

Министерство Здравоохранения Республики Беларусь
УО «Витебский государственный медицинский университет»

БИОХИМИЯ

пособие для студентов
высших учебных заведений
под редакцией проф. Н.Ю. Коневаловой

(4-е издание)

Витебск, 2017

УДК 577.1
ББК 28.072 Я 7
Б 63

Рецензенты:

зав. кафедрой биоорганической химии ВГМУ, кандидат биологических наук доцент Л.Г. Гидранович;
зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ВГМУ
доктор медицинских наук Л.Н. Кирпиченок

Коневалова Н.Ю.

Б 63 Биохимия : пособие / Н.Ю. Коневалова, И.Н. Гребенников, Козловская С.П., Куликов В.А., Л.Г. Орлова, С.С. Осочук, Г.Н. Фомченко, В.В. Яцкевич / Под ред. Н.Ю. Коневаловой. – Витебск: ВГМУ, 2017. – 690 с. (4-е издание)

ISBN 978-985-466-881-9

Пособие включает курс лекций, ситуационные задачи, практические навыки по биохимии для студентов лечебного, фармацевтического, стоматологического факультетов высших медицинских учебных заведений. Предлагаемое пособие написано в соответствии с типовыми программами по биохимии для студентов лечебного, фармацевтического, стоматологического факультетов высших медицинских учебных заведений.

Утверждено и рекомендовано к изданию центральным учебно-научно-методическим советом непрерывного медицинского и фармацевтического образования Витебского государственного медицинского университета (пр. №1 от 28 января 2008 г.)

УДК 577.1
ББК 28.072 Я 7

1-е изд – 2005 г.
2-е изд. – 2010 г.
3-е изд. – 2012 г.

© Коневалова Н.Ю., Гребенников И.Н.,
Козловская С.П., Куликов В.А., Орлова Л.Г.,
Осочук С.С., Фомченко Г.Н., Яцкевич В.В., 2017
© УО «Витебский государственный медицинский университет», 2017

ISBN 978-985-466-881-9

СОДЕРЖАНИЕ

	С.
I. Курс лекций	
1. Введение в биохимию. Строение и функции белков. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	5
2. Строение и функции белков. Методы выделения и количественного определения белка. <i>Л.Г. Орлова</i>	37
3. Ферменты. Строение. Кинетика ферментативных реакций. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	45
4. Регуляция активности ферментов. Медицинская энзимология. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	53
5. Биологические мембраны. Трансмембранный транспорт. <i>В.В. Яцкевич</i>	65
6. Введение в обмен веществ. Биохимия питания и пищеварения. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	90
7. Введение в биоэнергетику. Биологическое окисление. Тканевое дыхание. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	101
8. Окислительное фосфорилирование. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	117
9. Окислительные системы, не связанные с запасанием энергии. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	127
10. Общий путь катаболизма. <i>Л.Г. Орлова</i>	139
11. Трансмембранный транспорт глюкозы. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	145
12. Обмен углеводов. Аэробный распад глюкозы. <i>Г.Н. Фомченко</i>	147
13. Анаэробный распад глюкозы. <i>Г.Н. Фомченко</i>	156
14. Синтез и распад гликогена. <i>Г.Н. Фомченко</i>	166
15. Обмен липидов. Переваривание, транспорт липидов. <i>С.П. Козловская</i>	178
16. Эйкозаноиды – новый тип биологических регуляторов. <i>С.П. Козловская</i>	184
17. Жиры как источник энергии. <i>С.П. Козловская</i>	187
18. Центральная роль Ацетил-КоА в метаболизме липидов. <i>С.П. Козловская</i>	192
19. Депонирование и мобилизация жиров. Ожирение. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	204
20. Обмен и функции холестерина. Биохимия атеросклероза. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	210
21. Биохимия желчных кислот <i>В.А. Куликов</i>	223
22. Обмен белков и аминокислот. Азотистый баланс. Переваривание белков. Всасывание аминокислот. <i>Л.Г. Орлова</i>	229
23. Превращения аминокислот в тканях. Реакции по аминогруппе. <i>Л.Г. Орлова</i>	238
24. Обезвреживание аммиака в организме. <i>Л.Г. Орлова</i>	241
25. Превращения аминокислот по карбоксильной группе - декарбоксилирование. <i>Л.Г. Орлова</i>	248
26. Превращение аминокислот по радикалу. Обмен серосодержащих кислот. <i>Л.Г. Орлова</i>	253
27. Метилирование, трансметилирование. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	257
28. Обмен фенилаланина и тирозина. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	262
29. Строение нуклеиновых кислот. Обмен нуклеотидов. <i>С.С. Осочук</i>	269
30. Биосинтез нуклеиновых кислот. Матричные синтезы. <i>С.С. Осочук</i>	288
31. Биосинтез белков (трансляция). <i>С.С. Осочук</i>	301
32. Мутации и их роль в онтогенезе. Канцерогенез <i>С.С. Осочук</i>	312
33. Введение в витаминологию. <i>И.Н. Гребенников</i>	323
34. Жирорастворимые витамины. <i>И.Н. Гребенников</i>	328
35. Водорастворимые витамины. <i>И.Н. Гребенников</i>	341
36. Витаминоподобные вещества. <i>И.Н. Гребенников</i>	366
37. Общая характеристика гормонов и механизмов их действия. <i>В.А. Куликов</i>	370
38. Гормоны гипофиза и гипоталамуса <i>В.А. Куликов</i>	390

39.	Гормоны поджелудочной железы. <i>В.А. Куликов</i>	399
40.	Гормоны мозгового слоя надпочечников. <i>В.А. Куликов</i>	414
41.	Глюкокортикоидные гормоны. <i>В.А. Куликов</i>	419
42.	Гормоны половых желез. <i>В.А. Куликов</i>	432
43.	Тиреоидные гормоны. <i>В.А. Куликов.</i>	446
44.	Регуляция водно-минерального обмена. <i>В.А. Куликов</i>	451
45.	Обмен микроэлементов. <i>В.А. Куликов</i>	462
46.	Биохимия соединительной ткани. <i>Г.Н. Фомченко</i>	472
47.	Биохимия печени. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	485
48.	Биотрансформация ксенобиотиков. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	491
49.	Биохимия крови. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	497
50.	Биохимия почек, моча. <i>С.П. Козловская</i>	512
51.	Биохимия мышечной ткани. <i>Г.Н. Фомченко</i>	523
52.	Биохимия нервной ткани. <i>Н.Ю. Коневалова</i>	533
53.	Фармацевтическая биохимия. <i>Л.Г. Орлова</i>	543
54.	Фотосинтез. <i>Л.Г. Орлова</i>	577
55.	Костная ткань. <i>Л.Г. Орлова</i>	591
56.	Биохимия зубов. <i>Л.Г. Орлова</i>	598
57.	Биохимия жидкостей полости рта. Биохимия слюны. <i>Л.Г. Орлова</i>	602
II.	Ситуационные задачи <i>И.Н. Гребенников</i>	616
III.	Практические навыки <i>С.П. Козловская</i>	635
	Список использованной литературы	686

Методы биохимических исследований

1. Аналитический метод.
2. Изотопный метод.
3. Колориметрия.
4. Спектрофотометрия.
5. Хроматография.
6. Электрофорез.
7. Центрифугирование:
 - а) простое,
 - б) ультра,
 - в) в градиенте концентрации.
8. Анализ ферментной активности.

Биохимия и медицина

Зачем биохимия нужна врачу?

Отец клинической биохимии – Гиппократ.

История эта началась лет за 400 до нашей эры. Легендарный Гиппократ заметил: если больной страдает неукротимой жаждой, слаб и худ, несмотря на волчий аппетит, если он частенько теряет сознание, особенно наевшись винограда, столь распространенного на земле Эллады, то его моча сладкая на вкус. Благодаря философскому восприятию жизни, свойственному древним грекам, Гиппократ счел такой метод диагностики сахарного диабета вполне естественным и даже передал его своим ученикам. Так отец научной медицины дал жизнь клинической биохимии.

Ломоносов о роли химии.

«Широко простирает химия руки свои в дела человеческие» (биохимия – в тела), а потому писал Ломоносов еще в XVIII веке: «Медик без совершенных познаний в химии совершенен быть не может».

Задача биохимии: полное понимание на молекулярном уровне природы всех химических процессов, связанных с жизнедеятельностью клетки.

Её решить можно:

Выделив из клетки соединение и определив его структуру (**статическая биохимия**) – установить функцию (**динамическая биохимия**).

Факторы, приводящие к развитию болезней

1. Физические – травмы, действие температуры.
2. Химические и лекарственные.

3. Биологические (грибы, вирусы, паразиты, бактерии).
 4. Кислородное голодание (потеря крови, заболевания органов дыхания).
 5. Генетические.
 6. Иммунологические.
 7. Нарушение пищевого баланса.
- Все эти факторы влияют на биохимические процессы в клетке.

Биохимия позволяет:

1. Выявить причину болезни.
2. Предложить методику обследования для ранней диагностики (фенилкетонурия).
3. Предложить метод лечения.
4. Следить за ходом болезни.
5. Контролировать эффективность лечения.
6. Изучить фармакодинамику лекарств с помощью биохимического мониторинга организма.
7. Изучить фармакокинетику лекарств с помощью биологических методов определения действующих начал и метаболитов лекарств во времени.

В последнее время среди населения все большее значение приобретает самолечение, рост которого обеспечен и в будущем. Аптека, чаще всего, является первым контактным пунктом для пациента с небольшими расстройствами здоровья, а провизор – единственным контактным лицом. Тем самым растет ответственность провизора. Он не может заменить собой врача, однако в силу своего образования и опыта работы с лекарствами, он – незаменимый консультант пациента. В колоссальной массе препаратов он должен выбрать нужные лекарства, а в случае необходимости, выслушав определенные жалобы, провизор рекомендует безотлагательно обратиться к врачу. Все эти функции требуют знания биохимии.

Дождавшись симптомов, распознаваемых традиционными врачебными методами, мы зачастую застаем самый разгар заболевания. Знание же химических основ жизни позволяет обнаружить болезнь в самом начале.

Врожденное заболевание фенилкетонурия приводит к умственной отсталости маленьких детей, а иногда и к смерти. Чтобы вовремя распознать болезнь, достаточно капнуть на пеленку, подмоченную новорожденным, раствор хлорида железа. И если цвет пятна изменится, ребенка придется кормить специальной пищей, в которой нет аминокислоты фенилаланина – ее неправильный обмен приводит к само-

отравлению младенца. Пища эта гастрономических наслаждений не доставляет, но придется потерпеть несколько лет, пока нормализуется обмен.

Принципы биохимического анализа просты: взять пробу, удалить из нее то, что мешает, перевести вещество в легко определяемую форму (например, окрашенную), измерить, пересчитать... А вот как выглядит в клинической лаборатории анализ, например, на сахар.

У пациента берут кровь, в данном случае – из пальца, хотя для большинства других биохимических анализов этого не достаточно, приходится колоть вены. К пробе крови добавляют трихлоруксусную кислоту, чтобы удалить белок, мешающий анализу. Хлопья белка осаждают центрифугированием. К точно отмеренному объему надосадочной жидкости добавляют цветовой реагент – ортотолуидин в концентрированной уксусной кислоте. Пробу кипятят, и из глюкозы образуется продукт зеленого цвета. Степень окраски измеряют на фотоэлектроколориметре и по ней определяют, сколько было в растворе глюкозы. Для полноты картины добавим, что лаборант работает во вредных условиях труда, т.к. уксусная кислота вызывает аллергию, а ортотолуидин обладает канцерогенными свойствами.

Есть более простой метод, но и более дорогой, основанный на использовании **ферментов как аналитических реагентов**. При окислении глюкозы ферментом глюкозооксидазой до глюконовой кислоты попутно образуется перекись водорода, концентрацию которой измерить гораздо проще, чем самой глюкозы. Для этого надо добавить еще одну систему реагентов: фермент пероксидаза – ортолидин (не путать с ортотолуидином). В этой системе ортолидин окисляется, меняет желтую окраску на синюю. Интенсивность окраски соответствует концентрации перекиси водорода и, следовательно, глюкозы. Метод кажется сложным, а процедура анализа предельно проста: к пробе крови приливают раствор, содержащий все перечисленные реагенты, ждут несколько минут и измеряют интенсивность окраски. Белки крови ферменту не мешают, осадить их не надо.

В последнее время активно разрабатываются методы «сухой химии». Реакция проходит на пластиночке, куда впрессован твердый реагент. Пластинка одноразовая – померил и выбросил, ничего мыть не надо. Диабетику, особенно в условиях платной медицины, в конечном счете, выгоднее делать за несколько минут анализы дома самому, чем обращаться каждый раз в клинику. Тем более что больной со стажем прекрасно знает врачебные рекомендации, которые последуют после того или иного результата исследования. Итак – дело за аппаратурой. Развитию «сухой химии» помогли полеты в космос.

Традиционные земные методы клинической биохимии в космосе не годятся. А диагностика там нужна. В 1985 году из-за тяжелой бо-

лезни космонавта Владимира Васютина пришлось экстренно возвращать на Землю экипаж из трех человек. В 1987 году по решению врачей до срока вернулся с орбиты Александр Лавейкин, отработавший несколько месяцев на космической станции. Если бы на борту были возможности для биохимических исследований, многих неожиданностей удалось бы избежать.

Первый «сухохимический» анализатор появился на борту станции «Салют-7» вместе с космонавтом Александром Александровым. В Институте медико-биологических проблем (ИМБП) ученые имитировали действие на людей длительной невесомости и обнаружили неполадки в работе желудка и кишечника. Они легко устранялись изменением диеты, а диагностировать их можно было по форме сахарной кривой. Дело оставалось за малым – провести такое исследование на борту космической станции.

Прибор удалось получить благодаря «Интеркосмосу». Французские партнеры предложили портативный глюкометр величиной с карманный радиоприемник. Он питался от батарейки «Крона» и определял за минуту концентрацию глюкозы в капельке крови, выдавленной на специальную тест-полоску. Ее реагентная зона содержала все компоненты, необходимые для ферментативного анализа. Сверху реагентная зона была прикрыта прозрачной полупроницаемой мембраной, пропускавшей плазму, но задерживающей клетки крови.

Одна глюкоза – это еще не диагностика. К середине 80-х годов появились «сухо-химические» анализаторы, определяющие в крови до десятка параметров, но манипуляции с ними были еще слишком сложны для невесомости. А события торопили. Полеты удлинялись, и опасность заболеть на орбите стала реальной.

То, что нужно для космической лаборатории, нашлось на выставочном стенде фирмы «Boehringer Mannheim». Фирма сейчас активно использует в рекламе полет ее «Рефлотрона» в космос. Он может определять 15 биохимических показателей, причем крови надо совсем чуть-чуть, и никаких промежуточных операций. Пробу наносят на пластмассовую сеточку тест-полоски, жидкая часть ее диффундирует по проводящей салфетке в реагентную зону, а клетки остаются на поверхности. Если реакция идет в несколько стадий, то зона имеет несколько слоев. Поднимаясь снизу вверх, жидкость последовательно реагирует с каждым из них, а фотометрируется верхний слой. Прибору даже не надо указывать, что определять. На магнитной ленточке, приклеенной к полоске, записана вся необходимая информация: время инкубации, название анализа, длина волны света, коэффициент пересчета. Прибор прочитает инструкцию и пунктуально выполнит ее.

Краткий исторический обзор биохимических исследований в диагностике и лечении заболеваний

Современная биохимия – наука, изучающая процессы обмена веществ как системы сопряженных ферментативных реакций, сформировалась на рубеже XIX и XX столетий.

В профилактике и лечении болезней человека важное значение приобретают методы ранней биохимической диагностики. Наиболее доступными биологическими объектами для анализа являются кровь и моча, количественный и качественный анализ которых издавна является важным элементом врачебного диагноза. Визуальное исследование мочи еще в античной медицине считалось важным диагностическим приемом. Эмпирические знания о связи изменений цвета мочи, прозрачности, наличия осадков, мути, даже её вкуса с различными заболеваниями привлекали многих химиков, большинство которых по образованию и характеру деятельности являлись врачами, использовавшими химические методы.

В XVII в. были получены первые сведения о химических особенностях мочи при некоторых заболеваниях. Так, в 1694 г. Фредерик Деккер (1648-1720), врач из Лейдена, впервые показал, что в моче при некоторых заболеваниях может быть обнаружен белок. Он предложил химические приемы, обнаруживающие белок: добавление к моче перед нагреванием небольших количеств уксусной кислоты. Однако впервые протеинурию (альбуминурию) как патологический признак детально описал в 1764 г. Доменико Котуньо (1736-1822), фактически обнаружив ее как последствие острого нефрита. Первые достоверные данные о химическом составе мочи получены косвенным путем – при химическом изучении почечных и мочевых камней – излюбленного объекта наравне с желчными камнями аналитических исследований химиков во второй половине XVIII-начале XIX веков. В 1778 г. Карл Вильгельм Шелле (1742-1786) открыл мочевую кислоту, Йенсон Якоб Берцелиус (1779-1848) первый описал химический состав нормальной мочи.

Химические исследования крови отличались от исследований мочи. Кровь была объектом химических экспериментов алхимиков и ятрохимиков, которые подвергали ее сухой перегонке. Зола и «кровяной уголь» использовались как реактивы в ряде алхимических манипуляций, а также в качестве лекарств или их компонентов. В конце XVIII в. были получены первые данные о белках крови и обращено внимание на процесс ее свертывания и возможность его объяснения химическими категориями.

В работах ученых второй половины XVIII – начала XIX веков впервые появилась сознательная ориентация на практические терапевтические и диагностические результаты. Общий интерес к химическим

исследованиям, которые могли найти приложение в медицинской практике, был повсеместен. Во Франции действовало Медицинское Общество, в 1808 г. при лондонском Королевском Обществе выделилась небольшая группа врачей, названная «Общество для развития животной химии», которое было ориентировано на развитие медицинской (или врачебной) химии.

На рубеже XIX и XX столетий в области медицины был накоплен значительный уровень знаний. Именно в этот период сформировалась биологическая химия как наука, были изучены окислительные процессы в организмах, тканевое дыхание, биологические катализаторы (ферменты), процессы брожения, витамины, способы определения аминокислот в молекуле белка и др. Медики Беларуси этого периода были знакомы с достижениями мировой медицинской биохимической науки, применяли их на практике, владели экспериментальными методами.

Доклады врачей на заседаниях Общества врачей Минской губернии и Общества Могилевских врачей свидетельствуют о том, что они имели знания о железах внутренней секреции, использовали анализы мочи, которые проводились либо в домашних лабораториях, либо фармацевтами в аптеках. В 1902 г. в Минске была организована химическая лаборатория для обслуживания больных, где проводились анализы мочи; затем возникли частные лаборатории, где осуществляли также анализы желудочного сока.

Особого внимания заслуживают научные статьи в периодической печати, монографии, диссертации по медицинской химии, написанные медиками Беларуси в XIX – начале XX веков, среди которых выделяются диссертации Р.К. Яновского «О кислотности мочи в связи с мышечной работой», А.И. Смирнова «О влиянии йода в форме щелочных солей на азотистый метаморфоз» (1884), С.С. Парбута «К вопросу о влиянии высокой и низкой температур пищи и питья на усвоение азотистых частей у здоровых людей» (1887), С.Н. Урванцова «Материал к изучению об изменении крови в органах (печень и кишки)» (1898).

В предвоенные годы исследования по медицинской биохимии велись в Белорусском государственном университете, Минском медицинском институте, Витебском ветеринарном институте, Витебском медицинском институте. В этот период особое внимание уделялось вопросам статической и динамической биохимии. Интенсивное развитие функциональной биохимии началось с 50-х годов XX в. Исследования в этом направлении велись в биологических институтах Академии Наук БССР, НИИ и вузах министерств здравоохранения и сельского хозяйства БССР, в отраслевых научно-исследовательских учреждениях. Наибольший вклад белорусские ученые внесли в такие разделы, как нейрохимия, гистохимия, клиническая биохимия, витаминология, ра-

диационная биохимия.

Исследования по нейрохимии, проводившиеся в институте физиологии (с 1953 г.), отделе регуляции обмена веществ (1970) Академии Наук БССР, медицинских институтах и Белорусском государственном университете, были посвящены проблемам функциональной биохимии центральной нервной системы (ЦНС) и синапсов; нейрохимическим основам поведения, патологической химии ЦНС; влиянию фармакологических средств и экстремальных факторов на нервную систему и др. (А.И. Булыгин, А.С. Дмитриев и др.).

В области радиационной биохимии белорусскими учеными определена роль гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы в механизмах действия малых доз ионизирующей радиации и зависимость углеводного, энергетического и нуклеинового обмена в ЦНС от обеспеченности организма глюкокортикоидами (Л.С. Черкасова, А.Т. Пикунев, М.Ю. Тайц, К.В. Фомиченко и др.).

Исследована реактивность липидтранспортной системы крови при действии разных доз радиации (каф. биохимии ВГМУ).

Белорусскими биохимиками особое внимание уделялось изучению биологических функции витамина В₁. Инициатором этих исследований явился заведующий кафедрой биохимии Гродненского медицинского института в 1957-1967 годах Ю.М. Островский (1925-1991), который в 1962 г. в Гродненском медицинском институте создал проблемную витаминологическую лабораторию, в 1970 г. на её базе организовал отдел регуляции обмена веществ, ныне – институт биохимии – один из главных центров по витаминологии в Беларуси. Белорусские ученые занимаются исследованиями гиповитаминозов, межвитаминных взаимоотношений, проблем витаминотерапии (Б.М. Барановский, В.М. Борец, Н.К. Лукашик, Н.З. Яговдик, Т.Я. Морозкина, В.В. Виноградов). Создана межведомственная программа по диагностике и предупреждению болезней витаминной недостаточности (А.Г. Мойсеенок, К.М. Белявский).

СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

1. История изучения белков

Белки составляют основной материал клеток. В тканях млекопитающих на их долю приходится 10-20%, а на долю углеводов и липидов всего от 1 до 5%. Другое название белков – протеины, произошло от греческого слова «протос» – первичный.

В начале 19 века голландский химик Мульдер установил наличие азота в белках. В 1820 г. Браконно из кислотного гидролизата желатины выделил первую аминокислоту – глицин. В 1871 г. Любавин уста-

новил, что при переваривании белков образуются аминокислоты. В 1902 г. Фишер показал, что аминокислоты в белках соединяются пептидной связью. В 20-х годах XX века Сведберг применил ультрацентрифугу для определения молекулярной массы белков. В это же время Самнер, Нортроп, Кунитц привели доказательства, что ферменты являются белками. Последовательность аминокислот в белке впервые изучена Сенджером на примере инсулина (1955). Пространственная структура белков впервые изучена на примере гемоглобина и миоглобина Перутцем и Кендрию с помощью рентгеноструктурного анализа.

2. Роль аминокислот в организме

Белки – это биополимеры, построенные из аминокислот (АК). Все аминокислоты по значению делят на 2 группы: протеиногенные (участвуют в построении белка) и непротеиногенные или метаболические. Протеиногенные (20 АК) в свою очередь подразделяются на **заменяемые** (синтезируются в организме человека) и **незаменимые** (не синтезируются и должны поступать с пищей). Различают 8 абсолютно незаменимых аминокислот: триптофан, валин, треонин, метионин, лизин, фенилаланин, лейцин, изолейцин и 3 полузаменимых – аргинин, гистидин, тирозин.

Метаболические аминокислоты подразделяются на аминокислоты, содержащие α -аминогруппу и не содержащие α -аминогруппы. Метаболическими их назвали вследствие участия в обмене веществ. Примеры метаболических аминокислот с α NH_2 группой: орнитин, цитруллин, участвуют в синтезе мочевины.

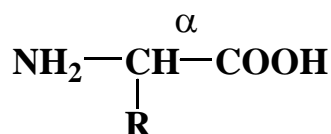
Метаболические аминокислоты без α NH_2 группы:

β -аланин – входит в состав пантотеновой кислоты, кофермента А, таурин – образует парные соединения с желчными кислотами.

Аминокислоты используются как лекарственные препараты, например, сублингвальное применение препаратов глицина стимулирует физиологические механизмы адаптации, т.к. вызванное им усиление тормозных нейромедиаторных процессов в ЦНС защищает клетки от избыточного влияния катехоламинов и оказывает, таким образом, стресс-протекторное, дезинтоксикационное действие, что дает основание назначать глицин после травм головного и спинного мозга, при энцефалопатиях, неврозах и т.д.

3. Классификация аминокислот

Все аминокислоты, входящие в состав белка, являются α -аминокислотами, они содержат две функциональные группы – NH_2 и COOH и радикал.



Индивидуальные свойства аминокислот определяются строением радикала. По полярности радикалов все протеиногенные аминокислоты делятся на 4 группы:

1. Неполярные (гидрофобные).
2. Полярные (гидрофильные) незаряженные.
3. Отрицательно заряженные (кислые).
4. Положительно заряженные (основные).

4. Классификация белков

Белки являются высокомолекулярными полипептидами. Граница между полипептидами и белками лежит в диапазоне молекулярной массы 6000-12000 дальтон. **Простые** белки состоят только из аминокислот. Белки, содержащие добавочные (простетические) группы, такие как гем, производные витаминов, липиды, углеводы и металлы, называются **сложными** белками. Название таких белков начинается с названия добавочной группы: гемпротеины, липопротеины, гликопротеины, металлопротеины. Белковая часть сложных белков называется **апопротеин**.

Белки классифицируют по растворимости, форме и размерам белковой молекулы, по функциональному признаку. Некоторые белки, представляющие интерес для медицины, классифицируются по методам их разделения и выявления.

Классификация по растворимости – была предложена в 1907-1908 гг., в настоящее время имеет ограниченное применение.

Альбумины – растворимы в водных растворах солей, глобулины – плохо растворимы в воде, но хорошо растворимы в солевых растворителях.

Протамины – растворимы в 70-80% этаноле, но не растворимы в воде и абсолютном этаноле. Богаты аргинином.

Гистоны – растворимы в солевых растворах.

Склеропотеины – нерастворимы в воде и солевых растворах (богаты глицином, аланином, пролином).

Классификация по форме и размерам:

Глобулярные и фибриллярные белки. При этом учитывается аксиальное отношение, т.е. отношение длины молекулы к ширине. У глобулярных белков аксиальное отношение меньше 10, чаще 3-4 (инсулин, альбумины, глобулины, многие ферменты). У фибриллярных белков аксиальное отношение больше 10 (кератин, миозин, коллаген, фибрин).

Классификация по функции: каталитические, сократительные, регуляторные и т.д.

Специальные медицинские классификации по методам выделения. Например, классификация липопротеинов:

а) по подвижности в электрическом поле: α -липопротеины, β -липопротеины, пре- β -липопротеины, хиломикроны.

б) по степени осаждения при ультрацентрифугировании – липопротеины высокой плотности (ЛПВП), липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП).

в) по содержанию апопротеинов – апо В-содержащие и апо А-содержащие липопротеины.

5. Биологические функции белково-пептидных веществ

Главная функция *белков-ферментов* – катализ биохимических реакций, и только ее одной было бы достаточно, чтобы считать белки самым важным классом биорегуляторов. Как биологические катализаторы ферменты участвуют в тысячах превращений, происходящих в живой клетке и составляющих основу ее метаболизма. Особое значение имеют такие универсальные ферментные системы, как ДНК- и РНК-полимеразы, разнообразные аденозинтрифосфатазы (АТФазы), аденилатциклазы.

Классификация белков по функциям:

1. Ферменты (рибонуклеаза, трипсин, ДНК- и РНК-полимеразы и др.).
2. Защитные белки (иммуноглобулины, комплемент, интерферон и др.).
3. Двигательные белки (актин, миозин, спектрин и др.).
4. Структурные белки (коллаген, кератин и др.).
5. Запасные белки (казеин, яичный альбумин и др.).
6. Антибиотики (неокарциностатин, актиноксантин и др.).
7. Токсины (ботулинический, дифтерийные токсины и др.).
8. Транспортные белки (гемоглобин, цитохром с, мембранная АТФаза и др.).
9. Регуляторные белки (гистоны, репрессоры, факторы инициации и др.).
10. Рецепторные белки (родопсин, холинорецептор и др.).
11. Гормоны (инсулин, гормон роста, липотропин и др.).

Биологические функции пептидов:

1. Гормоны (окситоцин, вазопрессин и др.).
2. Нейропептиды мозга (энкефалины, эндорфины, скотофобин).
3. Алкалоиды (эрготамин, пандамин и др.).
4. Антибиотики (грамицидины А, В, С, S, актиномицин D и др.).

5. Токсины и антитоксины (фаллоидин, антаманид и др.).
6. Регуляторные пептиды (рилизинг-факторы или либерины, карнозин, ансерин и др.).

Недавно открыты нейропептиды мозга – энкефалины, эндорфины, пептиды памяти, сна и т.п. Установлено, что эти пептиды образуются из более сложных белковых предшественников путем процессинга. Быстрый рост числа вновь обнаруживаемых соединений такого типа свидетельствует о важности химических механизмов в регуляции поведения и высшей нервной деятельности.

Наиболее мощные из известных токсинов являются белками микробного происхождения. По уровню токсичности не имеют себе равных ботулинический, столбнячный и дифтерийный токсины и ряд энтеротоксинов.

6. Молекулярная масса белков, методы ее определения

Наиболее важной характеристикой белка является его молекулярная масса, она колеблется в широких пределах.

Молекулярная масса белков

1.	Инсулин	6 000
2.	СТГ человека	21 000
3.	Пепсин	35 000
4.	Альбумин (сыворотка)	65 000
5.	Гемоглобин	68 000
6.	γ -глобулин (сыворотка)	160 000
7.	Фибриноген	330 000
8.	Тиреоглобулин	660 000
9.	Пируватдегидрогеназа	4 млн.

Известны следующие методы определения молекулярной массы:

1. *Химический метод* требует точного знания количественного содержания одной из аминокислот. Применение ограничено.

2. *Электронная микроскопия* – позволяет наблюдать отдельные молекулы белка. Навеска белка окрашивается осмиевой кислотой (молекулы черного цвета) и просматривается в электронном микроскопе. Подсчитывают число частиц и делят навеску на их число, т.е. находят массу одной молекулы. Применение ограничено.

3. *Метод ультрацентрифугирования*. В пробирке ультрацентрифуги создается центробежное ускорение, превышающее земное в сотни тысяч раз. По мере перемещения молекул белка от центра к периферии пробирки образуется граница раздела белок – растворитель, которая регистрируется. Регистрация основана на способности растворов белка преломлять луч света, т.е. специальная оптическая система

направляет луч света на раствор белка и записывается граница раздела в виде пика. По перемещению этой границы можно определить расстояние, пройденное молекулой белка ко дну пробирки. Определяют **константу седиментации (осаждения) белка S**, которая зависит от массы и формы белковой молекулы:

$$S = \frac{V}{\omega^2 r}$$

S – константа седиментации, измеряется в Сведбергах (по фамилии ученого, ее предложившего). $1 S = 10^{-13}$ сек.
 V – скорость перемещения границы белок – растворитель,
 ω – угловая скорость ротора, r – расстояние от центра ротора до середины пробирки с раствором белка.

Величина молекулярной массы вычисляется далее по уравнению Сведберга:

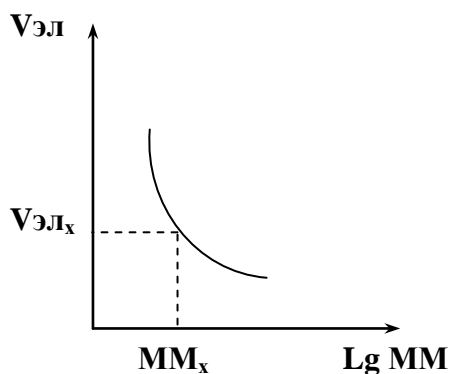
$$M.M. = \frac{R \times T \times S}{D (1 - \bar{V} \times \rho)}$$

R – газовая постоянная,
 T – абсолютная температура,
 D – коэффициент диффузии,
 \bar{V} – парциальный удельный объем белка,
 ρ – плотность растворителя.

4. *Гельфитрация и диск-электрофорез* в полиакриламидном геле получили наибольшее распространение.

Для определения молекулярной массы белка производят калибровку хроматографической колонки. Колонку заполняют набухшими гранулами сефадекса. Сефадекс – это полимерные молекулы полисахарида, сшитые через определенные промежутки поперечными мостиками и свернутые в гранулы. Каждая гранула имеет поры.

На поверхность набухшего сефадекса помещают смесь белков с известной молекулярной массой и сверху льют растворитель. Белки с



током растворителя будут проходить через колонку – элюироваться – и покидать ее с определенным объемом растворителя – элюционным объемом. Белки с большой молекулярной массой выйдут из колонки первыми с наименьшим элюционным объемом, т.к. они не смогут попасть внутрь гранул. Мелкие молекулы белков будут через поры заходить во все гранулы, поэтому они покинут колонку самыми последними, с наибольшим элюционным объемом. Следовательно, между молекулярной массой и элюционным объемом есть зависимость. Строят ка-

лечение зависимости между молекулярной массой и элюционным объемом. Строят ка-

либровочный график зависимости Lg молекулярной массы от элюционного объема. Затем через калибровочную колонку пропускают белок с неизвестной массой и измеряют объем элюата ($V_{эл_x}$). И далее по графику находят $M.M.$

Аналогичный принцип положен в основу метода определения молекулярной массы при электрофорезе в полиакриламидном геле. Здесь сравнивают электрофоретическую подвижность неизвестного белка с электрофоретической подвижностью стандартных (калибровочных) белков.

7. Физико-химические свойства белков

Белки образуют коллоидные растворы, поскольку размеры частиц находятся в пределах $0,1-0,001$ мкм. Для коллоидных растворов характерны следующие свойства:

- 1) Низкое осмотическое давление.
- 2) Высокая вязкость.
- 3) Незначительная способность к диффузии.

В клинической биохимии используют три свойства коллоидных растворов белков – 1) способность растворов белка рассеивать луч света – конус Тиндаля, это явление используется для количественного определения белка методом нефелометрии; 2) способность растворов белка преломлять луч света – также для количественного определения белка методом рефрактометрии; 3) молекулы белка не способны проходить через полупроницаемую мембрану, это используется для очистки растворов белка от низкомолекулярных примесей методом диализа.

Белковые молекулы в растворе способны к ионизации за счет аминных и карбоксильных групп радикалов 3 и 4 групп аминокислот, а также концевых NH_2 и $COOH$ групп всех аминокислот. Благодаря наличию этих групп белки обладают амфотерными свойствами. В зависимости от аминокислотного состава различают нейтральные белки – количество NH_2 и $COOH$ групп равно, при $pH=7$ такие белки не имеют заряда. Но, учитывая более высокую ионизацию $COOH^-$ групп чем аминогрупп, такие нейтральные белки имеют слабый отрицательный заряд. И таких белков – большинство.

Если в составе белка преобладают аминокислоты 3 группы, т.е. отрицательно заряженные, то общий заряд белковой молекулы при $pH=7$ будет отрицательным, это кислые белки. При преобладании в составе белка аминокислот 4-ой группы, т.е. положительно заряженных, общий заряд белковой молекулы будет положительным – основные белки.

Для клинической биохимии имеет значение возможность снятия

заряда с белковой молекулы, т.е. перевода ее в изоэлектрическое состояние (ИЭС). **ИЭС – это состояние белка, когда он электронейтрален.** Перевести белок в ИЭС можно, изменяя рН среды. **То значение рН, когда заряд белковой молекулы равен нулю, называют изоэлектрической точкой (ИЭТ).** Для нейтральных белков ИЭТ лежит в **слабокислой среде**, $\text{pH} \leq 7$, т.е. к такому белку нужно добавить немного кислоты (H^+), чтобы нейтрализовать незначительный отрицательный заряд.

Отсюда **ИЭТ кислых белков** лежит в **кислой среде**, $\text{pH} < 7$, **основных – в щелочной**, $\text{pH} > 7$ – т.к. нужно добавлять OH^- для нейтрализации их положительного заряда.

Вокруг заряженных групп будут собираться диполи воды, формируя гидратную оболочку. Отсюда **факторами устойчивости белка** в растворе являются 1) наличие заряда и 2) наличие гидратной оболочки. Поэтому, чтобы осадить белок, т.е. перевести его в нерастворенное состояние, нужно воздействовать на эти факторы. Снятие заряда осуществляется путем подведения рН к ИЭТ. Снятие гидратной оболочки осуществляется:

1) Водоотнимающими средствами – соли щелочных металлов в высоких концентрациях (например, сернокислый аммоний), спирт, ацетон.

2) При денатурации белка – т.е. при разрушении всех пространственных структур.

При осаждении белков солями щелочноземельных металлов белки не подвергаются глубоким изменениям и могут быть растворены, если убрать соли (например, диализом). Такой метод осаждения белков называют **высаливанием**.

Реакции осаждения белков используют в медицине для выделения и обнаружения белка в биологических жидкостях – крови, моче.

8. Уровни структурной организации белков

Выделяют 4 уровня:

1. Первичная структура

Это строго определенная линейная последовательность аминокислот, соединенных между собой пептидными связями. Пептидная связь прочная, ковалентная, занимает промежуточное положение между одинарной и двойной связью. Разрушить пептидную связь можно гидролизом. Различают кислотный, щелочной и ферментативный гидролиз. Последовательность аминокислот задается генетическим кодом.

Рассмотрим значение первичной структуры белков на примере

гомологичных белков. Это белки, которые у **разных видов животных** выполняют **одинаковые функции**. Например, гемоглобин у всех позвоночных транспортирует кислород. В гомологичных белках во многих положениях полипептидной цепи всегда находятся одни и те же аминокислоты – инвариантные остатки. В других положениях могут быть различия – эти аминокислотные остатки называют переменными. Вся совокупность сходных черт в аминокислотных последовательностях гомологичных белков называют гомологией последовательностей. Наличие такой гомологии предполагает, что животные, у которых были выделены гомологичные белки, имеют общее эволюционное происхождение.

Число остатков, по которым различаются белки любых видов, пропорционально филогенетическому различию между данными видами. Например, молекулы цитохрома «с» лошади и дрожжей (эволюционно весьма далеких видов) различаются по 48 аминокислотным остаткам из 100, тогда как аналогичное различие между цитохромом «с» курицы и утки касается только 2-х аминокислот.

Изучение первичной структуры важно и для патологии. Известно генетическое заболевание – **серповидно-клеточная анемия**, которая обусловлена присутствием в эритроцитах аномального гемоглобина S. В бета-цепи гемоглобина S в шестом положении находится валин, а в гемоглобине А (нормальном) – глутаминовая кислота. Замена гидрофильной аминокислоты на гидрофобную приводит к уменьшению растворимости гемоглобина. При низком парциальном давлении кислорода такой гемоглобин выпадает в осадок и обуславливает серповидную форму эритроцитов. Они быстро разрушаются в селезенке, и возникает анемия.

Известно, например, что повышенная чувствительность к алкоголю, характерная для многих представителей восточных народов, связана с заменой одной аминокислоты (лизина на глутамат) из 487 расположенных последовательно аминокислот в ферменте альдегиддегидрогеназа, ответственном за удаление из организма уксусного альдегида, который накапливается при окислении этилового спирта.

Следовательно, в отдельных случаях замена одной мономерной единицы в огромной последовательности приводит к серьезным биологическим последствиям. В то же время в некоторых случаях большое число замен не лишает биополимер его главной функции.

Для каждого живого организма характерен свой набор белков с определенными последовательностями аминокислот и соответственно свой набор нуклеиновых кислот с определенными последовательностями нуклеотидов. Этот набор может быть достаточно большим. По грубым оценкам в человеческом организме содержатся многие десятки тысяч разных белков. Это, однако, ничтожная часть от практически

неисчерпаемого мыслимого числа белков. Ведь из 20 аминокислот можно построить $20 \times 20 = 400$ разных димеров (т.е. попарно соединенных аминокислот), $20 \times 20 \times 20 = 20^3 = 8000$ тримеров, а сравнительно коротких белков длиной всего в 100 аминокислотных остатков – $20^{100} = 10^{130}$, что гораздо больше, чем число атомных ядер во всей доступной наблюдению части Вселенной (последнее оценивается как 10^{80}). Определенные характерные для данного организма белки не могут возникать случайно. При образовании в живом организме (биосинтезе) белков должна существовать некоторая управляющая система, которая содержит информацию о том, какие именно последовательности аминокислот нужно собирать в данном организме. Первичным материальным носителем такой информации является ДНК.

Итак, первичная структура генетически детерминирована и определяет индивидуальные свойства белков, их видовую специфичность, на ее основе формируются все последующие структуры.

2. Вторичная структура

Это регулярная организация полипептидной цепи, удерживаемая водородными связями между NH и CO группами пептидных связей стержня цепи. Она может быть в виде α -спирали и β -структуры. В α -спирали водородная связь возникает в пределах одной цепи между первым и пятым аминокислотными остатками и направлена параллельно оси молекулы. На каждый виток (шаг) спирали приходится 3,6 аминокислотных остатка, шаг спирали равен 0,54 нм.

В β -структуре водородные связи возникают между соседними цепями (или в одной цепи), перпендикулярно оси молекулы.

Особую вторичную структуру имеет коллаген.

Не все полипептиды способны образовывать устойчивую α -спираль. Препятствуют образованию α -спирали подряд расположенные глутаминовая кислота, аргинин, лизин, аспарагин, серин, треонин, лейцин. Когда в полипептидной цепи встречается пролин, α -спираль нарушается и возникает петля или изгиб, т.к. пролин не способен образовывать внутрцепочечную водородную связь.

Степень α-спирализации некоторых белков		
1.	Гемоглобин	80%
2.	Инсулин	46-60%
3.	Альбумин (яйца)	30-45%
4.	Пепсин	20-30%
5.	Казеин	10%

3. Третичная структура

Это расположение полипептидной цепи в трехмерном пространстве. Эту структуру стабилизируют дисульфидные связи (цис-цис), ионные (асп-лиз), водородные (тир-гис), гидрофобное взаимодействие (лей-вал, изо-ала). **Связи образуются между боковыми радикалами аминокислот.** В зависимости от формы третичной структуры различают **глобулярные и фибриллярные белки.** В глобулярных белках часто преобладает α -спираль, фибриллярные белки образуются на основе β -структуры.

В крупных белках при сворачивании полипептидной цепи часто образуются две или более пространственно разделенные области, называемые **доменами.** По своей структуре каждый домен напоминает небольшой белок. Обычно в одном домене от 40 до 300 остатков аминокислот.

На поверхности глобул располагаются гидрофильные группы, внутри – гидрофобные.

Длинные белковые цепи состоят зачастую более чем из 1000 аминокислотных остатков, среди которых имеются как полярные, так и неполярные (гидрофильные и гидрофобные) радикалы. Последние предпочитают взаимодействовать не с водой, а друг с другом. В результате этого белковые молекулы принимают компактную форму с наименьшей площадью поверхности. Этому требованию при заданном объеме отвечает сфера. Таким образом, если число гидрофильных аминокислотных остатков достаточно велико для того, чтобы покрыть поверхность сферического гидрофобного ядра, белковая молекула будет иметь сферическую (глобулярную) форму. Если их число больше минимально необходимого, глобула принимает форму эллипсоида. Если же, напротив, гидрофильных радикалов не хватает, чтобы защитить гидрофобное ядро молекулы от водной атаки, в ней остаются незащищенные участки. Такие белковые молекулы имеют тенденцию образовывать надмолекулярные ассоциаты, и в дополнении ко вторичной и третичной структурам белки приобретают четвертичную структуру.

4. Четвертичная структура

Характерна для белков, состоящих из нескольких субъединиц. Это взаиморасположение субъединиц белка в пространстве. Формируют эту структуру **слабые связи между комплементарными поверхностями субъединиц.**

Для четвертичной структуры вводят следующую терминологию: **протомер** – отдельная полипептидная цепь в третичной структуре; **субъединица** – протомер или несколько протомеров, несущих часть функциональной активности белка; **мультимер** – сочетание субъединиц белка, несущих полную функциональную активность.

Для проявления биологической активности белка необходима нативная третичная, а для мультимерных белков – четвертичная структура.

