенобиотики, в той или иной мере, взаимодействуют с белками крови.

Различают специфические (глобулины: липопротеины, γ -глобулины, кислый α_1 -гликопротеин) и неспецифические (альбумины) транспортные системы крови. Белки крови могут связывать различные вещества за счёт своих активных центров. Скорость и прочность связывания зависят от конформации и степени комплементарности (соответствия) этих центров и молекул веществ, а также от характера возникающих при взаимодействии связей (ковалентные, ионные, водородные, гидрофобные).

Альбумин сыворотки крови обладает универсальной способностью связывать многие низкомолекулярные вещества с разной структурой (билирубин, триптофан, пиридоксальфосфат, жирные кислоты, индол, варфарин). В его молекуле идентифицировано более 10 центров связывания с различными веществами.

Глобулины, как специфические транспортеры переносят эндогенные вещества - тироксин, кортизол, тестостерон, эстрадиол, витамин Д, ионы меди, железа и др.

Транспорт веществ осуществляют и белки клеток крови. Так, с белками эритроцитов связывается витамин В₂, РР, хинидин, аминазин, с лейкоцитами — витамин С, с тромбоцитами — серотонин.

ЛС могут конкурировать друг с другом за центры связывания, а также взаимодействовать с одним или с несколькими белками. Например, тетрациклин в организме связан с альбуминами (14 %), с липопротеинами (38 %), с другими белками крови (8 %). Поэтому, когда речь идёт о связывании препарата с белками крови, имеют в виду суммарное связывание данного ЛС с белками. В большинстве случаев белок играет роль депо, регулирующего баланс между связанным препаратом и его активной формой.

Связанное с белками крови ЛС не взаимодействует с рецепторами, ферментами и теряет способность проникать через мембраны, это оказывает существенное влияние на фармакокинетику и фармакологический эффект препарата.

Снижение способности белков крови связывать ЛС отмечено у пожилых людей. Большое влияние на взаимодействие белков крови с ЛС оказывают хронические заболевания почек и печени, что в первую очередь, связано с качественными изменениями альбуминов и, в ряде случаев, глобулинов. Поэтому при назначении стандартных доз препаратов таким пациентам наблюдают увеличение концентрации ЛС в плазме крови и развитие по-

бочных эффектов. Напротив, повышение уровня белков в сыворотке крови, в частности, кислых α_1 -гликопротеинов (при инфаркте миокарда, болезни Крона, воспалительных заболеваниях) усиливает связывание многих ЛС, что приводит к уменьшению их эффективности.

Взаимодействие лекарственных средств с клеточными рецепторами. В зависимости от структуры ЛС может поступать из крови в клетку или, являясь аналогами эндогенных веществ, связываться рецепторами клеточной мембраны. Рецепторы, обеспечивающие проявление действия веществ, называют *специфическими*. Вещества, которые при взаимодействии со специфическими рецепторами, вызывают в них изменения, приводящие к биологическому эффекту, называют *агонистами*. Вещества, связывающиеся с рецепторами, но не вызывающие их стимуляции, называют *антагонистами*. Взаимодействие «вещество – рецептор» осуществляется за счет межмолекулярных связей (водородные, ионные, ковалентные, гидрофобные и дипольные взаимодействия). В зависимости от прочности связи «вещество-рецептор» различают обратимое действие (характерно для большинства веществ) и необратимое (в случае ковалентной связи).

Как уже указывалось в разделе «Биохимия гормонов» выделяют следующие типы мембранных рецепторов: 1) рецепторы, сопряженные с ионными каналами (нхолинорецепторы, ГАМК-рецепторы, глутаминовые рецепторы); 2) рецепторы (7-ТМС-рецепторы), сопряженные с эффектором через G – белки, ферменты (аденилатциклазу, фосфолипазу С) и вторичные посредники (цАМФ, ИТФ, ДАГ, Ca^{2+}); 1-ТМС-рецепторы с гуанилатциклазной активностью и вторичный посредник (цГМФ). Повышение образование вторичных посредников приводит к активации протеинкиназ, которые обеспечивают внутриклеточное фосфорилирование важнейших регуляторных белков и развитие разнообразных эффектов; 3) Рецепторы, осуществляющие прямой контроль функции эффекторного фермента. Они связаны с тирозинкиназой и регулируют фосфорилирование белков. Это 1-ТМС-рецепторы инсулина и факторов роста.