Олигомерные глобулярные белки, имеющие четвертичную структуру, часто обладают регуляторными свойствами.

Рассмотрим, как наличие четвертичной структуры сказывается на функции. Для этого сравним два белка: миоглобин и гемоглобин.

Миоглобин – белок, сохраняющий и транспортирующий кислород в мышцах. Состоит из одной полипептидной цепи (153 аминокислотных остатка), свернутой в пространстве в виде плотной глобулы (третичная структура). В гидрофобном кармане располагается гем, железо в составе которого способно присоединять кислород. Кривая насыщения миоглобина кислородом имеет гиперболическую форму. Эффект полного насыщения кислородом наблюдается при низком значении pO_2 (которое имеется в мышцах).

Гемоглобин – мультимер, образованный из 4-х субъединиц двух типов – $\alpha_2\beta_2$ (четвертичная структура). Каждая из субъединиц похожа на молекулу миоглобина. Молекула гемоглобина способна присоединять 4 молекулы кислорода. При этом проявляется совместный (**кооперативный**) эффект субъединиц. При оксигенации гемоглобина связывание кислорода одной субъединицей так изменяет конформацию остальных субъединиц, что присоединение к ним кислорода облегчается.

Физиологический смысл заключается в том, что при pO_2 меньше 35 мм рт.ст. (ткани) кислород будет связываться миоглобином. Сигмовидный характер оксигенации гемоглобина обеспечивает его транспортную функцию.

Возникает вопрос: почему многие белки состоят из субъединиц? Какие преимущества это дает по сравнению с одной длинной пептидной цепью?

1) Наличие субъединичной структуры позволяет «экономить» генетический материал. Для олигомерных белков, состоящих из идентичных субъединиц, резко уменьшается размер структурного гена и соответственно длина матричной РНК.

2) При сравнительно небольшой величине цепей уменьшается влияние случайных ошибок, которые могут возникнуть в процессе биосинтеза белковых молекул. Кроме того, возможна дополнительная выбраковка «неправильных», ошибочных полипептидов в процессе ассоциации субъединиц в единый комплекс.

3) Наличие субъединичной структуры у многих белков позволяет клетке легко регулировать их активность, например, путем смещения равновесия ассоциация – диссоциация в ту или иную сторону.

4) Субъединичная структура облегчает и ускоряет процесс молеку-

лярной эволюции. Мутации, приводящие лишь к небольшим конформационным изменениям на уровне третичной структуры за счет многократного усиления этих изменений при переходе к четвертичной структуре, могут способствовать появлению у белка новых свойств.

Характерной особенностью белков с четвертичной структурой является их способность к самосборке. Легко происходит, например, самосборка гемоглобина из смеси альфа- и бета-цепей. Таким образом, в аминокислотной последовательности полипептидных цепей олигомерного белка закодированы как бы два уровня информации: один из них определяет трехмерную структуру отдельных полипептидных цепей, а второй, поскольку каждая субъединица содержит специфические участки связывания с другими субъединицами, определяет четвертичную структуру всей многокомпонентной молекулы в целом.

При **денатурации**, когда разрушаются пространственные структуры путем разрыва дисульфидных и слабых нековалентных связей, белок теряет свою биологическую активность. Потеря биологической активности связана с утратой неповторимой мозаики функциональных групп и радикалов на поверхности молекулы белка.

Денатурацию вызывают агенты, влияющие на заряд молекулы белка (кислоты, щелочи) и гидратную оболочку (нагревание, водоотнимающие вещества). При денатурации **первичная структура сохраняется**. Денатурация обратима, если после удаления денатурирующего агента **восстанавливаются нативная конформация и свойства белковой молекулы**.

Белки можно разделить на два основных класса: фибриллярные белки – это расположенные параллельно друг другу вытянутые полипептидные цепи, и глобулярные белки, в которых полипептидные цепи плотно свернуты в глобулы.

9. Белковая глобула – твердое тело или жидкость?

Итак, глобула сформировалась. В ней присутствуют элементы вторичной структуры, например достаточно протяженные α -спирали и β -слои, уложенные определенным образом и формирующие как бы каркас макромолекулярной структуры. Между элементами вторичной структуры определенным образом уложены неспирализованные участки полипептидной цепи, в части глобулы могут присутствовать молекулы воды, гидратирующие полярные группы. Каковы общие физические характеристики белковой глобулы? На что был бы похож материал, из которого сделана глобула, если глобулу можно было бы взять в руки?

Ответ на этот вопрос имеет непростую историю. Практически до начала 80-х годов считалось, что белок скорее похож на органические

кристаллы. В этом убеждали данные рентгеноструктурного анализа, которые показывали, что атомы в глобуле уложены очень плотно и каждый из них, как в кристалле, четко знает свое место. Так как периодичности (как в кристаллах) в расположении атомов в глобуле не наблюдается, то появился даже термин для описания физического состояния глобулы – «апериодический кристалл».

На рисунке представлена упрощенная схема устройства белковой глобулы, которая поможет понять ее основные свойства как механической системы. Элементы вторичной структуры образуют довольно жесткий спиральный каркас. Спиральный каркас окружен значительно более быстро движущимися боковыми группами. Они образуют как бы жидкоподобную «опушку» вокруг жесткого каркаса. То есть с точки зрения механики глобулу можно представить как армированную каплю.



Цель армированной капли для белковой глобулы: а
- относительно жесткие спиральные структуры;
б – жидкоподобные области

К.В. Шайтан, 1999

Итак, белковая глобула при обычных температурах сочетает свойства очень вязкой капельки жидкости и не очень упругого твердого тела. Сочетание таких свойств оказывается весьма удачным для обеспечения функционирования белков. Упругий каркас поддерживает структуру с точностью до нескольких ангстрем, формируя группы активного центра в конфигурации, близкой к наиболее благоприятной для осуществления функционального акта. Химические изменения, происходящие в активном центре, сопровождаются перемещениями атомов и групп на расстояния около 1 ангстрем. Жидкоподобная внутрибелковая среда, характеризующаяся достаточно быстрыми временами конформационной релаксации, не является непреодолимым препятствием для движений атомных групп в определенных пределах, необходимых для проведения реакции. Но эта же среда будет резко тормозить перемещения атомных групп, геометрия которых не вписывается в пределы, определяемые упругими (жесткими) элементами данной белковой глобулы. Тем самым создаются физические предпосылки регуляции стереоспецифичности биохимических реакций.

10. Формирование нативной структуры белка

10.1. Внутриклеточная регуляция формирования нативной пространственной структуры белков

Синтезируемые в клетке полипептидные цепи, образованные в результате последовательного соединения аминокислотных остатков, представляют собой как бы полностью развернутые белковые молекулы. Для того, чтобы белок приобрел присущие ему функциональные свойства, цепь должна определенным образом свернуться в пространстве, сформировав функционально активную («нативную») структуру. Несмотря на громадное число теоретически возможных для отдельной аминокислотной последовательности пространственных структур, сворачивание каждого белка приводит к образованию единственной нативной конформации. Таким образом, должен существовать код, определяющий взаимосвязь между аминокислотной последовательностью полипептидной цепи и типом пространственной структуры, которую она образует. Выяснение этой взаимосвязи – нерешенная проблема, важность которой трудно переоценить. Действительно, в настоящее время уже понятно, каким образом закодированы аминокислотные последовательности в структуре ДНК, однако принципы, определяющие формирование нативной конформации белка, все еще остаются «секретом жизни». Работы по изучению сворачивания белка были начаты сравнительно недавно. Накопленная информация (главным образом основанная на результатах исследований, проведенных с растворами отдельных очищенных белков) позволила заключить, что образование пространственной структуры – процесс спонтанный, не требующий ни дополнительной информации, ни источника энергии. Предполагалось, что эти положения применимы также и для сворачивания белков внутри клетки. Однако, как это часто случается в биологии, последующие открытия заставили отказаться от такой логики; они показали, что в действительности дело обстоит значительно сложнее. Оказалось, что процесс сворачивания белка *in vivo* не может считаться ни спонтанным, ни энергонезависимым. Благодаря существующей внутри клетки высоко координированной системе регуляции, полипептидная цепочка с самого момента своего «рождения», сходя с рибосомы, попадает под контроль факторов, которые, не изменяя специфического пути сворачивания (определяемого генетическим кодом), обеспечивают оптимальные условия для реализации быстрого и эффективного образования нативной пространственной структуры.

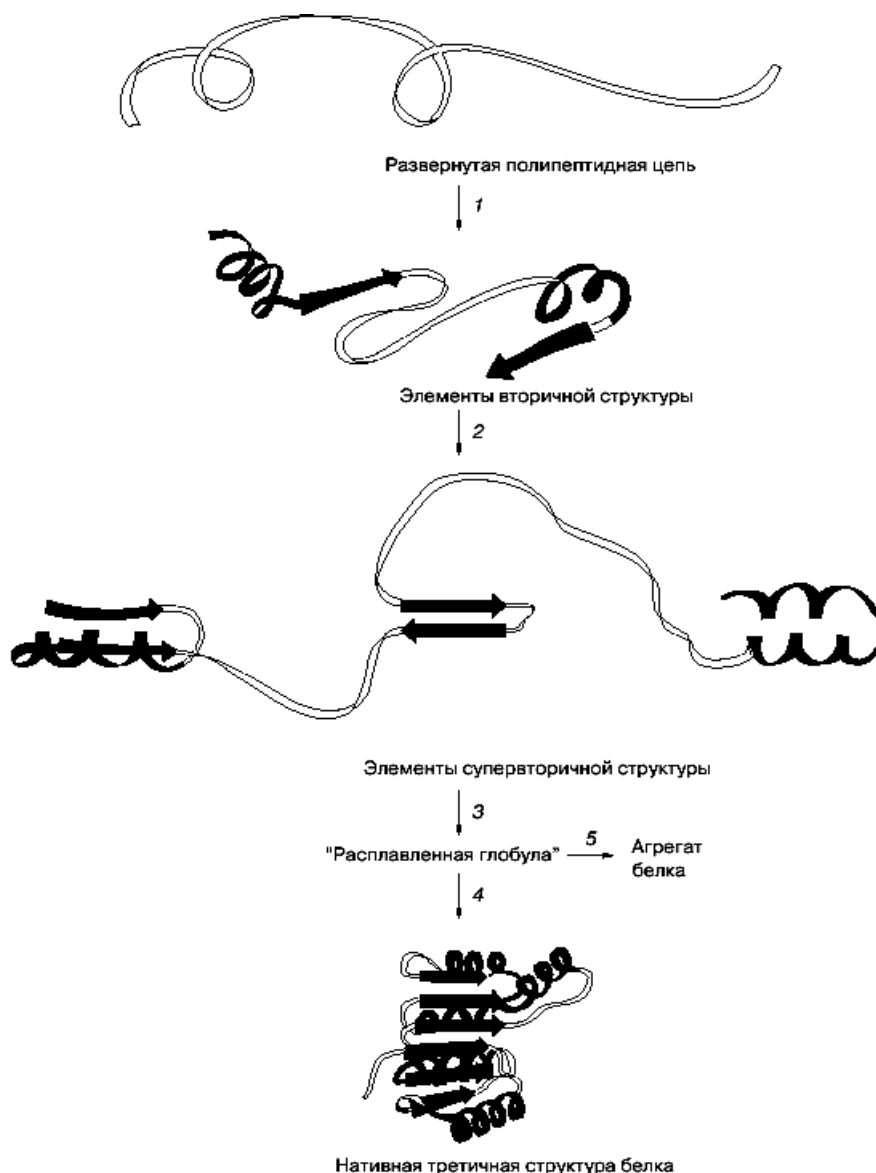
10.2. Образование пространственной структуры белка – процесс многостадийный

Как показали результаты рентгеноструктурного анализа белковых кристаллов, пространственная (третичная) структура каждого белка характеризуется сочетанием элементов вторичной структуры (α -спиралей, β -тяжей), а также гибких участков полипептидной цепи, называемых петлями. Способность того или иного участка полипептидной цепи образовывать элемент вторичной структуры (например, свернуться в α -спираль) зависит от характера аминокислотной последовательности данного отрезка цепи. Таким образом, число и расположение α -спиралей, β -тяжей и петель по ходу полипептидной цепи различно у разных белков и определяется генетическим кодом. Этим объясняется потенциальная способность любой полипептидной цепи к спонтанному сворачиванию в уникальную третичную структуру.

Согласно современным представлениям, процесс сворачивания имеет иерархическую природу: вначале очень быстро (за миллисекунды) формируются элементы вторичной структуры, служащие как бы «затравками» для образования более сложных структур (стадия 1). Второй стадией (также происходящей очень быстро) является специфическая ассоциация некоторых элементов вторичной структуры с образованием супервторичной структуры (это могут быть сочетания нескольких α -спиралей, нескольких β -цепей либо смешанные ассоциаты данных элементов). Следующим этапом, играющим важнейшую роль для формирования уникальной «архитектуры» белка, является образование специфических контактов между участками, значительно удаленными один от другого в аминокислотной последовательности, но оказывающимися сближенными в третичной структуре. Полагают, что это, главным образом, гидрофобные взаимодействия, обусловленные сближением неполярных групп и вытеснением молекул воды, расположенных между ними. Для формирования уникальной пространственной структуры каждого белка необходимо, чтобы образовалось определенное (оптимальное в каждом случае) число таких специфических контактов. На пути к достижению оптимального варианта возможны ошибки, образование «неправильных» контактов; в этом случае происходит перебор разных вариантов структуры до тех пор, пока не будет достигнут тот единственный вариант, который соответствует функционально активному состоянию данного белка.

На пути, ведущем от образования элементов супервторичной структуры к окончательному сворачиванию цепи в компактную глобулу, имеется промежуточная стадия (стадия 3), связанная с формированием основных элементов третичной структуры (специфического сочетания α -спиралей, β -тяжей, соединяющих петель) и образованием

гидрофобного ядра молекулы.



Стадии сворачивания полипептидной цепи в нативную конформацию (1-4).

Н.К. Наградова, 1996 г.

Молекула приобретает пространственную структуру, близкую к структуре нативного белка, вместе с тем, она еще не обладает присущей данному белку функциональной активностью. Это состояние, получившее название «расплавленная глобула», отличается от нативного меньшей степенью упорядоченности структуры; неполярные группы, формирующие гидрофобное ядро молекулы, «упакованы» недостаточно плотно. Отсутствие ряда специфических взаимодействий приводит к изменению ориентации подвижных петель; в целом молекула более лабильна и склонна к «слипанию» с другими такими же молекулами с образованием агрегатов. Таким образом, неспецифическая агрегация (стадия 5) может уменьшать число молекул белка, находящихся на правильном пути сворачивания (стадия 4), то есть снижать эффектив-

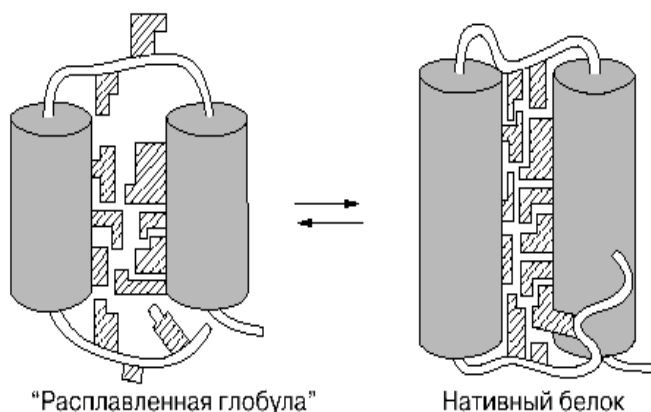
ность этого процесса. Как показали модельные эксперименты, проведенные *in vitro*, образование «расплавленной глобулы» происходит значительно быстрее, чем ее переход в нативную структуру; реакция 4 (связанная с перебором разных конформаций) является, таким образом, самой медленной стадией процесса сворачивания.

Вероятность агрегации сильно возрастает при повышении температуры и концентрации белка, поэтому эффективное спонтанное сворачивание полипептидной цепи происходит в разбавленных растворах и при низких температурах. Обращаясь к ситуации, имеющей место *in vivo*, мы должны признать, что условия, существующие в клетке, сильно отличаются по этим параметрам. Вместе с тем, в физиологических условиях вновь синтезируемые полипептидные цепи сворачиваются достаточно быстро и эффективно. Следовательно, в клетке должны существовать специальные механизмы регуляции процесса сворачивания.

Прежде чем перейти к рассмотрению этих механизмов, отметим, что изображенная на рисунке схема описывает стадии сворачивания полипептидной цепи, кодируемой одним геном. Многие белки, однако, возникли в процессе эволюции в результате слияния разных генов; участки полипептидных цепей таких белков, кодируемые разными генами, сворачиваются независимо друг от друга, по разным путям и с разными скоростями, образуя после сворачивания глобулярные структуры, называемые доменами. Формирование нативной структуры белков, состоящих из двух или более доменов, усложняется за счет дополнительной стадии – установления специфических контактов между доменами. Ситуация еще более усложняется, когда функционально активна олигомерная форма белка (то есть состоящая из нескольких полипептидных цепей, каждая из которых после сворачивания образует так называемую субъединицу). В этих случаях добавляется еще одна стадия – установление контактов между субъединицами.

10.3. Механизмы регуляции процесса сворачивания полипептидной цепи внутри клетки

Согласно современным представлениям, клетка располагает, по крайней мере, двумя типами таких механизмов: 1) основанным на регуляции скорости превращения «расплавленной глобулы» в нативную структуру (реакция 4) 2) обеспечивающим защиту частично свернутого белка от неспецифической агрегации, обозначенной на рисунке как реакция 5.



Схематическое изображение структуры «расплавленной глобулы» по сравнению со структурой нативного белка. Элементы вторичной структуры представлены двумя спиральными участками (цилиндры). Заштрихованные фигуры изображают неполярные группы аминокислотных остатков

Н.К. Наградова, 1996 г.

Ферменты, ускоряющие процесс сворачивания

Как уже отмечалось, стадия превращения «расплавленной глобулы» в нативный белок является самой медленной, ограничивающей скорость всего процесса. Это обусловлено тем, что установление «оптимального набора» специфических взаимодействий, стабилизирующих нативную конформацию, связано с необходимостью структурных перестроек, происходящих относительно медленно. К их числу относится цис-транс-изомеризация пептидной связи, предшествующей остатку пролина. Поскольку транс-конформация более стабильна, она преобладает во вновь синтезированной полипептидной цепи. Однако, для образования нативной структуры белка необходимо, чтобы около 7% связей, образованных остатками пролина, изомеризовались в цис-конформацию. Эта реакция, приводящая к повороту цепи на 180° вокруг C–N связи, идет чрезвычайно медленно. *In vivo* она ускоряется благодаря действию специального фермента – **пептидил-пролил-цис/транс-изомеразы**.

Второй фермент, ускоряющий процесс сворачивания, **катализирует образование и изомеризацию дисульфидных связей**. Он локализуется в просвете эндоплазматического ретикулума и способствует сворачиванию секретируемых клетками белков, содержащих дисульфидные мостики (например, инсулин, рибонуклеаза, иммуноглобулины). Характерная особенность обоих ферментов состоит в том, что они не способны связываться с нативными белками; их субстраты имеют частично развернутую структуру, близкую к состоянию «расплавленной глобулы». Ускоряя стадии, лимитирующие скорость сворачивания, ферменты способствуют удержанию белка на правильном пути приобретения нативной структуры, снижая риск протеолитической деградации и агрегации лабильных промежуточных форм.

Специальные белки, увеличивающие эффективность сворачивания полипептидной цепи в нативную конформацию

В середине 80-х годов XX века началась новая эра в исследовании механизмов регуляции сворачивания белков *in vivo*. Было обнаружено, что в клетке существует особая категория белков, основной функцией которых является обеспечение правильного характера сворачивания полипептидных цепей в нативную структуру. Эти белки, связываясь с развернутой или частично развернутой конформацией полипептидной цепи, не дают ей «запутаться», образовать неправильные структуры. Они удерживают частично развернутый белок, способствуют его переносу в разные субклеточные образования, а также создают условия для его эффективного сворачивания. Эти белки получили название «молекулярные шапероны», образно отражающее их функцию (английское слово *chaperone* близко по смыслу к слову «гувернантка»).

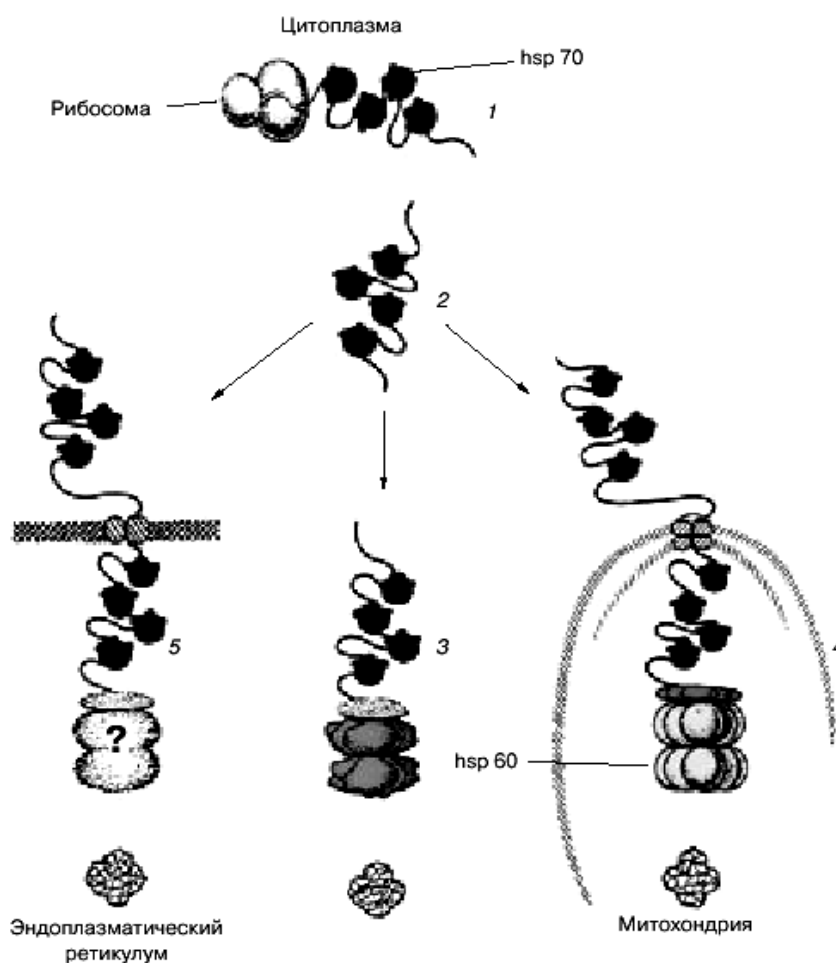
К настоящему времени описано несколько классов шаперонов, различающихся по структуре и специфическим функциям. Все шапероны являются так называемыми «белками теплового шока», синтез которых резко увеличивается в стрессовых для клетки ситуациях. Поэтому сокращенное название этих белков – hsp (*heat shock proteins*). Однако и в нормальных условиях каждая клетка содержит определенный набор шаперонов, необходимых для ее жизнедеятельности. Классификация шаперонов основана на величине молекулярной массы составляющих их полипептидных цепей (субъединиц), которая варьирует от 10 кДа (килодальтонов) (для белка hsp10) до 90 кДа (для белка hsp90) и выше. По характеру выполняемых этими белками функций их можно разделить на два больших семейства – шапероны, или hsp70, и шаперонины, к которым относятся hsp60 и hsp10.

Шапероны, удерживающие белки в развернутом состоянии

Взаимодействие шаперонов с синтезируемым белком начинается еще до схождения полипептидной цепи с рибосомы. Связываясь с отдельными участками «опекаемой» ими полипептидной цепи, молекулы hsp70 образуют прочные комплексы, удерживающие цепь в развернутом состоянии. Взаимодействие не является специфическим (шапероны не различают белки по их аминокислотной последовательности) и в основном реализуется благодаря силам гидрофобного характера. Прочно фиксированная на шаперонах полипептидная цепь не способна к сворачиванию в нативную структуру, так как не обладает необходимой для этого подвижностью. **Главная функция hsp70 состоит в удержании вновь синтезируемых белков от неспецифической агре-**

гации и в их передаче другому «белку-помощнику», шаперонину, роль которого – обеспечить оптимальные условия для эффективного сворачивания.

В клетках эукариот шапероны выполняют также важную роль в транспорте белков через мембраны митохондрий, хлоропластов и эндоплазматического ретикулума. Такой транспорт необходим, так как многие белки клеточных органелл синтезируются в цитоплазме, а окончательно сворачиваются в месте своей постоянной локализации. Роль hsp70, «подносящего» к мембране частично развернутый белок, становится понятной, если учесть, что разворачивание – обязательное условие проникновения белковой молекулы через мембрану. Интересно, что митохондриальный матрикс содержит собственные шапероны, «подхватывающие» пересекающий мембрану белок и способствующие его «втягиванию» в митохондрию. Аналогичный механизм реализуется и при проникновении синтезированных в цитоплазме белков в просвет эндоплазматического ретикулума. Описанные функции шаперонов hsp70 иллюстрируются следующей схемой.



Участие шаперонов и шаперонинов в сворачивании белка в клетке эукариот.
1- Сходящая с рибосомы полипептидная цепь, связанная с шаперонами hsp70

цитоплазмы; 2- шапероны hsp70 экранируют гидрофобные области полипептида, предотвращая его агрегацию; 3- белки, сворачивающиеся в цитоплазме, передаются с шаперона hsp70 на цитоплазматический шаперонин, где и происходит сворачивание; 4- белки, сворачивающиеся в митохондриях. Цитоплазматический шаперон hsp70 «подносит» развернутый белок к внешней мембране митохондрии. Митохондриальный шаперон hsp70, прочно связываясь с пересекающей мембрану белком, способствует его втягиванию внутрь митохондрии, а затем передают его на митохондриальный шаперонин, где и происходит сворачивание; 5- белки, сворачивающиеся в эндоплазматическом ретикулуме. Цитоплазматический шаперон hsp70, с одной стороны, и шаперон hsp70 просвета эндоплазматического ретикулума, с другой, обеспечивают проникновение развернутого белка через мембрану. Детали сворачивания таких белков пока не выяснены

Н.К. Наградова, 1996 г.

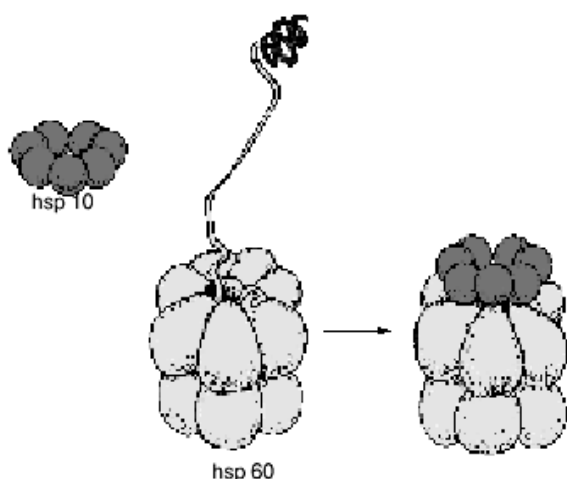
Возникает вопрос: от чего же зависит прочность связывания шаперона с полипептидной цепью? Каков механизм, позволяющий развернутому белку освободиться от hsp70 и перейти на шаперонин (hsp60)? Детальные исследования, проведенные на системах белков, выделенных из клеток бактерий, показали, что главным фактором является способность шаперона связывать АТФ, в определенных условиях осуществлять его гидролиз и изменять прочность взаимодействия с полипептидной цепью в зависимости от природы связанного нуклеотида (АТФ или АДФ).

Шаперонины, обеспечивающие эффективное сворачивание белков

В отличие от довольно просто построенных шаперонов (состоящих из одной–двух полипептидных цепей – субъединиц), шаперонины представляют собой сложные олигомерные структуры. Наиболее изученные hsp60 митохондрий, а также клеток *E. coli*, построены из 14 субъединиц, организованных в два семичленных кольца, лежащих одно под другим. В центре построенного таким образом цилиндра имеется полость – канал (диаметром 45 ангстрем), в котором и происходит сворачивание полипептидной цепи, перешедшей на шаперонин с шаперона hsp70. На рисунке также показана структура hsp10, маленького белка, также образующего олигомерную структуру – кольцо из семи субъединиц, способное, как «шапочка», прикрывать вход в канал молекулы шаперонина после того, как туда попадает полипептидная цепь.

Создав шаперонины, природа нашла элегантный способ обеспечить сворачивание белка в условиях, исключающих его агрегацию с другими белками внутри клетки. Действительно, попадая в центральный канал молекулы шаперонина, единичная полипептидная цепь ока-

зывается полностью изолированной и получает возможность реализовать медленные стадии сворачивания с очень высоким выходом нативного белка. Как и в случае hsp70, связывание развернутого белка с шаперонином и его отщепление регулируются АТФ-азной активностью шаперонина. В связывании сворачивающегося белка (находящегося в состоянии «расплавленной глобулы») может принимать участие каждая из 14 субъединиц олигомерной молекулы шаперонина. Количество мест связывания зависит от стадии сворачивания: чем ближе структура к нативной, тем меньше участков, «распознаваемых» шаперонином. Роль маленького шаперонина hsp10, называемого кошаперонином, закрывающего вход в центральный канал, состоит в том, чтобы предотвращать «преждевременный» выход во внешнюю среду белка, не завершившего окончательное сворачивание в нативную структуру.

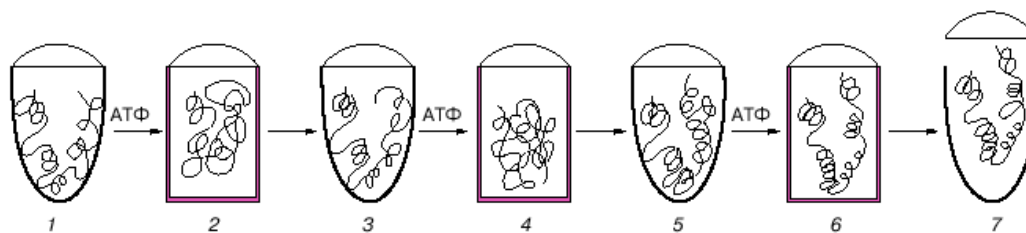


Структура шаперонина hsp60 и его кофактора – hsp10.

Показано проникновение полипептидной цепи в центральный канал молекулы hsp60, сопровождающееся присоединением hsp10 и закрыванием входа в канал

Н.К. Наградова, 1996 г.

На рисунке ниже показан принцип функционирования такой системы. Данная модель дает лишь самое общее представление о механизмах функционирования шаперонинов. Она основана на изучении этих белков, изолированных из митохондрий или бактериальных клеток. Между тем, недавно было выяснено, что цитоплазматический шаперонин клеток эукариот весьма существенно отличается по своим свойствам: он построен из неодинаковых субъединиц и, по-видимому, не взаимодействует с кошаперонином. Вероятно, что общие принципы функционирования, установленные для hsp60, распространяются и на этот шаперонин, однако конкретные механизмы, вовлеченные в регуляцию эффективности сворачивания белков в разных компартментах клетки, могут существенно различаться.



Модель сворачивания белка с участием шаперонинов.

Овальная фигура обозначает структурное состояние шаперонина hsp60 с сильным сродством к развернутому белку, прямоугольная фигура – состояние, в котором шаперонин такой белок не связывает. Вверху показан hsp10, который диссоциирует по окончании сворачивания. 1- Белок в состоянии «расплавленной глобулы» связан с гидрофобными участками «стенок» центрального канала молекулы шаперонина. Это взаимодействие стимулирует присоединение АТФ, в результате которого структура шаперонина меняется (гидрофобные участки «стенок» экранируются), и белок освобождается, переходя в центральный канал (2). Спонтанное сворачивание белка продолжается до тех пор, пока не произойдет гидролиз АТФ и переход шаперонина в состояние, способное связывать частично развернутый белок (3). Стадии 1, 3 и 5 различаются количеством «развернутых» участков структуры белка, взаимодействующих со «стенками» центрального канала. Стадия 7: нативный белок, не способный связываться с шаперонином, выходит наружу

Н.К. Наградова, 1996 г.

Успехи, достигнутые в понимании общих принципов организации полипептидной цепи в уникальную пространственную структуру, а также внутриклеточных механизмов контроля за процессом сворачивания белка, привели к формированию особой области исследований, объединяющей усилия биохимиков, молекулярных биологов и клеточных биологов. Главными проблемами, которые предстоит решить, остаются расшифровка второй половины генетического кода (понимание структурных основ, определяющих путь сворачивания полипептидной цепи), с одной стороны, и выяснение молекулярных механизмов регуляции скорости и эффективности этого процесса, – с другой. Накопленная к настоящему времени информация позволяет заключить, что определяющую роль в такой регуляции играют белок-белковые взаимодействия. Они реализуются, во-первых, между выставленными на поверхность участками полипептидной цепи и специальными белками, имеющими две функции: 1) предотвращать неспецифическую агрегацию вновь синтезируемых белков и 2) обеспечивать транспорт этих белков в те внутриклеточные компартменты, где они постоянно локализируются и функционируют. Такая, образно выражаясь, диспетчерская роль шаперонов дополняется их участием в проникновении белков через мембраны. Способность шаперонов (и шаперонинов) распознавать ненативные участки структуры белков лежит также в основе механизма, обеспечивающего чрезвычайно высокую эффективность сворачивания.

Второй уровень белок-белковых взаимодействий, вовлеченных в регуляцию сворачивания белка *in vivo* – это взаимодействия между субъединицами в сложных молекулах шаперонинов, обеспечивающие согласованное изменение их конформации в каждом цикле сворачивания. Эта очень интересная область остается пока почти не разработанной.

Не подлежит сомнению, что важнейшую роль в регуляции сворачивания белков *in vivo* играют белок-белковые взаимодействия третьего уровня, возникающие между отдельными белками-шаперонами. Скорее всего, клетка располагает высоко организованными ансамблями белков, действующих согласованно. В состав таких ансамблей, вероятно, образующихся в цитозоле эукариотической клетки, входят, помимо hsp70, шапероны других типов (например, hsp90 и связанные с ним низкомолекулярные шапероны, не требующие АТФ для своего функционирования), ферменты, ускоряющие процесс сворачивания, а также ряд других белков, роль которых пока остается неясной. Расшифровка молекулярных механизмов функционирования таких «машин сворачивания» – одна из актуальных проблем современной науки.

Функции шаперонов сводятся не только к участию в формировании нативной структуры. Белок hsp90 играет крайне важную роль в образовании комплекса стероидных гормонов с их рецептором. Вместе с hsp70 и другими белками hsp90 контролирует функциональную активность рецепторов стероидных гормонов, направляя их «поведение» в клетке. Установлено, что hsp90 образует комплексы с некоторыми протеинкиназами, контролируя их активность. В свою очередь, протеинкиназы фосфорилируют самые различные клеточные белки и благодаря этому регулируют их активность. Hsp90 обнаружен в клетках растений, однако сведений о его функции у растений пока нет.

К шаперонам относится также **убиквитин** – белок, присоединение которого к N-концу полипептида делает этот полипептид мишенью для разрушения протеазами. Это «метка смерти» для белков, и при ее помощи происходит выбраковка поврежденных, недостроенных и функционально неактивных полипептидов. Ассоциированный с убиквитином белок разрушается в особых мультикомпонентных комплексах, называемых **протеосомами**. Тепловой шок приводит к появлению в клетках недостроенных и поврежденных белков, для удаления которых важен убиквитин. Вместе с тем появление поврежденных и недостроенных белков в клетках является сигналом к синтезу шаперонов даже при нормальной температуре.

Лекция 2

СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ. МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕЛКА

Способность белков к специфическим взаимодействиям

Одним из важнейших свойств белков, лежащих в основе их биологических функций, является способность к специфическим взаимодействиям. Такое взаимодействие оказывается возможным, если у белковой молекулы и вещества, с которым она взаимодействует, имеются на поверхности функциональные группы, способные образовать связи между собой. Это могут быть ионные, водородные связи, силы гидрофобного взаимодействия. Такие поверхности, имеющие функциональные группы, которые соответствуют друг другу, называются комплементарными. Если на поверхности белковой молекулы имеется гидрофобная группа, то на другой молекуле также должна быть гидрофобная группа, если имеется группа с положительным зарядом $-\text{NH}_3^+$, то на второй поверхности должен быть отрицательный заряд $-\text{COO}^-$. Специфичность взаимодействия молекул определяется способностью образовывать между участками поверхностей молекул максимально возможное число связей.

При этом важной особенностью белков является также их способность изменять свою конформацию (т.е. пространственную конфигурацию), подгоняя ее к поверхности лиганда. Примером такой подгонки является формирование активного центра фермента при его взаимодействии с субстратом (по Кошланду). Присоединение лигандов к белковым молекулам происходит по большому числу центров связывания.

Специфичность взаимодействия белков лежит в основе действия ферментов при их соединении с субстратами, в основе реакций антиген-антитело, а также взаимодействия гормонов с рецепторами, которые являются белками, в основе образования сложных белков: нуклео-, липо-, гликопротеинов и др.

Самосборка белков и надмолекулярных структур

Это же специфическое взаимодействие лежит в основе процесса самосборки олигомерных белков (т.е. белков, имеющих в своем составе несколько полипептидных цепей) и надмолекулярных структур.

Соединение протомеров или субъединиц в олигомерную молекулу (мультимер) происходит за счет взаимодействия определенных контактных участков, между которыми образуются десятки связей.

Процесс самосборки отличается высокой специфичностью. Про-

томеры белка «узнают» друг друга и соединяются только между собой комплементарными поверхностями, и ошибочное соединение практически невозможно.

Примером олигомерного белка является молекула гемоглобина, состоящая из 4-х субъединиц (4 полипептидных цепей двух типов $\alpha\beta$). Одноименные субъединицы, в основном, связаны между собой ионными связями, а разноименные – в основном, гидрофобным взаимодействием. При обработке раствором мочевины молекула гемоглобина распадается на четыре неактивных протомера, а после удаления мочевины они вновь соединяются, образуя нативную молекулу гемоглобина.

Примерами самосборки является образование молекулы вируса табачной мозаики, клеточных структур – мембран, микротрубочек и т.д.

Количественное определение белков

Все методы количественного определения белков делят на две группы.

Первая группа основана на физико-химических свойствах:

– *Биуретовый* (определяют интенсивность окраски комплексного соединения белка с ионами двухвалентной меди фиолетового цвета, образующегося в щелочной среде).

– *Основанные на оптических свойствах белков.*

– *Нефелометрический* – по степени мутности раствора белка.

– *Рефрактометрический* – основан на способности раствора белка преломлять проходящий луч света, а степень рефракции зависит от количества, размеров и физического состояния растворенных частиц.

– *Спектрофотометрический* – основан на способности остатков ароматических аминокислот (радикалов) поглощать в ультрафиолетовой части спектра при $\lambda=280$ нм.

Все эти методы позволяют определить *суммарное количество белков* в исследуемом материале.

Для *количественного определения индивидуальных белков* используется **вторая группа методов на основе их биологических свойств (специфичности взаимодействия)**: это иммунорадиометрический и иммуноферментный.

Радиоиммунологический анализ основан на способности белков к специфическим взаимодействиям. Он широко используется для диагностики опухолей, так как некоторые из них образуют характерные антигены, которые можно найти в крови или моче (хорионный гонадотропин, плацентарная щелочная фосфатаза и др.). Этим методом можно определять количество димеров пиримидина в ДНК после облучения ультрафиолетовыми лучами, даже очень малые количества клинически важных веществ (гормонов, антигемофильного фактора, вирусных

антигенов), фармакологических агентов (морфина, опийных алкалоидов, сердечных гликозидов, барбитуратов и др.).

Иммунорадиометрический метод используется для количественного определения индивидуального белка X в смеси (A+B+X). Для этого «чистым» белком X иммунизируют животное и выделяют из сыворотки крови образующиеся на него антитела. Их метят ^{125}J . К исследуемой смеси белков добавляют меченые антитела в избытке. Идет реакция антиген-антитело. Образующийся комплекс выделяют, подсчитывают радиоактивность и определяют количество метки. По количеству метки определяют количество антитела и соответственно количество белка X. Этот метод отличается большой чувствительностью.

Иммуноферментный анализ используется для определения ксенобиотиков, природных лекарственных веществ, индивидуальных белков. Метод заключается в том, что фермент, связанный с антигеном или антителом, выступает в качестве индикатора высокоспецифической реакции антиген - антитело. Например, для определения количества инсулина в исследуемой жидкости вначале иммунизируют животное и получают к инсулину антитела. Их связывают с нерастворимым носителем. К инсулину (как антигену) «пришивают» фермент. В исследуемую жидкость, содержащую инсулин, количество которого нужно определить, вносят точное количество инсулина, связанного с ферментом. Эту жидкость пропускают через носитель с антителами. Оба инсулина конкурируют за места связывания с иммобилизованными антителами. По ферментной реакции определяют количество инсулина, «сшитого» с ферментом и связавшегося с антителами или оставшегося в растворе, рассчитывают количество свободного инсулина в анализируемой жидкости.

Методы выделения белков из тканей и получение индивидуальных белков

Выделение и очистка белков – одна из самых сложных проблем белковой химии, так как в биологических объектах обычно присутствуют смеси *большого количества белков часто с близкими характеристиками их физико-химических свойств*. Трудности выделения и очистки белков обусловлены также *неустойчивостью белков*, их высокой чувствительностью к повышению температуры, к действию химических реагентов, что может вызвать денатурацию. Поэтому весь процесс выделения проводят при возможно низких температурах.

Выделение белков включает следующие этапы:

1. Разрушение ткани и гомогенизация:

- В ступке на холоду.
- С помощью гомогенизаторов: с вращающимися ножами, пестико-

вых с притертыми поверхностями (стеклянные, тефлоновые пестики), где измельчение происходит между двумя поверхностями. Последние позволяют выделять неповрежденные отдельные структуры клеток - ядра, митохондрии.

- Путем попеременного замораживания и оттаивания.
- Ультразвуком (но необходимо подбирать режим: частоту колебаний, мощность источника).
- Шаровыми или валковыми мельницами.

2. Экстракция белков:

Проводится водой, растворами нейтральных солей (NaCl, KCl – 10%), буферными растворами (фосфатным, цитратным, боратным, веронал-мединаловым, трис – триоксиметил-аминометан и его соли с HCl). При этом учитывается ионная сила растворов, подбираются значения pH, t^0 , продолжительность извлечения.

Извлечение белков также проводят органическими растворителями: глицерином, растворами сахарозы, спирта различной концентрации.

Выбор экстрагента проводится с расчетом наиболее полного извлечения.

3. Осветление раствора: путем фильтрования или центрифугирования.

4. Разделение экстрагированных белков основано на различиях в растворимости белков, в размерах, массе и др.

Высаливание – метод, основанный на различиях в растворимости. *Высаливание* – это выделение белков из раствора путем прибавления нейтральных солей щелочных или щелочноземельных металлов. Метод основан на разрушении солями (обладающими водоотнимающими свойствами) гидратной оболочки – фактора устойчивости белковых молекул в растворе. Белки, осажденные этим способом, могут вновь легко растворяться в воде.

Классический пример разделения белков методом высаливания – осаждение альбуминов и глобулинов сульфатом аммония. Глобулины осаждаются полунасыщенным, а альбумины – насыщенным раствором соли. Но это метод группового разделения, так как осаждаются белки с близкими физико-химическими характеристиками.

Более тонкое разделение получают растворами спирта разной концентрации.

На различиях в молекулярной массе основан метод **ультрацентрифугирования**. В ультрацентрифуге (сконструирована в 1925 году Т. Сведбергом) скорость вращения ротора составляет от 75000 до 150000 об/мин. Центробежная сила превышает силу земного притяжения в 500000 раз, и создается такое центробежное ускорение, которое необходимо для осаждения небольших белковых молекул. Белки с разной массой движутся ко дну пробирки с разной скоростью, при этом между слоем жидкости, содержащей белок, и слоем, освободившимся от

белка, изменяется константа преломления света, и появляется *граница раздела фаз*. По их числу судят о количестве фракций или об однородности белка.

К этой группе методов относится и *гель-фильтрация*, использующая полимеры *сефадексы*, построенные из нитевидных молекул полисахарида декстрана, сшитых через определенные промежутки поперечными связями и свернутых в виде гранул. Образуется молекулярное сито с контролируемым размером отверстий.

Выпускаются *марки сефадексов*:

G – 200 (пропускают белки с М.м. 200000 Да и <).

G – 100 (–//– 100000 Да и <).

G – 75 (–//– 50000 Да и <).

G – 50 (–//– 10000 Да и <).

G – 25 (–//– 4000 Да и <).

Гелем сефадекса заполняют колонку и в нее вводят смесь белков. Сверху постоянно подают ток растворителя. Молекулы, размер которых меньше отверстий, легко диффундируют в гранулы. Под влиянием тока жидкости молекулы выходят из гранул и заходят в следующие. Поэтому молекулы движутся медленнее тока жидкости. Молекулы больших размеров не могут пройти в гранулы, обтекают их и проходят через колонку без задержки. Собирая вытекающую жидкость малыми порциями, можно разделить белки на фракции. Это очень эффективный метод фракционирования веществ.

Белки – заряженные вещества. В зависимости от величины заряда и молекулярной массы они имеют разную скорость передвижения в электрическом поле. На этом основан метод *электрофореза*. Он проводится в буферном растворе с определенным значением рН (веронал-мединаловый – рН=8,6). Возможен *бумажный электрофорез* и в геле: полиакриламидном, крахмальном. Разделение в гелях более тонкое, так как они играют роль молекулярного сита, а не только опорной среды, т.е. здесь имеют значение величина заряда и величина частиц.

Эффективными методами разделения и идентификации химических соединений, в том числе и белков, являются *хроматографические методы*. Метод хроматографии был разработан в 1906 году русским ботаником М.С. Цветом, который разделял растительные пигменты. В настоящее время используются четыре основных вида хроматографии:

- 1) Адсорбционная.
- 2) Распределительная.
- 3) Ионообменная.
- 4) Аффинная

Разработаны различные приемы их применения в зависимости от решаемых задач: от идентификации каких-либо веществ до получения даже больших количеств чистого вещества. Хроматографическое разде-

ление веществ может проводиться с использованием разных носителей на колонках (колоночная хроматография), на бумаге (бумажная), в тонком слое сорбента (чаще всего с использованием силикагеля - тонкослойная), газовая.

Адсорбционная хроматография основана на различной полярности веществ и их индивидуальной способности связываться с адсорбентом взаимодействием разного типа.

Распределительная хроматография основана на использовании подвижной и неподвижной (стационарной) фаз, представляющих две несмешивающиеся жидкости, взятые в определенном соотношении. Неподвижная фаза закрепляется на каком-либо твердом инертном носителе, в качестве которого могут использоваться силикагель, целлюлоза, фильтровальная бумага. Через твердый носитель пропускается подвижная фаза. Коэффициент распределения веществ в этих жидкостях (подвижной и неподвижной фазах) будет разным. Поэтому при пропускании растворителя через колонку с адсорбентом или бумагу с нанесенной смесью разделяемых веществ (стационарная фаза на носителе) в зависимости от распределения в подвижной и неподвижной фазах вещества будут двигаться с разной скоростью, т.е. происходит их разделение.

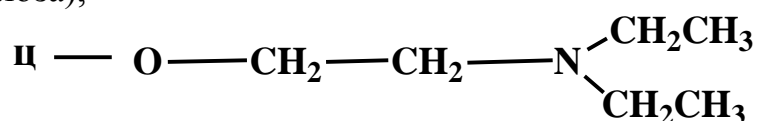
В целом метод был назван жидкостной хроматографией. При использовании в качестве твердого носителя фильтровальной бумаги хроматография называется бумажной. Это один из наиболее эффективных аналитических методов разделения веществ. Жидкостная распределительная хроматография на бумаге используется для разделения многих типов веществ, включая углеводы, липиды, нуклеотиды, белки, пептиды. Разработаны различные модификации этого метода с использованием разных носителей (окиси алюминия, производных целлюлозы, кремнезема), а также самых разнообразных растворителей. К таким разновидностям относится тонкослойная хроматография, при которой смесь веществ разделяется с помощью восходящей хроматографии на твердом носителе, нанесенном на стеклянную или пластмассовую пластинку.

Другой модификацией распределительной хроматографии является газожидкостная хроматография, особенно пригодная для разделения легко летучих веществ. В этом методе колонка заполняется тонкоизмельченными частицами инертного твердого носителя (например, огнеупорный кирпич), пропитанными нелетучими жидкостями (смазочными или силиконовыми маслами, др.). В колонке по всей длине поддерживается высокая температура (170-225⁰). Смесь анализируемых летучих веществ вводится в верхнюю часть колонки и быстро там испаряется. Пары веществ проходят через колонку, увлекаемые равномерным потоком инертного газа (азота, аргона, гелия). Компоненты смеси движутся по колонке с разными скоростями в зависимости от коэффициен-

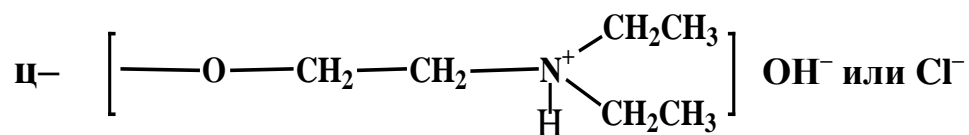
тов распределения между газом (подвижная фаза) и нелетучей жидкостью (неподвижная фаза). Наличие разделяемых веществ в потоке газа, выходящего из колонки, обнаруживается физическими или химическими методами. Результаты автоматически записываются на диаграммной ленте в виде серии пиков.

Ионообменная хроматография основана на различиях в природе ионизированных групп белков. Здесь используются ионообменные полимеры на целлюлозной основе, представляющие высокополимерный каркас, химически соединенный с заряженными группами, способными связывать ионы за счет электростатического взаимодействия. Они способны обменивать эти ионы на ионы, содержащиеся в водном растворе. Сшивка цепей в каркасе полимера очень частая, и молекулы белков не могут проникать внутрь полимера, а взаимодействуют лишь на поверхности с ионизированными группами.

Различают катионо- и анионообменники. Примером **катионообменников** является карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ), т.е. целлюлоза, к ОН-группам которой пришиты группы $-\text{CH}_2-\text{COOH}$. При ее обработке щелочью образуется солевая форма $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COONa}$, в которой катион Na^+ может обмениваться на другие катионы, в том числе и белковые. Примером **анионообменников** является ДЕАЕ – целлюлоза (диэтиламиноэтил-целлюлоза),



при обработке которой щелочью или кислотой образуется солевая форма, имеющая анион:



Эти анионы могут обмениваться на другие, в том числе и белковые. Разная способность белков связываться с ионообменником зависит от количества и природы заряженных групп в белках. Анионообменники используются для разделения кислых и нейтральных белков, катионообменники – основных.

Элюция белков с ионообменников проводится раствором с высокой концентрацией солей (NaCl). Первыми снимаются белки, обладающие меньшим сродством к ионообменнику, а затем с большим.

Аффинная или хроматография по сродству основана на избирательном взаимодействии белка со специфическими веществами – лигандами, пришитыми к носителю. Роль лиганда могут выполнять субстраты (при выделении ферментов), гормоны, коферменты и др.; в результате высокой специфичности белка к данному лиганду происходит выделение из смеси только данного белка. Элюция белка с носителя

осуществляется раствором с высокой концентрацией лиганда.

5. Очистка белка от электролитов – методом диализа или с помощью сефадексов (G-25).

6. Оценка полноты очистки белка, т.е. проверка на гомогенность.

Для проверки степени очистки индивидуального белка используют методы:

- Кристаллизации.
- Ультрацентрифугирования (наличие только одной границы раздела фаз).
- Диск – электрофореза (белок движется в виде одной узкой полосы).
- Иммунохимического анализа (имеется одна полоса преципитации с антисывороткой, полученной от животных, иммунизированных исследуемым белком).
- Проба на постоянство растворимости (в одинаковых условиях растворимость чистого белка должна быть постоянной и не зависеть от количества растворяемого белка).

Если белок нужно получить в сухом виде, его высушивают в вакууме при одновременном замораживании – *метод лиофилизации*. Полученные сухие препараты могут долго сохраняться.

Различия белкового состава органов и изменение его при онтогенезе и болезнях

Белковый состав организма взрослого человека более или менее постоянный, но белковый состав отдельных органов и тканей отличается. Так, в эритроците содержится гемоглобин, в мышечных клетках – сократительные белки – актин, миозин, в клетках сетчатки глаза – родопсин. Все эти белки выполняют специфические функции. Многие белки содержатся во всех или почти во всех клетках, но в разных количествах. При заболеваниях белковый состав тканей изменяется, и такие проявления заболевания называют протеинопатией.

Протеинопатии относятся к молекулярным болезням, развивающимся вследствие образования дефектного белка (полностью или частично утратившего свои функции) или явно недостаточного количества нормального белка, не способного в полном объеме выполнять свои функции. Таким образом, протеинопатии - это «болезни» специфических белков. Их можно разделить на две большие группы: ферментные (ферментопатии или энзимопатии) и неферментные. К первой группе относятся заболевания, связанные с дефектами ферментов, что приводит к нарушению определенного звена обмена веществ. Вторая группа протеинопатий связана с дефектами неферментных белков, вы-

полняющих какие-то определенные функции (транспортную, рецепторную, иммунологическую и др.). Это приводит к нарушению конкретных процессов, зависящих от данного ферментного белка. Примерами ферментопатий являются нарушения обмена фенилаланина и тирозина (фенилкетонурия, алкаптонурия, тирозиноз, альбинизм), гликогена (гликогенозы и агликогенозы), галактозы (галактоземия), и других веществ. Классическим примером ферментных протеинопатий являются гемоглинопатии, связанные с генетическими дефектами субъединиц гемоглобина. Среди них хорошо изучена серповидноклеточная анемия, при которой в крови больных содержится аномальный гемоглобин HbS. Он отличается от нормального гемоглобина HbA тем, что в β -субъединицах вместо отрицательно заряженной глутаминовой кислоты в шестом положении находится валин (гидрофобная аминокислота) вследствие мутации в структурном гене ДНК, кодирующем β -субъединицу гемоглобина. Подобная замена сказывается на физико-химических свойствах молекулы, что проявляется уменьшением растворимости дезоксигемоглобина. Он может выкристаллизовываться в эритроцитах, которые принимают форму серпа (отсюда и название болезни), могут закупоривать капилляры, погибают. Нарушается снабжение тканей кислородом. Распад эритроцитов приводит к анемии (малокровию). Заболевание может привести к неблагоприятному исходу. Протеинопатии могут быть наследственными и приобретенными.

В процессе развития организма – в разные периоды жизни (при онтогенезе) белковый состав также изменяется. Так, у плода имеется Hb F, а после рождения он заменяется на Hb A₁.

Лекция 3

ФЕРМЕНТЫ. СТРОЕНИЕ. КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

1. Особенности биокатализаторов

Ферменты – это белковые катализаторы биохимических реакций. Между ферментами и неорганическими катализаторами есть сходства и различия (связанные с белковой природой ферментов).

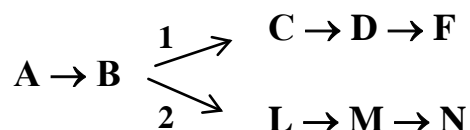
Общие свойства ферментов и неорганических катализаторов:

1. Подчинение закону действующих масс.
2. Не сдвигают подвижного равновесия реакции, т.е. ускоряют как прямую, так и обратную реакцию.

3. Влияют только на скорость химических реакций.
4. Выходят из реакции в неизменном виде.
5. Не ускоряют термодинамически невозможных реакций.

Отличия ферментов от неорганических катализаторов:

1. Ферменты действуют в «мягких» условиях внутренней среды организма.
2. Ферменты это белки, поэтому они чувствительны к действию денатурирующих агентов.
3. Высокая эффективность ферментов. (Сравним энергии активации разложения перекиси водорода: спонтанно – 75,2 кДж/моль; а в присутствии катализатора платины – 50,2 кДж/моль; фермента каталазы – 8,3 кДж/моль).
4. Катализаторы всегда проявляют максимальную активность: активность ферментов (E) зависит от условий в клетке.
5. Катализаторы ускоряют достижение химического равновесия, активируя как прямую, так и обратную реакцию. Каждый отдельный фермент действует аналогично. Однако в живых клетках имеют место полиферментные реакции:



Совокупность ферментов в реальной клетке дает направление обмену веществ, т.е. превращение субстрата А в конечные продукты F или N зависит от набора ферментов 1 или 2 пути превращения.

6. Активность ферментов регулируется на генетическом уровне, а также низкомолекулярными соединениями – эффекторами.
7. Ферменты обладают специфичностью действия.

Специфичность действия ферментов

Различают специфичность по отношению к типу химической реакции, катализируемой ферментом, и специфичность по отношению к субстрату. **Эти два вида специфичности присутствуют у каждого фермента.**

Специфичность по отношению к субстрату

Это предпочтительность фермента к субстрату определенной структуры по сравнению с другими субстратами. Различают 4 вида субстратной специфичности:

1. *Абсолютная* – фермент катализирует превращение строго определенного **одного субстрата**. Например, уреазы расщепляет только мочевины, аргиназа – аргинин.

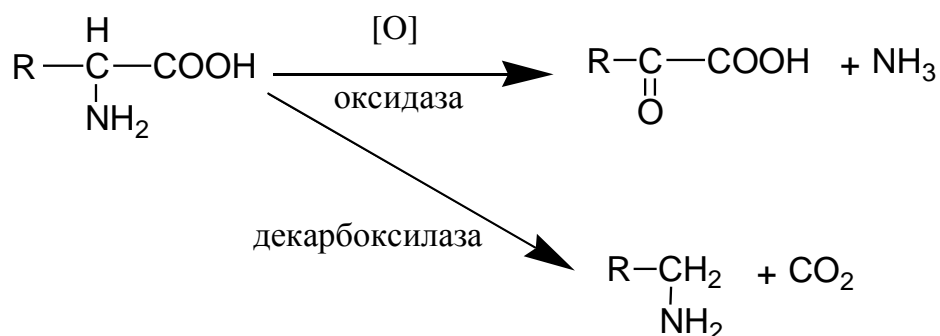
2. *Относительная* – фермент катализирует превращение **нескольких субстратов**, имеющих **один тип связи**. Например, липаза расщепляет сложноэфирную связь между глицерином и любой жирной кислотой в триацилглицеринах.

3. *Относительная групповая* – фермент катализирует превращение **нескольких субстратов**, имеющих **один тип связи**, но требуются **определенные атомные группировки**, образующие эту связь. Например, все протеолитические ферменты расщепляют пептидную связь, но пепсин – образованную –NH₂ группами ароматических аминокислот, химотрипсин – образованную –COOH группами этих же аминокислот, трипсин – пептидную связь, образованную –COOH группой лизина, аргинина.

4. *Стереохимическая* – фермент катализирует превращение только одного стереоизомера при наличии их смеси. Например, L-оксидаза превращает L-аминокислоту, но не действует на D-изомер.

Специфичность по отношению к реакции

Каждый фермент катализирует одну реакцию или группу реакций одного типа. Часто одно и то же химическое соединение выступает как субстрат для разных ферментов, причем каждый из них, катализируя специфическую для него реакцию, приводит к образованию разных продуктов. Например:



Специфичность к типу реакции лежит в основе единой классификации ферментов.

Особенности выделения ферментов

Для выделения ферментов используют методы выделения индивидуального белка. При этом требуются особо щадящие условия. Предпочтителен метод аффинной хроматографии (см. лекцию «Методы выделения количественного определения белка»).

2. Структурная и функциональная организация ферментов

По строению различают **простые ферменты** (при гидролизе образуются только аминокислоты) и **сложные** (при гидролизе образуются аминокислоты и добавочные группы).

Белковая часть фермента называется **апофермент**, небелковая – **кофактор**. Прочный природный комплекс апофермента и кофактора – холофермент.

Типы кофактора: а) **простетическая группа** – прочно связанная с апоферментом небелковая часть, часто связь ковалентная и в качестве небелковой части выступают металлы. б) **кофермент** – небелковая часть, легко отделяемая от апофермента, рыхло связанная с ним. Часто коферментами служат витамины.

У каждого фермента имеется активный центр.

Активный центр фермента образован: у простых ферментов функциональными группами боковых радикалов аминокислот, сближенных в пространстве. У сложных ферментов: + кофактор.

Примеры функциональных групп активного центра:

NH_2 -лиз	OH -сер
COOH -глу, асп	SH -цис

Участки активного центра:

- *Якорный* – для фиксации субстрата.
- *Каталитический* – обеспечивает катализ.

Свойства активных центров

1. Это трехмерное образование, в формировании активного центра участвуют функциональные группы аминокислот, линейно далекие друг от друга.

2. На активный центр приходится относительно малая часть общего объема фермента.

3. Активный центр имеет форму узкого углубления или щели, что создает микроокружение, благоприятное для катализа.

4. Субстраты относительно слабо связываются с активным центром.

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

У ряда регуляторных ферментов имеется еще один центр – **алло-стерический**. *Allos* – другой, *stereos* – пространство, т.е. это центр, занимающий другое пространственное положение, чем активный центр.

Присоединение к этому центру низкомолекулярных веществ (**эффektorов**) ведет к изменению третичной структуры фермента и области активного центра, что приводит к изменению активности фермента.

3. Механизм и стадии ферментативного катализа

Химическая реакция – это результат столкновения молекул, который зависит от величины энергии молекул и от прочности той связи между атомами в молекуле, которая должна быть разорвана. Молекул с очень низкой и очень высокой энергией мало, большинство молекул обладает средним запасом энергии. Они и определяют скорость реакции.

Способы ускорения химических реакций:

1. Увеличить среднюю энергию молекул
2. Снизить энергетический барьер реакции

Энергетический барьер реакции – это значение энергии, когда все молекулы взаимодействуют.

Энергия активации – количество энергии, необходимое для того, чтобы все молекулы смогли провзаимодействовать (преодолеть энергетический барьер).

В общем виде уравнение химической реакции в присутствии фермента можно записать



где **E** – фермент, **S** – субстрат, **P** – продукт, **Z** – промежуточный комплекс.

Ферментативная реакция протекает в три стадии:

I стадия: $E + S \leftrightarrow ES$ – образование фермент-субстратного комплекса. Протекает очень быстро. Субстрат присоединяется к якорному участку активного центра. В 1894 г. Фишер предложил модель взаимодействия фермента с субстратом «**ключ-замок**», т.е. субстрат подходит к ферменту как ключ к замку. Согласно этой модели у фермента имеется **окончательно сформированный активный центр** еще задолго до **взаимодействия** с субстратом. Эта модель объясняла абсолютную специфичность фермента и не могла объяснить относительной, поэтому Кошланд предложил модель «**индуцированного соответствия**». Согласно этой модели, окончательное формирование активного центра фермента происходит **в момент взаимодействия** с субстратом, т.е. **при связывании субстрата с якорным участком активного центра происходит изменение конформации каталитического участка активного центра**, обеспечивающее его комплементарность поверхности субстрата.

Причины ускорения реакции на I стадии:

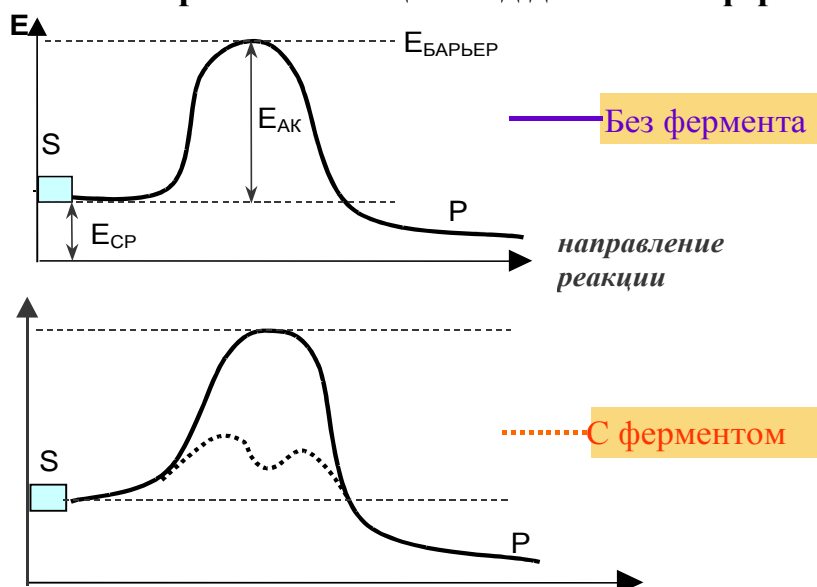
1. Происходит сближение и правильная ориентация молекул субстрата в области активного центра фермента.
2. Это приводит к увеличению **эффективной концентрации** молекул субстрата (т.е. тех молекул, которые взаимодействуют), т.к. в растворе без фермента их столкновения были случайны.

II стадия: на стадии фермент-субстратного комплекса происходит химическая реакция через переходное состояние $ES \rightarrow EZ$, где Z – это уже не субстрат, но еще и не продукт. Именно эта стадия лежит в основе субстратной специфичности фермента. Неспецифические (непродуктивные) взаимодействия субстрата с ферментом нарушаются при образовании переходного состояния, при специфическом взаимодействии на стадии переходного состояния происходит резкое увеличение скорости реакции. На этой стадии происходит **ускорение реакции вследствие уменьшения энергии активации**.

Причины снижения энергии активации:

1. Фермент передает часть своей энергии субстрату в ходе взаимной подгонки конформации субстрата и фермента. Субстрат в ходе взаимодействия с активным центром фермента деформируется (растягивается на активном центре как на «дыбе» – гипотеза «дыбы»), что облегчает разрыв его связей.
2. Уменьшается энергетический барьер реакции путем разбивки ее на ряд промежуточных стадий, каждая из которых имеет низкий энергетический барьер.

Снижение энергии активации под действием ферментов

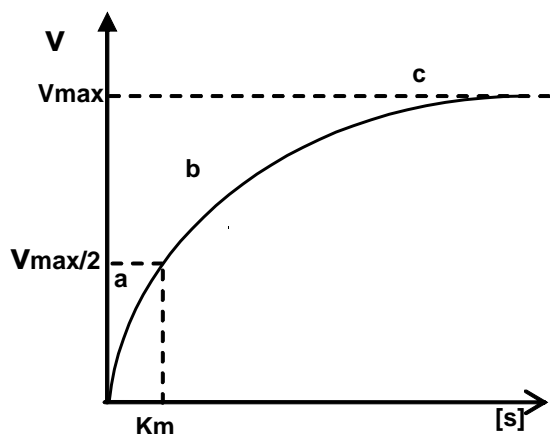


III стадия: $EP \longrightarrow E+P$ происходит очень быстро, выделяется продукт реакции, а фермент выделяется в неизменном количестве и качестве.

4. Факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций

1. Концентрация субстрата

В 1913 г. Михаэлис и Ментен показали, что скорость ферментативной реакции изменяется не пропорционально концентрации субстрата. При увеличении концентрации субстрата и постоянной концентрации фермента скорость вначале увеличивается линейно (а – реакция первого порядка), затем переходит в реакцию смешанного порядка (b), затем стремится к максимальной скорости (с – реакция нулевого порядка).



Для участка «а» было предложено уравнение Михаэлиса-Ментен:

$$v = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_s + [S]}. \text{ Преобразуем уравнение делением на } [S]: v = \frac{V_{max}}{1 + \frac{K_s}{[S]}}$$

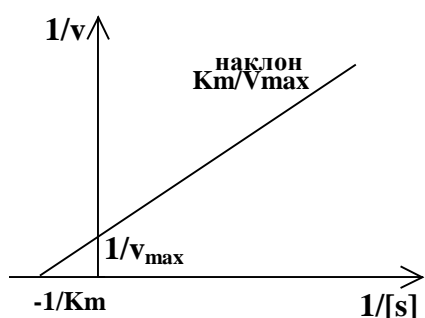
максимальная скорость, $[S]$ – концентрация субстрата, K_s – константа диссоциации фермент-субстратного комплекса.

Бриггс и Холдейн модифицировали это уравнение для всей кривой – $v = \frac{V_{max}}{1 + \frac{K_m}{[S]}}$, введя константу Михаэлиса K_m .

K_m – численно равна концентрации субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной величины. K_m выражается в единицах концентрации субстрата, действительно, если $K_m = [S]$, то по уравнению $V = V_{max} / (1+1) = V_{max}/2$.

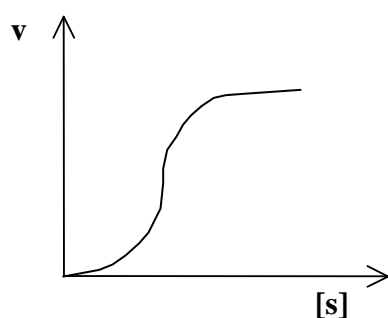
K_m – это мера сродства данного субстрата к ферменту: если K_m велика, это означает, что потребуется много субстрата для достижения

$1/2 \cdot V_{\max}$ (реакция идет медленно); низкая величина K_m указывает на то, что для насыщения фермента достаточно небольшого количества субстрата. Итак, **величина K_m большая – низкое сродство субстрата к ферменту, K_m малая – высокое сродство субстрата к ферменту.**



Нахождение величины K_m по кривой уравнения Бриггса и Холдейна неточное. Поэтому Лайнуивер и Бэрк преобразовали уравнение Бриггса и Холдейна по методу двойных обратных величин:

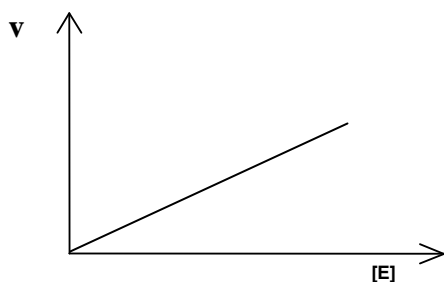
$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max} \cdot [S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$



В соответствии с этим уравнением строим график в координатах $1/V$ и $1/(S)$. Получаем прямую, тангенс угла которой равен величине K_m/V_{\max} ; отрезок, отсекаемый прямой от оси ординат – $1/V_{\max}$; отрезок, отсекаемый от оси абсцисс – $1/K_m$.

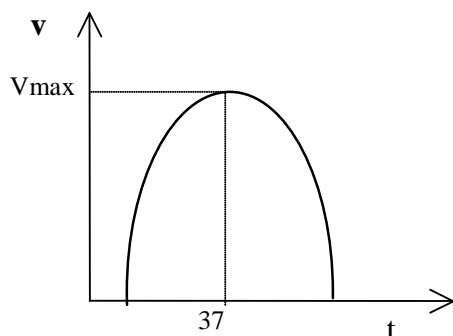
Для регуляторных ферментов с четвертичной структурой зависимость скорости реакции от концентрации субстрата имеет S-образный характер вследствие кооперативного эффекта (незначительное изменение концентрации субстрата приводит к резкому увеличению скорости реакции).

2. Влияние концентрации фермента



При условии **избытка субстрата** скорость ферментативной реакции прямо пропорциональна концентрации фермента. Эта зависимость подчиняется уравнению прямой $v = k[E]$.

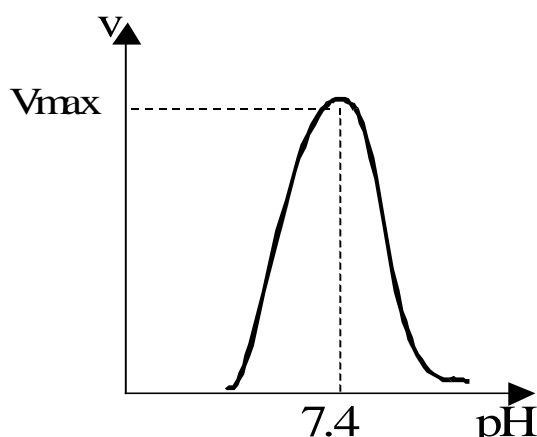
3. Влияние температуры



Известно, что скорость химической реакции увеличивается в 2 раза при повышении температуры на 10°C .

Однако, из-за белковой природы ферментов, повышение температуры приведет к тепловой его денатурации и снижению скорости реакции. Оптимальная температура — это та температура, при которой скорость реакции максимальна. Для ферментов растений $t_{\text{опт}} - 45-50^\circ\text{C}$, ферментов теплокровных — 37°C . Исключение: миокиназа мышц выдерживает нагревание до 100°C .

4. Влияние pH среды



Ферменты, как и белки, имеют заряженные группы. Общий заряд молекулы фермента зависит от pH среды. Зависимость скорости ферментативной реакции от величины pH носит колоколообразный характер. Любые отклонения вправо и влево от оптимума pH изменяет заряд фермента, вплоть до достижения ИЭС, что приводит к потере каталитических

свойств. Большинство ферментов проявляет максимальную активность в узком диапазоне pH. Для большинства ферментов крови оптимум pH — 7,4. Для некоторых ферментов оптимум pH находится в кислой либо щелочной среде. Например, для пепсина оптимум pH — 1,5, для трипсина — 8,6.

Лекция 4

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ. МЕДИЦИНСКАЯ ЭНЗИМОЛОГИЯ

Способы регуляции активности ферментов

Активность ферментов, а значит и скорость химической реакции, можно регулировать, изменяя следующие параметры:

- 1) Абсолютное количество фермента.
- 2) Условия протекания реакции (рН, t, р), количество субстрата, наличие активаторов, ингибиторов.
- 3) Каталитическую эффективность фермента.

1. Регуляция количества ферментов

Абсолютное количество фермента в клетке определяется скоростями его синтеза и распада.

В клетке существует два вида ферментов:

1. Конститутивные ферменты – всегда присутствуют в клетках данного организма. Они являются обязательными компонентами клетки, синтезируются с постоянной скоростью в постоянных количествах.

2. Адаптивные ферменты – их образование зависит от условий, складывающихся в клетке. Среди них выделяют индуцируемые и репрессируемые ферменты.

Индукцируемыми обычно бывают ферменты с катаболической функцией (катаболизм – процессы распада). Их образование может быть вызвано или ускорено субстратом данного фермента.

Репрессируемыми обычно бывают анаболические ферменты (анаболизм – процессы синтеза). Ингибитором (репрессором) синтеза ферментов может быть конечный продукт данной ферментативной реакции.

2. Влияние активаторов и ингибиторов на активность ферментов

Активаторы ферментов

Активаторы ферментов – вещества, которые разными путями повышают способность ферментов ускорять реакцию.

Свойства активаторов:

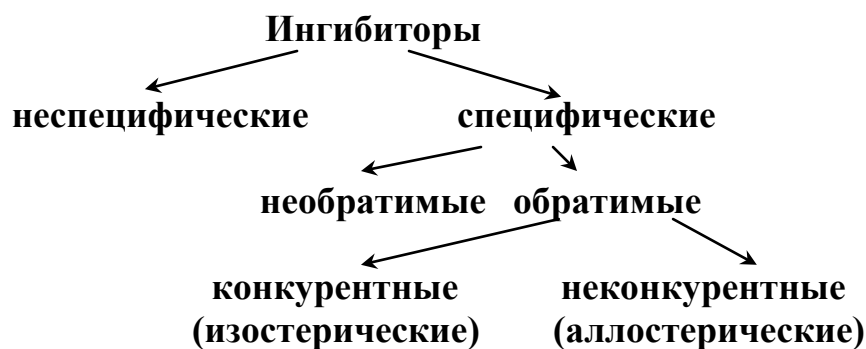
1. Формируют активный центр фермента (Co^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+}).
2. Облегчают образование фермент-субстратного комплекса (Mg^{2+} , Mn^{2+}).
3. Стабилизируют нативную структуру фермента.
4. Защищают функциональные группы активного центра от повреждения, например, восстанавливают SH-группы активного центра (глутатион, цистеин).
5. Воздействуют на субъединицы молекулы фермента (протеинкиназа регулируется цАМФ).

Активаторами обычно бывают катионы (в таблице Менделеева с 19 по 30), реже анионы. Исключение: ионы хлора и анионы других галогенов активируют пепсин, амилазу, аденилатциклазу. Активаторами могут быть белки: апопротеины А1 активирует ЛХАТ, апопротеины СII → ЛПЛ.

Ингибиторы ферментов

Это соединения, которые взаимодействуя с ферментом, препятствуют образованию нормального фермент-субстратного комплекса, уменьшая тем самым скорость реакции или прекращая её.

Классификация ингибиторов ферментов



Неспецифические ингибиторы вызывают **денатурацию** фермента (соли тяжелых металлов, кислоты, щелочи). Их действие **не связано** с механизмом ферментативного катализа.

Специфические ингибиторы – их действие **связано** с механизмом ферментативного катализа.

При необратимом ингибировании образуется **прочный** комплекс фермента и ингибитора, и фермент частично или полностью теряет свою активность. Даже если **удалить** свободный **ингибитор** из среды, та **часть молекул фермента**, которая успела связаться с ингибитором, **остается угнетенной** длительное время.

Примеры необратимых ингибиторов

1. Ингибиторы металлосодержащих ферментов – HCN, KCN, CO, NaN₃ – дыхательные яды, они стойко меняют валентность Fe и Cu, входящих в состав ферментов дыхательной цепи, препятствуя переносу электронов на O₂.

2. Вещества, связывающие SH группы активного центра – моноиодацетат, соединения ртути и мышьяка.

3. Вещества, связывающие OH-группы серина в активном центре

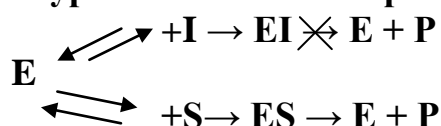
– фосфорорганические соединения – боевые отравляющие вещества.

В случае обратимого действия ингибитор образует с ферментом **непрочный** комплекс, способный распадаться, в результате чего снова возникает активный фермент. Обратимые ингибиторы бывают конкурентные и неконкурентные.

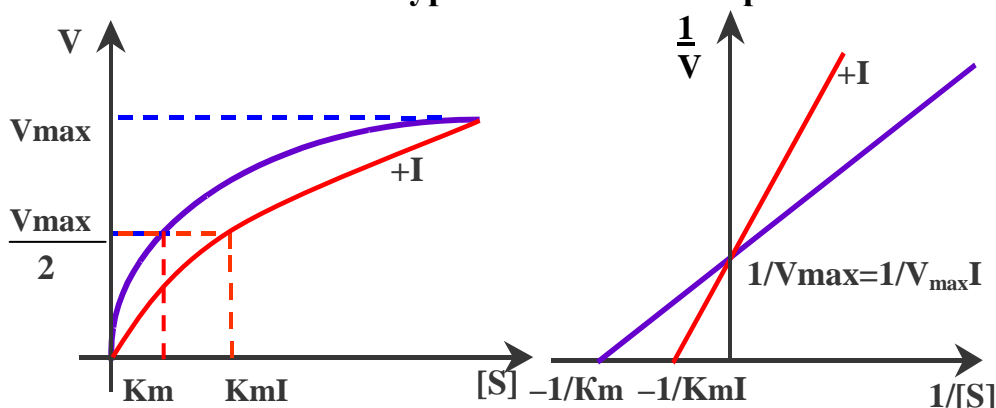
Конкурентный ингибитор – эта молекула **очень похожая на субстрат** и фермент не может различить их, т.е. ингибитор и субстрат **конкурируют за активный центр** фермента.

В результате связывания конкурентного ингибитора с активным центром фермента **падает концентрация фермент-субстратных комплексов** и скорость реакции уменьшается, т.к. комплекс ингибитор-фермент I-E не способен давать продукт. Однако для активного центра фермента все же лучше подходит субстрат. Поэтому при достаточно **большой концентрации субстрата** его молекулы начнут **вытеснять** ингибитор I из активного центра фермента, увеличится число молекул фермент-субстратного комплекса ES и скорость реакции увеличится. Т.е. путем увеличения концентрации **субстрата можно нейтрализовать** действие **конкурентного ингибитора** и достичь максимальной скорости реакции. Однако для ее достижения потребуется гораздо большая концентрация субстрата.

Действие конкурентных ингибиторов:



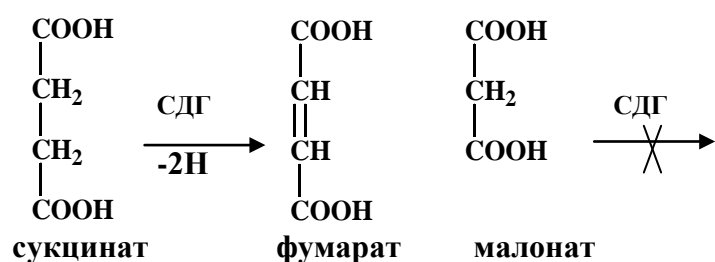
Кинетика ферментативных реакций при действии конкурентных ингибиторов



$$\begin{array}{l}
 V_{\max} = V_{\max I} \\
 K_{mI} > K_m
 \end{array}$$

Вывод: конкурентные ингибиторы увеличивают K_m реакции, но не влияют на V_{\max} .

Пример конкурентного ингибирования:

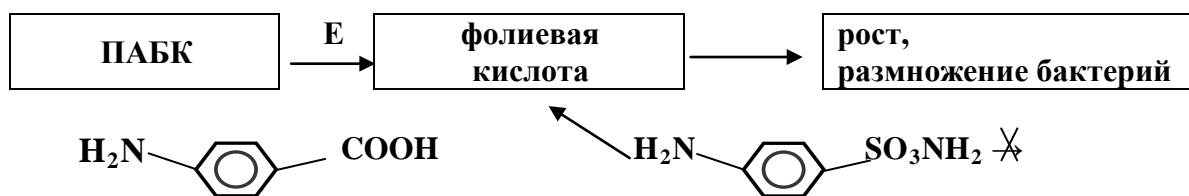


СДГ – сукцинатдегидрогеназа

Сукцинат (янтарная кислота) – истинный субстрат для фермента сукцинатдегидрогеназы, который превращает ее в фумарат.

Малонат похож по строению на сукцинат и может взаимодействовать с активным центром фермента (конкурентный ингибитор), но фумарат не образуется.

В медицине широко применяются **антиметаболиты**. Это структурные аналоги природных субстратов (метаболитов). Антиметаболиты выступают в роли конкурентных ингибиторов ферментов, превращающих природные метаболиты. Пример: сульфаниламидные препараты:



ПАБК – парааминобензойная кислота

SA – сульфаниламиды

Для роста и размножения бактерий необходима фолиевая кислота, которая синтезируется из ПАБК (природного субстрата) под действием фермента.

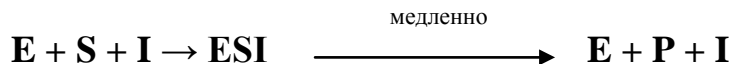
Сульфаниламиды, будучи похожими по строению на ПАБК, вытесняют ее из активного центра ферментов, фолиевая кислота не синтезируется, микробы не размножаются.

Неконкурентные ингибиторы связываются не с активным центром фермента, а с **каким-либо другим участком фермента** (часто с аллостерическим центром). В результате активный центр фермента свободен и к нему может присоединиться субстрат, т.е. образуется комплекс ESI.

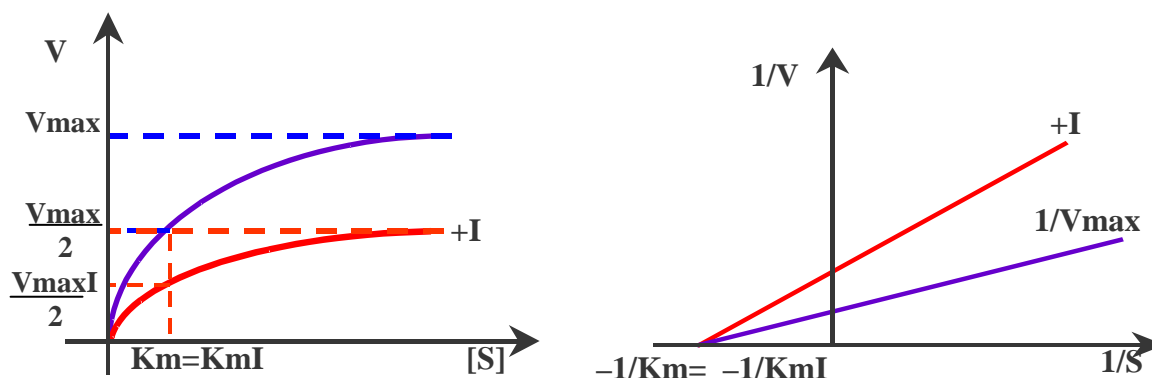
Механизм ингибирования состоит в том, что комплекс ESI медленно образует продукт и увеличение [S] не влияет на V_{max} , V_{max}

реакции будет снижена. Поскольку эти ингибиторы не мешают связыванию субстрата с активным центром – величина K_m не меняется.

Действие неконкурентных ингибиторов:



Кинетика ферментативных реакций при действии неконкурентных ингибиторов



$$V_{\max I} < V_{\max}$$

$$K_{mI} = K_m$$

Вывод: неконкурентные ингибиторы понижают V_{\max} , но не влияют на K_m .

3. Регуляция каталитической эффективности ферментов

Это все изменения активности фермента, происходящие при **постоянном его количестве**.



Рассмотрим наиболее важные пути регуляции:

1. Превращение проферментов в активные ферменты. Ряд ферментов (например, протеолитические) синтезируются в **неактивной** форме – в виде проферментов. Чтобы перейти в активную форму, профермент должен подвергнуться ограниченному протеолизу (т.е. удалению части полипептидной цепи). В ходе протеолиза открывается или формируется активный центр и фермент активируется. Протеолитические ферменты синтезируются в поджелудочной железе в форме проферментов (исключается самопереваривание железы), а активация происходит только в желудочно-кишечном тракте при появлении пищи.

2. Химическая модификация. Это ковалентное присоединение или отщепление от фермента небольшой химической группы, что приводит к изменению активности фермента. Чаще всего к ферменту присоединяется или отщепляется фосфатная группа – фосфорилирование-дефосфорилирование фермента. Такой способ регуляции характерен для ферментов синтеза и распада гликогена.

Фосфорилирование и дефосфорилирование проводится разными ферментами, т.е. процесс **обратим в функциональном смысле** (активен \Leftrightarrow неактивен), но не в химическом.

3. Мультиферментные комплексы. Это объединение нескольких ферментов, катализирующих многоступенчатую последовательность метаболических реакций. **Пример:** все ферменты синтеза жирных кислот объединены в единый мультиферментный комплекс – синтаза. Адекватное взаимное расположение ферментов облегчает перенос промежуточных продуктов от одного фермента к другому, что ускоряет выход конечного продукта. Кроме того, такое объединение обеспечивает более эффективный метаболический контроль.

4. Аллостерическая регуляция. Это регуляция путем взаимодействия эффекторов с аллостерическим центром фермента. Как правило, аллостерическая регуляция характерна для ферментов, имеющих субъединичное строение. Их называют **аллостерическими** или **регуляторными** ферментами. Каждая субъединица такого фермента содержит свой активный и аллостерический центры. Различают гомотропные и гетеротропные регуляторные ферменты.

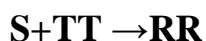
Гомотропные: субстрат служит и эффектором. Гетеротропные: эффекторы не являются субстратом.

В аллостерических ферментах активный центр одной субъединицы фермента оказывает влияние на активный центр другой субъединицы в той же молекуле. В результате такого взаимодействия между субъединицами связывание субстрата становится **кооперативным**. Т.е. кинетические свойства таких ферментов не описываются уравнением Михаэлиса-Ментен и зависимость скорости реакции от концентрации субстрата имеет форму **S-образной кривой, а не гиперболы**. При этом не-

большое увеличение концентрации субстрата будет приводить к значительному возрастанию скорости реакции.

Для объяснения кооперативных эффектов используют 2 модели: **симметричную (Моно, Уаймен, Шанжи)** и **последовательную (Косланд, Немети, Филмер)**. Рассмотрим фермент, состоящий из двух субъединиц, имеющих свои активные центры, которые могут в третичной структуре находиться в двух конформациях – R и T. Причем если фермент находится в R (relax – расслаблять) конформации, субстрат имеет высокое сродство к ферменту, а если в T (tense – напрягать) – низкое сродство. Из таких субъединиц возможны следующие комбинации четвертичной структуры: RR; TT; RT.