Внутриклеточные рецепторы (растворимые цитозольные или ядерные белки). Контролируют транскрипцию ДНК. С такими рецепторами взаимодействуют стероидные и тиреоидные гормоны, кальцитриол, ретиноевая кислота.

Рецепторы, ионные каналы, ферменты, транспортные системы, гены могут быть мишенью действия фармакологических веществ.

МЕТАБОЛИЗМ КСЕНОБИОТИКОВ В ОРГАНИЗМЕ

Большинство ксенобиотиков подвергается в организме биотрансформации. В неизменном виде выделяются высокогидрофильные ионизированные соединения. Из липофильных веществ исключение составляют средства для ингаляционного наркоза, основная часть которых не вступает в химические реакции в организме. Они выводятся легкими в том же виде, в каком были введены.

Метаболизм, или биологическая трансформация веществ, — понятие, включающее все химические изменения, происходящие с веществом в организме. В целом, все реакции биологической трансформации ксенобиотиков, в том числе, ЛС относят к одной из двух категорий, их обозначают как фазы метаболизма I и II. I фаза-модификация структуры ксенобиотика и II фаза - конъюгация ксенобиотика.

В результате метаболизма ксенобиотиков, с одной стороны, повышается их растворимость в воде, что способствует выведению из организма с мочой, а с другой — изменяется фармакологическая активность или токсичность данных веществ. В результате реакций метаболизма может происходить: а) полная потеря активности или токсичности вещества; б) активация или усиление токсичности в) изменение активности или появление нового токсического эффекта.

I фаза метаболизма ксенобиотиков

Метаболическая трансформация — I фаза метаболизма ксенобиотиков, включа-

ет несинтетические реакции, такие как окисление, восстановление, гидролиз. Метаболическая трансформация происходит за счёт присоединения или освобождения функциональных групп; гидроксильных (-OH), сульфгидрильных (-SH) или аминогрупп (-NH₂) в результате чего ксенобиотик становится более гидрофильным.

В метаболизме ксенобиотиков принимают участие ферменты почек, лёгких, кожи и ЖКТ, но наиболее активны ферменты печени. Основной вклад в обмен ксенобиотиков вносит эндоплазматическая сеть. Поскольку «микросомами» называют фракцию, полученную при дифференциальном центрифугировании клеточных гомогенатов и богатую эндоплазматической сетью, часто говорят о микросомальном и немикросомальных путях метаболизма. Вне микросом обмен может проходить в лизосомах, пероксисомах, митохондриях, цитозоле.

Микросомное окисление — совокупность реакций I фазы биотрансформации ксенобиотиков и эндогенных соединений, катализирующихся ферментными системами мембран эндоплазматического ретикула гепатоцитов при участии цитохрома P₄₅₀ (рис. 29.1).

Микросомные ферменты катализируют реакции С-гидроксилирования, N-гидроксилирования, O-, N-, S-деалкилирования, окислительного дезаминирования, сульфокисления и эпоксилирования.

Цитохром P₄₅₀ (СУР) представляет группу ферментов (цитохром P₄₅₀-зависимые монооксигеназы), осуществляющих не только метаболизм ЛС и других ксенобиотиков, но и участвующих в синтезе глюкокортикостероидных гормонов, холестерина, желчных кислот, тромбоксанов и простагландинов. Субстратная специфичность этих ферментов очень низка, поэтому они окисляют различные вещества.

Цитохром P₄₅₀ — гемопrotein. Имеет множество изоферментов (более 1000 изоформ). Изоферменты цитохрома P₄₅₀ по идентичности аминокислотного состава разделяют на семейства (существует 17 семейств) и 39 подсемейств. Название цитохром P₄₅₀ указывает на то, что максимум поглощения комплекса цитохрома P₄₅₀ лежит в области 450 нм.