По **симметричной модели** каждый мультимерный фермент может существовать в двух разных состояниях с **неодинаковой четвертичной** структурой, но все субъединицы в этих состояниях имеют **одинаковую третичную структуру**. Т.е. согласно этой модели возможны четвертичные структуры RR, TT и не может быть RT. В отсутствие субстрата преобладают формы TT. При связывании субстрата с T-конформерами произойдет **одновременный** переход всех субъединиц в R-состояние, что вызовет значительное увеличение скорости реакции. По этой модели гомотропная регуляция всегда положительная, т.к. присоединение субстрата всегда увеличивает сродство фермента к нему – все TT перейдут в RR.



Последовательная модель, кроме состояний TT, RR допускает существование состояния TR, когда отдельные субъединицы мультимера могут в одно и то же время иметь разные третичные структуры. При этом связывание субстрата одной субъединицей вызывает изменение третичной структуры соседней субъединицы и в результате увеличивается или уменьшается их сродство к субстрату.



Т.е. по этой модели гомотропное взаимодействие может быть положительным и отрицательным.

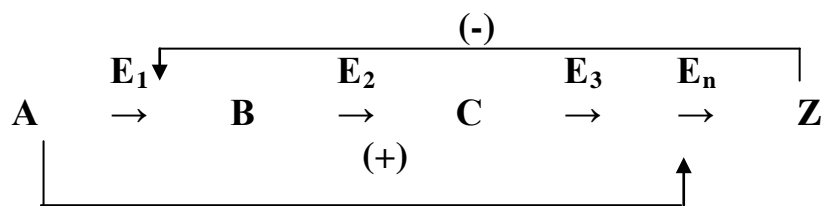
Аллостерическая регуляция может приводить к активации или ингибированию фермента.

На базе симметричной модели: если эффектор сдвигает конформационное равновесие $R \Leftrightarrow T$ в сторону R, то субстрат будет иметь увеличенное сродство к ферменту – положительный кооперативный эффект. Следовательно, эффектор – активатор. Если эффектор сдвинул равновесие в сторону конформации T, имеет место уменьшение сродства к ферменту – отрицательный кооперативный эффект; т.е. эффектор – ингибитор.

5. Регуляция по типу обратной связи. Характерна для последова-

тельных реакций, при этом каждая реакция катализируется своим ферментом. Различают ретроингибирование и форактивацию:

а) *Ретроингибирование* – ингибирование по типу отрицательной обратной связи.



Конечный продукт Z обычно не влияет на активность промежуточных ферментов системы, а ингибирует ее первый фермент E₁. Этим обеспечивается целенаправленность регуляции, т.к. цель системы состоит в образовании именно конечного продукта, а не промежуточных соединений.

б) *Форактивация* – активация предшественником. Накопление субстрата A стимулирует его распад до продукта Z через активацию фермента более поздних стадий превращения.

4. Медицинская энзимология

Включает энзимодиагностику, энзимопатологию, энзимотерапию.

Энзимодиагностика – исследование ферментов в биологических средах организма с диагностической целью. Условно выделяют 4 группы ферментов:

1. Ферменты, широко представленные в различных органах и тканях. Это ферменты основных метаболических процессов, без которых жизнь клетки невозможна (обмен белков, жиров, углеводов). При повреждении мембран клеток эти ферменты появляются в крови. Определение повышенного количества этих ферментов в крови **не позволяет локализовать** патологический процесс.

2. Органоспецифические ферменты преимущественно локализованы в определенных органах. Эти ферменты катализируют обычно реакции, **обеспечивающие специфическую функцию данного органа**. В клетках других органов этих ферментов нет или очень мало. Выход органоспецифических ферментов в кровь сигнализирует о поражении определенного органа, т.е. позволяет диагностировать место поражения. Например, АлАТ – появляется в крови преимущественно при поражениях печени, АсАТ – сердца.

3. Изоферменты.

4. Ферменты, локализованные в **органеллах клеток** (окислительно-восстановительные в митохондриях, кислые гидролазы в лизо-

сомах и др.). Выходя в кровь, сигнализируют о **глубоком поражении клетки**.

Изоферменты – это молекулярные формы фермента, которые катализируют одну и ту же реакцию, но различаются по некоторым свойствам: аминокислотной последовательности, молекулярной массе, аминокислотному составу, субстратной специфичности, электрофоретической подвижности и др.

Изоферменты являются продуктами экспрессии разных генов: гены могут быть в разных хромосомах (например, для амилазы слюны и амилазы панкреатической) или в одной хромосоме (например, для цитоплазматической и митохондриальной малатдегидрогеназы).

Существуют различия в распределении изоферментов в разных тканях, в разных внутриклеточных компартментах, что отражает различия в метаболизме, например, изоферменты могут иметь разное сродство к субстрату (глюкокиназа печени имеет более низкое сродство к глюкозе, чем гексокиназа – изофермент, ускоряющий фосфорилирование глюкозы в других тканях).

Один из основных механизмов образования изоферментов включает объединение разных субъединиц в разной комбинации при образовании активного олигомерного фермента.

Пример. Креатинкиназа (КК) катализирует обратимую реакцию образования и распада креатинфосфата – вещества, которое участвует в запасании энергии.

КК



Фермент креатинкиназа (КК) является димером, состоящим из 2 субъединиц. Субъединицы В (мозговая) и М (мышечная) закодированы в разных генах.

Фермент КК представлен 3 изоферментами, которые различаются по электрофоретической подвижности:

- ВВ (КК-1) – мозговой, максимальное продвижение к аноду.
- МВ (КК-2) – сердечный, средняя подвижность.
- ММ (КК-3) – мышечный, самый медленный.

Изоформы креатинкиназы.

Набор изоформ КК в разных тканях неодинаков:

- КК-1 присутствует в значительных количествах **в мозге**, простате, желудке, легких, плаценте, щитовидной железе.
- КК-2 находится в основном **в сердечной мышце** (25-46% от общей активности фермента), в скелетной мышце (5%).
- КК-3 присутствует в основном в клетках **скелетных** и сердечной мышц.

Примеры органоспецифических ферментов (изоферментов)	
Фермент (изофермент)	Орган, при повреждении которого содержание фермента в крови увеличивается
ЛДГ1,2 ЛДГ3 ЛДГ4,5 Амилаза АлАТ АсАТ Кислая фосфатаза Щелочная фосфатаза	Миокард Легкие Печень, мышцы Поджелудочная железа Печень Миокард Простата Кости

Энзимопатология

Наследственные энзимопатии – заболевания, связанные с наследственными дефектами ферментов. Изменения при этом могут быть двух типов:

1) Связанные с образованием избытка субстрата реакции или его предшественников. Например, накопление и выделение галактозы при дефекте фермента, превращающего галактозу в фруктозу – галактоземия.

2) Связанные с недостаточностью образования продуктов измененной химической реакции. Этот тип сопровождается клиническими проявлениями. В этой фазе обычно уже бывает поздно применять действенные терапевтические меры.

Энзимотерапия

– это использование ферментов и регуляторов их активности в качестве лекарственных средств.

Препарат	Характеристика	Показания к применению	Цель применения
Пепсин	Протеолитический фермент желудка	Недостаточность желудочного пищеварения (гипоацидные гастриты и др.)	Заместительная терапия
Трипсин	Протеолитический фермент поджелудочной железы	а) Гнойные раны б) Воспалительные заболевания верхних дыхательных путей	Расщепление некротизированных тканей и сгустков крови
Трасилол	Ингибитор ряда протеолитических ферментов (трипсина, химотрип-	Панкреатиты	Предупреждение самопереваривания поджелудочной железы трипсином, который при

Препарат	Характеристика	Показания к применению	Цель применения
	сина и др.)		панкреатитах активизируется уже в протоках железы
Фибринолизин	Протеиназа, разрушающая фибрин	Тромбоз сосудов	Рассасывание уже образовавшихся тромбов
Ипразид	Ингибитор моноаминоксидазы (МАО), инактивирующей катехоламин	Депрессивные состояния	Накопление в мозгу катехоламинов, усиление процессов возбуждения
Гиалуронидаза (лидаза)	Гликозидаза, разрушающая гиалуроновую кислоту	Рубцы после ожогов и операций, спайки и др.	Разрушение избыточной соединительной ткани
Пенициллин, циклосерин	Ингибиторы ферментов синтеза компонентов клеточной оболочки у бактерий	Различные бактериальные инфекции	Бактериостатическое и бактерицидное действие

Использование ферментов в качестве аналитических реагентов

Глюкозооксидаза	Определение концентрации глюкозы в крови
Холестерол-Оксидаза	Определение концентрации холестерина в крови
Липаза	Определение концентрации триацил-глицеринов в крови
Уреаза	Определение концентрации мочевины в крови

Лекция 5

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ. ТРАНСМЕМБРАННЫЙ ТРАНСПОРТ

Общая характеристика и функции мембран

Термин «мембрана» используется вот уже более 100 лет для обозначения клеточной границы, служащей, с одной стороны, барьером между содержимым клетки и внешней средой, а с другой – полупроницаемой перегородкой, через которую могут проходить вода и некоторые из растворенных в ней веществ. Тем самым, мембрана играет активную роль в поддержании жизнедеятельности клетки, обеспечивая внутри нее необходимый «микроклимат».

Мембраны – важная составная часть и клеточных компонентов – ядра, митохондрий, лизосом, хлоропластов и т. п. Таким образом, клетка весьма насыщена разнообразными мембранными структурами, образующими в сущности разветвленную, четко организованную сеть. Отсюда понятна ключевая роль мембран в жизни клетки, которая по мере развития биологических наук становится все более очевидной.

Биологические мембраны – это сложные, высокоорганизованные надмолекулярные динамичные структуры, построенные главным образом из липидов и белков. Весовое соотношение между ними колеблется от 1:4 во внутренней мембране митохондрий до 4:1 в миелине нервных волокон. Кроме того, в состав мембран в заметных количествах входят углеводы и вода. Количество связанной (неспособной растворять вносимые вещества) воды может достигать 30 % общего веса мембраны.

Химический состав некоторых мембран (G.Zubay, Third Edition.)

Мембрана	% общего сухого веса мембраны		
	Белки	Липиды	Углеводы
Миелин	18	79	3
Плазматическая (эритроциты)	49	43	8

Мембраны не являются пассивными полупроницаемыми оболочками. Они принимают прямое и очень важное участие в жизнедеятельности клетки, определяя особенности ее функционирования.

Функции мембран:

1. Наиболее очевидной является отделение клетки как целого от окружающей среды (плазматическая мембрана). С другой стороны, внутриклеточные мембраны ограничивают органеллы и формируют обособленные отсеки – **компартменты**. Наличие

- последних обеспечивает функциональную специализацию клетки, тонкую регуляцию процессов, протекающих в ней.
2. Мембраны осуществляют высокоизбирательный транспорт веществ. Перемещение многих соединений происходит против градиента концентрации, то есть совершается осмотическая работа. Наличие транспортных систем регулирует молекулярный и ионный состав внутриклеточной среды.
 3. В мембранах локализованы основные биоэнергетические процессы – окислительное фосфорилирование (внутренняя мембрана митохондрий) и фотосинтез (мембрана тилакоидов хлоропластов растений) – обеспечивающие клетки энергией.
 4. Мембраны играют центральную роль в системе межклеточных взаимоотношений, участвуют в восприятии и преобразовании поступающих внешних сигналов. Результатом чего могут быть такие ответы как деление клетки, ее направленное движение (хемотаксис бактерий, лейкоцитов), восприятие света, изменение направления протекания биохимических процессов в клетке в ответ на действие гормона и т. д. В свою очередь некоторые мембраны сами способны генерировать сигнал – химический или электрический.

Липиды мембран

Основу всех мембран клетки составляет липидный матрикс в виде бимолекулярного слоя. В его образовании участвуют молекулы липидов трех основных классов: **фосфолипиды**, **гликолипиды** и **стероиды**. К числу минорных липидных компонентов мембран, которые, тем не менее, выполняют важные биологические функции, относятся токоферолы (витамин Е), ретиналь (витамин А), убихинон (кофермент Q) и ряд других жирорастворимых соединений.

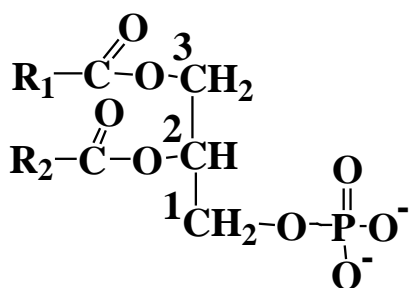
Мембраны различного происхождения сильно отличаются друг от друга по содержанию в них липидов разного типа.

Липидный состав некоторых мембран (Д.Мецлер, 1980)

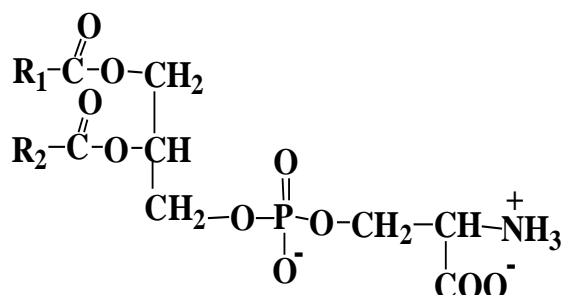
Соединение	% общего сухого веса мембраны		
	Миелин	Плазматическая мембрана (эритроцит)	мембраны митохондрий
Липиды (общее количество)	78	40	24
Фосфатидилхолин	7,5	6,9	8,8
Фосфатидилэтаноламин	11,7	6,5	8,4
Фосфатидилсерин	7,1	3,1	–

Фосфатидилинозит	0,6	0,3	0,75
Сфингомиелин	6,4	6,5	–
Кардиолипин	–	–	4,3
Фосфолипиды (общее количество)	33	24	22,5
Фосфолипиды (% общего количества липидов)	42	60	94
Гликолипиды	22	Следы	Следы
Холестерин	17	9,2	0,24

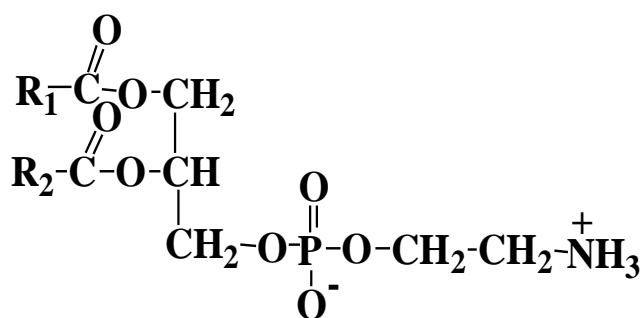
Фосфолипиды практически во всех мембранах составляют основную часть липидной фракции (от 40 до 90% общего количества липидов). Мембранные фосфолипиды делятся на *глицерофосфолипиды* (производные фосфатидной кислоты) и *сфингофосфолипиды* (производные церамида). Из первой группы в мембранах доминируют *фосфатидилхолин* и *фосфатидилэтаноламин*, в меньших количествах содержатся *фосфатидилсерин* и *фосфатидилинозит*.



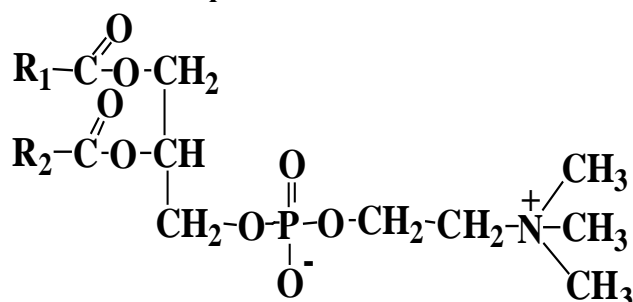
Фосфатидная кислота



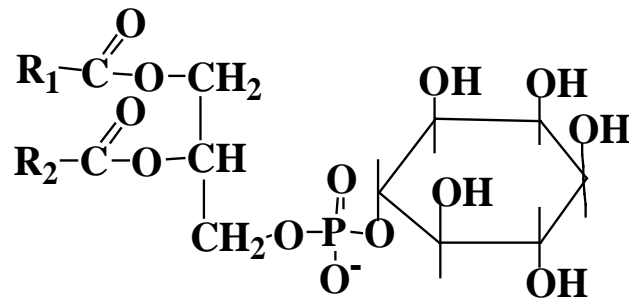
Фосфатидилсерин



Фосфатидилэтаноламин

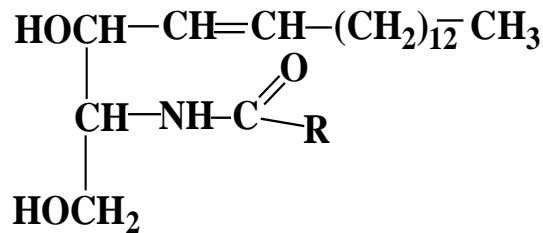


Фосфатидилхолин (лецитин)

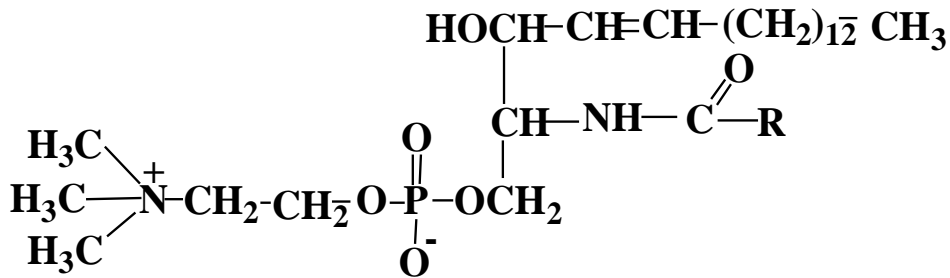


Фосфатидилинозит

Сфингофосфолипиды в основном представлены *сфингомиелином*.



Церамид



Сфингомиелин

Фосфолипиды играют основную (структурную) роль в мембранном бислое – их молекулы построены по единому плану и стерически хорошо «соответствуют» друг другу. В то же время, структурное единообразие не исключает наличия огромного числа различных фосфолипидов, что обеспечивается разнообразием жирных кислот, входящих в их состав. Преобладающими являются: – С₁₆ (пальмитиновая), С₁₈ (стеариновая), С_{18:2} (линолевая), С_{18:3} (линоленовая), С_{20:4} (арахидоновая).

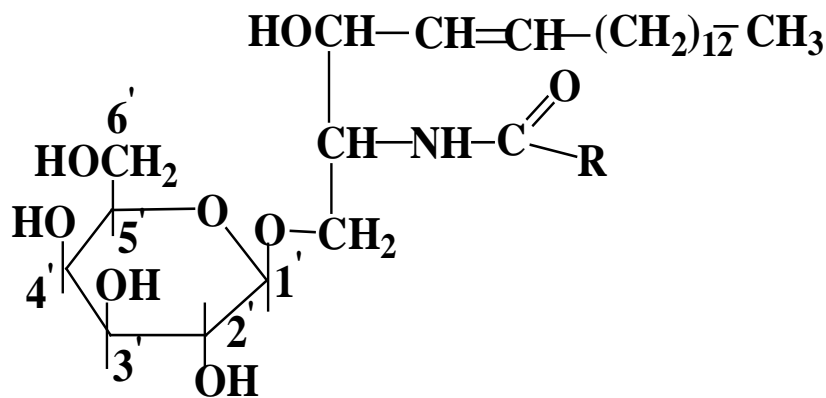
В молекулах глицерофосфолипидов цепи жирных кислот, связанные с С₁ и С₂ атомами глицерина, неравнозначны. Обычно из двух цепей лишь принадлежащая С₂-углеродному атому имеет двойные связи. Степень насыщенности жирных кислот влияет на плотность упаковки молекул в мембранах: фосфолипиды, имеющие в своем составе полиненасыщенную жирную кислоту образуют более рыхлый бислой благодаря менее упорядоченной пространственной конфигурации.

Гликолипиды в основном принадлежат к группе гликофосфолипидов, которые также являются производными церамида, однако, в от-

личие от сфингофосфолипидов, не содержат фосфата, который заменен на один или несколько остатков углевода.

Из гликолипидов наиболее распространены:

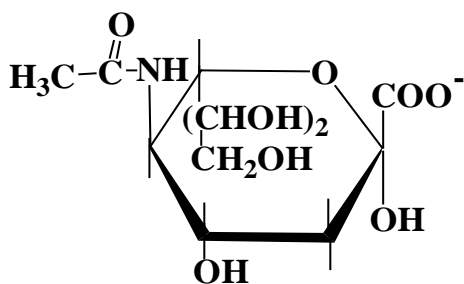
1. *Цереброзиды* – углеводная часть представлена гексозой (галактоза, реже глюкоза). В наибольших количествах цереброзиды присутствуют в миелиновых оболочках нервов.



Галактоцереброзид

2. *Сульфатиды* (сульфатные эфиры цереброзидов) – отличаются от цереброзидов наличием остатка серной кислоты, присоединенного сложноэфирной связью к C₃'-атому углевода. Сульфатиды встречаются в заметных количествах в белом веществе мозга.

3. *Ганглиозиды* – в структурном отношении сходны с цереброзидами, отличаются тем, что вместо моносахарида содержат сложный, часто разветвленный, олигосахарид, имеющий в своем составе, помимо других углеводов, по крайней мере один остаток N-ацетилнейраминовой кислоты. Ганглиозидов много в сером веществе мозга на внешней поверхности плазматических мембран нервных и глиальных клеток.

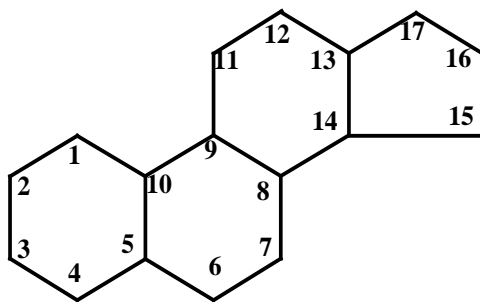


N-ацетил-нейраминовая кислота

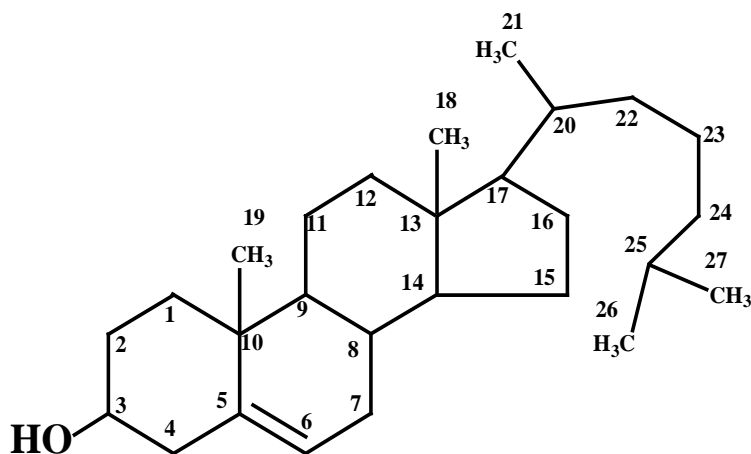
За счет углеводного компонента, гликосфинголипиды (особенно ганглиозиды) вовлечены в процесс приема сигналов, поступающих в клетки из окружающей среды. Они активно участвуют в контроле и регуляции межклеточных контактов; рецепции пептидных гормонов, бактериальных токсинов. Структура ганглиозидов и их состав генетически

контролируются ферментами гликозилтрансферазами, поэтому ганглиозиды обладают высокой тканевой специфичностью и могут выступать в роли антигенов клеточной поверхности.

Стероиды – группа соединений, содержащих углеродный скелет циклопентанпергидрофенантрена. Главным представителем стероидов, который присутствует в большинстве мембран **животных** клеток, является *холестерин*. Исключение составляет внутренняя мембрана митохондрий, где его уровень очень низок.



Циклопентанпергидрофенантрен



Холестерин

Наличие в молекуле холестерина жесткой структуры из четырех конденсированных колец позволяет играть ему важную роль модификатора липидного бислоя, регулируя упаковку и контролируя подвижность его компонентов. Под влиянием холестерина возрастает плотность упаковки молекул липидов (происходит увеличение упорядоченности в расположении углеводородных цепей остатков жирных кислот) в толще бислоя и уменьшение их подвижности. Тем самым холестерин оказывает влияние на функциональную активность мембраны – ее проницаемость для веществ различной природы, работу встроенных в мембрану ферментов и т. д. Возрастание уровня холестерина в мембранах – характерная черта наследственных гиперхолестеринемий, ишемической болезни сердца, атеросклероза.

Структура главных липидов биологических мембран имеет одну общую черту, которая определяет их способность к образованию двойного липидного слоя в водной среде. Все эти соединения амфифильны по своей природе, то есть содержат как гидрофильные, так и гидрофобные участки.

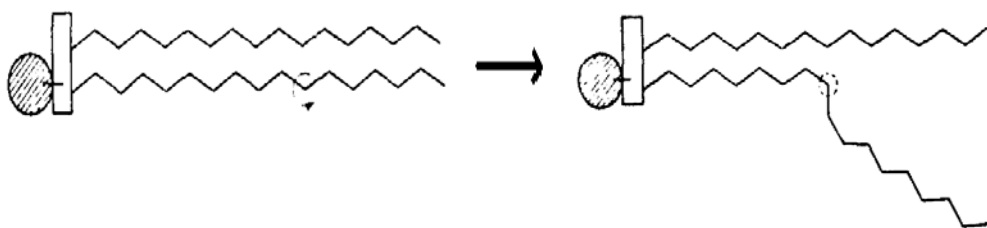
Название липида	Гидрофобные участки	Гидрофильные участки
Фосфоглицеролипиды	цепи жирных кислот	Фосфорилированный спирт
Сфингомиелин	цепь жирной кислоты и углеводородная цепь сфингозина	Фосфорилированный холин
Гликолипиды	цепь жирной кислоты и углеводородная цепь сфингозина	Углеводы
Холестерин	углеродный скелет	ОН-группа при C ₃ -атоме углерода

В бислое молекулы липидов уложены в виде двух параллельных монослоев, обращенных друг к другу своими гидрофобными сторонами. Полярные группы липидных молекул образуют соответственно две гидрофильные поверхности, отделяющие внутреннюю неполярную область бислоя от водной среды. Толщина липидного бислоя определяется, прежде всего, длиной углеводородных цепей радикалов жирных кислот, а также плотностью упаковки липидных молекул и варьирует в пределах 5-10 нм.

Условия, в которых находятся молекулы липидов, по разные стороны бислоя могут значительно различаться по таким параметрам, как ионный состав среды, рН, наличие или отсутствие мембрано-активных веществ и др. В результате состав липидов на наружной стороне бислоя может быть иной, чем на внутренней. Так, в цитоплазматической мембране эритроцитов фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин и фосфатидилинозит локализованы преимущественно на внутренней стороне мембраны, а фосфатидилхолин и сфингомиелин – на внешней. Холестерин также неравномерно распределен между внутренним и внешним листками липидного бислоя. Его содержание во внешнем монослое мембраны почти в два раза больше, чем во внутреннем.

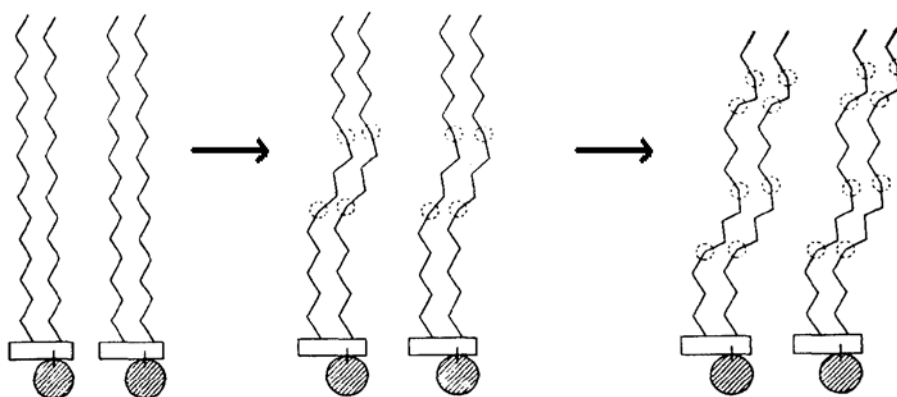
Бислой может находиться в двух основных состояниях – кристаллическом (гелевом, «твердом») и жидкокристаллическом («текучем», «расплавленном»). Состояние геля образуется, когда жирнокислотные «хвосты» липидов находятся в полностью упорядоченной транс-конформации. Переход из одного состояния в другое происходит при определенной температуре, которая зависит как от строения углеводородных цепей жирных кислот в составе липидных молекул, так и от природы их полярных головок. Во многих случаях фазовые изменения

могут происходить и при постоянной температуре за счет изменений значения рН, ионного состава среды, присутствия мембранотропных веществ и т. д. **В условиях нативной клетки липиды в мембранах ведут себя подобно жидким кристаллам.** Именно в таком «расплавленном» состоянии реализуется сочетание упорядоченности с лабильностью. Жидкокристаллическое состояние липидов в бислое обеспечивается молекулярной подвижностью его компонентов, и прежде всего подвижностью углеводородных цепей липидных молекул. Наличие большого числа С–С-связей в углеводородной цепи позволяет ей принимать разнообразные конформации за счет процесса транс-гош-изомеризации. При переходе двух соседних транс-конформаций в гош- происходит излом цепи и в гидрофобной части бислоя образуется небольшая свободная полость – **кинк** (от англ. kink – петля).



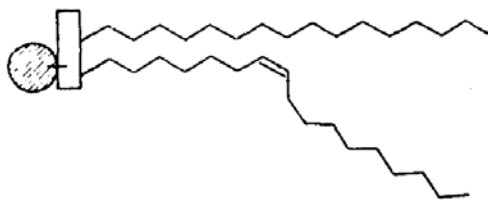
Однако, вследствие близкого расположения соседних цепей, изомеризация происходит в виде сопряженных поворотов в смежных сегментах С–С-связей. В результате на углеводородной цепи жирной кислоты появляется ряд кинков.

Возникающие кинки постоянно мигрируют вдоль цепи, что приводит к разрыхлению бислоя, появлению в нем подвижных дефектов упаковки липидных молекул, через которые возможно проникновение в мембрану гидрофильных веществ.



Аналогичное влияние на упаковку оказывают двойные цис-связи ненасыщенных жирных кислот в составе фосфолипидов. Их присут-

ствии приводит к образованию постоянного кинка в углеводородной цепи.



Подвижностью могут обладать не только отдельные участки углеводородной цепи липидной молекулы, но и вся молекула в целом. Так, она может вращаться вокруг продольной оси, совершать различные перемещения. Миграция молекул вдоль поверхности бислоя называется **латеральной диффузией**. В жидкокристаллическом состоянии скорость латеральной диффузии молекул липидов достаточно высока. В то же время, переход липидов с одной стороны бислоя на другую – **поперечная диффузия** (флип-флоп) обычно происходит крайне медленно – фосфолипидной молекуле для пересечения бислоя толщиной в 4-5 нм может понадобиться несколько часов, тогда как в ходе латеральной диффузии она преодолевает это расстояние примерно за 2,5 мкс. Однако в ряде случаев скорость флип-флопа может значительно возрастать под действием некоторых факторов, например таких, как присутствие в бислое молекул, облегчающих перенос через его гидрофобную область полярной головки липидной молекулы.

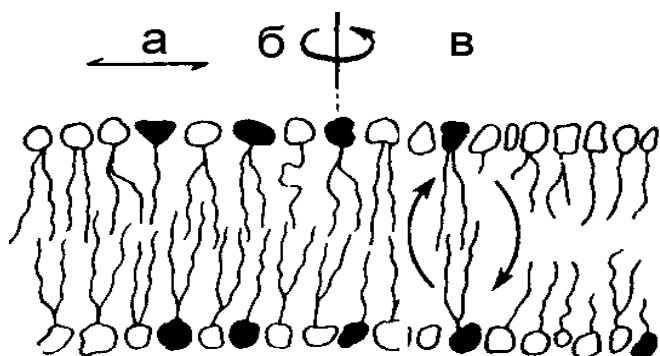


Рис. Виды подвижности липидов мембраны:
 а – латеральная диффузия;
 б – вращение молекулы вокруг оси;
 в – поперечная диффузия или флип-флоп.

В зависимости от состава липидов, условий окружающей среды и других факторов, распределение липидных молекул в плоскости бислоя неоднородно. Липиды способны образовывать упорядоченные области – **кластеры** (домены), в которых плотность упаковки нескольких десятков-сотен липидных молекул может существенно отличаться от соседних с ними участков. Время жизни кластеров мало и, вследствие неодновременности протекания процессов их распада и образования по всей мембране, более упорядоченные области сосуществуют с уже «расплавленными». В этих условиях для мембран характерно наличие разного рода «дефектов» бислоя, которые могут индуцировать встраивание в

мембрану различных соединений, способствовать увеличению ее проницаемости для гидрофильных молекул и ионов, оказывать влияние на взаимодействие белковых молекул друг с другом и т. д.

Таким образом, наличие бислоя липидов, его состояние имеет большое значение для функционирования мембраны.

Функции липидов:

1. Формируют барьер проницаемости для полярных молекул.
2. Обеспечивают жидкокристаллическое состояние (текучесть) мембраны, которое зависит от степени насыщенности радикалов жирных кислот в составе липидов, содержания холестерина, температуры и других факторов. Стабилизация мембран уменьшает функциональную активность клетки.
3. Являются «растворителем» для интегральных белков мембраны и играют важную роль в поддержании их нативной конформации, а, следовательно, и функциональной активности, через изменение состава липидного окружения и его микровязкости (текучести).

Белки мембран

Белки – обязательный компонент мембранных структур. Именно с наличием белковых молекул связано большинство функций, выполняемых мембранами. По степени влияния на структуру бислоя и силе взаимодействия с ним белки делятся на *интегральные* и *периферические*.

Интегральные белки – это обычно глобулярные амфифильные структуры, погруженные внутрь липидного бислоя. Среди них выделяют *прошивающие* белки, которые пронизывают бислой насквозь. Интегральные белки достаточно прочно связаны с липидами за счет гидрофобного взаимодействия, поэтому для их выделения необходимо сначала разрушить двойной слой липидов с помощью детергентов (поверхностно-активных веществ) – соединений, солюбилизующих нерастворимые в воде вещества.

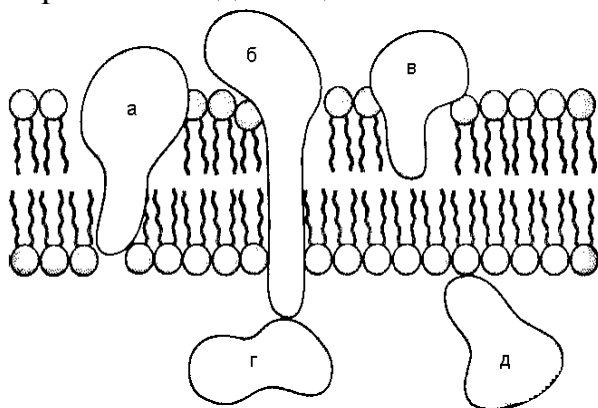
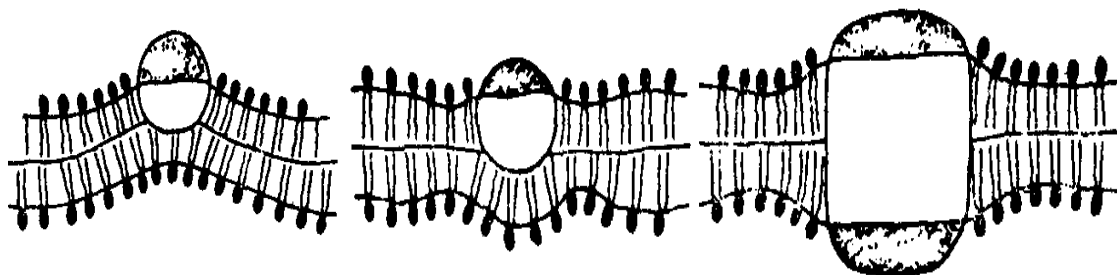


Рис. Варианты расположения белков в мембране:

а, б, в – интегральные белки
(а, б – прошивающие);
г, д – периферические белки

Глубина внедрения интегральных белков в бислой липидов зависит от соотношения гидрофобных и гидрофильных областей в молекуле белка. Гидрофильные участки располагаются на поверхности мембраны (на уровне полярных головок молекул липидов), а гидрофобные – в толще бислоя. В результате взаимодействия белка с липидами может происходить изменение градиента кривизны и деформация бислоя.



Внедрение белка в липидный матрикс упорядочивает последний, делая его структуру более жесткой за счет «прилипания» и ориентации молекул липидов, примыкающих к поверхности белка, где их подвижность затрудняется. То есть, не только липиды влияют на конформацию мембранного белка, но и сам белок модифицирует липидный бислой.

Белки в составе мембраны, также как и липиды, обладают способностью к миграции. Подвижность белка определяется не только его свойствами, но и состоянием липидного окружения. Чем больше вязкость липидов (ниже текучесть), тем меньше у молекулы белка возможностей для движения.

Периферические белки отличаются от интегральных значительно меньшей глубиной проникновения в бислой. Они, как правило, связаны с мембраной за счет полярных и ионных взаимодействий и не контактируют с гидрофобной частью бислоя липидов. Периферические белки относительно легко экстрагируются из мембраны в мягких условиях, например при промывании буферными растворами с различным значением pH.

На внешней поверхности плазматической мембраны белки часто связаны с углеводами, то есть являются гликопротеинами.

Функции мембранных белков:

1. Регулируют структурное состояние мембраны.
2. Осуществляют трансмембранный перенос веществ.
3. Обеспечивают соединение мембраны с компонентами цитоскелета (белки анкирин, спектрин в эритроцитах).
4. Являются ферментами. Некоторые ферменты локализованы в определенных мембранах и могут служить маркерами этих мембран.

Ферменты – маркеры мембран

Мембрана	Фермент
Плазматическая	аденилатциклаза, γ-глутамилтрансфераза
Эндоплазматический ретикулум	Глюкозо-6-фосфатаза
Аппарат Гольджи	Галактозилтрансфераза
Внутренняя мембрана митохондрий	АТФ-синтаза

5. Участвуют в межклеточном взаимодействии.
6. Обеспечивают рецепцию внешних сигналов.
7. Выступают в роли антигенов (белок гликофорин в эритроцитах является носителем антигенов групп крови).

Углеводы мембран

Углеводы в составе мембран обнаруживаются **только** в соединении с белками (гликопротеины) или липидами (гликолипиды). В биологических мембранах может быть гликозилировано до 10 % белков и до 25 % липидов.

Углеводные компоненты преимущественно находятся на внешней стороне плазматической мембраны, встречаются также внутри полости эндоплазматического ретикула и аппарата Гольджи.

По строению углеводные цепи колеблются от простых моносахаридов до сложных, разветвленных олигосахаридов. В их составе наиболее часто встречаются следующие соединения: галактоза, глюкоза, аминоксахара, нейраминовая кислота и ее производные.

Функции углеводов в составе гликопротеинов и гликолипидов мембран:

1. Участвуют в процессах межклеточного взаимодействия.
2. Определяют антигенную специфичность.
3. Обуславливают различия групп крови.
4. Являются рецепторами для связывания различных соединений (гормонов, токсинов и т. д.).
5. Стабилизируют положение белковых и липидных молекул в мембране.

Модели строения мембран

Первые представления о молекулярной организации биологических мембран были высказаны еще в двадцатые годы прошлого столетия. В 1925 году голландские исследователи Э.Гортер и Ф. Грендель высказали гипотезу, что клеточная мембрана представляет собой двойной липидный слой, в котором гидрофильные группы липидных моле-

кул локализованы на поверхности бислоя, а углеводородные цепи жирных кислот образуют его гидрофобную внутреннюю область.

Мысль о том, что в состав мембран входят белки впервые высказали в 1935 году Д.Даниелли и Х.Давсон. В соответствии с их гипотезой об общем принципе структурной организации клеточной мембраны, последняя представляется как трехслойная структура, где двойной слой липидов заключен между двумя слоями белка.

В течение следующих десятилетий представления о структурно-молекулярной организации мембран сильно менялись. Хотя не возникало никаких сомнений в том, что основными компонентами являются липиды и белки, вопрос об их взаимном расположении стал предметом многочисленных дискуссий.

Современный взгляд на молекулярную организацию биологических мембран начал формироваться в 70-х годах XX века. К этому моменту накопилось достаточно много новых экспериментальных фактов, на основании которых американские ученые *С.Синджер* и *Г.Николсон* предложили в 1972 году **жидко-мозаичную модель** строения мембраны.

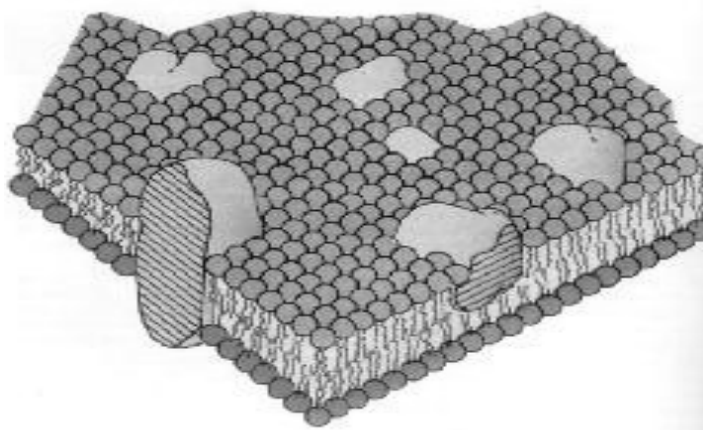


Рис. Жидко-мозаичная модель Синджера-Николсона

В соответствии с этой моделью, структурной основой биологических мембран является липидный бислой, в котором молекулы липидов находятся в жидкокристаллическом состоянии. Неполарные углеводородные цепи жирнокислотных остатков направлены внутрь бислоя, а полярные головки молекул липидов находятся на его поверхности, контактируя с водой. В липидный бислой, имеющий вязкость растительного масла, погружены молекулы белков. В гидрофобной толще бислоя находится та часть белковой молекулы, которая содержит преимущественно неполярные аминокислоты, а участки, где преобладают полярные аминокислоты располагаются на поверхности липидного бислоя. В противоположность прежним моделям, которые рассматривали мембраны как системы, состоящие из жестко фиксированных элементов, жидко-мозаичная модель представляет мембрану как липидное «море», в котором «плавают айсберги» белков.

Таким образом, одним из основных постулатов этой модели является предположение о свободном движении молекул липидов и белков в фазе липидного бислоя. Однако позднее оказалось, что не все белки и липиды способны к свободному перемещению, в некоторых случаях их подвижность сильно ограничена.

Факторы, ограничивающие подвижность липидов и белков в мембране:

1. Образование липидных доменов с более упорядоченной, плотной упаковкой молекул липидов.
2. Способность мембранных белков к агрегации, образованию мультиферментных комплексов.
3. Гликопротеины и гликолипиды образуют на наружной поверхности мембраны ажурную сетку – гликокаликс.
4. Белки со стороны внутренней поверхности мембраны связаны с белковыми нитями цитоскелета.
5. Прошивающие белки образуют сквозную решетку в мембране.

Это привело к модификации жидко-мозаичной модели. Итак, биологическая мембрана – это липидный бислой, начиненный молекулами белка и заключенный в ажурный каркас – решетку.