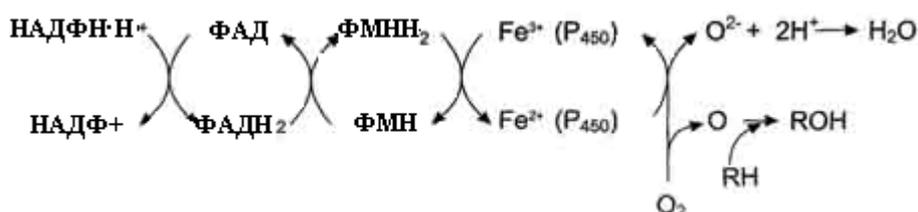
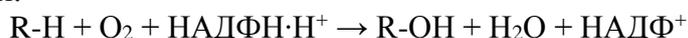


Рис. 30.1. Электронтранспортная цепь: НАДФН·Н⁺ – P₄₅₀ редуктаза – цитохром P₄₅₀

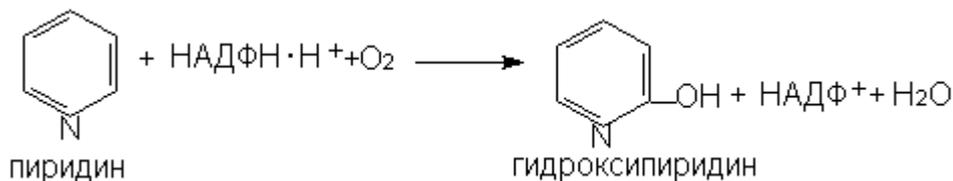
В большинстве случаев донором электронов (e) для этой цепи служит НАДФН·Н⁺, окисляемый НАДФН·Н⁺-P₄₅₀ редуктазой. Фермент в качестве протетической группы содержит 2 кофермента – флавинадениндинуклеотид (ФАД) и флавиномононуклеотид (ФМН). Протоны и электроны с НАДФН·Н⁺ переходят последовательно на коферменты. Восстановленный ФМН (ФМНН₂) окисляется цитохромом P₄₅₀. Связывание в активном центре цитохрома P₄₅₀ вещества R-H активирует восстановление железа в геме – присоединяется первый электрон. Изменение валентности железа увеличивает сродство комплекса P₄₅₀-Fe²⁺·RH к молекуле кислорода. Появление в центре связывания цитохрома P₄₅₀ молекулы O₂ ускоряет присоединение второго электрона и образование комплекса P₄₅₀-Fe²⁺·O₂⁻·RH. На следующем этапе Fe²⁺ окисляется, второй электрон присоединяется к молекуле кислорода P₄₅₀-Fe³⁺·O₂²⁻. Восстановленный атом кислорода O²⁻ взаимодействует с протонами: O²⁻ + 2H⁺ → H₂O, и образуется вода. Второй атом молекулы кислорода включается в субстрат R-H, образуя гидроксильную группу вещества R-OH. Модифицированное вещество R-OH отделяется от фермента.

Таким образом, реакции с участием цитохромов P₄₅₀ заключаются в гидроксилировании веществ типа R-H с использованием одного атома молекулы кислорода O₂, второй атом соединяется с протонами водорода H⁺ с образованием воды (поэтому ферменты называют также монооксигеназами или гидроксилазами).

Суммарное уравнение реакции гидроксилирования вещества R-H ферментами микросомального окисления:



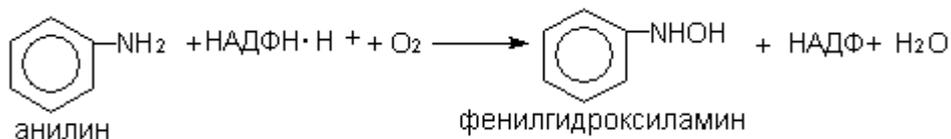
Гидроксилирование гетероциклических соединений



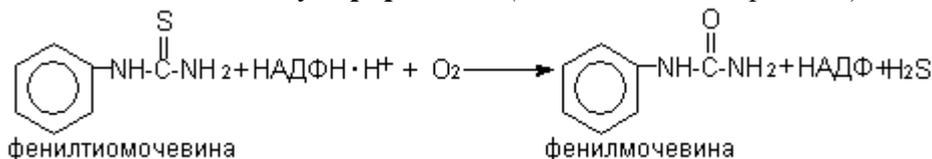
Гидроксилирование алифатических соединений