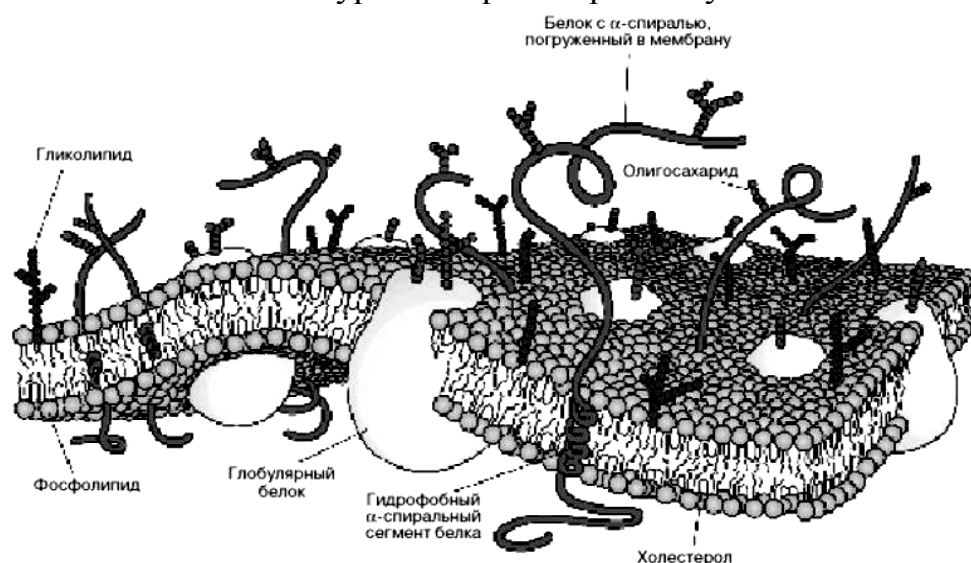


Рис. Схематическое изображение плазматической мембраны клетки

Решеточно-мозаичная модель отражает одно из главных свойств мембраны – гетерогенность ее механических свойств. Молекулы белка, которые связаны с каркасом, малоподвижны, те же белки, которые с каркасом не связаны, могут относительно свободно перемещаться в плоскости мембраны.

Следует помнить, что современные модели строения мембраны – это лишь упрощенное и схематичное отражение столь сложной и разно-сторонней системы, какой является биологическая мембрана.

Свойства мембран

Общий принцип построения биологических мембран вовсе не означает их однородность. Мембранные системы не только у клеток разного типа, но и в пределах одной и той же клетки отличаются друг от друга как по содержанию и составу основных компонентов, так и по выполняемым функциям. Однако, для всех мембран характерны следующие общие свойства:

1. Мембраны – это ультратонкие пленочные структуры, образующие сплошную перегородку. Протяженность мембран значительно превосходит их толщину.
2. Мембраны состоят в основном из липидов и белков. Углеводы, входящие в состав мембран, связаны с белками или липидами.
3. Мембраны – это надмолекулярные структуры. Входящие в их состав молекулы липидов и белков удерживаются вместе множеством взаимодействий, кооперативных по своему характеру.
4. Мембраны имеют амфифильную природу, так как входящие в их состав липиды и белки содержат как гидрофильные, так и гидрофобные участки. Обе поверхности мембраны гидрофильны, в то время как ее внутренняя область – гидрофобна.
5. Липиды в мембранах находятся в жидкокристаллическом состоянии.
6. Мембраны характеризуются не жесткой, статичной структурой, а динамичной, подвижной. Подвижность компонентов мембраны определяется двумя видами движения: внутримолекулярным (например, вращение вокруг каждой С–С-связи в цепи остатка жирной кислоты) и межмолекулярным (латеральная диффузия и «флип-флоп»).
7. Мембраны асимметричны функционально и структурно. Функциональная асимметрия проявляется в разделении мембранами внутриклеточного пространства на компартменты. Структурная – в расположении ее основных компонентов:

- углеводы – преимущественно на внешней поверхности мембраны;

- липиды – фосфатидилхолин и сфингомиелин преобладают в наружном молекулярном слое, а фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин преимущественно во внутреннем монослое. Содержание холестерина больше в наружном слое мембраны, чем во внутреннем;

- белки – пространственная ориентация белковой молекулы в липидном бислое, как правило, является однозначной и различные белки занимают строго определенное положение в мембранах. Например, периферические белки, связанные с компонентами

цитоскелета локализованы на внутренней стороне плазматической мембраны; переносчики дыхательной цепи расположены зигзагообразно во внутренней мембране митохондрий (цитохром a_3 – со стороны матрикса, цитохром c – со стороны межмембранного пространства).

Асимметрия мембраны создается под влиянием различных факторов, например за счет действия ферментов липидного обмена и липидпереносящих белков, участвующих в метаболизме мембранных липидов; различий ионного состава среды по обе стороны бислоя в условиях нативной клетки; особенностей строения молекул фосфолипидов; асимметричной локализации белков в липидах мембраны и т. д. Асимметрия бислоя является важным фактором, обеспечивающим создание градиента кривизны поверхности мембраны, образование складок, везикул.

Биогенез мембран

Динамичность мембранных структур проявляется не только в способности к движению их отдельных компонентов (латеральная и поперечная диффузия молекул липидов и белков), но и в поддержании динамического равновесия в процессе онтогенеза. Формирование мембраны идет непрерывно, путем введения в ее новых составных частей, обновления компонентов, прежде всего липидов и белков. Биосинтез мембран, как правило, начинается в эндоплазматическом ретикулуме, где образуется большая часть фосфолипидов, холестерина, белков. Затем образовавшиеся мембранные компоненты перемещаются к месту назначения, например в плазматическую мембрану. В этом случае они последовательно проходят через аппарат Гольджи и цитоплазму, модифицируясь в соответствии со своим функциональным назначением (гликозилирование, процессинг и т. п.).

В течение всего времени существования живой клетки все молекулы, входящие в состав мембран многократно обновляются. Время жизни и скорость обновления различных компонентов мембран неодинакова и зависит от интенсивности функционирования клетки. В среднем, из липидов медленнее всего обновляется сфингомиелин – полупериод жизни $t_{0,5}$ (время, в течении которого заменяется половина исходного содержания молекул) для него составляет около 38 часов. Несколько быстрее обновляется фосфатидилсерин – для него $t_{0,5}$ равно примерно 23 часа. Для фосфатидилэтаноламина и фосфатидилхолина $t_{0,5}$ составляет 15 часов. К наиболее быстро обновляемым липидам относится фосфатидилинозит – его обмен может проходить в течение нескольких минут. Это объясняется тем, что фосфатидилинозит принимает участие в трансмембранной передаче сигнала.

Скорость обновления белков мембраны также различна. Например, для некоторых мембранных белков клеток печени $t_{0,5}$ составляет: белки ядерной мембраны, микросом и плазматической мембраны – 2-3 дня; белки внешней митохондриальной мембраны – 5-6 дней; белки внутренней мембраны митохондрий обновляются за 8-10 дней (так как часть белков синтезируется в митохондриях, а часть транспортируется из цитозоля).

Несмотря на постоянное обновление всех мембранных компонентов, структурная организация биомембран в течение всей жизни клетки сохраняется неизменной.

Транспорт через мембраны

Избирательный транспорт различных веществ и ионов – одна из главных функций биологических мембран. Он обеспечивает активный обмен клетки и ее органелл с окружающей средой; служит основой всех биоэнергетических механизмов; определяет эффективность процессов рецепции, передачи нервного возбуждения и т. д. Для подавляющего большинства веществ и ионов мембраны представляют барьер и в таком случае их перенос через липидную фазу требует значительных энергетических затрат. В то же время вода и некоторые низкомолекулярные соединения легко проникают через мембрану.

Транспортные процессы в мембране принято характеризовать в первую очередь по признаку энергозависимости. Поэтому выделяют **пассивный транспорт** – то есть перенос вещества по градиенту концентрации, не связанный с затратой энергии, и **активный транспорт** – против градиента концентрации (для нейтральных частиц) или электрохимического градиента (для заряженных частиц), требующий затрат энергии. Отдельно рассматривают процесс **цитоза** или **везикулярный транспорт** – механизм переноса, связанный с изменением структурной целостности мембраны.

Самый простой механизм переноса – **обыкновенная** или **простая диффузия** – движение через мембрану веществ по градиенту концентрации без затрат энергии и не требующее участия переносчиков. Особенно легко так проходят небольшие гидрофобные соединения, которые относительно беспрепятственно внедряются в липидный бислой. Скорость простой диффузии через мембрану для нейтральных частиц определяется двумя основными факторами. Во-первых, разницей концентраций переносимого вещества по обе стороны мембраны и, во-вторых, его способностью растворяться в липидах.



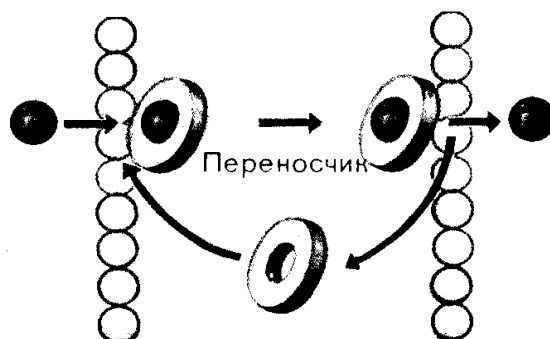
Для водорастворимых соединений бислой липидов является барьером и, ранее считалось, что такие вещества могут проходить только через специальные поры в мембране, которые окаймлены белками. Однако в последнее время, помимо наличия гидрофильных пор, проникновение через мембрану мелких полярных молекул объясняют с позиций динамичной структуры биологических мембран. В бислое, вследствие высокой способности молекул липидов к движению, постоянно присутствуют подвижные «дефекты» структуры (например, кинки), сквозь которые могут диффундировать небольшие полярные молекулы, и в первую очередь молекулы воды.

Таким образом, используя дефекты в жидкокристаллической структуре липидного бислоя и наличие гидрофильных белковых пор, через мембрану проникают гидратированные ионы и молекулы нерастворимых в липидах веществ. Для них мембрана выступает как молекулярное сито: чем больше размер частицы, тем меньше проницаемость мембраны для нее. Некоторая избирательность переноса обеспечивается наличием в мембране пор определенного размера, соответствующего диаметру проникающей частицы.

При **облегченной диффузии** перенос веществ также осуществляется по градиенту концентрации и не требует затрат энергии, но нужны переносчики. Облегченная диффузия характерна для водорастворимых веществ.

По принципу действия мембранные переносчики могут быть разделены на два типа. *Переносчик первого типа* действует подобно челноку, то есть, соединившись с транспортируемым веществом, он диф-

фундирует к противоположной стороне мембраны, где освобождается от связанной с ним молекулы или иона и возвращается назад либо пустым, либо захватив с противоположной стороны мембраны другое соединение.



Классический пример подвижного мембранного переносчика – валиномицин – антибиотик, продуцируемый различными штаммами *Streptomyces*. Он обладает уникальной способностью «отличать» ионы калия от других различных катионов, в том числе и от натрия, и переносить именно K^+ через мембрану.

Переносчик второго типа не перемещается в липидном бислое. Механизм переноса основан на способности белковой молекулы находиться в двух различных конформационных состояниях. В одном из них он селективно связывает транспортируемую молекулу, в другом – освобождает ее с противоположной стороны мембраны. Большинство природных переносчиков – это интегральные прошивающие белки, которые не способны к поперечной диффузии и поэтому являются переносчиками второго типа. Установлено, что транспортные белки отвечают за перенос таких гидрофильных веществ, как сахара, аминокислоты и др. Например, в клетки организма глюкоза поступает облегченной диффузией, связанной с наличием в цитоплазматических мембранах специальных белков-переносчиков, называемых глюкозными транспортерами и обозначаемыми как GLUT-1 – GLUT-5. Они локализованы в разных тканях и отличаются сродством к глюкозе. Это обеспечивает ее транспорт в клетки соответствующих тканей согласно их потребности в глюкозе, ее содержанию в крови, уровню секреции инсулина и т. д.

Среди систем пассивного транспорта особую роль играют *ионные каналы* – специфические каналы проницаемости, обуславливающие быстрое и селективное проникновение ионов через мембрану. Например, электрическое возбуждение мембран нервных и мышечных клеток связано с кратковременным увеличением их проницаемости для ионов Na^+ , K^+ и Ca^{2+} .

Отличия облегченной диффузии от простой:

1. При облегченной диффузии обеспечивается большая скорость переноса.

2. Облегченная диффузия – специфичный вид транспорта, так как белки-переносчики отличаются высокой избирательностью.
3. Для облегченной диффузии характерен эффект насыщения, который заключается в том, что по мере увеличения градиента концентрации диффундирующего вещества, скорость его переноса через мембрану стремится к некоторому максимуму. В момент достижения состояния насыщения уже использована вся «мощность» переносчиков.

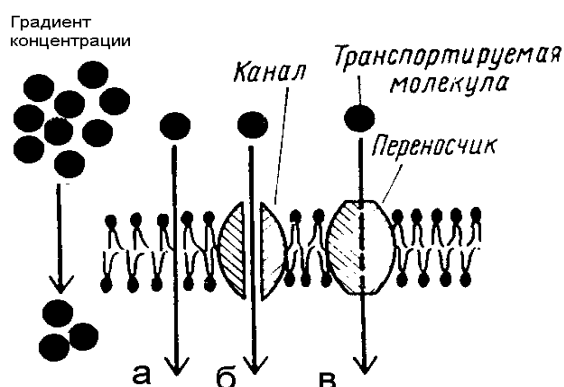


Рис. Некоторые виды пассивного транспорта:

а, б – простая диффузия через бислой и белковую пору (канал) соответственно;
в – облегченная диффузия с участием фиксированного переносчика

Биомембраны обладают не только пассивной проницаемостью (транспорт по градиенту), но, действуя подобно насосу, могут перекачивать вещество в сторону его бóльшей концентрации. Транспорт веществ против градиента концентрации (для нейтральных частиц) или электрохимического градиента (для заряженных частиц), требующий затрат энергии, называется **активным транспортом**. Следовательно, факторы, которые нарушают снабжение клеток энергией, будут приводить и к приостановке активного транспорта, вызывая, как правило, гибель клеток. Например, отсутствие кислорода; действие ингибиторов тканевого дыхания, наркотиков и др.

В зависимости от способа использования энергии для переноса молекул и ионов различают **первичный** и **вторичный активный транспорт**. При **первичном активном транспорте** имеет место сопряжение переноса вещества через мембрану с реакцией гидролиза АТФ (ионные насосы) или системой переноса электронов (транспорт H^+ из матрикса в межмембранное пространство митохондрий в процессе тканевого дыхания).

Типичным примером первичного активного транспорта является транспорт ионов с помощью специальных селективных насосов – **транспортных АТФаз**. Например, перенос Na^+ и K^+ через плазматическую мембрану, который осуществляется Na^+/K^+ -АТФазой. Известно, что Na^+ – это внеклеточный катион, а K^+ – внутриклеточный. Na^+/K^+ -

АТФаза обеспечивает выведение трех ионов Na^+ из клетки в обмен на введение в клетку двух ионов K^+ против их градиентов с затратой одной молекулы АТФ.

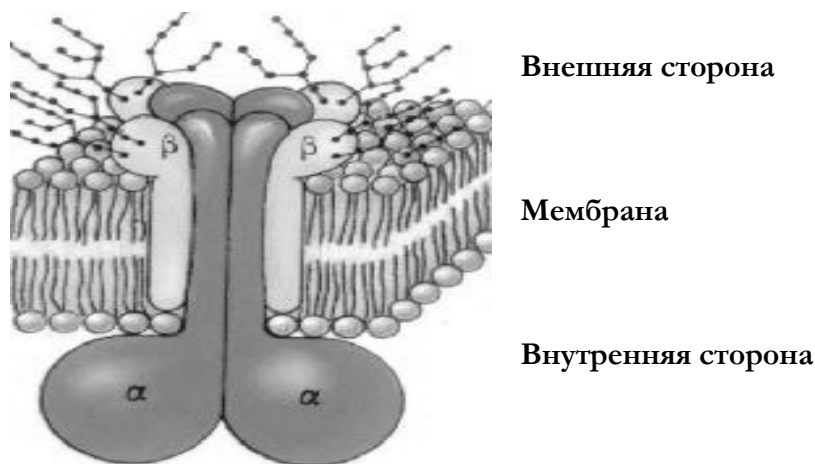
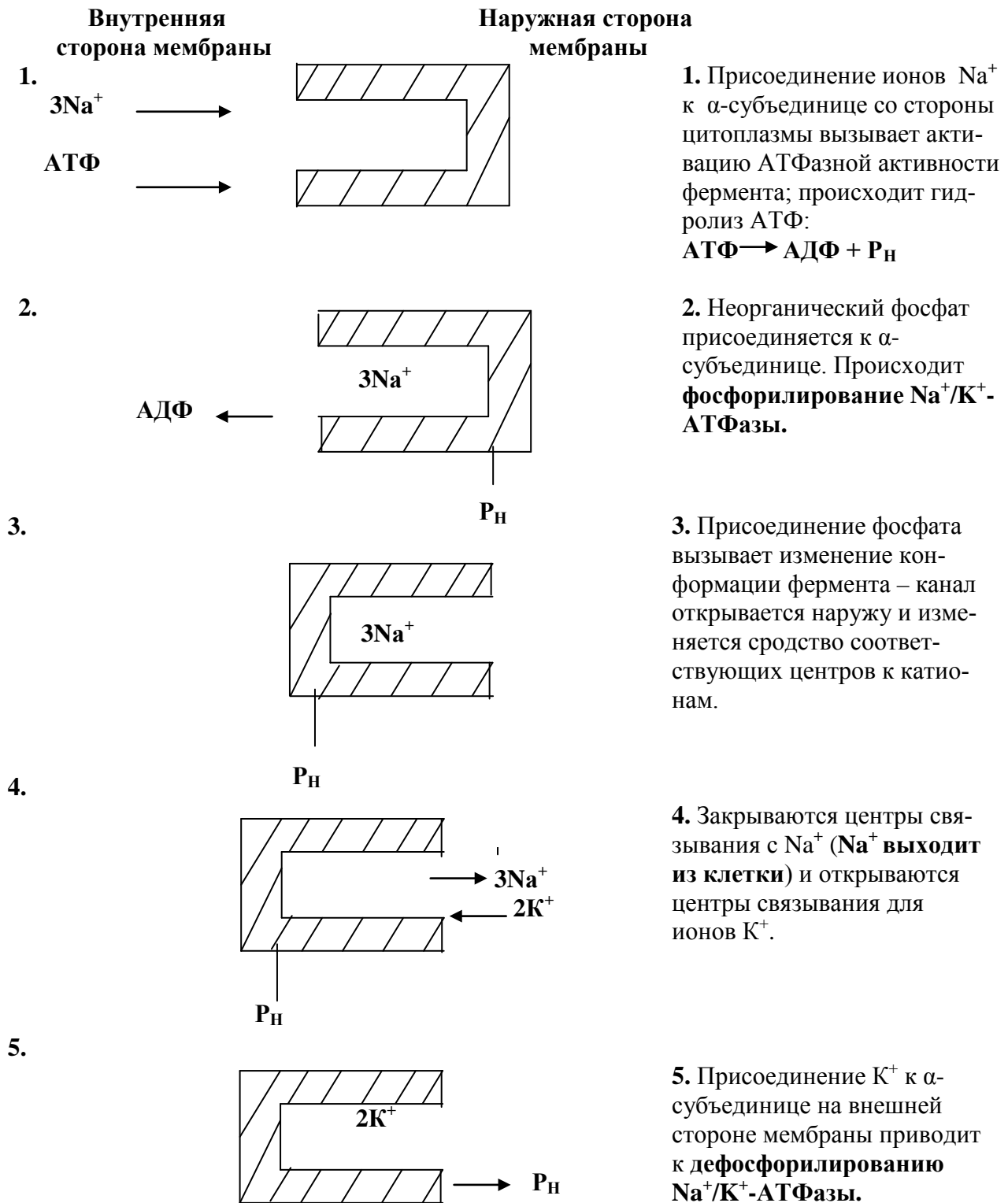


Рис. Строение Na^+/K^+ -АТФазы

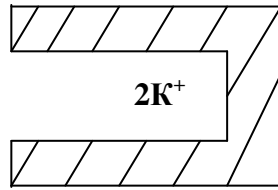
Na^+/K^+ -АТФаза имеет сложное строение – это интегральный белок, обладающий четвертичной структурой. Он состоит из четырех субъединиц двух типов – две α и две β ($\alpha\beta$)₂ с общей молекулярной массой 270 кДа. Каналом для транспорта ионов служит α -субъединица, представляющая собой полипептидную цепь с молекулярной массой 95 кДа. Она пронизывает мембрану насквозь и содержит со стороны цитоплазмы участки связывания для АТФ и ионов Na^+ , а на внешней поверхности мембраны – для ионов K^+ . β -субъединица (40 кДа) является гликопротеином и способствует правильной ориентации тетрамера в липидном бислое. Она содержит углеводные группы, которые расположены на внешней стороне плазматической мембраны. Na^+/K^+ -АТФаза способна гидролизовать АТФ на АДФ и неорганический фосфат (P_n), то есть является ферментом. Высвобождающаяся при гидролизе АТФ энергия используется для транспорта ионов Na^+ и K^+ через мембрану.

Перенос ионов происходит за счет изменения конформации Na^+/K^+ -АТФазы при ее фосфорилировании и дефосфорилировании (химической модификации). В присутствии ионов Na^+ активируется гидролиз АТФ и освободившийся неорганический фосфат присоединяется к α -субъединице фермента (фосфорилирование). Дефосфорилирование происходит в присутствии K^+ .

МЕХАНИЗМ ПЕРЕНОСА Na^+ И K^+

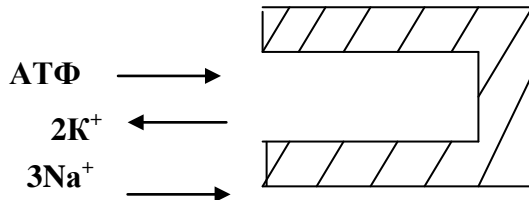


6.



6. Уход неорганического фосфата вызывает изменение конформации фермента – канал открывается внутрь клетки и изменяется средство соответствующих центров связывания к катионам

7.



7. Закрываются центры связывания с ионами K^+ (K^+ поступает в цитозоль) и открываются центры связывания для Na^+ и АТФ. Далее процесс повторяется.

В кардиологии используются лекарственные препараты – сердечные гликозиды. У них есть побочное действие, связанное с ингибированием Na^+/K^+ -АТФазы. Сердечные гликозиды способны конкурировать с ионами K^+ на внешней стороне мембраны за места связывания с α -субъединицей фермента, ингибируя перенос ионов. Токсическое действие сердечных гликозидов можно снять, назначая вместе с ними препараты калия.

Неравнозначный перенос ионов через мембрану с участием Na^+/K^+ -АТФазы вызывает возникновение разности потенциалов между цитоплазмой клетки и внеклеточной средой – появление положительного заряда снаружи и отрицательного внутри. Поэтому Na^+/K^+ -АТФазу называют электрогенной. Наличие разности потенциалов, получившей название *потенциала покоя*, имеет важное практическое значение. Он стабилизирует мембрану; управляет работой мембранных белков; обуславливает возбудимость клеток, характер клеточного метаболизма и т. д. То есть определяет жизнеспособность клетки.

Вторичный активный транспорт обеспечивает перенос соединений через мембрану за счет энергии, обусловленной электрохимическим градиентом некоторых ионов (чаще всего Na^+), который был создан на мембране в результате работы систем первичного активного транспорта. Когда в транспортном процессе участвует несколько соединений, то возможны разные варианты сопряжения переноса веществ через мембрану. **Симпорт** – транспорт молекул или ионов осуществляется одновременно и **однаправлено** с другими соединениями. **Антипорт** – транспорт веществ обусловлен одновременным и **противоположно** направленным переносом других соединений. Симпорт и антипорт представляют собой виды **котранспорта**, при котором скорость суммарного процесса контролируется наличием и доступностью для систем переноса обоих партнеров транспортного процесса.

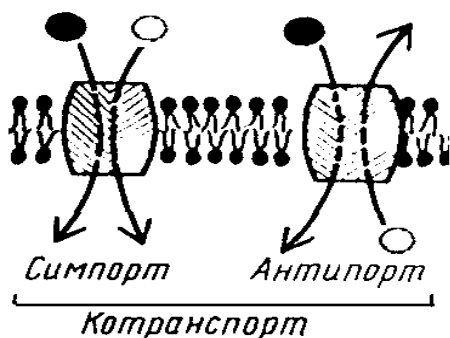
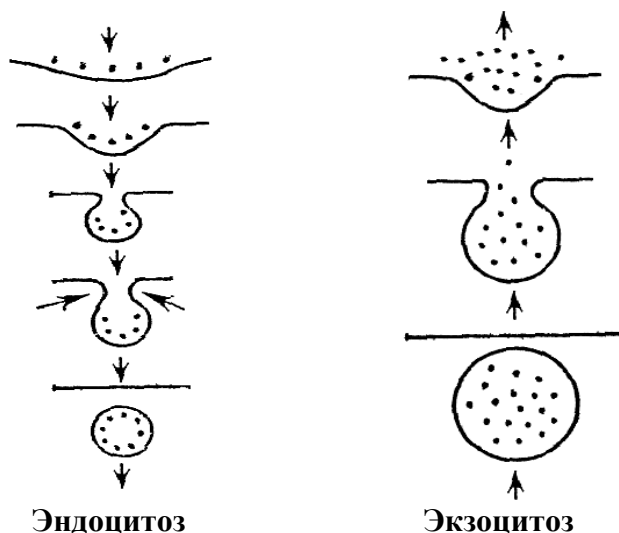


Рис. Способы переноса через мембрану при вторичном активном транспорте.

Например, создаваемый работой Na^+/K^+ -АТФазы градиент ионов Na^+ используется для вторичного активного транспорта моносахаридов, аминокислот. Так, всасывание глюкозы в клетки кишечника осуществляется посредством симпорта с ионами Na^+ . При этом Na^+ и глюкоза связываются со специфическим транспортным белком и проникают в клетку одновременно. Далее Na^+ вновь выкачивается из клеток Na^+/K^+ -АТФазой. Таким образом, количество транспортируемой в энтероциты глюкозы и скорость ее всасывания зависят от трансмембранного градиента ионов Na^+ .

Цитоз или **везикулярный транспорт** – уникальный способ поглощения (*эндоцитоз*) клеткой крупных молекул и частиц и их выделения (*экзоцитоз*) с помощью изменения структуры, формы и размеров клеточной мембраны.



Эндоцитоз – транспорт в клетку различных соединений. При эндоцитозе определенный участок мембраны захватывает, обволакивает внеклеточный материал – образуется везикула, которая попадает внутрь клетки, где ее содержимое постепенно трансформируется. Эндоцитоз – универсальное явление, характерное в той или иной степени для любых клеток. Кроме **неспецифического эндоцитоза** (фагоцитоз, пиноцитоз)

существует **рецептор-индуцируемый (специфический) эндоцитоз**. В этом случае клетки захватывают определенные крупные молекулы или частицы при помощи соответствующих рецепторов мембраны. Примеры специфического эндоцитоза – поступление в клетки холестерина в составе липопротеинов низкой плотности, захват ионов железа в форме комплекса со специальным транспортным белком трансферрином и т. д.

Экзоцитоз – транспорт из клетки во внешнюю среду. При экзоцитозе происходит слипание и слияние с мембраной везикул, образовавшихся внутри клетки. В результате такого слияния во внеклеточную среду поступают содержащиеся в везикулах различные соединения. Например, путем экзоцитоза происходит секреция веществ, необходимых различным клеткам-мишеням (гормонов, медиаторов); освобождение от ненужных, токсичных, непереваривающихся продуктов и т. п.

Межклеточные каналы

Соседние клетки одной ткани должны сообщаться друг с другом, чтобы координировать свою жизнедеятельность и функционировать как целое в соответствии со спецификой ткани. Одним из способов коммуникации состоит в обмене химическими веществами через специальные участки – области *щелевидных контактов*. Такой межклеточный канал (щелевое соединение) служит протоком между внутренним содержимым смежных клеток. По нему происходит регулярный, взаимный межклеточный транспорт неорганических ионов, сахаров, аминокислот, нуклеотидов и т. п.

Щелевидные соединения играют важную роль в межклеточной коммуникации. Они обеспечивают согласованный рост, дифференцировку клеток. В ряде возбудимых тканей, например, в сердечной мышце, клетки объединены в единую систему быстрым потоком ионов через такие межклеточные каналы. Это позволяет давать быстрый и синхронный ответ на стимуляцию. Через щелевидные контакты происходит питание клеток, удаленных от кровеносных сосудов, например, в костной ткани, хрусталике глаза.

Мембраны и патология

Функционирование сложного многоклеточного организма самым непосредственным образом зависит от жизнеспособности составляющих его отдельных элементов – клеток. Нарушение структурной и функциональной целостности клеточных мембран, вызываемое как факторами внешней среды, так и функциональными внутренними расстройствами, негативно сказывается на выполнении

клетками своих функций и может стать как причиной, так и следствием развития тяжелых патологических процессов.

Например, яды некоторых змей, медоносной пчелы содержат в своем составе фермент фосфолипазу A_2 , которая вызывает гидролиз эфирной связи во втором положении глицерофосфолипидов, в результате образуются лизофосфатиды – сильные поверхностно-активные вещества, дестабилизирующие липидный бислой. Это вызывает нарушение функций (барьерной, транспортной и т. д.) и последующее разрушение мембран эритроцитов, тучных клеток, вызывая соответствующие патологические эффекты.

Другой пример, генетически наследуемый дефект эритроцитов – недостаток в клетках фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы – в итоге вызывает тяжелое заболевание – гемолитическую анемию. Нарушение целостности клеточной мембраны происходит из-за того, что вследствие недостатка данного фермента в цепи цитоплазматических реакций выпадает одно звено – синтез восстановленных эквивалентов для последующего образования восстановленной формы глутатиона. Снижение концентрации последнего нарушает структурную целостность эритроцитарной мембраны, и в результате гемоглобин выходит в плазму крови.

Таким образом, патология биологических мембран связана с модификацией мембранных липидов (изменением липидного состава; увеличением или уменьшением насыщенности жирных кислот, входящих в состав мембранных липидов; нарушением метаболизма холестерина; развитием перекисного окисления; изменением концентрации в мембране жирорастворимых витаминов и т. д.), а также с нарушением функций мембранных белков. Как правило, происходит комплексная модификация мембран, затрагивающая как липидный бислой, так и мембранные белки.

Лекция 6

ВВЕДЕНИЕ В ОБМЕН ВЕЩЕСТВ. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ И ПИЩЕВАРЕНИЯ

1. Понятие о метаболизме, метаболических путях, карте метаболизма

В наиболее употребительном значении термин «метаболизм» равнозначен «обмену веществ». В точном смысле «метаболизм» означает промежуточный обмен, т.е. превращение веществ внутри клеток с мо-

мента их поступления до образования конечных продуктов.

Метаболизм – это совокупность химических превращений веществ, происходящих с участием ферментов в организме.

Метаболизм выполняет 4 функции:

1. **Снабжение** организма химической энергией, полученной при расщеплении богатых энергией пищевых веществ.

2. Превращение пищевых веществ в **строительные блоки**, которые используются в клетке для **биосинтеза собственных макромолекул**.

3. Сборка макромолекулярных (биополимеры) и надмолекулярных структур, т.е. **пластическое и энергетическое поддержание структуры живого организма**.

4. Синтез и разрушение тех молекул, которые необходимы для выполнения **специфических функций** клетки и организма.

Вещества, участвующие в метаболизме, называются **метаболитами**.

В живой клетке многие тысячи метаболитов вступают в химические реакции. Реакционная способность метаболитов зависит от ряда условий и, прежде всего, от наличия соответствующих ферментов. **Ферментативная цепь** химических реакций называется **метаболическим путем**. Метаболические пути всех веществ связаны друг с другом общими метаболитами и образуют **единую сетку реакций – карту метаболизма**.

Рассмотрим примеры метаболических путей. В мышечных клетках вся глюкоза реагирует только с АТФ и превращается в глюкозо-6-фосфат. Образовавшийся глюкозо-6-фосфат является заряженным веществом и поэтому не может покинуть клетку. Дальнейшие превращения глюкозо-6-фосфата определяются набором ферментов, катализирующих последовательные реакции, и условиями в клетке. Так, в анаэробных условиях конечным продуктом распада глюкозы в мышцах будет лактат (молочная кислота). Т.е. метаболический путь превращения глюкозы в мышцах в анаэробных условиях заканчивается образованием молочной кислоты, а в аэробных условиях – CO_2 и H_2O .

По форме усвоения углерода все живые организмы делятся на 2 группы. Автотрофные клетки («сами себя питающие») усваивают CO_2 воздуха в процессе фотосинтеза, и из него строят все свои органические вещества (фотосинтезирующие бактерии, зеленые растения). Гетеротрофные клетки («питающиеся за счет других») получают углерод из сложных органических молекул, т.е. они питаются продуктами жизнедеятельности других клеток. Это клетки высших животных, большинство микроорганизмов. В биосфере автотрофы и гетеротрофы являются участниками кругооборота углерода и кислорода между животным и растительным миром.

По отношению к кислороду гетеротрофы делят на несколько видов:

1. Аэробы – требуют наличие кислорода для окисления питательных веществ.

2. Анаэробы – для окисления питательных веществ кислород не требуется.

2.1. Факультативные анаэробы – существуют в кислородной и бескислородных средах.

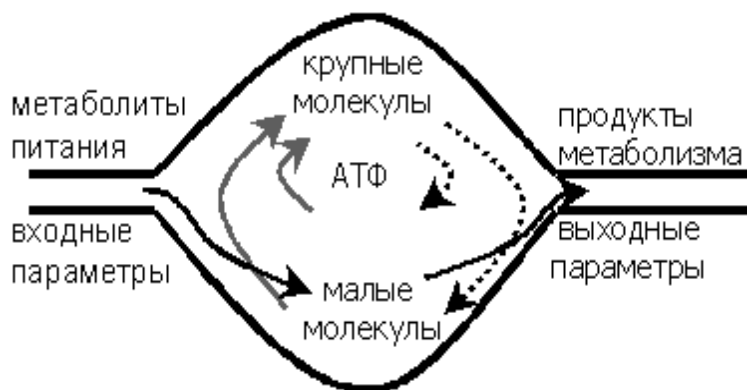
2.2. Облигатные (строгие) анаэробы – живут только в бескислородной среде.

Большинство гетеротрофов – факультативные анаэробы.

2. Ферменты и метаболизм. Понятие о регуляции метаболизма

Метаболизм регулируется за счет **регуляции активности и количества ферментов**. Еще в 19 веке Клод Бернар предложил концепцию гомеостаза. Согласно ей, внутриклеточные константы сохраняются, не взирая на изменения окружающей среды. В своей основе теория гомеостаза опирается на координированную деятельность многих ферментативных реакций. Для идеализированной клетки используют **камерную** модель метаболизма.

Врач судит о метаболизме, изучая входные и выходные параметры. Изучение самих метаболических путей затруднено. Здесь необходимы специальные приемы, например, изотопная техника.



Камерная модель метаболизма

Регуляция метаболических путей по Ленинджеру происходит на 3-х уровнях:

1. Быстрое реагирование, связанное с **действием аллостерических ферментов**, каталитическая активность которых может меняться под влиянием особых веществ – эффекторов, оказывающих стимулирующее или тормозящее действие, т.е. при изменении условий в клетке

первыми реагируют аллостерические ферменты.

2. Нейрогормональная регуляция у высших организмов. Это регуляция посредством дистанционных гуморальных сигналов, действующих через **мембраны** или геном клетки.

3. Долговременная регуляция метаболизма связана с **изменением концентрации** фермента в клетке. Концентрация всякого фермента в любой данный момент определяется соотношением скоростей его синтеза и распада.

3. Катаболизм и анаболизм. Основные конечные продукты метаболизма

Метаболизм складывается из двух фаз – катаболизма и анаболизма.

Катаболизм – ферментативное **расщепление** крупных пищевых или депонированных молекул до более мелких с **выделением** энергии и **запасанием** ее в виде макроэргических связей.

Стадии катаболизма:

I. Распад полимеров до мономеров:

- крахмал, гликоген → глюкоза
- белки → аминокислоты
- триацилглицерины → глицерин + жирные кислоты

II. Специфические пути катаболизма мономеров с образованием общих промежуточных продуктов – ацетил КоА, пирувата.

Примеры специфических путей катаболизма:

- окисление глюкозы до пирувата, 2 АТФ;
- окислительное дезаминирование аминокислот до кетокислот (пирувата), ацетил КоА и NH₃, 2-3 АТФ;
- β окисление жирных кислот до ацетил КоА, 5 АТФ (1 акт).

III. Образование конечных продуктов в ходе общих путей катаболизма:

- окислительное декарбоксилирование пирувата с образованием ацетил КоА, 3 АТФ, CO₂.
- окисление ацетил-КоА в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК) с образованием CO₂; H₂O; 12 АТФ

Анаболизм – ферментативный **синтез** крупных полимерных молекул из простых предшественников с **затратой энергии**.

Стадии анаболизма

I. Третья стадия катаболизма (амфиболическая).

II. Образование мономеров по реакциям, обратным реакциям катаболизма.

III. Синтез полимеров из мономеров.

Параллельные катаболические и анаболические пути должны различаться хотя бы одной из ферментативных реакций, чтобы регулироваться независимо.

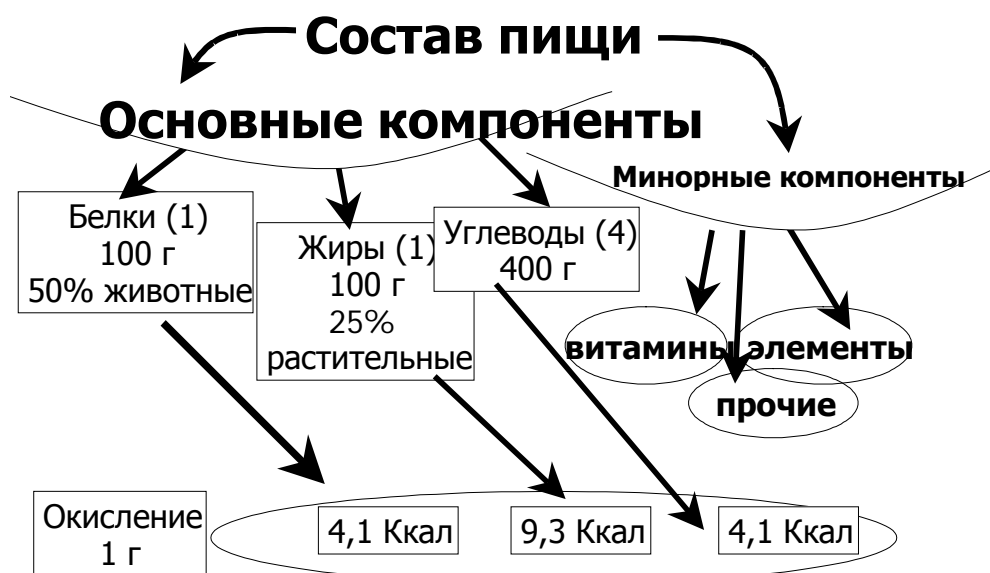
Например, специфический путь распада глюкозы до лактата (гликолиз) включает 11 реакций; обратный процесс – синтез глюкозы из лактата включает 8 обратимых реакций и 3 дополнительные реакции с новыми наборами ферментов. Именно на этих стадиях за счет регуляции активности ферментов регулируются суммарные скорости распада и синтеза глюкозы. Кроме того, реакции катаболизма и анаболизма часто **разделены мембранами** и протекают в разных отсеках (компартаментах) клеток. Например, распад жирных кислот идет в митохондриях, а их синтез – в цитозоле.

4. Введение в биохимию пищеварения. Состав пищи человека

Человек является гетеротрофом, т.е. получает питательные вещества и энергию извне в виде органических соединений.

«...влияние питания является определяющим в обеспечении оптимального роста и развития человеческого организма, его трудоспособности, адаптации к воздействию различных агентов внешней среды, и в конечном итоге можно считать, что фактор питания оказывает определяющее влияние на длительность жизни и активную деятельность человека»

А.Н.Покровский



Незаменимые компоненты пищи не синтезируются в организме

Аминокислоты:

лей-илей
три-мет
тре-вал
лиз-фен
арг-гис

Жирные кислоты:

линолевая
линоленовая
арахидоновая

Белки животного происхождения содержат полный набор незаменимых аминокислот. Незаменимые жирные кислоты содержатся в растительных маслах. Незаменимым компонентом углеводной пищи являются пищевые волокна (клетчатка). В ЖКТ человека нет ферментов для их переваривания, но они необходимы для перистальтики кишечника и адсорбции токсинов.

При энергозатратах 2500 ккал в сутки человек должен употреблять 100 г белков (50% – белки животного происхождения), 100 г жиров (25% – жиры растительного происхождения) и 400 г углеводов.

Незаменимы витамины, исключение – потребность в холине удовлетворяется при поступлении метионина (творог); в витамине РР – при поступлении триптофана, витамин Д может синтезироваться в коже под действием ультрафиолета. Необходимо поступление с пищей химических элементов, например, при нехватке в пище J возникает зоб, F – кариес зубов.

5. Переваривание пищи

Переваривание идет в 3-х отделах пищеварительного тракта: в ротовой полости, в желудке и в тонком кишечнике. Сюда выделяются секреты экзокринных пищеварительных желез, содержащие соответствующие гидролитические ферменты.

В зависимости от расположения ферментов пищеварение может быть 3-х видов:

1. **Полостное** (гидролиз ферментами, находящимися в свободном виде);
2. **Мембранное или пристеночное** (гидролиз ферментами, находящимися в составе мембран);
3. **Внутриклеточное** (ферменты находятся в органеллах клетки).

Мембранное пищеварение происходит в ворсинках кишечника. Особенность его в том, что гидролиз небольших молекул (дипептидов, дисахаридов) происходит на поверхности клеточной мембраны кишечного эпителия и одновременно сочетается с транспортом продуктов гидролиза внутрь клетки.

Жидкости пищеварительного тракта

<p>Слюна Суточная норма 1,0-1,5 л, рН 7</p>	
Вода	смачивает пищу
Соли	
Муцины	смазывают пищу
Антитела	связывают бактерии
α -Амилаза	расщепляет крахмал
Лизоцим	разрушает стенки бактерий
Липаза	расщепляет жиры
<p>Желудочный сок Суточная норма 2-3 л рН 1</p>	
Вода	
Соли	
HCl	денатурирует белки, убивает бактерии
Муцины	защищают стенки желудка
Пепсин	расщепляет белки
Химозин	створаживает казеин
Триацилглицерин-липаза	расщепляет жиры
Внутренний фактор	связывает витамин B ₁₂
<p>Желчь Суточная норма 0,6 л рН 6,9-7,7</p>	
Вода	
HCO ₃ ⁻	нейтрализует желудочный сок
Соли желчных кислот	содействуют перевариванию липидов
Фосфолипиды	содействуют перевариванию липидов
Желчные пигменты	продукты выделения
Холестерин	продукт выделения
<p>Секрет поджелудочной железы Суточная норма 0,7-2,5 л рН 6,9-7,7</p>	
Вода	
HCO ₃ ⁻	нейтрализует желудочный сок
Трипсин	переваривает белки
Химотрипсин	переваривает белки
Эластаза	переваривает белки
Карбоксипептидаза	переваривает пептиды
α -Амилаза	переваривает крахмал и гликоген
Триацилглицерин-липаза	переваривает жиры
Колипаза	кофактор липазы
Фосфолипаза A ₂	переваривает фосфолипиды
Холестерин-эстераза	гидролизует эфиры холестерина
Рибонуклеаза	расщепляет РНК
Дизоксирибонуклеаза	расщепляет ДНК

Секрет тонкого кишечника

рН 6,5 - 7,8

Аминопептидазы	расщепляет пептиды
Дипептидазы	расщепляет дипептиды
α -Гликозидаза	расщепляет олигосахариды
Олиго-1,6-глюкозидаза	расщепляет олигосахариды
β -Галактозидаза	расщепляет лактозу
Сахароза- α -глюкозидаза	расщепляет сахарозу
α, α' - Трегалаза	расщепляет трегалозу
Щелочная фосфатаза	расщепляет эфиры фосфорной кислоты
Полинуклеотидазы	расщепляет нуклеиновые кислоты, нуклеотиды
Нуклеозидазы	нуклеотиды, нуклеозиды
Фосфолипазы	фосфолипиды

6. Нарушения структуры питания в настоящее время

1. Избыточное потребление животных жиров.
2. Дефицит полиненасыщенных жирных кислот.
3. Дефицит полноценных (животных) белков.
4. Дефицит большинства витаминов.
5. Дефицит минеральных веществ – Ca, Fe.
6. Дефицит микроэлементов – I, F, селена.
7. Выраженный дефицит пищевых волокон.