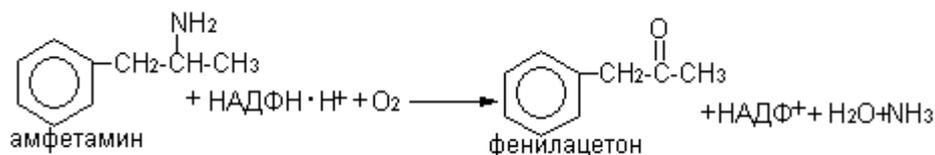
N-окисление с образованием *N*-оксидов и *N*-гидроксиламинов (аминазин, морфин, ацетиламинофлюорен).



S-окисление и десульфирование (аминазин, тиобарбитал).



Окислительное дезаминирование (амфетамин).



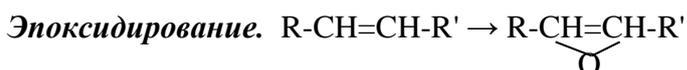
Удаление групп. Деалкилирование по *N* (морфин, лидокаин, атропин, diaзепам).



Удаление групп. Деалкилирование по *O* (кодеин, фенацетин, кофеин, папаверин).



Дегалогенизация (хлороформ, метоксифлуран, галотан).



Метаболизм этанола. Цитохром P₄₅₀-зависимая микросомная этанолюкисляющая система (МЭОС) локализована в мембране гладкого ЭПР гепатоцитов и играет незначительную роль в метаболизме небольших количеств алкоголя, но индуцируется этанолом, другими спиртами, барбитуратами и приобретает существенное значение при злоупотреблении этими веществами. При хроническом алкоголизме за счёт гипертрофии ЭПР и индукции CYP2E1 (изофермент цитохрома P₄₅₀) окисление этанола ускоряется на 50–70 %. Кроме того, этанол конкурирует с ксенобиотиками за связывание с CYP2E1, вызывая гиперчувствительность к некоторым принятым одновременно с ним лекарственным препаратам.

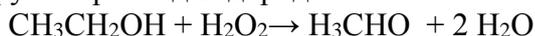
Кроме основной реакции, цитохром P₄₅₀ катализирует образование активных форм кислорода (O₂⁻, H₂O₂), которые стимулируют перекисное окисление липидов.

Окисление немикросомными ферментами – дегидрогеназами и оксидазами.

Основную роль в метаболизме этанола и алифатических спиртов играет цинксодержащий НАД⁺-зависимый фермент — алкогольдегидрогеназа (АДГ), локализуемая в основном в цитозоле и митохондриях печени (95%). АДГ катализирует обратимую реакцию, направление которой зависит от концентрации ацетальдегида и соотношения НАДФН·Н⁺/НАД⁺ в клетке.



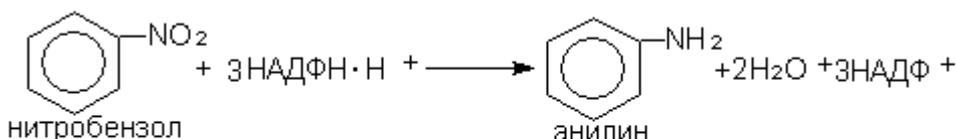
Второстепенную роль в окислении этанола играет каталаза, находящаяся в пероксиосомах цитоплазмы и митохондрий клеток печени. Этот фермент расщепляет примерно 2% этанола, но при этом утилизирует пероксид водорода.



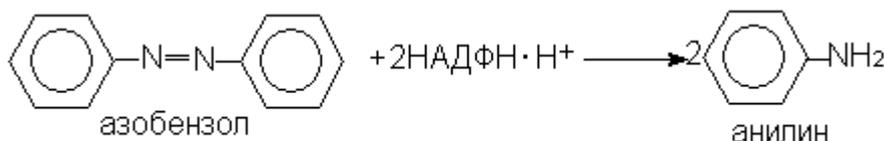
Ацетальдегид, образовавшийся из этанола, окисляется до уксусной кислоты двумя ферментами: ФАД-зависимой альдегидоксидазой и НАД-зависимой ацетальдегиддегидрогеназой (АлДГ). Ацетальдегид - очень реакционно-способное соединение; он неферментативно может ацетилировать SH-, NH₂- группа белков и других соединений в клетке и нарушать их функции.