Последствия нарушений структуры питания для здоровья

1. Прогрессирующее увеличение в последние годы числа взрослых со сниженной массой тела и детей раннего возраста со сниженными антропометрическими показателями.
2. Широкое распространение различных форм ожирения.
3. Частое выявление лиц с различными формами иммунодефицитов, со сниженной резистентностью к инфекциям и другим неблагоприятным факторам окружающей среды.
4. Увеличение частоты алиментарно-зависимых заболеваний:
 - железодефицитные анемии;
 - эндемический зоб (дефицит йода);
 - заболевания опорно-двигательного аппарата (дефицит Ca).

У французов есть пословица, что человек роет себе могилу собственными челюстями. Но у них же имеется и другая поговорка прямо противоположного смысла: «Что недоплатишь мяснику, то переплатишь аптекарю». Эти два высказывания как нельзя лучше отражают то трудноразрешимое противоречие, с которым сталкиваются современная наука о питании, да и каждый из нас.

С одной стороны, в связи со значительным снижением энергозатрат мы должны столь же существенно уменьшать общее количество потребляемой пищи, как источника энергии.

Иначе – переизбыток, избыточный вес и все связанные с этим заболевания: гипертония, диабет, инфаркт и т.п.

Но, с другой стороны, где же тогда взять то необходимое количество витаминов и других нужных организму биологически активных веществ, носителем которых является пища?

Наша средняя суточная потребность в витамине В₁ составляет всего 1,5-2,0 мг. Но, чтобы получить это, казалось бы ничтожное количество, мы должны ежедневно съесть по килограмму черного хлеба или 400-500 г нежирного мяса, лучше телятины – именно эти продукты, а не фрукты и овощи, как думают многие, являются наиболее богатым источником витаминов группы В.

Весь мировой и отечественный опыт убедительно свидетельствует: наиболее эффективным и экономически доступным способом кардинального улучшения обеспеченности населения витаминами является регулярное включение в рацион специализированных пищевых продуктов, обогащенных этими ценными биологически активными пищевыми веществами. Особенно удобны в этом отношении быстрорастворимые поливитаминные и поливитаминно-минеральные комплексы, мгновенно образующие освежающие напитки.

В настоящее время для коррекции структуры питания предлагается широкое применение БАД – биологически активных добавок к пище и нутрицевтиков.

БАД – биологически активные добавки – это концентраты натуральных или идентичных натуральным биологически активных веществ, предназначенные для непосредственного приема или введения в состав пищевых продуктов.

Нутрицевтики – природные компоненты пищи, такие как витамины или их близкие предшественники (Например, β каротины), полиненасыщенные жирные кислоты семейства омега-3 (ПНЖК), некоторые моно- и дисахариды; пищевые волокна (целлюлоза, пектины) и др.

Использование БАД и нутрицевтиков позволяет:

- Ликвидировать дефицит эссенциальных пищевых веществ.
- Индивидуализировать питание конкретного здорового человека в зависимости от потребностей, физиологического состояния, пола.
- Удовлетворить изменения физиологических потребностей в пищевых веществах больного человека.
- Повысить неспецифическую резистентность организма к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды.

- Ускорить и усилить связывание и выведение ксенобиотиков из организма.
- Направленно изменить обмен токсических веществ.
- Профилактика ожирения, атеросклероза, рака, иммунодефицита.

Примеры нутрицевтиков и БАД:

1. Дополнительные источники белка и аминокислот (лиз) – готовые к употреблению смеси, содержащие высокие концентрации яичных, молочных и соевых белков.

Применяют: при уменьшении массы тела,

- спортсмены с целью наращивания мышечной массы,
- зондовое питание,
- дополнительное лечебное питание при хронических заболеваниях печени и сосудов.

2. Дополнительные источники ПНЖК и фосфолипидов.

Рацион здорового человека:

	<i>ПНЖК ω6</i>	<i>ПНЖК ω3</i>
<i>необходимо</i>	10	1
<i>реально</i>	до 30	1
Нарушения липидного обмена:		
	5(3)	1

Дефицит ПНЖК ω3: линоленовая, эйкозопентаеновая, докозагексаеновая кислоты.

3. Дополнительные источники витаминов.

ПНЖК необходимы для структурно-функциональной организации мембран, для синтеза эйкозаноидов. Такие природные источники ПНЖК ω3 как соевое масло, льняное масло у нас редко используются, поэтому следует применять концентраты этих кислот. Они эффективны **при гипертонической болезни, ИБС, тромбозах, сахарном диабете, некоторых иммунодефицитных состояниях.**

Высоко эффективны БАД, содержащие фосфолипиды. Они усиливают активность антиоксидантных систем организма, нормализуют процесс транспорта липидов, репарацию мембран, активируют иммунокомпетентные клетки и усиливают процесс всасывания жира в кишечнике.

БАД используются как дополнительные источники витаминов для профилактики гиповитаминозов. Разновидности – витаминно-минеральные БАД.

7. Регуляция пищеварения

Осуществляется рефлекторно. На молекулярном уровне регуляция осуществляется гормоноподобными веществами, которые **вырабатываются в одних органах и тканях, а действуют через кровь на другие органы**. Выделение регуляторов происходит под действием пищи и определяется ее составом.

Характеристика гормоноподобных веществ

Название	Место выработки	Место действия	Эффект
Гастрин, гистамин	Слизистая желудка	Обкладочные, главные клетки желудка	Стимуляция секреции HCl, пепсина
Энтерogaстрон	Слизистая желудка	--/--	Торможение секреции HCl, пепсина
Секретин	Слизистая тонкого кишечника	поджелудочная железа	Стимулирует выработку жидкой части поджелудочного сока, богатого водой, бикарбонатами, стимулирует желчеобразование
Холецистокинин (панкреозимин)	--/--	--/--	Стимулирует выработку поджелудочного сока, богатого ферментами, сокращение желчных путей
Химоденин	Слизистая тонкого кишечника	Поджелудочная железа	Стимуляция синтеза и секреции химотрипсина
Энтерокринин	--/--	Железы кишечника	Стимулирует секрецию желез кишечника
Вилликинин	--/--	Ворсинки кишечника	Стимулирует движение ворсинок, т.е. передвижение пищи

8. Всасывание продуктов пищеварения

Всасывание продуктов переваривания и компонентов пищи в желудке незначительно (за исключением этанола). Более 90% продуктов переваривания всасывается в тонком кишечнике. Большая часть воды всасывается в толстом кишечнике. Механизм трансмембранного транспорта веществ в кишечнике зависит от растворимости их и градиента концентрации. Водонерастворимые продукты переваривания жиров переносятся через клеточные мембраны эпителия кишечника в составе мицелл. Мицеллы образуются желчными кислотами. Существует два

пути поступления продуктов переваривания пищи во внутреннюю среду организма: водорастворимые компоненты поступают в печеночную портальную систему и в печень; жирорастворимые вещества поступают в лимфатические сосуды и затем в кровь через грудной лимфатический проток.

Лекция 7

БИОЭНЕРГЕТИКА. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ, ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ

1. Определение биоэнергетики

Биоэнергетика изучает энергетические превращения, сопровождающие биохимические реакции.

Известно, что небиологические системы могут совершать работу за счет тепловой энергии. Биологические системы функционируют при постоянной температуре и для осуществления процессов жизнедеятельности используют химическую энергию.

Превращения молекул происходят в соответствии с химическими законами. Однако сама возможность осуществления этих превращений и полнота их протекания зависят от количества энергии, получаемой системой. Для изучения энергетики процессов привлекают термодинамику.

2. Выяснить, можно ли использовать данную реакцию для совершения полезной работы или же для осуществления реакции требуется энергия из внешнего источника.

Основные начала термодинамики формулируются с помощью энтальпии, энтропии и свободной энергии.

Основные начала термодинамики

Энтальпия H – полная энергия соединения.

Свободная энергия Гиббса G – энергия, которая может быть переведена в работу.

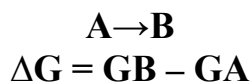
Энтропия S характеризует меру упорядочивания системы: чем меньше упорядочена система, тем энтропия выше.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S,$$

T – абсолютная температура.

Свободная энергия, используемая клеткой на работу, меньше полной энергии на величину энтропии, т.е. энергия расходуется на усиление беспорядочного движения молекул в системе.

Рассмотрим реакцию:



1) $G_B > G_A$ $\Delta G (+)$

Свободная энергия в ходе реакции возрастает, реакция протекает с поглощением энергии. Следовательно, требуется дополнительный источник энергии – **эндергоническая реакция**.

2) $G_B < G_A$ $\Delta G (-)$

Эта реакция может протекать спонтанно с выделением энергии – **экзергоническая реакция**. Знак (-) показывает, что в систему не нужно добавлять энергию.

3) $G_B = G_A$ $\Delta G = 0$

Это равновесная реакция.

Главное назначение энергии, генерируемой в биологических системах, заключается в поддержании организма в состоянии, удаленном от равновесия. Например, клетки содержат большие количества полисахаридов, белков, липидов, нуклеиновых кислот при относительно малой концентрации их составных частей – т.е. глюкозы, аминокислот и т.д.

2. Сопряжение экзергонических и эндергонических реакций (аккумуляторы энергии)

Катаболические превращения (распад и окисление молекул) обычно являются экзергоническими реакциями. Анаболические реакции (реакции синтеза) – эндергонические. В организме эндергонические реакции протекают сопряжено с экзергоническими. Механизм сопряжения состоит в синтезе соединения с высоким энергетическим потенциалом в ходе экзергонической реакции и последующем включении этого нового соединения в эндергоническую реакцию. Следовательно, должен быть этап аккумуляции, т.е. накопления энергии.

В живых клетках главным аккумулятором энергии служит АТФ.

Реакции сопряжения могут быть подразделены на 2 группы:

1. Происходящие в немембранных отделах клетки.
2. Локализованные в мембранах.

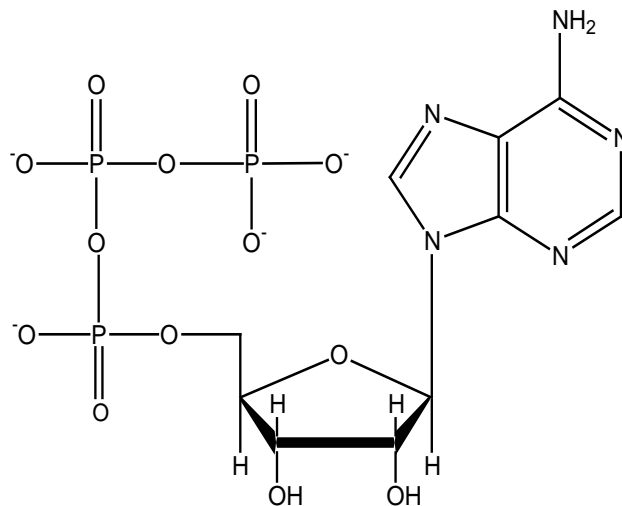
2.1. Немембранные процессы сопряжения

В немембранных процессах сопряжения основными аккумуляторами энергии служат **макроэргические соединения**. Соединения, при гидролизе связей которых выделяется более 30,5 кДж/моль энергии, называют **макроэргические**.

Они содержат макроэргическую связь, обозначаемую знаком ~ (предложил Липман). Символ ~ (тильда) означает, что перенос группы, присоединенной указанной связью, на акцептор сопровождается выделением большого количества свободной энергии. (Неточно говорить «гидролиз связи» - т.к. расщепление связи само требует энергии). Величина 30,5 кДж/моль выбрана не случайно: именно столько энергии при стандартных условиях освобождается при гидролизе АТФ или столько же энергии нужно для синтеза АТФ из АДФ и Рн.

Все макроэргические соединения можно разделить на 3 группы:

1. Богатые энергией фосфаты.



АТФ

2. Богатые энергией тиоловые эфиры, образуемые коферментом А (ацетил-КоА), ацилпереносящий белок, S-аденозилметионин и др.

3. НАДФН₂ – аккумулятор энергии электронов в цитозоле, обеспечивает электронами и протонами процессы восстановительного биосинтеза.

В процессах метаболизма исключительно важную роль играют высокоэнергетические фосфаты, к которым относится АТФ. По величине энергии гидролиза они образуют непрерывный ряд – термодинамическую шкалу.

Термодинамическая шкала химических соединений

<i>Соединение</i>	<i>G кДж/моль</i>
Фосфоэнолпируват	61,9
1,3-бисфосфоглицерат	51,4
Креатинфосфат	43,1
АТФ → АДФ + P _n	30,5
Глюкозо-1-фосфат	20,9
Глюкозо-6-фосфат	13,8

Вывод: АТФ занимает в шкале среднее положение.

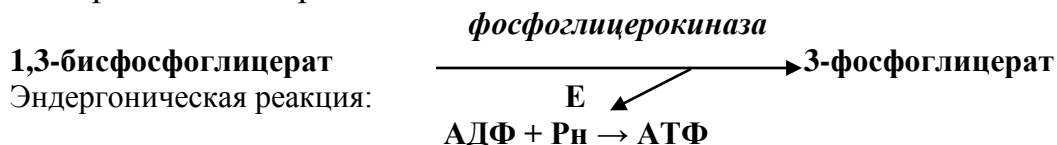
Среднее положение АТФ в термодинамической шкале позволяет ей служить донором высокоэнергетического фосфата для тех соединений, которые в шкале стоят ниже АТФ и забирать его от соединений, стоящих выше.

Цикл АТФ/АДФ

Эндергоническая реакция:



Экзергоническая реакция:



Таким образом, цикл АТФ/АДФ связывает процессы, генерирующие макроэнергетические фосфаты, с процессами, их потребляющими.

В клетке синтез АТФ происходит путем фосфорилирования АДФ, т.е. $\text{АДФ} + \text{P}_n \rightarrow \text{АТФ}$. В зависимости от того, что служит источником энергии для этой эндергонической реакции, фосфорилирование бывает 3-х типов:

1. Окислительное – свободная энергия генерируется в дыхательной окислительной цепи, функционирующей в митохондриях.

2. Субстратное – синтез АТФ идет за счет использования энергии макроэнергетических соединений, стоящих в термодинамической шкале выше АТФ.

3. Фотосинтетическое – с использованием энергии Солнца в процессе фотосинтеза.

Вывод: АТФ – универсальный аккумулятор энергии.

АТФ – универсальный источник энергии. Ее энергия используется в следующих процессах:

1. Для синтеза биомолекул из молекул-предшественников не-большого размера.
2. Для выполнения мышечной (механической) работы.
3. Для переноса веществ через мембраны против градиента их концентрации (первичный активный транспорт).
4. Для обеспечения точной передачи информации.

Существуют 2 пути гидролиза АТФ:

1. $\text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{АДФ} + \text{P}_\text{H}$.
2. $\text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{АМФ} + \text{пирофосфат } \text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$.

Первый путь гидролиза происходит в следующих случаях:

- для сопряженных эндергонических реакций нужно 30,5 или меньше кДж/моль энергии;
- для обеспечения процессов, требующих намного больше энергии, чем 30,5 кДж/моль. При этом используется энергия многих молекул АТФ.

В реакциях, когда потребность в энергии лишь несколько больше 30,5 кДж/моль, гидролиз АТФ происходит по второму пути.

В большинстве клеток имеется фермент **аденилаткиназа**. Она катализирует обратимую реакцию.



Эта реакция выполняет 3 функции:

1. Позволяет синтезировать АТФ из АДФ.
2. Позволяет превратить АМФ, образующийся в ходе ряда реакций активации, в АДФ.
3. В условиях снижения концентрации АТФ (накапливается АДФ), происходит повышение концентрации АМФ, который служит аллостерическим активатором ряда катаболических реакций. В результате увеличивается генерация АТФ.

Существуют еще другие макроэргические соединения, построенные по типу АТФ, они обеспечивают энергией ряд биосинтезов:

- УТФ – синтез углеводов.
- ГТФ – синтез белков.
- ЦТФ – синтез липидов.

2.2. Сопрягающие мембраны

Преобразование энергии в биомембранах описывается схемой:



где $\Delta\mu_I$ – трансмембранная разность электрохимических потенциалов иона I.

Схема означает, что энергетические ресурсы, потребляемые мембраной, сначала используются для транспорта иона через мембрану против сил электрического поля и против градиента концентрации иона. Этот процесс называется энергизацией мембраны. Затем энергия, накопленная в электрической и осмотической формах ($\Delta\mu_I$), используется для совершения работы.

Ион I называют сопрягающим ионом. Во внутренней мембране митохондрий таким сопрягающим ионом служит H^+ . В плазматической мембране сопрягающим ионом служит Na^+ .

Каждая сопрягающая мембрана содержит белковые ансамбли двух типов. Один из них – АТФ – синтаза, т.к. он катализирует энергозависимый синтез АТФ из АДФ и Рн. Второй белковый ансамбль во внутренней мембране митохондрий представлен дыхательной цепью ферментов.

Энергия $\Delta\mu_{H^+}$ может использоваться в следующих процессах:

1. Обратимо превращаться в энергию АТФ (химическая работа);
2. Для вторичного активного транспорта через мембрану веществ против градиента их концентрации (осмотическая работа);
3. Образование теплоты при понижении температуры окружающей среды (телопродукция);
4. У бактерий за счет энергии $\Delta\mu_{H^+}$ вращается жгутик (механическая работа).

3. Биологическое окисление и пути использования O_2

Реакции, включающие перенос электронов, называют окислительно-восстановительными.

Потеря электрона – это окисление, принятие электрона – восстановление.

Окисление органических соединений во многих случаях означает отнятие водорода (дегидрирование).

При окислении протоны и электроны могут независимо отделяться от окисляемой молекулы. В других случаях механизм окисления может включать перенос протона вместе со связанным с ним электроном, т.е. в виде водорода, или протона со связанной парой электронов, т.е. гидрид-иона.

Способность молекулы отдавать электроны другой молекуле определяется величиной редокс-потенциала. Чем меньше редокс-потенциал, тем легче вещество теряет электроны и в большей степени является восстановителем. Чем выше потенциал, тем сильнее

способность принимать электроны, т.е. сильнее выражены окислительные свойства. Молекула может отдавать свои электроны только молекулам с более высоким редокс-потенциалом. Т.е. если будет цепь окислительно-восстановительных реакций, ее участники будут располагаться в порядке возрастания редокс-потенциала.

Окислить соединение можно и присоединением к нему O_2 .

Биологическое окисление – это совокупность всех окислительных процессов, протекающих в организме с участием O_2 .

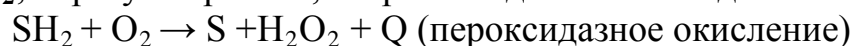
Способы окисления субстрата:

I. Путем дегидрирования (O_2 – акцептор H_2):

1. Отщепляемые от субстрата H_2 переносятся на атом O_2 **через ряд переносчиков**, образуется H_2O , АТФ.



2. Отщепляемые от субстрата водороды **сразу переносятся на молекулу O_2** , образуя перекись, энергия выделяется в виде тепла.



II. Путем присоединения O_2 (оксигеназное окисление):

1. К субстрату присоединяется атом O_2 , требуется дополнительный субстрат донор водорода.



2. К субстрату присоединяется молекула O_2 .



3. Окисление с участием активных форм O_2 (окислительная модификация молекул, свободнорадикальное окисление).

Назначение биологического окисления:

1) Извлечение энергии из различных соединений (тканевое дыхание).

2) Разрушение или обезвреживание ксенобиотиков (пероксидазное, оксигеназное окисление).

3) Биосинтезы (гидроксилазное).

4) Изменение проницаемости мембран, окислительная модификация молекул.

4. Общая характеристика ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции

Ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции, относятся к 1 классу – оксидоредуктазы. Их разделяют на 5 групп:

1. Оксидазы – катализируют удаление водорода из субстрата, используя в качестве акцептора водорода только O_2 . Содержат Cu , продуктом реакции является H_2O (искл. моноаминоксидаза – H_2O_2),

например, цитохромоксидаза.

2. Аэробные дегидрогеназы – в отличие от оксидаз могут использовать в качестве акцептора не только O_2 , но и искусственные акцепторы – например, метиленовый синий, являются флавопротеинами, образуется H_2O_2 .

3. Анаэробные дегидрогеназы – не способны использовать O_2 в качестве акцептора. Бывают НАД-зависимыми, ФАД и ФМН-зависимыми, цитохромы.

4. Гидроксипероксидазы – в качестве субстрата используют H_2O_2 или органические перекиси. К ним относят пероксидазы, каталазы.

5. Оксигеназы – катализируют прямое введение O_2 в молекулу субстрата.

5. Тканевое дыхание

Тканевое дыхание – это процесс улавливания клеткой энергии в виде АТФ при протекании контролируемого соединения кислорода с водородом с образованием воды.

Характерные черты тканевого дыхания

1. Это часть биологического окисления, где субстрат окисляется путем дегидрирования, акцептором водорода служит кислород, в результате образуется вода, проходит в митохондриях.

2. Водород в виде восстановительных эквивалентов переносится на кислород через дыхательную цепь.

3. Энергия окисления используется для синтеза АТФ в ходе окислительного фосфорилирования.

Рассмотрим каждое положение подробно.

5.1. Митохондрии

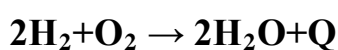
Митохондрии – “энергетические станции” клеток. Здесь происходит улавливание энергии, поставляемой окислительными процессами. Освобождаемая при окислении энергия используется в митохондриях в форме восстановительных эквивалентов. Большинство восстановительных эквивалентов в форме НАДН и ФАДН₂ поставляют ЦТК и β -окисление жирных кислот. Эти процессы локализованы в матриксе митохондрий. Матрикс митохондрий, кроме ферментов ЦТК, β -окисления, содержит пируват-дегидрогеназную систему, другие ферменты, а также АТФ, АДФ, АМФ, фосфат, НАД⁺, НАДФ, кофермент А, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺.

Наружная мембрана митохондрий легко проницаема почти для всех молекул и ионов небольшого размера. Внутренняя мембрана

относится к **сопрягающим мембранам**. Здесь расположены ферменты дыхательной цепи, АТФ-синтаза, различные мембранные транспортные системы. Для большинства ионов небольшого размера, в том числе и H^+ , она непроницаема.

5.2. Дыхательные цепи

Термин “дыхательная цепь” используют для определения последовательности реакций, ответственных за перенос атомов водорода или электронов в виде восстановительных эквивалентов от субстратов к молекулярному кислороду воздуха. В результате этого переноса образуется вода, т.е. происходит реакция:



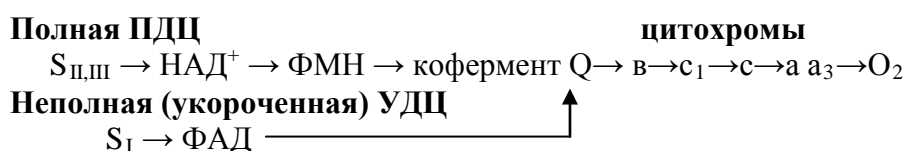
Эта экзергоническая реакция сопровождается в пробирке взрывом, т.е. выделяется большое количество энергии. В клетке этого не происходит, т.к. энергия выделяется не одновременно, а по этапам – во время движения восстановительных эквивалентов по цепи. Термин “восстановительный эквивалент” – это обобщенное понятие для обозначения переноса электрона без уточнения, в какой форме он переносится. **По дыхательной цепи перенос электрона совершается в различной форме: переносятся гидрид-ионы, водородные атомы и просто электроны.**

Дыхательная цепь состоит из ряда белков-ферментов с прочно присоединенными простетическими группами, обладающими способностью присоединять и отдавать электроны и расположена во внутренней мембране митохондрий.

Эти белки располагаются в определенной последовательности (по возрастанию редокс-потенциала). Каждый из них способен присоединять электроны от предыдущего участника цепи и передавать их следующему участнику цепи. Электроны, поступающие в эту цепь переносчиков, богаты энергией, но по мере их продвижения по цепи они теряют свободную энергию. Значительная часть этой энергии запасается в форме АТФ.

Различают полную и укороченную дыхательную цепи.

Схема дыхательных цепей:



Участники полной дыхательной цепи:

1. НАД-зависимые дегидрогеназы.
2. ФМН-зависимые дегидрогеназы.
3. Убихинон (кофермент Q).
4. Цитохромы.

В укороченной дыхательной цепи нет НАД-зависимых дегидрогеназ, т.е. она короче на один фермент.

Окисляемые субстраты служат источниками восстановительных эквивалентов. Различают **3 рода субстратов**:

1. Углеводородные (сукцинат, ацил-КоА). Средняя энергия окисления пары электронов этих субстратов 150 кДж/моль. Это меньше, чем энергия окисления пары электронов в системе НАД⁺/НАДН (200 кДж/моль). Поэтому НАД-зависимые дегидрогеназы не могут участвовать в окислении этих субстратов. Они окисляются ФАД-зависимыми дегидрогеназами, т.е. в укороченной дыхательной цепи.

2. Спиртовые (лактат). Средняя энергия отщепления пары электронов = 200 кДж/моль. Окисляются НАД-зависимыми дегидрогеназами, т.е. в полной дыхательной цепи.

3. Альдегидные (3-фосфоглицериновый альдегид), энергия отщепления пары электронов 250 кДж/моль. Это больше, чем требуется для окисления НАД-зависимыми дегидрогеназами, поэтому при их окислении образуется не только НАДН, но и часть энергии используется для синтеза высокоэнергетических соединений.

5.3. Механизм переноса восстановительных эквивалентов по дыхательной цепи

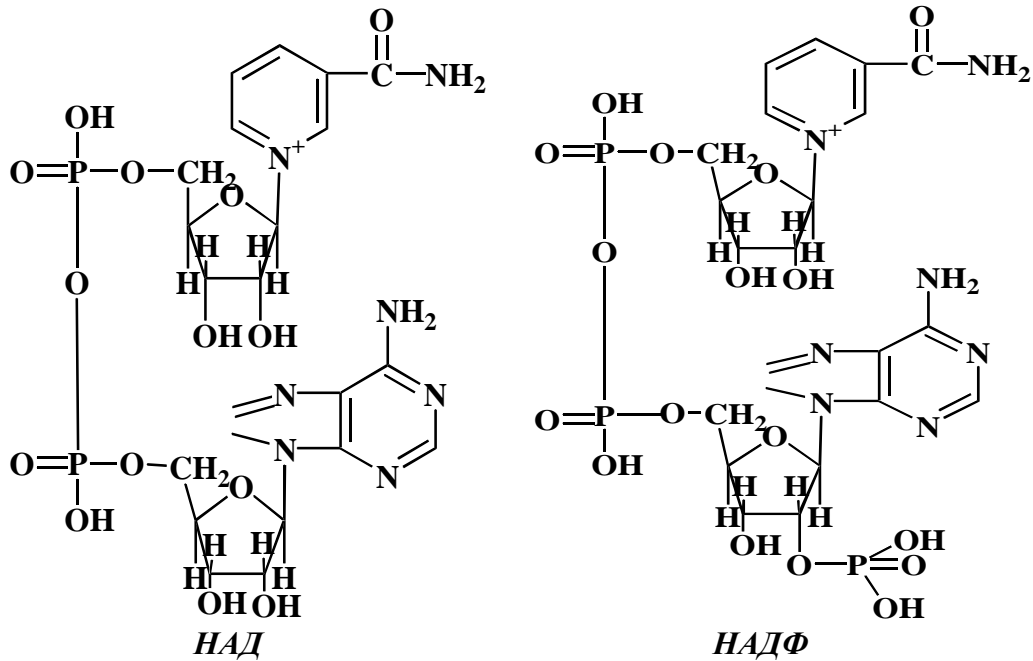
Внутренняя мембрана митохондрий, где расположены дыхательные цепи, относится к сопрягающим мембранам.

Рассмотрим механизмы переноса протонов и электронов по полной дыхательной цепи.

1. Окисление субстратов 2 и 3 рода НАД-зависимыми дегидрогеназами.

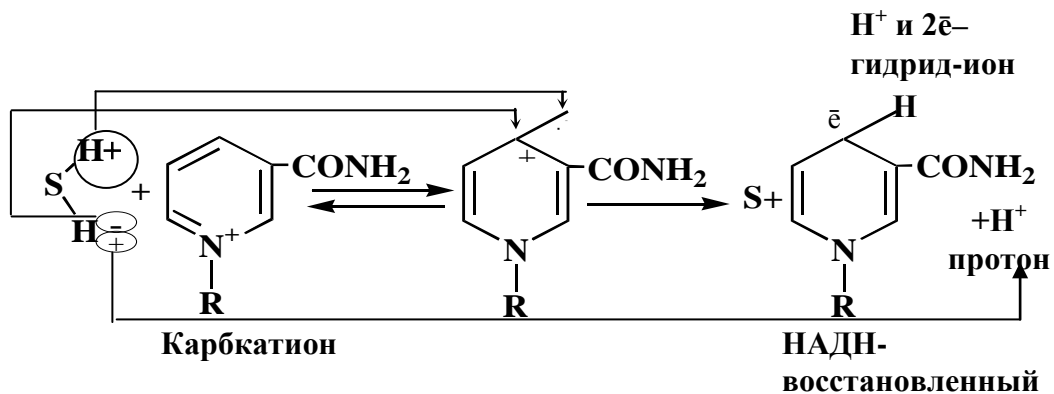
Субстраты 2 и 3 рода располагаются в матриксе митохондрий и цитозоле. Здесь же располагаются и ферменты, их окисляющие. Это по строению сложные ферменты: пиридин-зависимые или **НАД-зависимые дегидрогеназы**, в качестве **кофермента** служит **НАД** или **НАДФ**. Они могут называться и по субстрату – малатдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа.

СТРОЕНИЕ НАД (Н-никотинамид, А-аденин, Д-динуклеотид)



Главную роль в механизме окисления играет никотинамид (витамин РР), который может существовать в двух резонансных формах. В первой форме избыточный (+) заряд у азота. В результате смещения электронной плотности к N^+ у атома углерода в пара-положении появляется избыточный (+) заряд и свободная валентность. Такая частица называется карбкатион. К свободной валентности от окисляемого субстрата присоединяется атом водорода (протон и электрон), а к положительному заряду – электрон, т.е. молекула водорода в присутствии карбкатиона подвергается гетеролитическому разрыву на гидрид-ион (протон и 2 электрона) и протон. Гидрид-ион присоединяется к НАД, а протон остается в матриксе митохондрий, подкисляя его.

Механизм окисления субстрата с участием НАД-зависимых дегидрогеназ



Субстрат, отдав гидрид-ион НАД^+ а протон в среду, окислился. НАД^+ присоединив гидрид-ион, восстановился. Восстановленный НАД отщепляется от своего апофермента и подходит к внутренней мембране митохондрий, где окисляется вторым участником полной дыхательной цепи.

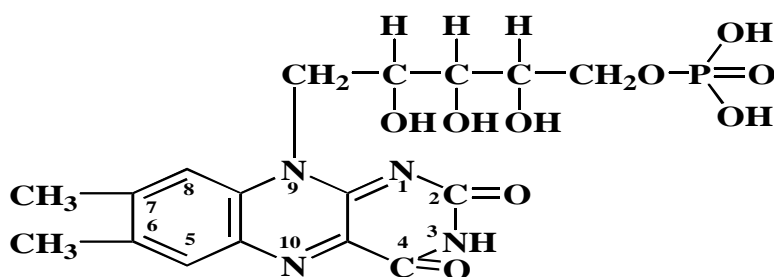
Если окисление субстрата происходило в цитозоле, образовавшийся НАДН попадает в митохондрии с помощью специальных челночных механизмов, т.к. мембраны митохондрий не проницаемы для НАДН.

2. Окисление НАДН ФМН-зависимыми дегидрогеназами.

ФМН-зависимые дегидрогеназы расположены во внутренней мембране митохондрий. Это сложные ферменты, содержащие в качестве **простетической группы ФМН** и **FeS** (железосерные)-**центры**. Субстратом для них служит НАДН, поэтому по субстрату их называют **НАДН-дегидрогеназы**.

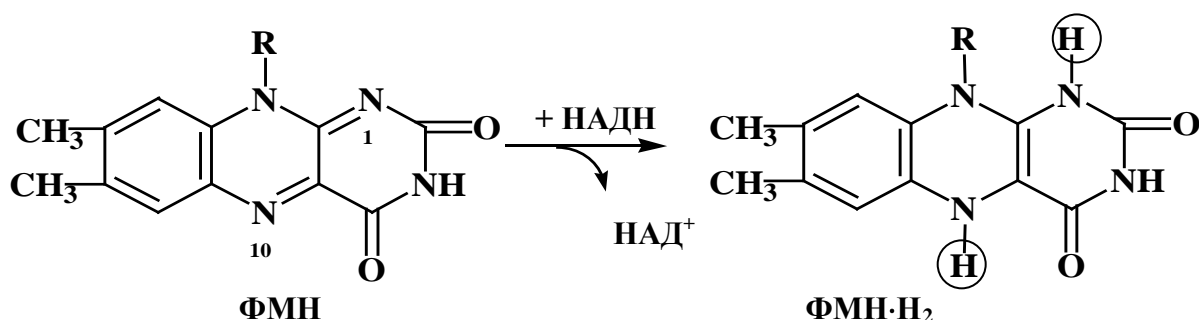
СТРОЕНИЕ ФМН

(Ф-флавин, М-моно, Н-нуклеотид (флавин + рибитол – вит В₂, рибофлавин))



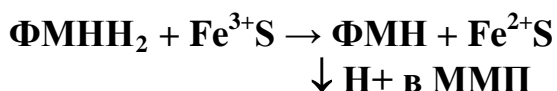
Главную роль в окислении НАДН играет изоаллоксазиновое кольцо флавина, где по месту разрыва двойных связей у атомов N в 1-ом и 10-ом положении могут присоединяться атомы водорода.

Механизм окисления НАДН НАДН-дегидрогеназой



НАДН, отдавая гидрид-ион на ФМН-зависимую дегидрогеназу, окисляется, а ФМН, присоединив гидрид-ион и протон из матрикса,

восстанавливается. Окисленный НАД может присоединиться к апоферменту НАД-зависимых дегидрогеназ и окислять новую молекулу субстрата. Железосерные центры, входящие в состав ФМН-зависимых дегидрогеназ, благодаря способности Fe менять свою степень окисления с Fe^{3+} на Fe^{2+} , являются переносчиками электронов, но не могут присоединить к себе протоны. Следовательно, на этапе FeS-центров происходит разделение потока протонов и электронов, т.е. далее по цепи переносятся только электроны, а протоны на этом этапе **выталкиваются в межмембранное пространство (ММП)**. До FeS-центров протоны и электроны переносились вместе в виде гидрид-иона.

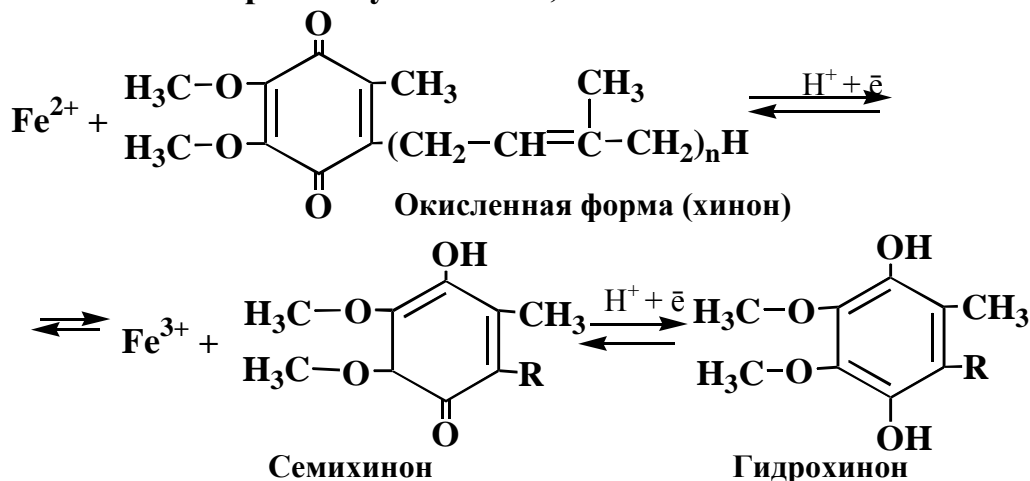


ФМНН₂, отдав электроны железу FeS-центров, а протоны в ММП, окисляется, FeS-центры, присоединив электроны – восстанавливаются.

3. Окисление FeS-центров убихиноном.

Убихинон или кофермент Q (quinone – Q – уби-вездесущий) найден практически во всех клетках. Это жирорастворимый хинон с длинной изопреноидной боковой цепью. Это единственный переносчик в цепи, не являющийся белком, он легко двигается в липидном слое мембраны. Убихинон выполняет коллекторную функцию, собирая восстановительные эквиваленты не только от НАДН-дегидрогеназ (полная дыхательная цепь), но и от ФАД-зависимых дегидрогеназ (укороченная дыхательная цепь).

Строение убихинона, механизм окисления

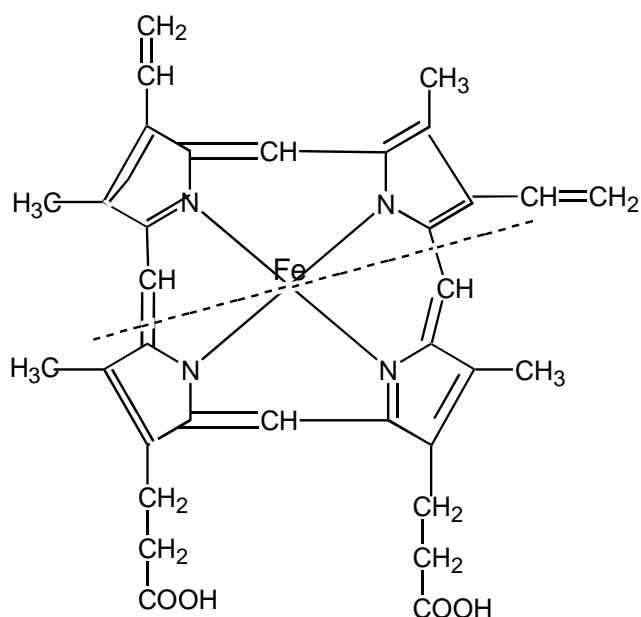


Убихинон может присоединять 1 электрон к своему O_2 от Fe^{2+} , кислород становится электроотрицательным и присоединяет протон из матрикса, образуется семихинон. Однако убихинон может присоединять

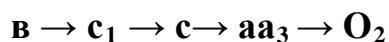
и 2 электрона, т.е. участвовать в двухэлектронном переносе, образуя гидрохинон.

Когда электроны от железосерных центров ФМН-зависимых дегидрогеназ переходят на убихинон, ФМН-зависимые дегидрогеназы окисляются, убихинон восстанавливается. Подчеркнем, что убихинон от восстановленных НАДН-дегидрогеназ присоединяет только электроны через железосерные центры. Протоны, которые присоединились к убихинону, происходят из матрикса (возможно из внутренней мембраны митохондрий).

4. Окисление восстановленного убихинона цепью цитохромов.



Цитохромы это железосодержащие белки, окрашенные в красный или коричневый цвет. Они относятся к гемпротеинам, т.е. Fe входит в структуру гема. Они способны переносить электроны. Существуют 3 класса цитохромов: а, в, с, различающихся по спектрам поглощения. В дыхательной цепи они располагаются в порядке возрастания редокс-потенциала:



В ходе переноса электронов атом Fe находится то в восстановленной форме Fe²⁺, то в окисленной – форме Fe³⁺. Группа гема, как и FeS-центра переносит только 1 электрон в отличие от НАД, флавина и убихинона, переносящих по 2 электрона. Таким образом, восстановленный убихинон переносит свои 2 электрона на две молекулы цитохрома “в”. Fe в цитохроме “в” восстанавливается, убихинон окисляется, протоны убихинона выталкиваются в ММП.

Цитохромы отличаются друг от друга строением гема, способом связи гема с белковой частью. Простетической группой цитохромов “в”, “с”, “с₁” служит протопорфирин IX (гем), как в миоглобине и гемоглобине, цитохромы а и а₃ имеют другую железопорфириновую группу, называемую гем “а”.

Связь гема с белковой частью цитохромов происходит по 5 и 6 координационным связям Fe

Цитохром	5	6
“в”	Гис	Гис
“с”	Гис	мет, ковалентная связь винильных групп гема с цис
“а”	NH ₂ аминосахара	O ₂ , HCN, CO

Все цитохромы прочно встроены в мембрану, исключением является цитохром “с”, который может свободно двигаться в плоскости мембраны, подобно убихинону.

Перенос электронов на O₂ цитохромоксидазой. Цитохромы “а” и “а₃” являются конечными звеньями дыхательной цепи. Они существуют в виде комплекса – цитохромоксидаза. Она содержит две молекулы гема “а” и 2 атома Cu. Цитохромоксидаза может необратимо ингибироваться цианидами, угарным газом. Она имеет очень высокое сродство к кислороду. Это позволяет дыхательной цепи функционировать с максимальной скоростью до тех пор, пока в ткани не будет практически исчерпан O₂.

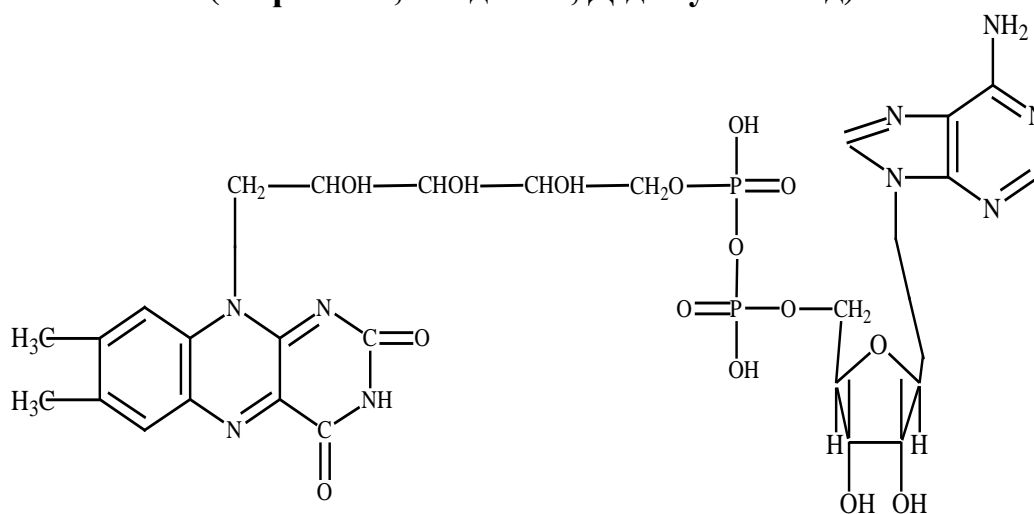
Цитохромоксидаза забирает 1 электрон от цитохрома “с”. Вначале электрон переносится на окисленное Fe³⁺ гема “а”, образуется восстановленное Fe²⁺. Электрон с Fe²⁺ дальше переносится на окисленную Cu²⁺. В результате Fe окисляется, а Cu восстанавливается в Cu¹⁺. Cu¹⁺ отдает 1 электрон на O₂. При этом Cu окисляется, O₂ – восстанавливается. Однако для восстановления O₂ нужно 4 электрона, а группы гема являются переносчиками одного электрона. Каким образом четыре электрона “сходятся” для восстановления молекулы O₂, пока не установлено.



Присоединение электрона к O₂ сопровождается присоединением протонов, которые возвращаются в матрикс из ММП через канал АТФ-синтазы.

Неполная (укороченная дыхательная цепь). В ней окисляются субстраты 1 рода. Первым звеном дыхательной цепи являются **ФАД-зависимые дегидрогеназы**. Это сложные ферменты, содержат **протестические группы ФАД** и **FeS-центры**. По субстрату их называют сукцинатдегидрогеназа, ацилКоА-дегидрогеназа. Они расположены во внутренней мембране митохондрий со стороны матрикса. Забирая атом водорода от окисляемого субстрата, они переносят электроны через FeS-центры на убихинон и далее цепь цитохромов, а протоны остаются в матриксе.