Восстановлению подвергаются отдельные ЛС (нитробензол, левомецетин, нитразепам, хлоралгидрат). Происходит это под действием нитроредуктаз и азоредуктаз.

а) восстановление нитросоединений



б) восстановление азосоединений



Гидролиз осуществляется в основном немикросомальными ферментами (эстеразами, амидазами, фосфатазами) в плазме крови и тканях. При этом вследствие присоединения воды происходит разрыв эфирных, амидных и фосфатных связей в молекулах. Гидролизу подвергаются сложные эфиры — ацетилхолин, новокаин, атропин, ацетилсалициловая кислота и амиды (новокаинамид).

Метаболиты, которые образуются в результате несинтетических реакций, могут в отдельных случаях обладать более высокой активностью, чем исходные соединения. Примером повышения активности в процессе метаболизма является использование предшественников лекарств — *пролекарств*, например салазопиридазин под действием фермента азоредуктазы кишечника превращается в сульфопиридазин и 5-аминосалициловую кислоту, обладающие антибактериальным и противовоспалительным действием (применяется для лечения язвенного колита). Химические превращения некоторых лекарств в организме приводят к изменению характера их активности. Например, ипразид — антидепрессант, в результате дезалкилирования превращается в изониазид, обладающий противотуберкулезным действи-

ем.

Некоторые ксенобиотики в результате модификации структуры могут приобретать новые свойства и оказывать побочное действие на другие клетки (мутагенное, канцерогенное, иммунодепрессивное, аллергическое и т.д.). Так, эпоксиды, образовавшиеся при микросомальном окислении, являются канцерогенами. Они обладают высокой химической активностью и могут участвовать в реакциях неферментативного алкилирования ДНК, РНК, белков. Химические модификации этих молекул могут привести к перерождению нормальной клетки в опухолевую.

Однако, в большинстве случаев, образование в молекуле гидрофильных функциональных групп вызывает детоксификацию веществ и позволяет перейти процессу обезвреживания ко второй фазе — реакциям конъюгации.

II фаза метаболизма ксенобиотиков

Реакции II фазы (синтетические реакции) — конъюгации. В результате реакций II фазы происходит присоединение к веществу или его метаболитам химических группировок или молекул эндогенных соединений, при этом образуются полярные, хорошо растворимые в воде конъюгаты, легко выводимые через почки или с желчью.

Основные виды конъюгации: *глюкуронирование, ацелирование, метилирование, сульфатирование и водная конъюгация (гидратация)*. Все ферменты, функционирующие во II фазе обезвреживания ксенобиотиков, относят к классу трансфераз. Они характеризуются широкой субстратной специфичностью.

Глюкуронированию подвергаются природные соединения (билирубин, стероидные гормоны) и ксенобиотики (токоферолы, спирты, морфин, парацетамол). В реакции вступают субстраты, содержащие гидроксильные, карбоксильные, карбамоильные, тиоловые, карбонильные и нитрогруппы. Ферменты УДФ-глюкуронилтрансферазы, локализованы в эндоплазматической сети клеток печени, в меньшей степени в почках, пищеварительном тракте, коже.

Ацетильная конъюгация происходит в печени, слизистой кишечника и в ретикулоэндотелиальных клетках селезенки и легких. Субстраты ацелирования — ЛС и метаболиты, содержащие amino или нитрогруппу (серотонин, гистамин, изониазид, сульфаниламиды).

Сульфатной конъюгации подвергаются эндогенные токсические продукты гниения белков в кишечнике (индол, скатол, фенол), а также стероиды, токоферолы, нафтохиноны и ксенобиотики (тербуталин, пероральные контрацептивы). Как правило, это циклические соединения, имеющие свободные гидроксильные или аминные группы. Происходит в основном в печени.

Метильная конъюгация. Процесс наиболее интенсивен в печени. Метильной конъюгации подвергаются фенолы, амины, тиоловые соединения (пиридин, никотинат, унитиол, кокаин).

Конъюгации с глутатионом подвергаются алифатические и ароматические соединения. Протекает в печени и почках. Глутатионтрансферазы представляют собой большое семейство как растворимых, так и мембраносвязанных белков и являются основными обезвреживающими ферментами печени. Взаимодействуют с глутатионом метаболиты парацетамола, хлороформа, алкены, эпоксиды.

В большинстве случаев в результате реакций II фазы ксенобиотики полностью утрачивают биологическую активность. Однако иногда отмечают образование активных метаболитов (морфин-6-глюкуронид) и даже канцерогенов (N-ацетилбензидин глюкуронид) в процессе реакций конъюгации.

Конъюгация может быть единственным путем превращения веществ, либо она следует за предшествующей ей метаболической трансформацией. Основные виды конъюгации представлены в таблице 30.1.

Основные виды конъюгации

Вид конъюгации	Метаболит для конъюгации	Активная форма	Фермент конъюгации
Глюкуронирование	Глюкуронат	УДФ-глюкуронат	УДФ-Глюкуронилтрансфераза
Глутатионирование	Глутатион	Глутатион	Глутатионтрансфераза
Сульфатирование	Сульфат	ФАФС	Сульфотрансфераза
Метилирование	Метил	S-аденозилметионин	Метилтрансфераза
Ацетилирование	Ацетат	Ацетил-КоА	Ацетилтрансфераза

Факторы, влияющие на метаболизм ксенобиотиков

Скорость биотрансформации ксенобиотиков зависит от многих факторов: активности ферментов метаболизма ксенобиотиков, пола, возраста, состояния организма, одновременного применения других ЛС, характера питания.

Генетические особенности. Индивидуальные различия в метаболизме ряда препаратов и в реакциях на препараты объясняют генетическим полиморфизмом, т.е. существованием в популяции изоформ некоторых ферментов биотрансформации. Так, например, недостаточность холинэстеразы плазмы крови (фермент гидролизует карбоксиэферы) приводит к резкому удлинению действия миорелаксанта дитилина. Недостаточность УДФ-глюкуронилтрансферазы проявляется в форме желтухи и нарушением реакций конъюгации не только билирубина, но и многих других соединений, поэтому многие ЛВ становятся токсичными в обычных дозировках. Известны примеры атипичных реакций на вещества (идиосинкразия).

Влияние гормонов. Половые гормоны, йодтиронины и кортизол являются индукторами синтеза глутатионтрансфераз. Катехоламины повышают активность глутатионтрансферазы путем фосфорилирования через аденилатциклазную систему.

Пол. У мужчин активность микросомальных ферментов выше, чем у женщин, так как синтез этих ферментов стимулируется мужскими половыми гормонами. Женский организм более чувствителен к никотину, стрихнину, снотворным препаратам.

Возраст. Чувствительность к ЛС меняется в зависимости от возраста. Так, новорожденные более чувствительны к некоторым веществам, влияющим на ЦНС (в частности, к морфину). Очень токсичен для них левомецетин; это объясняется тем, что в печени у новорожденных малоактивны ферменты (УДФ-глюкуронилтрансферазы и др). Активность ферментов печени снижается в пожилом и старческом возрасте, вследствие чего уменьшается скорость метаболизма многих ЛС.

Состояние организма. При гипертиреозе повышается чувствительность миокарда к адреналину. Изменяется фармакокинетика ЛС во время беременности, при ожирении. Действие сердечных гликозидов проявляется только на фоне сердечной недостаточности.

Влияние факторов внешней среды. В настоящее время описано более 250 химических соединений, вызывающих индукцию (увеличение синтеза) микросомных ферментов. К числу этих индукторов относят барбитураты, полициклические ароматические углеводороды, спирты, кетоны и некоторые стероиды. Все индукторы имеют ряд общих признаков; это липофильные соединения, и они являются субстратами для цитохрома P₄₅₀.

В результате при одновременном назначении с индукторами микросомальных ферментов (фенобарбитал, рифампицин, карбамазепин, гризеофульвин) других препаратов (глюкокор-

тикоидов, пероральных контрацептивов) повышается скорость метаболизма последних и снижается их действие. Алкоголь индуцирует синтез глюкуронилтрансфераз, но снижает образование УДФ-глюкуроната.