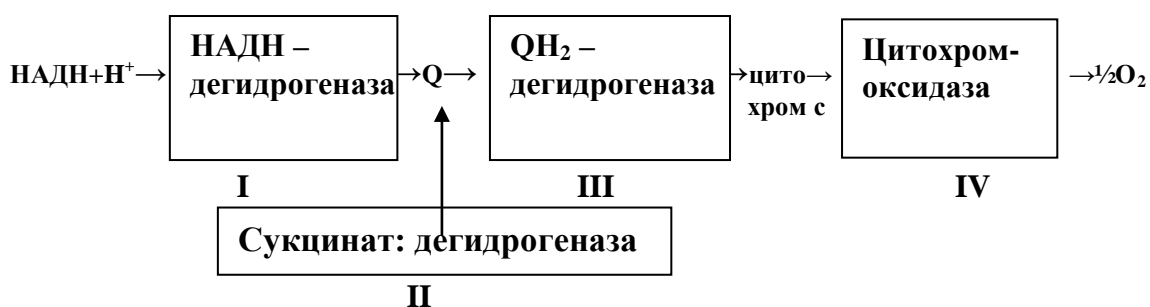
СТРОЕНИЕ ФАД (Ф-флавин, А-аденин, Д-динуклеотид)



6. Структурная организация дыхательной цепи

Компоненты дыхательной цепи встроены во внутреннюю митохондриальную мембрану в виде четырех белковых комплексов. Цитохром “с” и убихинон, будучи относительно мобильными компонентами дыхательной цепи, осуществляют связь между фиксированными комплексами.

Ферментные комплексы цепи переноса электронов



Состав митохондриальных ферментных комплексов цепи переноса электронов

Название комплекса	Состав
I НАДН-дегидрогеназа	ФМН, FeS-центры
II Сукцинатдегидрогеназа	ФАД, FeS-центры
III QH ₂ -дегидрогеназа	Цитохромы b; c ₁ , FeS-центры
IV Цитохромоксидаза	Цитохромы a, a ₃ ; Cu ²⁺

Лекция 8

ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

1. Определение понятия «окислительное фосфорилирование». Коэффициент окислительного фосфорилирования

В процессе тканевого дыхания от окисляемых субстратов отщепляются протоны и электроны. Они поступают на кофакторы НАД⁺ и ФАД, которые передают их в дыхательные цепи. Передвигаясь от одного переносчика электронов к другому, электроны опускаются на все более низкие энергетические уровни, отдавая **порциями** свою энергию. В последнем звене цепи они восстанавливают молекулярный кислород. Освобожденная при переносе электронов по дыхательной цепи энергия запасается в фосфатных связях АТФ.

Синтез АТФ из АДФ и фосфорной кислоты, который происходит с использованием энергии, освобождающейся при окислении веществ и сопряжен с переносом электронов по дыхательной цепи, называется окислительным фосфорилированием.

Окислительное фосфорилирование было открыто в начале 30-х годов XX в. В.А. Энгельгардтом.

Коэффициент окислительного фосфорилирования (К) – это отношение количества неорганического фосфата, потребляемого в процессе дыхания, к количеству кислорода: P/O, т.е. К показывает число молей АТФ, образующихся из АДФ и P_n на 1 грамм-атом поглощенного O₂. Предложен в 1939г. В.А. Белицером.

Экспериментально установлено, что для субстратов, окисляющихся в полной дыхательной цепи (яблочная, пировиноградная, изолимонная кислоты) этот коэффициент равен 3, т.е. синтезируется 3 АТФ

на каждый атом O_2 , а для субстратов неполной дыхательной цепи – (сукцинат) – 2 (соответственно образуется 2 молекулы АТФ).

2. Участки сопряжения в дыхательной цепи

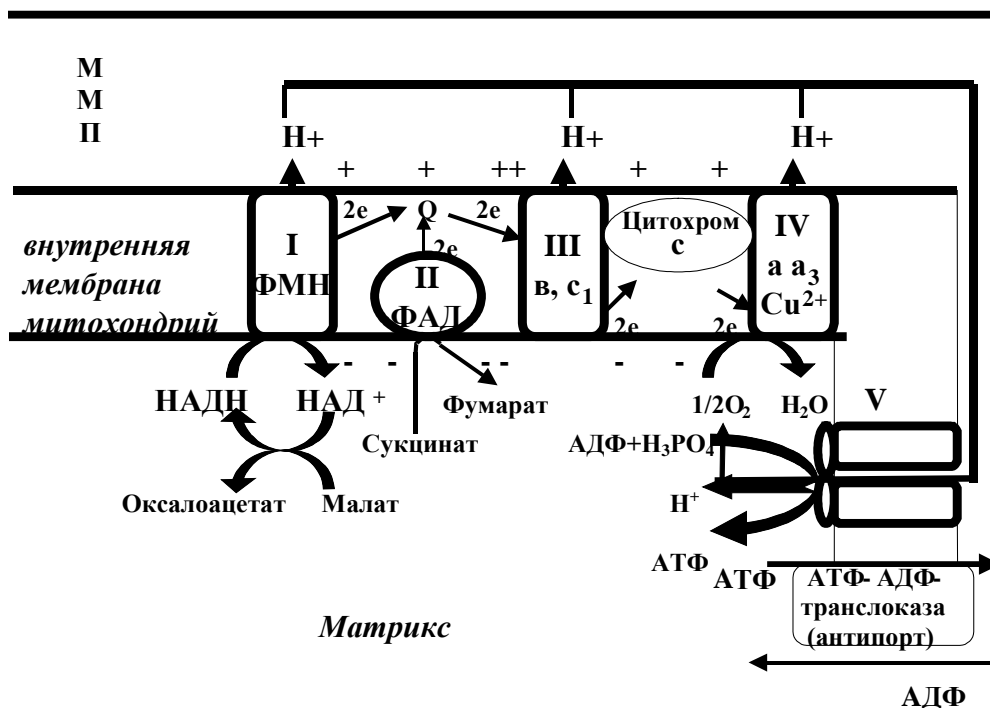
Образование АТФ возможно в тех участках дыхательной цепи, где изменение свободной энергии при переносе электронов превышает изменение свободной энергии гидролиза АТФ, т.е. 30,5 кДж/моль. Этой величине соответствует величина редокс-потенциала 0,22 В. В полной дыхательной цепи есть 3 участка, отвечающих этим требованиям.

Участки сопряжения в полной дыхательной цепи

1. Между НАД-зависимой дегидрогеназой и ФМН-зависимой дегидрогеназой (комплекс I);
2. Между цитохромами «в» и «с» (комплекс III);
3. Между цитохромоксидазой и кислородом (комплекс IV).

В этих участках возможен синтез АТФ. Их называют участками сопряжения окисления и фосфорилирования. Здесь расположены ферменты дыхательной цепи (комплексы I, III и IV) и фермент синтеза АТФ – АТФ синтаза.

Сопряжение дыхания и синтеза АТФ Наружная мембрана митохондрии



В местах расположения комплексов I, III и IV энергия переноса электронов используется для выкачивания протонов в межмембранное

пространство, т.е. возникает электрохимический потенциал (ЭХП). В настоящее время существует неясность в отношении механизма выделения протонов, но его реальное существование не вызывает сомнений. Возвращение протонов обратно в матрикс происходит через канал АТФ синтазы, в этот момент синтезируется АТФ.

При переносе электронов через всю дыхательную цепь от НАДН+Н⁺ к атому кислорода изменение свободной энергии составляет ~ 220 кДж/моль, а синтезируется 3 АТФ – т.е. 30,5·3=91,5 кДж/моль. Отсюда КПД дыхательной цепи ~ 41%. Остальная часть энергии рассеивается в виде тепла.

КПД полной дыхательной цепи

Энергия окисления субстратов – 220 кДж/моль. Синтез АТФ - 30,5·3=91,5 кДж/моль. 30,5 кДж/моль – нужно для синтеза 1 АТФ; 3 – количество синтезируемой АТФ в ПДЦ.

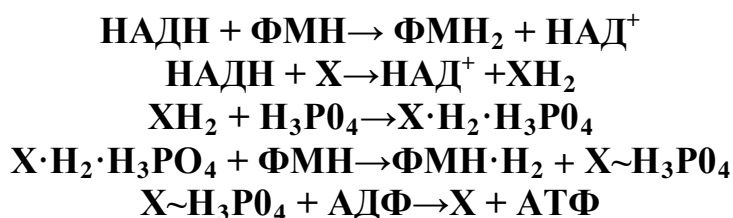
$$\text{КПД} = \frac{91,5 \times 100}{220} \approx 41\%$$

3. Гипотезы механизма окислительного фосфорилирования

Вопрос о механизме окислительного фосфорилирования – это выяснение того, как энергия переноса электронов по дыхательной цепи трансформируется в энергию фосфатных связей АТФ. Для объяснения этого явления было предложено много гипотез, заслуживают внимания – 3.

1. Гипотеза химического сопряжения. Предложена Липманом, Слейтером, Ленинджером. Она рассматривает окислительное фосфорилирование по аналогии с субстратным фосфорилированием.

Механизм синтеза АТФ на 1 участке сопряжения:



Макроэрг передается на АДФ и образуется АТФ.



Сторонники этой гипотезы помещают в участки сопряжения гипотетические вещества, которые забирают протоны и электроны от первого участника пункта сопряжения и взаимодействуют с H_3PO_4 . В момент отдачи протонов и электронов второму участнику пункта сопряжения, связь с фосфатом становится макроэргической.

Недостаток: до сих пор не открыли эти соединения.

2. Механохимическая или конформационная (Грин, Бойер, 60-е годы). Согласно этой гипотезе в процессе переноса протонов и электронов изменяется конформация белков-ферментов. Они переходят в новое, богатое энергией конформационное состояние, а затем при возвращении в исходную конформацию отдают энергию для синтеза АТФ:



И действительно, прямые эксперименты показывают, что митохондрии могут сокращаться и расслабляться; на электронных фотографиях видно, что в покое внутренняя мембрана митохондрий шире, чем в процессе дыхания. Но связано ли это напрямую с синтезом АТФ – не известно.

3. Хемиосмотическая гипотеза Митчелла.

Была сформулирована в 1961 г., многое для ее доказательства сделано В.П. Скулачевым. В 1978 г. Митчелл получил за нее Нобелевскую премию.

Гипотеза опирается на следующие положения:

1. Внутренняя мембрана митохондрий обладает высоким электрическим сопротивлением и очень низкой проницаемостью для протонов и гидроксид-ионов.

2. В ходе дыхания протоны скапливаются в межмембранном пространстве (ММП), т.е. возникает электрохимический потенциал (ЭХП).

3. Протоны могут вернуться в матрикс только через канал АТФ-синтазы. В этот момент происходит разрядка мембраны и синтез АТФ.



Все эти предположения в настоящее время экспериментально доказаны.

Предполагается, что во внутренней мембране митохондрий содержится система ферментов – протонных насосов, приводимых в действие переносом электронов по дыхательной цепи. Используя энергию, выделяющуюся при переносе электронов, насосы выкачивают протоны из матрикса в ММП. В результате наружная сторона мембраны получает (+) заряд. В матриксе митохондрий образуется избыток OH^- , т.е.

внутренняя сторона мембраны заряжается (-). Таким образом на внутренней мембране митохондрий одновременно с градиентом концентрации протонов создается и градиент электрического потенциала – возникает ЭХП. Т.е. химическая энергия окисления трансформировалась в энергию ЭХП.

Избыток протонов из ММП стремится вернуться в матрикс по градиенту концентрации. Поскольку мембрана для них непроницаема, они двигаются по специальному протонному каналу АТФ-синтазы. Именно этот поток протонов и служит движущей силой для синтеза АТФ.

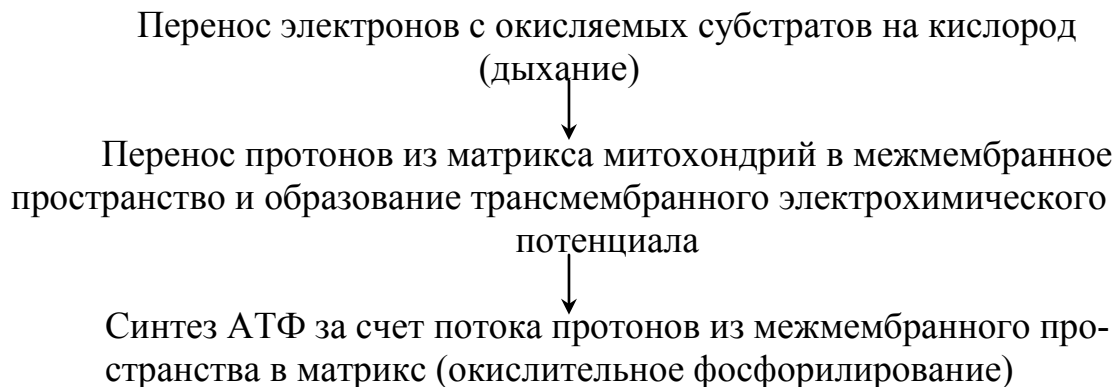
Согласно гипотезе Митчелла на каждые два протона, прошедшие через мембрану, синтезируется 1 молекула АТФ. Следовательно, цепь переноса электронов должна содержать 3 протонных насоса, соответствующих трем участкам фосфорилирования. Каждая пара электронов от субстратов окисления, транспортируемая от НАДН к кислороду, как бы извлекает три пары ионов H^+ из матрикса в межмембранное пространство, в результате при переносе двух электронов образуется 3 молекулы АТФ.

В момент возврата протонов из ММП в матрикс происходит разрядка мембраны и освобожденная энергия ЭХП идет на синтез АТФ.



Что же не доказано в этой гипотезе: 1) точная локализация протонных насосов, 2) механизм перехода электрической энергии в химическую энергию связей АТФ.

Гипотеза Митчелла



4. Строение H^+ АТФсинтазного комплекса (или АТФсинтазы)

Этот комплекс по форме напоминает гриб, ножка которого погружена в мембрану, а круглая шляпка выступает наружу.

Состоит из растворимой АТФазы (фактор F_1) и мембранных компонентов (комплекс F_0). F_1 располагается на поверхности внутренней мембраны со стороны матрикса и обладает **каталитической активностью** синтеза или гидролиза АТФ. Комплекс F_0 состоит из нескольких полипептидных субъединиц, он образует **протонный канал** в мембране.

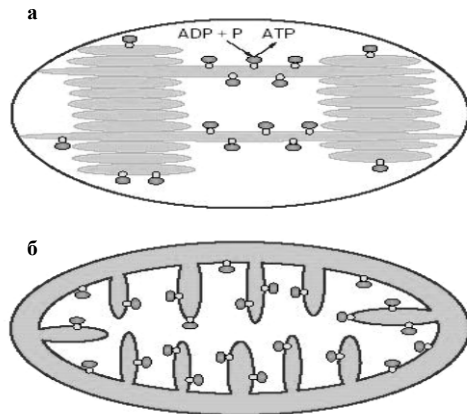
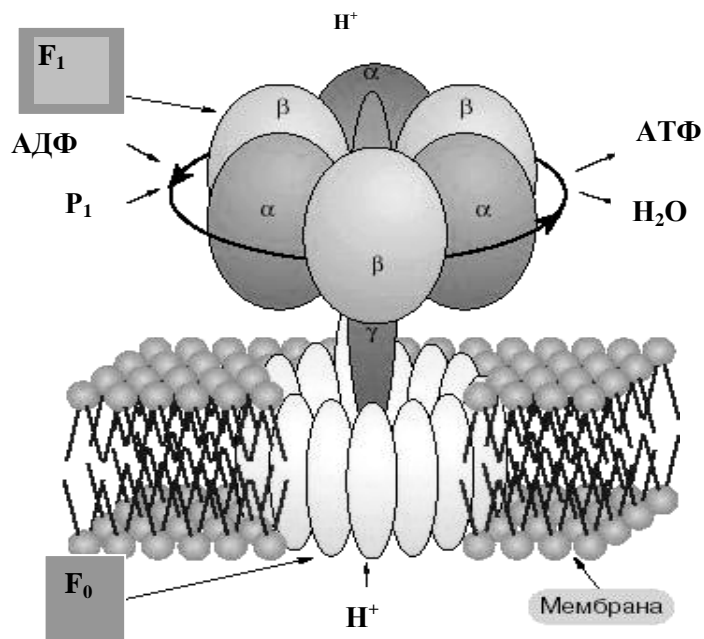


Схема расположения H^+ АТФсинтазных комплексов в мембранах хлоропластов (а) и митохондрий (б)

Пространственное строение H^+ АТФсинтазного комплекса



Роль АТФазы заключается в следующем:

1. Перенос протонов из ММП в матрикс – осуществляется протонным каналом F_0 .
2. Гидролиз АТФ – осуществляется фактором F_1 .
3. Синтез АТФ – осуществляется комплексом $F_0 - F_1$.

До сих пор не раскрыт механизм превращения энергии тока протонов (или энергии «разрядки» мембраны) в энергию АТФ. Возможно, это происходит следующим образом. Субъединица F_1 имеет два центра связывания: первый – с АДФ, другой – с H_3PO_4 . Причем фосфат присоединяется к F_1 вблизи отверстия протонного канала (субъединицы F_0). Протоны, двигаясь через канал из ММП в матрикс, сталкиваются с фосфатом, отрывают от него один атом кислорода. В результате образуется высокореактивный богатый энергией радикал фосфорил. Он самопроизвольно присоединяется к АДФ, образуя АТФ.

5. Дыхательный контроль

Для синтеза АТФ в процессе тканевого дыхания необходимо наличие:

- 1) Субстратов окисления.
- 2) O_2 .
- 3) Субстратов фосфорилирования, т.е. АДФ и Рн.

В зависимости от соотношения этих компонентов различают 5 состояний дыхательной цепи:

1. Нет субстратов окисления и субстратов фосфорилирования. Скорость дыхания очень низкая.

2. Нет субстратов окисления, а субстратов фосфорилирования достаточно. Дыхание ограничено.

3. Активное дыхание. В избытке субстраты окисления и фосфорилирования. Скорость дыхания высокая. Происходит синтез АТФ. В результате уменьшается содержание АДФ и дыхание переходит в состояние 4.

4. Состояние дыхательного контроля. Когда весь АДФ превратится в АТФ, дыхание затормозится. На сопрягающей мембране накапливается ЭХП, т.к. мембрана не может разрядиться из-за отсутствия АДФ. Мембранный потенциал препятствует движению электронов по дыхательной цепи, т.е. прекратится и окисление субстратов. Возврат в состояние 3 (активное дыхание) возможен при расходе АТФ и увеличении концентрации АДФ.

5. Нет O_2 – дыхание прекращается (анаэробноз).

Дыхание дает энергию для синтеза АТФ. Много АТФ – не нужно окислять субстраты, т.е. не нужно дыхание. Мало АТФ (много АДФ) – дыхание ускоряется. Следовательно, регуляция цепи переноса электронов или скорости дыхания осуществляется отношением АТФ/АДФ. Чем **меньше** это отношение (преобладание АДФ), тем **интенсивнее идет дыхание**, обеспечивая выработку АТФ.

Изменение скорости дыхания с изменением концентрации АДФ носит название **дыхательного контроля**.

Пример. Для состояния покоя в мышцах характерна низкая скорость дыхания, низкая концентрация АДФ и высокая – АТФ. Если вызвать ряд сокращений мышцы, то $АТФ \rightarrow АДФ + P_n$, т. е. увеличится концентрация АДФ. Это приводит к повышению скорости дыхания (иногда в 100 раз), что в свою очередь, приведет к превращению АДФ в АТФ. Высокая скорость дыхания будет сохраняться до тех пор, пока АТФ-зависимая сократительная система будет функционировать и поставлять АДФ.

6. Разобщители тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования

Сопряжение между дыханием и синтезом АТФ может быть нарушено разобщителями. **Разобщители нарушают дыхательный контроль (т.е. стимулируют дыхание в отсутствие синтеза АТФ)** и стимулируют гидролиз АТФ в митохондриях.

Механизм действия разобщителей стал хорошо понятен после гипотезы Митчелла. Основное ядро этой гипотезы – создание ЭХП за счет избирательной проницаемости внутренней мембраны митохондрий для протонов. Если мембрана потеряет эту избирательность, т.е. протоны смогут проходить через мембрану в любом месте, не будет создаваться ЭХП, а значит, не будет синтезироваться АТФ, т.е. энергия окисления будет рассеиваться в виде тепла. Оказалось, что все разобщители имели общее свойство: они являлись **протонофорами** – т.е. переносчиками протонов. Они переносят протоны через мембрану в любом месте, а не только в пунктах сопряжения, это приводит к выравниванию градиента рН и мембранного потенциала. Энергия окисления рассеивается в виде тепла. Ученые В.П. Скулачев, Либерман показали, что разобщители резко понижают сопротивление мембран, т.е. экспериментально доказали гипотезу Митчелла.

В норме ~ 60% энергии окисления рассеивается в виде тепла. В этом заключается **терморегуляторная функция** тканевого дыхания.

Не может ли организм воспользоваться разобщением при неблагоприятных внешних условиях, например при переохлаждении? Здесь весьма кстати старая пословица «Не до жиру, быть бы живу». Лучшие уж обойтись без синтеза АТФ, чем окоченеть на морозе. Надежным подтверждением этого послужили остроумные опыты В.П. Скулачева (1958-1960), в то время аспиранта кафедры биохимии животных МГУ. Предоставим слово самому автору. «Мне не приходилось видеть ничего более жалкого, чем голубь без перьев. Дрожащий, иссиня-красный комочек стыдливо переминающийся с ноги на ногу и поглядывающий с укоризной на своих мучителей. Нет, такой не вынесет двадцатиградусного мороза с ветром. Спустя полчаса после начала охлаждения, мы

вынули из холодильника полумертвую птицу с температурой тела около 30 °С, вместо нормальной для голубя 41,5 °С. Измерили дыхание и синтез АТФ в мышечных митохондриях. Оба показателя были близки к норме. Дыхание по-прежнему сопровождалось синтезом АТФ... Поведение голубя при повторном охлаждении на следующий день разительно отличалось от той трагической картины, что мы видели накануне. Снизив свою температуру на 2-3 °С, голубь умудрился каким-то образом остановить дальнейшее остывание тела. Через 3 часа после начала охлаждения, заглянув в очередной раз в холодильник, мы обнаружили, что голубь ведет себя вполне бодро и как-то даже агрессивно по-сматривает на нас из своего ледяного плена. Ну, как там его митохондрии? Есть разобщение? Дыхание отключилось от синтеза АТФ. Энергия больше не накапливалась, а тотчас превращалась в тепло.

Потом такой же опыт был проделан на мышах, и вновь при повторном охлаждении наблюдалось разобщение дыхания и фосфорилирования. Охлаждаясь впервые, мыши, как и голуби (в наших суровых условиях опыта), отключить синтез АТФ не умели и гибли, если охлаждение не прекращалось. Им удалось продлить жизнь инъекцией искусственного разобщителя — динитрофенола... Впоследствии оказалось, что в разобщении на холоду замешаны свободные жирные кислоты, которые действительно повышают протонную проводимость мембраны».

Справедливости ради добавим, что подобные опыты, правда в несовершенном виде, проводились в России еще в XVIII столетии, когда небезызвестная императрица Анна украшала, прибегая к услугам своего фаворита Бирона, ледяные дворцы статуями из прижизненно замороженных крепостных крестьян. В несколько ином ключе, уже в нашем веке, решали вопрос некоторые западные бизнесмены. Они продавали разобщители окислительного фосфорилирования желающим похудеть или улучшить фигуру. К сожалению, во многих случаях пациент, приобретающий изящные формы, вскоре становился клиентом похоронного бюро.

Действие разобщителей

При действии разобщителей (лекарственные препараты – аминобарбитал, валиномицин, 2,4-динитрофенол, продукты жизнедеятельности микробов) более 60% энергии окисления идет на образование тепла → гипертермия.

Существуют эндогенные разобщители – фенолы, ненасыщенные жирные кислоты и их пероксиды.

Разобщение окисления и фосфорилирования наблюдается при действии экстремальных температур, радиации.

У новорожденных находится особый бурый жир, богатый митохондриями. Особенность этих митохондрий – на внутренней мембране очень мало пунктов сопряжения, а значит, почти вся энергия окисления рассеивается в виде тепла. Это имеет значение для защиты ЦНС ребенка от возможного переохлаждения, т.к. у них еще плохая терморегуляция.

Известно, что в бурой жировой ткани имеются специфические белки-термогенины, которые могут разобщать дыхание и фосфорилирование, участвуя в переносе протонов в матрикс митохондрий.

При охлаждении из симпатических нервных окончаний в бурой ткани освобождается норадреналин и выполняет двойную функцию: во-первых, он активирует термогенины, а во-вторых, в адипоцитах он активирует гормоночувствительную триглицеринлипазу и стимулирует высвобождение жирных кислот.

В свою очередь выделение норадреналина стимулируется тиреоидными гормонами, концентрация которых в крови повышается при охлаждении.

7. Гипоэнергетические состояния

Если на синтез АТФ идет меньше энергии, чем обычно, то наступает гипоэнергетическое состояние.

Причины развития гипоэнергетических состояний:

- 1) Нарушена доставка субстратов окисления (голод).
- 2) Нарушено поступление O_2 (гипоксия).
 - снижение концентрации кислорода в воздухе;
 - нарушения работы сердечно-сосудистой и дыхательной систем, которые обеспечивают доставку кислорода к клеткам;
 - анемия различного происхождения.
- 3) Повреждение внутренней мембраны митохондрий (или действуют разобщители).
- 4) Различные типы гиповитаминозов – нехватка витаминов РР, В₂, В₁ и др., из которых образуются коферменты, участвующие в реакциях энергетического обмена.

Лекция 9

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ, НЕ СВЯЗАННЫЕ С ЗАПАСАНИЕМ ЭНЕРГИИ

1. Свободное окисление. Роль в теплопродукции

Свободное окисление

Тканевое дыхание, происходящее без сопряжения с окислительным фосфорилированием, называется свободным.

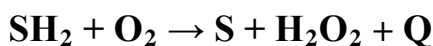
Свободное дыхание участвует:

1. В терморегуляторном образовании теплоты.
2. В образовании или разрушении метаболитов.
3. Детоксикации ксенобиотиков.

Выделяющаяся при этом энергия окисления рассеивается в виде тепла. Свободное дыхание (окисление) объединяет как разобщенные, так и первично не сопряженные дыхательные системы.

1.1. Первично не сопряженные дыхательные системы

Пероксидазный путь окисления – это окисление субстрата путем дегидрирования, водород сразу переносится на кислород с образованием перекиси – H_2O_2 .



Энергия окисления рассеивается в виде тепла. Это простые окислительные системы. Окисление происходит с участием аэробных дегидрогеназ. Это флавопротеины, содержащие в качестве простетической группы ФАД или ФМН. Часто в их состав входят и металлы, т.е. они являются металлофлавопротеинами. В клетке около 80% этих ферментов сосредоточено в пероксисомах. Кроме того, они встречаются в мембранах, соприкасающихся с цитозолем. Субстратами окисления служат альдегиды, амины, D и L аминокислоты, пурины. Некоторые из них токсичны для организма.

Интенсивно проходит пероксидазное окисление в лейкоцитах, макрофагах и др. клетках, способных к фагоцитозу. Это связано с тем, что образующаяся H_2O_2 используется для обезвреживания бактерий, распада токсичных продуктов. Однако избыточное накопление H_2O_2 токсично, т.к. оно ведет к генерации свободных радикалов, повреждающих мембраны клеток. Поэтому простые окислительные системы требуют дополнительных ферментов для обезвреживания H_2O_2 . Это ферменты пероксидаза, каталаза.

Оксигеназный путь окисления. Оксигеназы подразделяются на 2 подгруппы.

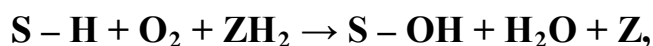
1. Диоксигеназы (кислород-трансферазы, истинные оксигеназы). Катализируют включение в молекулу субстрата обоих атомов молекулы O_2 . Например: гомогентизатоксигеназа катализирует разрыв ароматического кольца гомогентизиновой кислоты. При врожденном дефекте данного фермента в моче больного накапливается гомогентизиновая кислота. Она под действием воздуха окисляется в пигмент черного цвета – алкаптон, который выделяется с мочой и развивается алкаптонурия (моча черного цвета).

Оксигеназы участвуют в синтезе и деградации многих типов метаболитов. Включение кислорода происходит в две стадии:

1. O_2 связывает с активным центром фермента,
2. Происходит реакция, в результате которой связанный O_2 восстанавливается или переносится на субстрат.

Эти ферменты могут содержать в качестве активной группы гем или негемовое Fe. Чаще всего они катализируют разрыв двойной связи в ароматическом кольце.

2. Моноксигеназы (оксидазы со смешанной функцией, гидроксилазы). Эти ферменты катализируют включение в субстрат только одного из атомов молекулы кислорода. Другой атом кислорода восстанавливается до воды. Для этой цели необходим дополнительный донор водорода (косубстрат).



где **Z** – косубстрат.

Моноксигеназы часто участвуют в метаболизме лекарств. В ходе моноксигеназного окисления повышается растворимость веществ, могут появляться новые фармакологические свойства. Моноксигеназный путь окисления локализован в мембранах эндоплазматического ретикулума. При разрушении клетки мембраны эндоплазматического ретикулума собираются вместе, образуя пузырьки – микросомы. Отсюда часто моноксигеназный путь окисления называют кратко – **микросомальное окисление**.

Для работы моноксигеназной системы необходимы следующие основные компоненты:

1. неполярный окисляемый субстрат;
2. Кислород;
3. Дополнительный субстрат (косубстрат) – донор водорода – НАДФН₂;
4. Цитохромы P₄₅₀.

Цитохромы P₄₅₀ получили свое название вследствие способности

в виде восстановленного комплекса иметь максимум поглощения при длине волны 450 нм. Цитохром P₄₅₀ выполняет двойную функцию:

- 1) Связывает субстрат окисления,
- 2) Проводит активацию молекулярного O₂.

Микросомальное окисление представляет собой короткую цепь, состоящую из НАДФН₂, ФАД, железосерных белков, цитохромов P₄₅₀, в5, флавопротеинов, содержащих ФАД.

В общем виде микросомальное окисление неполярных ксенобиотиков (лекарств) осуществляется с помощью гидроксилазного цикла. Вначале первый (основной) субстрат окисления R-CH₃ в мембране связывается с цитохромом P₄₅₀, железо в котором в форме Fe³⁺. Чтобы к этому комплексу R-CH₃ присоединился O₂, нужно Fe²⁺. Поэтому одновременно с этой реакцией НАДФН₂ (косубстрат) окисляется флавопротеином, протоны и электроны передаются на ФАД и затем с помощью FeS белков происходит разделение потоков протонов и электронов. Первый электрон восстанавливает Fe³⁺ в Fe²⁺ в комплексе цитохром P₄₅₀-R-CH₃. Этот комплекс может уже связать молекулу O₂. Второй электрон от FeS активирует молекулу O₂ в комплексе и образуется свободный радикал кислорода, он очень активный и происходит введение одного атома O₂ в субстрат с образованием гидроксильной группы, а второй атом O₂ – соединяется с двумя протонами, образуя H₂O. В результате гидрофобный субстрат приобретает гидрофильные свойства, т.е. возможность выведения из организма с мочой. Так окисляются многие ксенобиотики, лекарства (морфин, фенobarбитал). В настоящее время известно свыше 7000 соединений способных окисляться монооксигеназными системами. Это основной путь обезвреживания и выведения ксенобиотиков. К сожалению, есть и исключения: монооксигеназная цепь, окисляя нетоксичный бензпирен (табачный дым, копчености) приводит к образованию токсичного оксипирена – сильного канцерогена. Это летальный синтез.

Монооксигеназная цепь содержится также в митохондриях на внутренней стороне внутренней мембраны. Она выполняет биосинтетическую роль, т.е. введение ОН-группы при синтезе стероидных гормонов из холестерина в коре надпочечников, тестикулах, яичниках, плаценте. Таким путем образуется активная форма витамина Д в печени – 1,25-дигидроксиголекальциферол, желчные кислоты из холестерина в печени.

2. Свободно-радикальное окисление

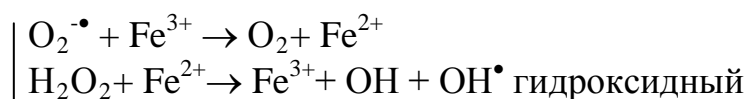
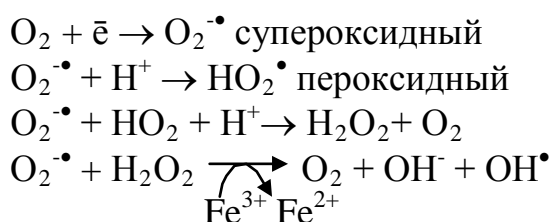
Кислород – потенциально токсическое вещество, до сих пор его токсичность связывали с образованием H₂O₂. В настоящее время токсичность O₂ связывают с его свободнорадикальными формами.

Под свободным радикалом понимают молекулу или ее часть, имеющую неспаренный электрон на молекулярной или на внешней (валентной) атомной орбитале.

Молекулярный O_2 парамагнитен и обладает двумя не спаренными электронами. Они находятся на разных орбиталях. Восстановление O_2 путем прямого введения пары электронов в его частично заполненные орбитали затруднено, т.к. существует «спиновый» запрет. **Спиновый запрет – на орбитали могут находиться два электрона с разнонаправленными спинами, т.е. присоединение пары электронов должно сопровождаться «обращением» спина одного из электронов.** Спиновый запрет восстановления кислорода может быть преодолен последовательным добавлением одиночных электронов. Поэтому O_2 легко вступает в реакции с веществами, содержащими одиночные неспаренные электроны. В одноэлектронных реакциях восстановления O_2 участвуют свободнорадикальные промежуточные продукты. Полное восстановление O_2 до H_2O требует четырех электронов.

При одноэлектронном восстановлении в качестве промежуточных продуктов возникают 1) супероксидный анион $O_2^{\cdot-}$, 2) пероксид H_2O_2 ; 3) гидроксидный радикал OH^{\cdot} . Эти продукты очень реакционноспособны, и их присутствие может представлять угрозу для целостности живых систем. **OH^{\cdot} – наиболее мутагенный продукт** ионизирующей радиации, представляет собой чрезвычайно мощный окислитель, который **может атаковать все органические соединения.** Одноэлектронное восстановление инициирует цепь реакций, которые ведут к образованию OH^{\cdot} .

Образование свободных радикалов:

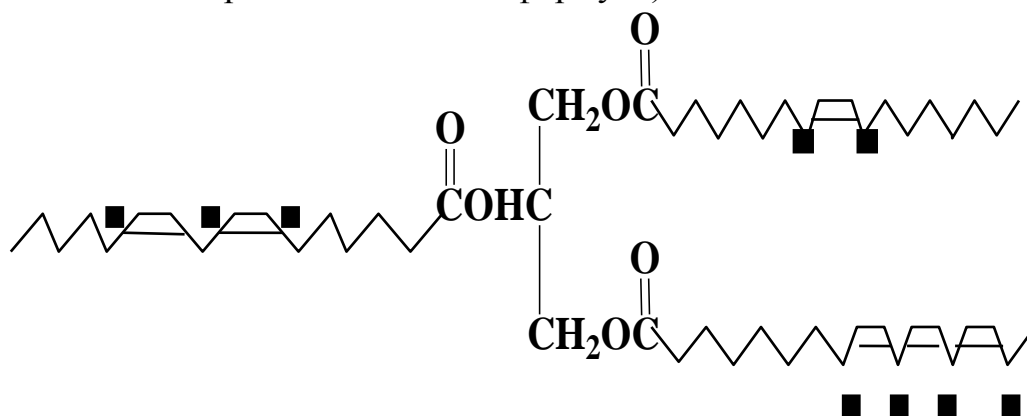


В процессе тканевого дыхания происходит одноэлектронный перенос, т.е. всегда имеются возможности для генерации свободных радикалов.

3. Пероксидация жирных кислот

Хорошо известно, что жиры при длительном хранении в условиях доступа кислорода и света подвергаются прогорканию, что связано с

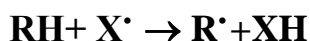
аутоокислением ненасыщенных жирных кислот. Нечто подобное происходит и в животном организме. **Аутоокисление жиров, протекающее в органах и тканях, называют липидной пероксидацией**, так как этот процесс происходит с образованием перекисей и гидроперекисей ненасыщенных жирных кислот. Пероксидация жирных кислот может быть инициирована любым веществом, способным «атаковать» и захватывать атом водорода метиленовой группы, оставляя, таким образом, неспаренный электрон при углероде. Удаление водорода протекает легче у метиленовой группы, находящейся в непосредственной близости к ненасыщенной связи (углеродные атомы, вовлекаемые в пероксидацию, помечены в приведенной ниже формуле):



Чем больше содержится в жирной кислоте ненасыщенных связей, тем интенсивнее протекает ее пероксидация. Пероксидацию относят к категории свободнорадикального окисления; ее активно инициируют постоянно возникающие в животных тканях первичные кислородные радикалы, такие, как $O_2^{\cdot -}$ (супероксид), HO_2^{\cdot} (гидроперекисный радикал), HO^{\cdot} (гидроксильный радикал), взаимодействие с которыми приводит к переносу радикального состояния на молекулу жирной кислоты, т. е. к образованию липидных радикалов и перекисей.

Процесс пероксидации жирной кислоты включает следующие 3 стадии:

I стадия – инициация (образование свободного липидного радикала R^{\cdot} из предшественника):

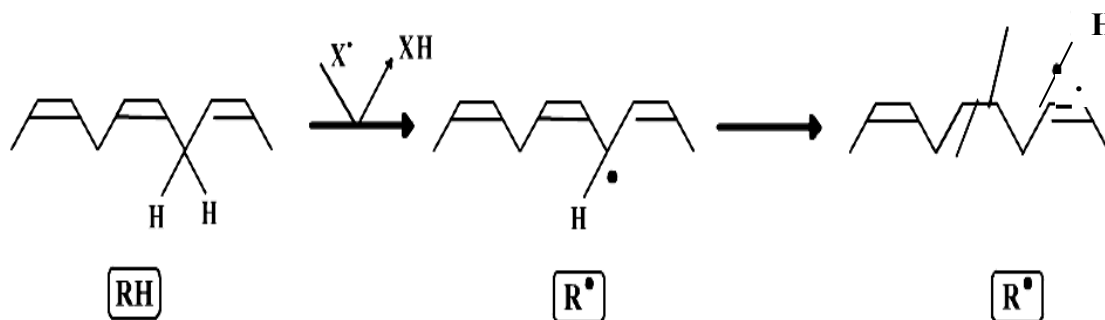


где **RH** – ненасыщенная жирная кислота, входящая в состав триацил-глицеринов, фосфолипидов, эфиров холестерина;

X^{\cdot} – первичный свободный радикал.

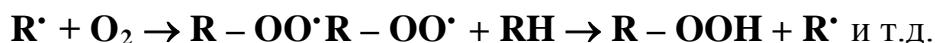
I стадия пероксидации может быть представлена в следующем виде:

На этой стадии окисление полиненасыщенных жирных кислот может завершаться перегруппировкой разделенных метиленовой групп-



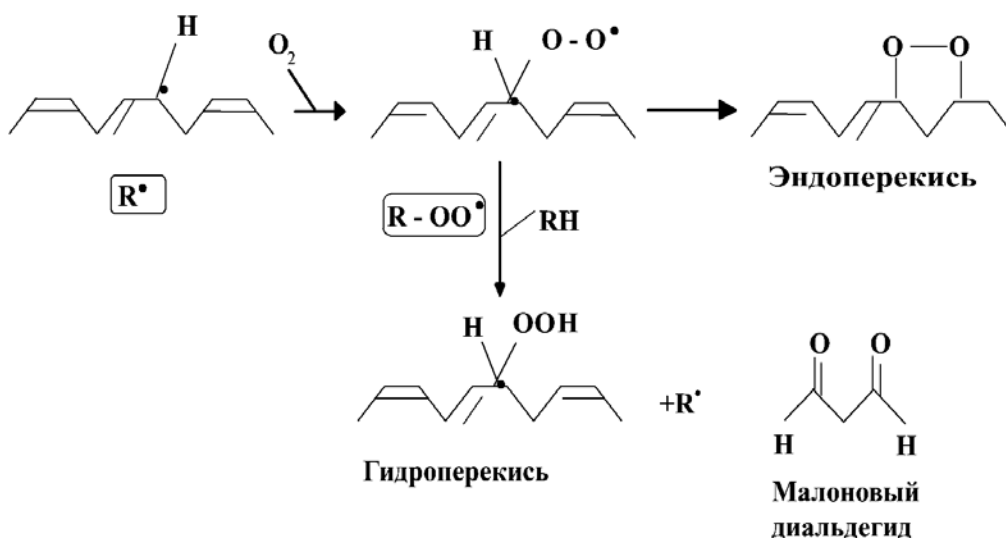
пой двойных связей в сопряженную диеновую и даже триеновую структуру. Образуются так называемые конъюгированные *диены и триены*, определение которых иногда проводят для оценки интенсивности перекисного окисления липидов.

II стадия – развитие цепных реакций. Образовавшийся липидный радикал (R), быстро реагирует с молекулярным кислородом.

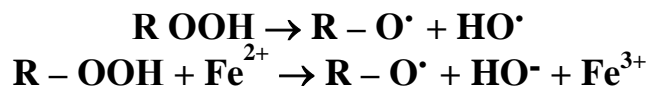


Как видно, перекисный радикал R-OO[•] вступает во взаимодействие с новой молекулой ненасыщенной жирной кислоты (RH); при этом образуется липидная гидроперекись R-OOH и вновь появляется свободный липидный радикал R[•]. Это придает всему процессу перекисидации **цепной характер**. Схематически эта стадия перекисидации представляется в следующем виде:

Часть липидных гидроперекисей подвергается распаду, давая образование различных альдегидов, в том числе и малонового. Определение последнего часто используют для оценки перекисидации в целом.



Другая часть гидроперекисей образует свободные радикалы:

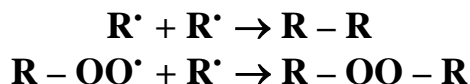


Последние вступают во взаимодействие с новыми порциями жирных кислот, придавая цепной реакции лавинообразный характер. Считается, что именно гидроперекиси жирных кислот (**R-OOH**) являются **главным пусковым механизмом пероксидации**. Развитию процесса способствует наличие ионов двухвалентного железа и других переходных металлов, например, меди.

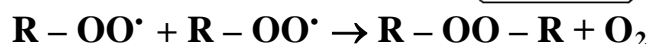
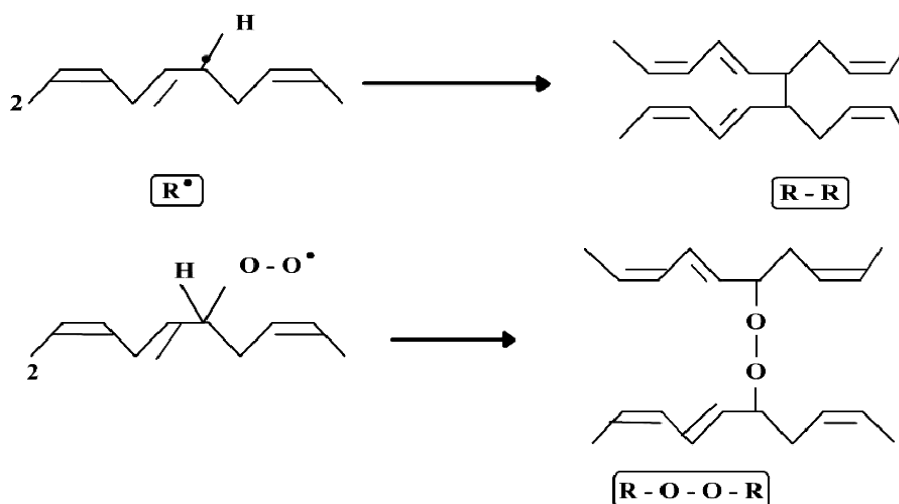
Добавление этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), связывающей ионы этих металлов, активно задерживает пероксидацию *in vitro*.