У курящих людей индукцию цитохрома (CYP1A1) вызывают полициклические ароматические углеводороды (основной компонент смол сигаретного дыма). В свою очередь, интенсивное окисление полициклических ароматических углеводородов системой цитохрома (CYP1A1) превращает их в канцерогены (бензпирены и нитрозамины), способные спровоцировать развитие злокачественных новообразований. Этим объясняют высокий риск развития рака лёгких у курильщиков.

Металлы являются индукторами синтеза глутатиона и низкомолекулярного белка-металлотионеина. За счет имеющихся в их составе SH-групп, металлы связываются. В результате возрастает устойчивость клеток организма к ядам и лекарствам.

Противоопухолевые лекарства индуцируют синтез Р-гликопротеина. Этим объясняется отсутствие антиканцерогенного эффекта при применении ряда лекарственных веществ.

Зависимость метаболизма ЛС от пищевых факторов обусловлена тем, что в пище могут содержаться как индукторы, так и ингибиторы ферментов лекарственного метаболизма, а также предшественники, необходимые для биосинтеза кофакторов.

ВЫВЕДЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИЗ ОРГАНИЗМА

От процессов экскреции (выведения) зависят продолжительность действия и скорость элиминации лекарственного вещества. Основные органы, участвующие в процессе выделения — почки, гепатобилиарная система, лёгкие и кишечник. Ксенобиотики из организма могут выводиться: а) в неизменном виде; б) в виде метаболитов; в) в виде конъюгатов; г) в виде химических комплексов с другими биомолекулами. Основные пути выведения лекарственных средств из организма представлены в таблице 30.2.

Таблица 30.2

Основные пути выведения лекарственных средств из организма

Путь выведения	Механизмы выведения	ЛС
С мочой	Клубочковая фильтрация, активная канальцевая секреция	Большинство ЛС в свободной форме
С желчью	Активный транспорт, пассивная диффузия, пиноцитоз	Пенициллины, тетрациклины, стрептомицин, хинин, стрихнин, четвертичные аммониевые соединения
Через кишечник	Пассивная диффузия, жёлчная секреция	Доксициклин, ионизированные органические кислоты
Со слюной	Пассивная диффузия, активный транспорт	Салицилаты, бензодиазепины, пенициллины, сульфаниламиды, этанол
С выдыхаемым воздухом	Пассивная диффузия	Средства для ингаляционного наркоза, этанол, камфора, йодиды, эфирные масла
С потом	Пассивная диффузия	Некоторые сульфаниламиды
С материнским молоком	Пассивная диффузия, активный транспорт	Непрямые антикоагулянты, антибиотики, соли лития, карбомазепин, мерказолил

На выведение лекарств почками в определенной степени влияет рН мочи. Так, при кислой реакции мочи улучшается выделение щелочных соединений (алкалоидов) и затрудняется выделение лекарств кислого характера (барбитуратов, сульфаниламидов и т.д.).

Назначением хлорида аммония можно «подкислить» мочу и тем самым ускорить выделение с мочой оснований, а гидрокарбонат натрия или другие соединения, которые изменяют реакцию мочи на щелочную, будут способствовать выделению из организма веществ кислого характера.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Биологическая химия* / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. М.: Медицина, 2002. – 704 с.: ил.
2. *Биологическая химия* / В. К. Кухта [и др.]; под ред. А.Д. Тагановича. – Минск: Асар, М: Изд-во БИНОМ, 2008. – 688 с.: ил.
3. *Биохимия соединительной ткани и органов полости рта* / Э. И. Олецкий [и др.]. Минск, 2002. – 62 с.
4. *Биохимия* / Под ред. Н.Ю. Коневаловой. – Витебск: ВГМУ, 2005. – 675 с.
5. *Клиническая биохимия* / В. Дж. Маршалл. М., СПб.: Изд-во БИНОМ – Невский Диалект, 2000. – 368 с.
6. *Биологическая химия* / А. Я. Николаев. М.: Изд-во МИА, 2007. – 568 с.: ил.
7. *Основы биохимии* / В. К. Кухта [и др.]. М.: Медицина, 2007. – 415 с.: ил.
8. *Биохимия* / Под ред. Е.С.Северина. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2009. – 768 с.: ил.
9. *Биохимия тканей и жидкостей полости рта* / Вавилова Т.П. . – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2008. – 208 с.: ил.
10. *Textbook of biochemistry with clinical correlations* / Thomas M. Devlin: Wiley-Liss., Hoboken, NJ, 2006. – 1208 p.
11. *Principles of biochemistry* /Donald J. Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt: Wiley-Liss., Hoboken, NJ, 2008. – 1100 p.
12. *Biochemistry* /Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Lubert Stryer: W.H. Freeman and Company, NY, 2007. – 1026 p.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОТ АВТОРОВ	3
СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ. СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ (Н.Н. Ковганко).....	5
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ (Н.Н. Ковганко)	11
ВВЕДЕНИЕ В ЭНЗИМОЛОГИЮ. СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ (А. В. Колб).....	17
РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ (А. В. Колб)	20
ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ. ЦЕНТРАЛЬНЫЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПУТИ (Л. П. Лисицына).	23
ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ (Л. П. Лисицына, Ж.А. Рутковская)	30
ПЕРЕВАРИВАНИЕ, ВСАСЫВАНИЕ, ПОСТУПЛЕНИЕ В КЛЕТКУ УГЛЕВОДОВ. МЕТАБОЛИЗМ ГЛИКОГЕНА (Т. В. Василькова)	41
ГЛИКОЛИЗ. АЭРОБНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ. ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ (Т. В. Василькова)	46
ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ. ГЛЮКУРОНОВЫЙ ПУТЬ. ОБМЕН ФРУКТОЗЫ И ГАЛАКТОЗЫ. МЕТАБОЛИЗМ ЭТАНОЛА. (Т. В. Василькова)	52
ПЕРЕВАРИВАНИЕ ЛИПИДОВ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ, СИСТЕМА ИХ ДОСТАВКИ В КЛЕТКИ (А. Д. Таганович)	58
ТРАНСПОРТ ЛИПИДОВ В КРОВИ, ДЕПОНИРОВАНИЕ И МОБИЛИЗАЦИЯ ЛИПИДОВ ИЗ ЖИРОВЫХ ДЕПО (А. Д. Таганович)	62
ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ ЖИРНЫХ КИСЛОТ (А. Д. Таганович)	65
СИНТЕЗ И НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ХОЛЕСТЕРОЛА. МЕТАБОЛИЗМ КЕТОНОВЫХ ТЕЛ (А. Д. Таганович)	69
ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОБМЕНА БЕЛКОВ, ПРОТЕОЛИЗ (Н.Н. Ковганко)	73
ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ОБМЕН АМИНОКИСЛОТ (Н.Н. Ковганко)	75
ХИМИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ (И. Л. Котович)	79
ОБМЕН НУКЛЕОПРОТЕИНОВ (И. Л. Котович)	83
БИОСИНТЕЗ ДНК, РНК И БЕЛКА (И. Л. Котович)	88
СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ (И. Л. Котович)	94
ГОРМОНЫ. ОБЩИЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ (Е.М. Барабанова)	98
БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ (Е.А. Девина)	110
ИНТЕГРАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА (Ж.А. Рутковская)	115
БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ. ВИТАМИНЫ И ДРУГИЕ НЕЗАМЕНИМЫЕ ФАКТОРЫ ПИТАНИЯ. СИНДРОМ НЕДОСТАТОЧНОГО ПИТАНИЯ (А. Д. Таганович, Ж.А. Рутковская)	119
БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ. ВОДНО-МИНЕРАЛЬНЫЙ ОБМЕН (Т. В. Василькова)	131
ГЕМОСТАЗ. СИСТЕМА Свёртывания Крови (Т. В. Василькова)	140
БИОХИМИЯ МЫШЕЧНЫХ ТКАНЕЙ (А. В. Колб)	146
БЕЛКИ СОЕДИНИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ (МОЛЕКУЛЫ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА) (Ж.А. Рутковская)	149
БИОХИМИЯ ЗУБОВ (А. В. Колб)	155
БИОХИМИЯ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ (А. В. Колб)	158
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ (Е.А. Девина).....	161