III стадия – завершение (образование продуктов, не содержащих свободных липидных радикалов).

Часть свободных радикалов рекомбинирует друг с другом, образуя неактивные продукты:



На этой стадии, собственно, и завершается пероксидация жирных кислот. Очень сходно подвергаются пероксидации ненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав фосфолипидов и эфиров холестерина.



Наиболее устойчивы к пероксидации **сфингомиелины**, характеризующиеся наименьшей ненасыщенностью входящих в них жирных кислот (нервная ткань, мозг!). По сообщениям Е. М. Крепса (1981), в мозговой ткани мамонтов, пролежавших свыше 40000 лет в условиях

вечной мерзлоты в Сибири, сфингомиелины полностью сохранились, тогда как глицерофосфолипиды разрушились, вероятно, в результате окислительной дегградации.

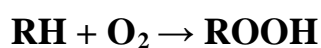
Перекисное окисление липидов (ПОЛ) в организме происходит не только спонтанно, но и в результате ряда ферментных реакций. Примером может служить окисление полиненасыщенных жирных кислот, протекающее в тромбоцитах и лейкоцитах при действии микросомных липоксигеназ. Если жирная кислота содержит не менее трех двойных связей, то при ее окислении липоксигеназами одним из конечных продуктов является малоновый диальдегид (МДА) (например, при превращении арахидоновой кислоты в простагландины в тромбоцитах).

4. Активные формы кислорода (АФК)

Основное количество потребляемого O_2 (95-98%) расходуется на выработку энергии и окислительный катаболизм субстратов. Относительно небольшая часть (2-5%) переходит в активные формы кислорода (АФК) и затем частично используется для окислительной модификации (ОМ) макромолекул.

Термин “АФК” шире, чем “свободные радикалы кислорода” ($O_2^{\cdot-}$, HO^{\cdot}), так как кроме последних включает также молекулы H_2O_2 , синглетный кислород 1O_2 , озон O_3 и гипохлорит $HOCl$.

АФК генерируются во всех частях клетки. Наибольший вклад вносит дыхательная цепь митохондрий, особенно при **низкой концентрации АДФ**. Важна роль и системы цитохрома P_{450} , локализованной в эндоплазматической сети. Участвуют ядерная мембрана и другие части клетки, при этом АФК часто возникают не только спонтанно, но и ферментативно (НАДФН-оксидаза дыхательного взрыва в плазматической мембране и ксантиноксидаза в гиалоплазме). АФК вызывают образование **органических гидропероксидов ROOH** – ДНК, белков, липидов, а также малых молекул. ROOH образуются и в реакции с обычным молекулярным O_2 при участии ферментов **диоксигеназ** или **циклооксигеназ**:



ROOH по своей структуре подобны H_2O_2 (R–O–O–H и H–O–O–H) и химически тоже активны, при последующем метаболизме они переходят в спирты, альдегиды, эпоксиды и другие окисленные соединения. Образование гидропероксидов называют **перекисным окислением** (пероксидацией), а совокупность изменений, происходящих в молекулах под действием АФК, называют **окислительной модификацией** молекул (ОМ).

На протяжении многих лет перекисное окисление липидов (ПОЛ) считали преимущественно спонтанным (неферментативным) и неспецифическим самоускоряющимся процессом и ему придавали ведущее значение в ОМ и ее последствиях. Однако затем стало ясно, что: 1) огромное значение имеют и ферментативные реакции, катализируемые липоксигеназами и циклооксигеназами – первыми ферментами путей, приводящих к образованию специфических регуляторов – эйкозаноидов; 2) большое значение имеет ОМ и других макромолекул – ДНК и белков, усиленно изучаемая в 90-е годы.

Биологическое значение

Долгое время основной акцент делали на вредных эффектах АФК и ОМ. Они действительно существуют, но теперь уже нет сомнений, что образование АФК и ОМ приносит и пользу.

Эйкозаноиды – это гормоны, производные C_{20} – полиненасыщенных жирных кислот типа арахидоновой. Их разделяют на циклические (простаноиды) и линейные (прежде всего лейкотриены). Промежуточными метаболитами являются пероксиды. Простаноиды защищают от повреждений клетки желудка, сердца и других органов. Лейкотриены, как и простаноиды, способствуют развитию воспаления (первично это полезная защитная реакция).

Серьезной проблемой для многоклеточных организмов является борьба с клетками-врагами. Важную роль в этом играют фагоциты (нейтрофилы и макрофаги), которые захватывают микроорганизмы, а затем убивают их, используя АФК в качестве основного оружия, повреждающего макромолекулы и мембраны путем их ОМ. **Макрофаги** разрушают поврежденные, старые или иммунологически несовместимые клетки, а также способствуют уничтожению злокачественных клеток и клеток, пораженных вирусами. **Остеокласты** (специализированные макрофаги) применяют АФК для разрушения кости – обязательного условия ее обновления. Во всех этих случаях клетки-защитники быстро поглощают большое количество O_2 (дыхательный взрыв) и затем используют его для образования АФК при помощи расположенной в плазматической мембране НАДФН-оксидазы дыхательного взрыва:



Важное значение АФК для защиты от бактерий доказывается тем, что при инактивирующей мутации этого фермента возникает хронический септический грануломатоз: фагоцитированные микроорганизмы остаются живыми, что приводит к повторным хроническим инфекциям. H_2O_2 используется также для окисления галоген-анионов: в нейтрофи-

лах Cl^- – для образования мощного окислителя гипохлорита HClO , также убивающего бактерии, а в щитовидной железе – I^- , что необходимо для синтеза гормонов иодтиронинов.

В последнее время обнаружены новые функции АФК – регуляторные. АФК стимулируют накопление в клетке вторичных посредников – **циклонуклеотидов**: цАМФ и цГМФ. АФК вызывают накопление ионов Ca^{2+} в цитозоле и стимуляцию фосфорилирования белков в результате активации протеинкиназ (особенно протеинкиназы С) и протеинтирозинкиназ и ингибирования протеинфосфатаз; активируют белок **Ras**, играющий важную роль в передаче сигналов в ядро клетки. Активно исследуется, не могут ли АФК сами прямо выполнять функции вторых посредников гормонов.

АФК и липидные ROOH в низких субтоксических концентрациях индуцируют такие процессы, как экспрессия генов и деление клеток. H_2O_2 , накапливающаяся при инвазии вирусов и бактерий, приводит к индукции ряда цитокинов и иммунных рецепторов и в результате к иммунным и воспалительным ответам, а также к индукции белков острой фазы воспаления и адгезии (последние способствуют выходу лейкоцитов в ткани, что важно при воспалении). Очевидно, роль АФК в защите организма шире, чем предполагалось ранее: она включает не только фагоцитоз опасных клеток, но и запуск других воспалительных реакций и иммунных процессов.

Патологические последствия возникают при чрезмерном накоплении АФК, пероксидов и их вторичных продуктов – состоянии, называемом обычно **оксидативным стрессом**, а факторы и вещества, способствующие этому, называют прооксидантами. Факторы, вызывающие оксидативный стресс, различны, но все они, в конечном счете вызывают ОМ макромолекул. Прежде всего это избыток O_2 , особенно при гипербарической **оксигенации** (лечении кислородом под повышенным давлением) и **реперфузии**, то есть возобновления кровотока после его нарушения из-за тромбоза (закупорки сосуда) или сильного спазма, характерных для инфаркта миокарда или инсульта головного мозга; значительная выраженность воспаления с активацией нейтрофилов и макрофагов также неизбежно приводит к накоплению АФК; к другим факторам относят избыток гема, Fe^{2+} и Cu^+ , ионизирующие и ультрафиолетовое излучения, курение, витамин Д, большие дозы витамина А и некоторые ксенобиотики.

Оксидативный стресс приводит к повреждению наиболее важных полимеров – нуклеиновых кислот, белков и липидов. Из АФК только HO^\bullet вызывает повреждения ДНК (окисление оснований, их модификации, разрывы цепей, повреждения хромосом), при этом сейчас считают, что АФК вызывают больше мутаций, чем другой класс мутагенов – алкилирующие вещества. Мутации могут привести к патологии и гибели

клеток или к их злокачественному перерождению (раки, лейкозы и др.), а мутации в ДНК половых клеток – к наследуемым заболеваниям. Высокие концентрации АФК и липидных гидропероксидов ингибируют синтез ДНК и деление клеток и могут активировать апоптоз (программированную смерть клеток), что полезно для организма, так как ценой гибели части клеток предупреждается прогрессирование злокачественных процессов и гибель целого организма.

ОМ белков, вызванная АФК, не только изменяет аминокислотные остатки, но и нарушает третичную структуру и даже вызывает агрегацию и денатурацию белка. В результате снижается или исчезает их многообразная функциональная активность.

ПОЛ прежде всего повреждает клеточные мембраны, кроме того, продукты ПОЛ (малоновый диальдегид и др.) являются мутагенными и цитотоксичными.

Избыток некоторых **эйкозаноидов** также дает патологические эффекты: тромбоз и гипертонию (тромбоксаны), гиперчувствительность, участие в патогенезе бронхиальной астмы, шока, инфаркта миокарда, язвы желудка (лейкотриены).

Все описанные нарушения могут серьезно или полностью дезорганизовать функционирование клеток и организма в целом, утяжелить или даже вызвать серьезные болезни и привести к смерти и/или наследственной патологии. Оксидативный стресс с накоплением в тканях и биологических жидкостях АФК и вторичных продуктов ОМ макромолекул обнаружен при многих (>60) болезнях и патологических синдромах, часто называемых **свободно-радикальной патологией**:

Заболевания, в возникновении которых участвуют активные формы кислорода:

- Атеросклероз: (коронарные, церебральные, ренальные, кишечные, периферические нарушения кровоснабжения).
- Сахарный диабет и диабетическая ангиопатия.
- Легочные заболевания: (хронический обструктивный бронхит, бронхиальная астма, эмфизема).
- Ревматико-воспалительные и дегенеративные заболевания суставов.
- Катаракта.
- Виды рака, возникающие из-за экзогенных факторов.
- Старость.
- Болезнь Паркинсона.
- Различные интоксикации.

В наших клетках каждую секунду образуются АФК, но мы продолжаем жить благодаря существованию системы сдерживания свободнорадикального окисления.

Антиокислительная система организма (АОС) – это система защиты организма от токсического действия кислорода.

АОС включает ферментативные и неферментативные компоненты.

Ферментативные: ферменты супероксиддисмутаза, пероксидаза, каталаза.

Супероксиддисмутаза – высокоактивный фермент, присутствующий во всех клетках, она инактивирует супероксидные радикалы.



Образующаяся токсичная перекись обезвреживается в дальнейшем ферментами каталазой или пероксидазой.

Пероксидаза – сложный фермент, содержащий геминное железо. Распространена в основном у растений, а так же в лейкоцитах, тромбоцитах. Для ее действия необходим дополнительный субстрат – донор водорода. В качестве такого дополнительного субстрата служат аскорбиновая кислота, хиноны, глутатион. Рассмотрим механизм действия глутатион-пероксидазы, присутствующей в эритроцитах. Глутатион-пероксидаза в качестве простетической группы содержит селен, донором водорода для обезвреживания H_2O_2 служит глутатион. Глутатион – это трипептид, содержащий цистеин, т.е. SH-группы:

Глутатионпероксидаза катализирует реакцию:



Каталаза: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

Каталаза – гемсодержащий фермент, находится в крови, костном мозге, слизистых оболочках, печени, почках. Для обезвреживания H_2O_2 не нужен дополнительный субстрат – донор водорода. В качестве донора водорода служит сам H_2O_2 , т.е. одна молекула H_2O_2 – донор водорода, а вторая – разрушается.

Неферментативная система защиты

1) Витамин Е – содержится в липидной фазе мембраны. Это жирорастворимый витамин. Он способен отдавать свой водород на перекисный радикал жирной кислоты, прерывая тем самым цепную реакцию перекисного окисления липидов (ПОЛ).

2) Водорастворимые соединения – аскорбиновая кислота, ураты.

3) Биорегуляторы – тироксин, стероидные гормоны.

4) Соединения с SH-группой – глутатион, цистеин.

5) Комплексоны – связывающие Fe.

Все антиоксиданты по механизму действия можно разделить на 2 группы:

1. Действуют на стадии инициации ПОЛ (превентивные) – каталаза, пероксидаза, комплексоны.
2. Прерывают цепные реакции ПОЛ – супероксиддисмутаза, витамины С, Е, ураты.

Лекция 10

ОБЩИЙ ПУТЬ КАТАБОЛИЗМА

В результате специфических путей катаболизма углеводов, липидов и аминокислот происходит сокращение числа превращающихся субстратов, и образуются только два общих промежуточных продукта – пировиноградная кислота и ацетил-КоА. Они вступают в общий путь катаболизма, который является единым продолжением специфических путей.

К общему пути катаболизма относят два процесса:

1. Окислительное декарбоксилирование пирувата.
2. Окисление ацетил-КоА в цикле трикарбоновых кислот.

Пируват является продуктом превращения углеводов (глюкозы), глицерина, гликогенных аминокислот. Ацетил-КоА образуется в митохондриях при:

1. Окислительном декарбоксилировании пирувата.
2. β -окислении высших жирных кислот.
3. Превращении кетогенных аминокислот.

Таким образом, в общий путь катаболизма могут вступать продукты специфических путей на уровне пирувата, ацетил-КоА и метаболитов цикла трикарбоновых кислот.

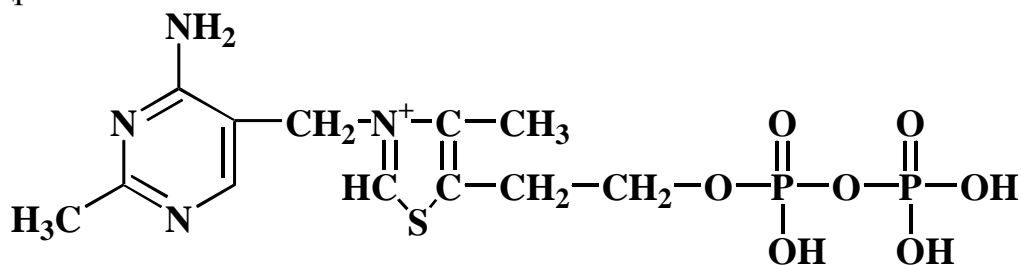
Окислительное декарбоксилирование пирувата

Образовавшаяся в цитоплазме пировиноградная кислота поступает в митохондрии, где подвергается окислительному декарбоксилированию при участии полиферментного пируватдегидрогеназного комплекса. Процесс протекает в матриксе митохондрий.

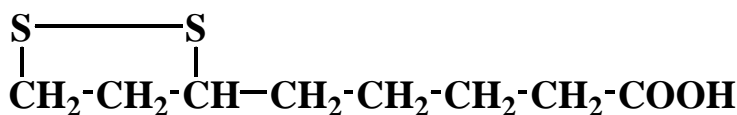
Комплекс включает три фермента и пять кофакторов:

- 1) Пируватдегидрогеназа с коферментом тиаминпирофосфат.
- 2) Дигидролипоилтрансацилаза с коферментами амидом липоевой кислоты и коферментом А.
- 3) Дигидролипоилдегидрогеназа, имеющая кофакторы ФАД и НАД.

Все ферменты имеют субъединичное строение. Субъединицы дигидролипоилтрансацилазы составляют ядро комплекса, вокруг которого расположены субъединицы пируватдегидрогеназы и дигидролипоилдегидрогеназы.

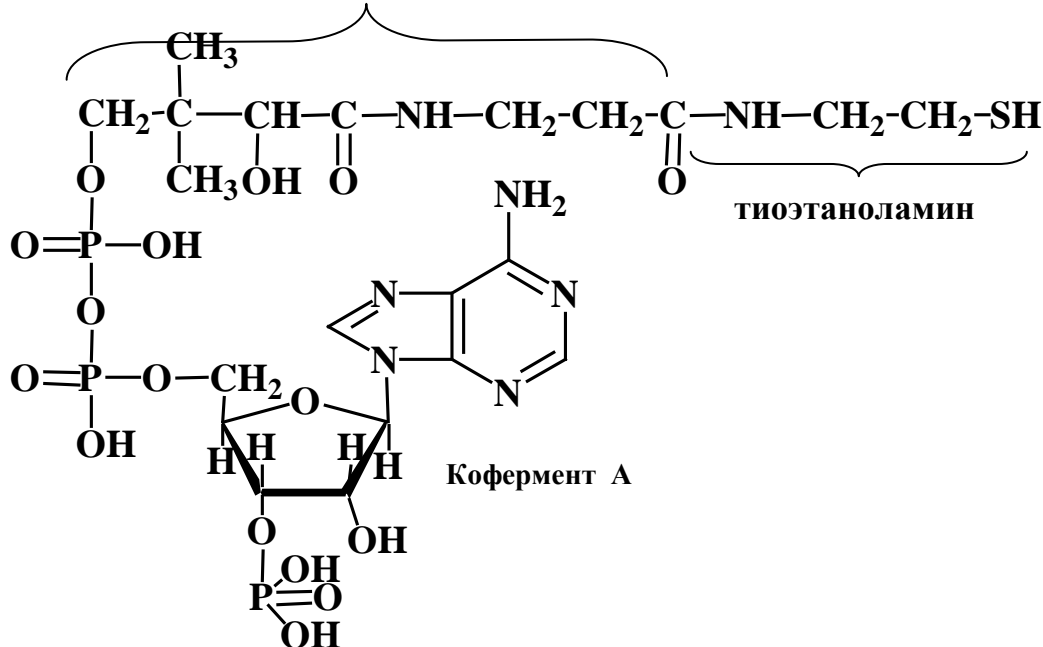


Тиаминпирофосфат (коферментная форма витамина В₁)



Липоевая кислота (6,8-дитиооктановая кислота)

пантотеновая кислота

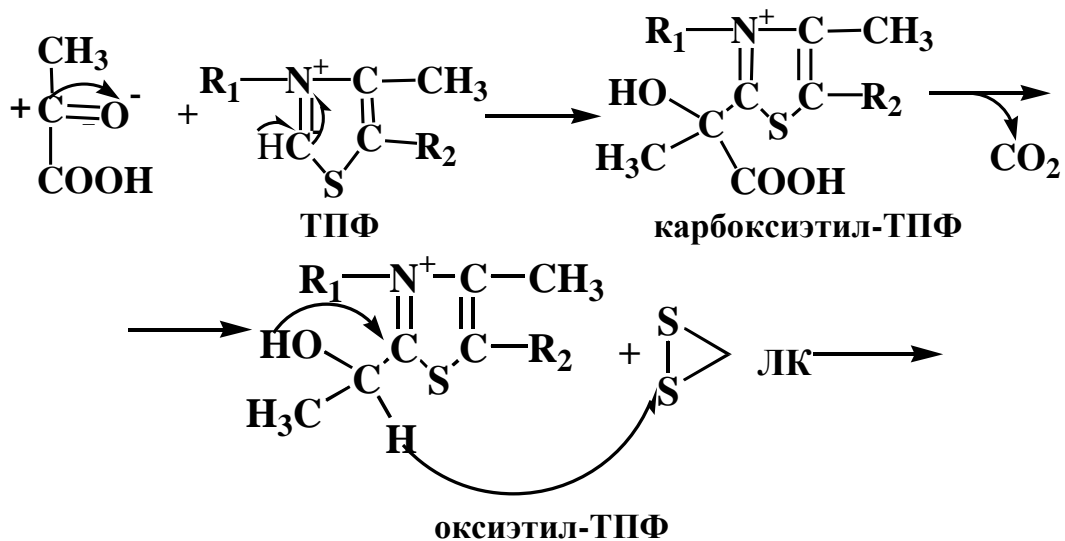


Кофермент А

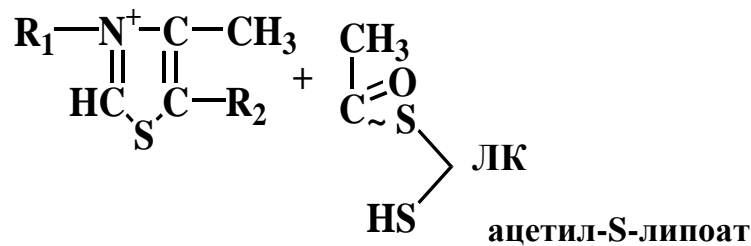
Благодаря объединению ферментов с кофакторами в комплекс промежуточные продукты быстро взаимодействуют с ними.

Пировиноградная кислота представляет молекулу, в которой электронная плотность оттягивается на кислород, в связи с чем он приобретает частично отрицательный заряд, а углерод – частично положительный. Пируват взаимодействует с тиаминпирофосфатом (ТПФ) пируват-

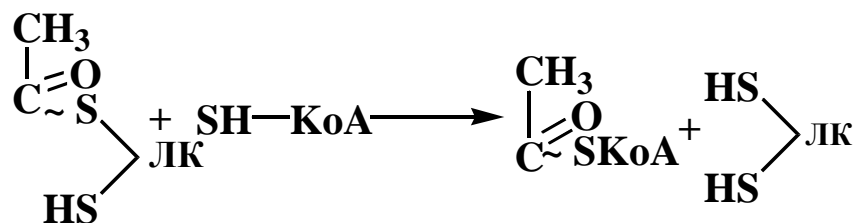
дегидрогеназы, у которого атом азота положительно заряжен и оттягивает электронную плотность. Вследствие поляризации связи у второго углеродного атома водород становится подвижным, а на атоме углерода остается электронная пара, т.е. он представляет карбанион, который атакует положительно заряженный углеродный атом пирувата. Образуется карбоксиэтилтиаминпирофосфат, который легко декарбоксилируется и превращается в оксиэтилтиаминпирофосфат.



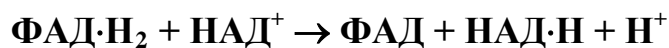
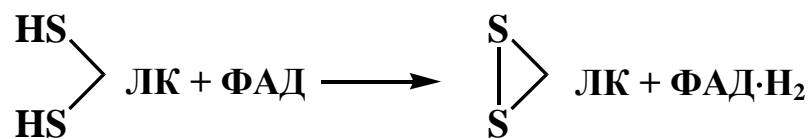
Образовавшийся оксиэтил-ТПФ взаимодействует с липоевой кислотой – коферментом дигидролипоилтрансацилазы.



Происходит окисление оксиэтильной группы в ацетильную с переносом ее на липоевую кислоту, а тиаминпирофосфат выделяется. Дигидролипоилтрансацилаза переносит ацетильный радикал на HS-КоА, а липоевая кислота восстанавливается.



Дигидролипоилдегидрогеназа окисляет восстановленную липоевую кислоту.

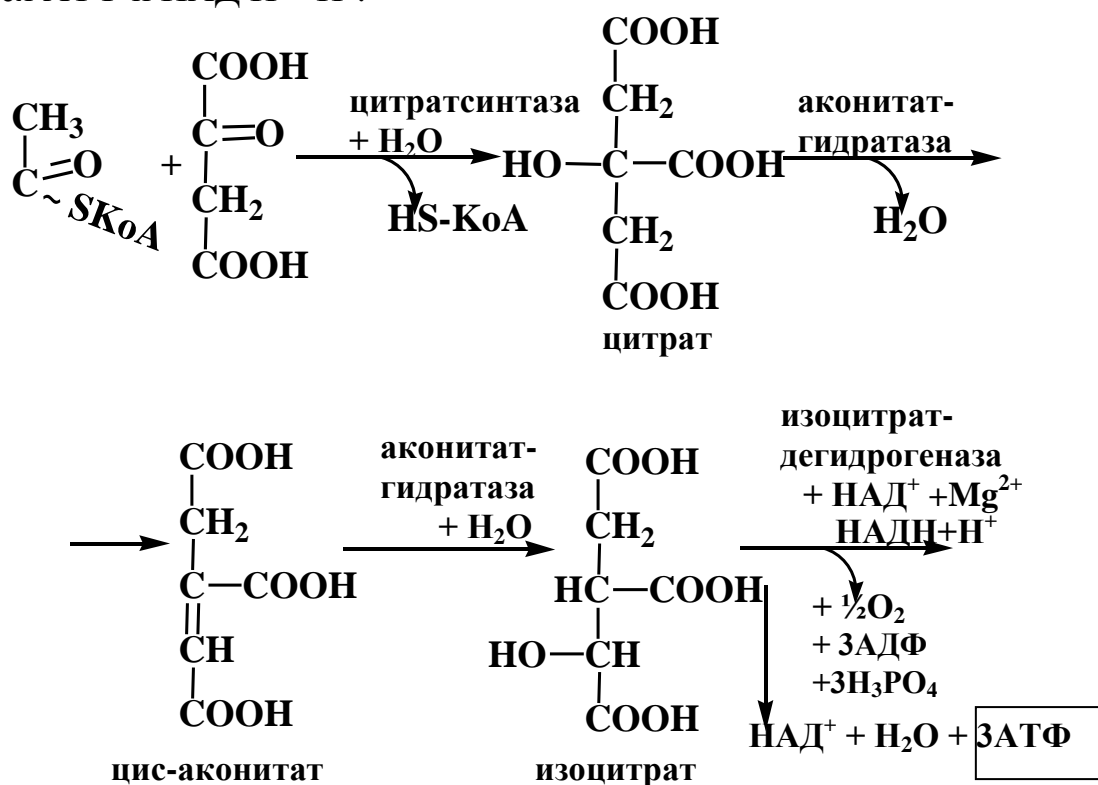


Протоны и электроны с восстановленного НАД идут в дыхательную цепь ферментов и переносятся на кислород с образованием воды. В результате образуются 3АТФ. Образовавшийся ацетил-КоА вступает в цикл трикарбоновых кислот.

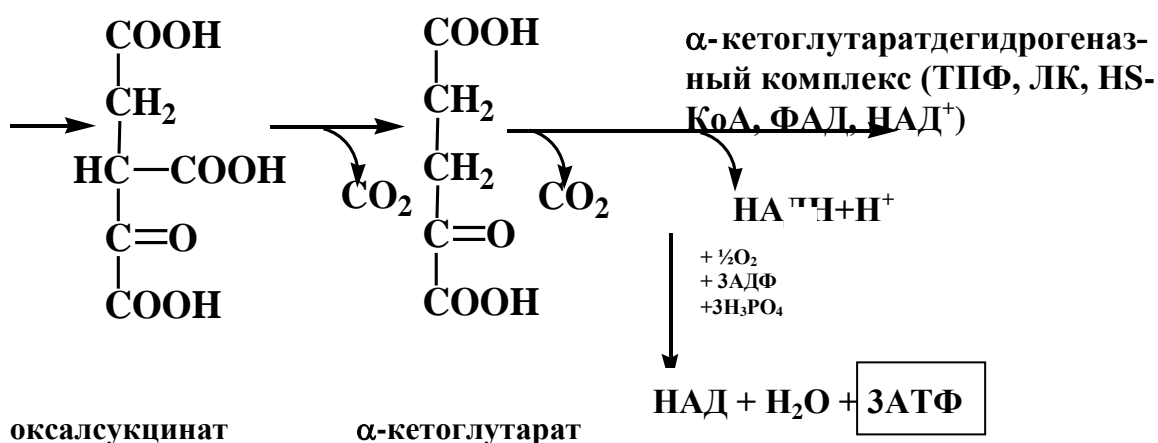
Цикл трикарбоновых кислот

Цикл был открыт в 1937 г. английским биохимиком Г. Кребсом, за что в 1953 г. он был удостоен Нобелевской премии. В последующие годы были выделены и изучены ферменты, осуществляющие промежуточные реакции. Они локализованы в матриксе митохондрий или прикреплены к внутренней поверхности внутренней мембраны.

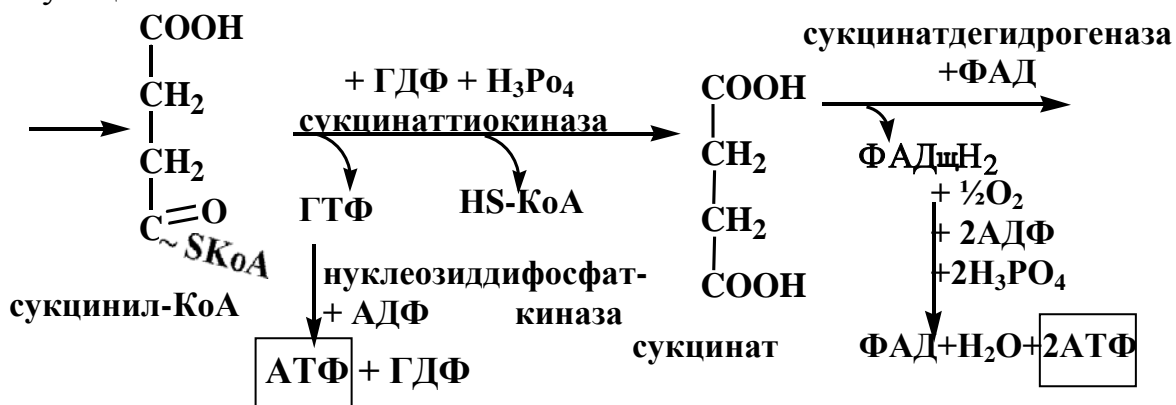
Ацетил-КоА вступает в реакцию конденсации со щавелевоуксусной кислотой при участии цитратсинтазы с присоединением воды. В результате выделяется HS-КоА и образуется лимонная кислота. **Цитратсинтаза – регуляторный фермент**: активируется субстратом, ингибируется АТФ и НАД·Н + Н⁺.



Под действием аконитатгидратазы от цитрата отщепляется вода, образуется цис-аконитовая кислота, к которой этот же фермент присоединяет воду и получается изоцитрат (субстрат II рода). Под действием изоцитратдегидрогеназы, имеющей кофермент НАД, происходит окисление изоцитрата в щавелевоянтарную кислоту. Кофермент НАД восстанавливается и отдает протоны и электроны в полную дыхательную цепь. Образуется вода и три молекулы АТФ. **Изоцитратдегидрогеназа** – также **регуляторный фермент**: активируется АДФ, ингибируется АТФ и НАДН+Н⁺.



Образовавшийся оксальсукцинат является неустойчивым соединением и сразу декарбоксилируется, превращаясь в α -кетоглутаровую кислоту. На α -кетоглутарат действует α -кетоглутаратдегидрогеназный полиферментный комплекс, который идентичен по строению пируватдегидрогеназному комплексу и имеет такие же коферменты. Происходит окислительное декарбоксилирование, и образуется сукцинил-КоА и НАД·Н+Н⁺, который отдает протоны и электроны в полную дыхательную цепь.



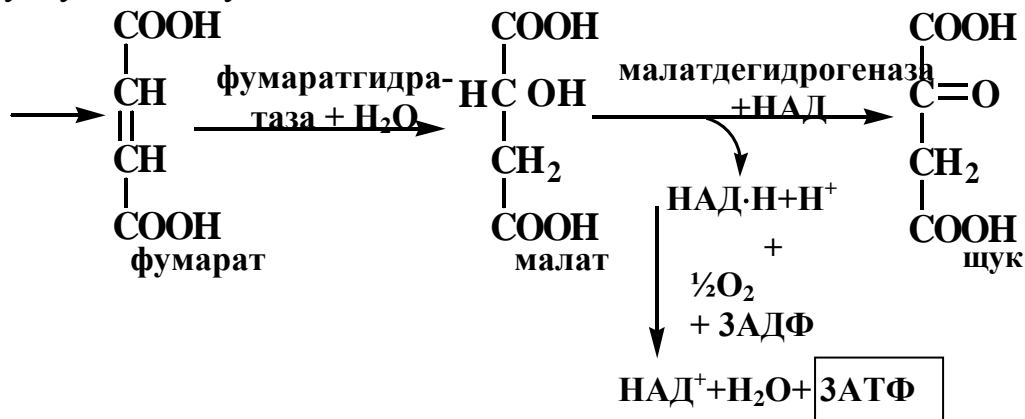
В сукцинил-КоА имеется связь, богатая энергией. Под действием сукцинаттиокиназы при участии ортофосфата происходит перенос макроэргической связи на ГДФ. Выделяется HS-КоА. Образовавшаяся мо-

лекула ГТФ вступает в реакцию перефосфорилирования с АДФ при участии нуклеозиддифосфаткиназы, и выделяются молекула АТФ и ГДФ. Молекулы ГДФ могут снова фосфорилироваться. Это **субстратное фосфорилирование**.

Сукцинатдегидрогеназа (флавиновый фермент) окисляет сукцинат в фумаровую кислоту. Это **регуляторный фермент**: активируется субстратом (т.е. сукцинатом), фосфатом, ингибируется щавелевоуксусной кислотой. Простетическая группа сукцинатдегидрогеназы ФАД восстанавливается и отдает протоны и электроны в неполную дыхательную цепь, в результате образуются 2 АТФ.

В отличие от других ферментов цикла, находящихся в водном матриксе митохондрий, сукцинатдегидрогеназа прочно связана с внутренней мембраной.

Фумарат гидратируется фумаратгидратазой с образованием яблочной кислоты, которая окисляется малатдегидрогеназой в щавелевоуксусную кислоту.



Кофермент малатдегидрогеназы НАД восстанавливается и отдает протоны и электроны в полную дыхательную цепь. Образуются 3 АТФ. В итоге возникает щавелевоуксусная кислота, которая вновь может вступить в конденсацию с ацетил-КоА с образованием цитрата, т.е. замкнулся цикл. Поэтому превращения и носят название **цикла Кребса или трикарбоновых кислот**, в котором небольшое количество щавелевоуксусной кислоты обеспечивает окисление больших количеств ацетил-КоА.

Значение цикла трикарбоновых кислот

1. Цикл представляет основной общий путь окисления ацетил-КоА-продукта распада углеводов, липидов, белков путем последовательных декарбоксилирований и дегидрирований.

2. Цикл является третьей стадией катаболизма и первой – анаболизма и связывает эти процессы, поэтому называется амфиболической стадией.

3. Цикл является генератором протонов и электронов для дыхательных цепей, транспорт по которым сопровождается аккумулярованием энергии в макроэргических связях АТФ (11 АТФ образуются за счет окислительного фосфорилирования).

4. Цикл выполняет энергетическую функцию, связанную с образованием 1 АТФ в процессе субстратного фосфорилирования.

5. Через цикл осуществляется взаимосвязь обменов углеводов, липидов и аминокислот.

О жизненно важной роли цикла трикарбоновых кислот свидетельствует и тот факт, что практически неизвестны генетические дефекты его ферментов. Вероятно, такие нарушения несовместимы с развитием и жизнью.

Лекция 11

ТРАНСМЕМБРАННЫЙ ТРАНСПОРТ ГЛЮКОЗЫ

Транспорт **моносахаридов из просвета кишечника в клетки слизистой оболочки** может осуществляться путем **облегченной диффузии и активного транспорта**. При активном транспорте глюкоза и Na^+ проходят вместе путем симпорта, связываясь с разными участками белка-переносчика. При этом Na^+ поступает в клетку под влиянием электрохимического градиента и “тащит” глюкозу за собой. Следовательно, чем больше градиент концентрации Na^+ , тем больше поступление глюкозы. Если концентрация Na^+ во внеклеточной жидкости уменьшается, транспорт глюкозы подавляется. Градиент концентрации Na^+ , являющийся движущей силой этого симпорта, создается работой Na^+ , K^+ -насоса (**вторично-активный транспорт**).

Глюкоза **из клеток кишечника** затем перемещается во внеклеточную жидкость и далее в кровь с помощью **облегченной диффузии**. Поступающая из кишечника глюкоза с кровью воротной вены попадает в печень, где часть ее задерживается, а часть через общий кровоток попадает в клетки других органов и тканей.

Потребление глюкозы клетками из кровотока происходит также путем **облегченной диффузии** при участии специальных белков-транспортеров. Следовательно, скорость трансмембранного потока глюкозы зависит только **от градиента ее концентрации**. Исключением являются клетки мышц и жировой ткани, где облегченная диффузия регулируется инсулином (гормон поджелудочной железы). В отсутствие

инсулина плазматическая мембрана этих клеток непроницаема для глюкозы, т.к. в ней нет белков-переносчиков для глюкозы. Белки-переносчики (транспортеры глюкозы – ГЛЮТ) обнаружены во всех тканях. Существует 5 типов ГЛЮТ, которые пронумерованы по порядку их обнаружения.

Тип ГЛЮТ	Локализация в органах
ГЛЮТ-1	Преимущественно в плаценте, мозге, почках, толстой кишке, меньше в жировой ткани, мышцах
ГЛЮТ-2	Преимущественно в печени, β -клетках островков Лангерганса, энтероцитах
ГЛЮТ-3	Во многих тканях, включая мозг, плаценту, почки
ГЛЮТ-4, инсулин-зависимый	В мышцах (скелетных, сердечной), жировой ткани, находятся почти полностью в цитоплазме
ГЛЮТ-5	В тонкой кишке, в меньшей мере в почках, скелетных мышцах, жировой ткани, мозге. Переносчик фруктозы

Все 5 типов ГЛЮТ имеют сходную первичную структуру.

ГЛЮТ-1 служит для обеспечения стабильного потока глюкозы в мозг. В других тканях он поставляет глюкозу в клетки, когда они находятся в состоянии покоя.

ГЛЮТ-2 обнаружен в клетках органов, выделяющих глюкозу в кровь. Именно при участии ГЛЮТ-2 глюкоза переходит в кровь из энтероцитов после ее всасывания в кишечнике.

ГЛЮТ-3 обладает большим, чем ГЛЮТ-1, сродством к глюкозе. Он также обеспечивает постоянный приток глюкозы к клеткам нервной ткани.

ГЛЮТ-4 – главный переносчик глюкозы в мышцах и адипоцитах.

ГЛЮТ-5 встречается главным образом в клетках тонкой кишки. Его функции известны недостаточно.

Все типы ГЛЮТ могут находиться как в плазматической мембране, так и в цитозольных везикулах. В отсутствие инсулина ГЛЮТ-4 (и в меньшей мере ГЛЮТ-1) почти полностью находятся в цитоплазме. Влияние инсулина на такие клетки приводит к перемещению везикул, содержащих ГЛЮТ, к плазматической мембране и их слиянию с ней, после чего возможен облегченный транспорт глюкозы в эти клетки. После снижения концентрации инсулина в крови белки-транспортеры глюкозы снова перемещаются в цитозоль.

В клетки печени глюкоза проходит при участии ГЛЮТ-2, независимого от инсулина. Концентрация глюкозы в гепатоцитах в период пищеварения повышается соответственно ее уровню в крови воротной вены. В этих условиях фосфорилирование глюкозы в гепатоцитах обеспечивается свойствами глюкокиназы, которая имеет высокое значение K_m и не ингибируется продуктом реакции. Кроме того, ГЛЮТ-2 также

имеет высокую K_m . Следовательно, скорость поступления глюкозы в гепатоциты и ее фосфорилирование увеличиваются во время пищеварения пропорционально повышению ее концентрации в крови. Хотя инсулин и не влияет на транспорт глюкозы, он усиливает приток глюкозы в гепатоцит в период пищеварения косвенным путем, индуцируя синтез глюкокиназы и ускоряя тем самым фосфорилирование глюкозы.

Транспорт глюкозы из первичной мочи в клетки канальцев происходит путем вторично-активного транспорта подобно тому, как это происходит с люминальной стороны кишечника в клетки. Благодаря этому глюкоза может поступать в клетки канальцев даже в том случае, если ее концентрация в первичной моче меньше, чем в клетках. Глюкоза реабсорбируется из первичной мочи почти полностью (на 99%) в конечной части канальцев.

Лекция 12

ОБМЕН УГЛЕВОДОВ. АЭРОБНЫЙ РАСПАД ГЛЮКОЗЫ

Углеводы, как и белки и липиды, являются одними из важнейших соединений живых организмов, хотя и находятся в тканях в значительно меньшем количестве и составляют не более 2% от сухой массы тела (в организме животных и человека).

Все углеводы условно делят на две группы:

1. **Углеводы с преимущественно энергетической функцией.** К ним относится глюкоза, являющаяся транспортной формой углеводов у животных организмов (содержание в крови составляет 3,65-6,11 ммоль/л). Запасным углеводом животных является полисахарид гликоген, депонируемый в печени (содержание на сырую массу ткани до 5%, абсолютное количество до 150 г) и мышечной ткани (до 2%). Запасным углеводом растений является полисахарид крахмал, а транспортной формой – сахароза.

2. **Углеводы с преимущественно структурной функцией.** К этой группе относятся гликопротеины и гликолипиды, гетерополисахариды – гликозаминогликаны, у растений – клетчатка.

Углеводы выполняют очень важные функции:

1. **Энергетическая** – окисление углеводов поставляет 60-70% всей энергии, необходимой для организма.

2. **Структурная** – углеводы входят в состав мембран клеток; гликозаминогликаны участвуют в формировании соединительной ткани; пентозы входят в состав нуклеиновых кислот, нуклеотидов, кофак-

торов ферментов.

3. Гликопротеины, гликолипиды выполняют **роль рецепторов** и участвуют в специфических взаимодействиях.

4. Углеводные компоненты имеются в иммуноглобулинах, выполняющих **защитную функцию**.

5. Гепарин, относящийся к гликозаминогликанам, активизирует липопротеинлипазу; являясь антикоагулянтом, входит в противосвертывающую систему.

6. **Пластическая** – углеводы легко превращаются в соединения других классов: липиды, аминокислоты.

Обмен углеводов включает ряд последовательно протекающих процессов: поступление углеводов в организм с пищей, переваривание сложных углеводов в желудочно-кишечном тракте, всасывание моносахаридов в кишечнике, транспорт их к органам и тканям, синтез углеводов в тканях, распад углеводов в тканях и выделение из организма продуктов распада, образование из углеводов в организме других веществ.

Переваривание углеводов

Углеводы играют важную роль в питании человека и животных, составляя 60-70% пищевого рациона у нас и до 90% у травоядных животных. Сложные углеводы – поли- и дисахариды в пищеварительном тракте человека и животных подвергаются расщеплению до моносахаридов с участием ряда ферментов.

В ротовой полости начинается расщепление полисахаридов крахмала и гликогена. В слюне содержится фермент **α -амилаза**, расщепляющая α -1,4-гликозидные связи внутри молекул полисахаридов (амилозы, амилопектина, гликогена) с образованием лимит-декстринов или при длительном действии – мальтозы. Она действует в нейтральной и слабощелочной среде, активизируется ионами хлора. Кроме α -амилазы в слюне есть фермент **мальтаза**, которая расщепляет мальтозу на две молекулы глюкозы. Однако пищевой комок в ротовой полости долго не задерживается, и поэтому переваривание полисахаридов здесь только начинается и очень незначительно.

В желудке сок имеет сильно кислую реакцию, вследствие чего амилаза слюны инактивируется. Действие ее может продолжаться только внутри пищевого комка, пока туда не проник желудочный сок. Собственных ферментов, переваривающих углеводы, в желудочном соке нет.

Переваривание основной массы углеводов происходит в **двенадцатиперстной кишке** под действием ферментов панкреатического сока. В нем содержатся **α -амилаза** (как и амилаза слюны, расщепляющая α -1,4- гликозидные связи), **амило-1,6-гликозидаза** и **олиго-1,6-**

гликозидаза (терминальная декстриназа), гидролизующие α -1,6-гликозидные связи.

В тонком кишечнике окончательное переваривание углеводов происходит пристеночно – в щеточной кайме на поверхности слизистой кишечника при участии ферментов кишечного сока: **мальтазы**, расщепляющей мальтозу на две молекулы глюкозы (α -1,4-гликозидная связь); **сахаразы**, расщепляющей сахарозу на фруктозу и глюкозу; **лактазы**, расщепляющей лактозу на глюкозу и галактозу; **изомальтазы**, расщепляющей изомальтозу на две молекулы глюкозы (α -1,6-гликозидная связь); **трегалазы**, расщепляющей трегалозу (грибной сахар) на две молекулы глюкозы (α -1,1-гликозидная связь). Частично этот процесс может идти в просвете кишечника, куда секретятся ферменты.

Таким образом, **конечными продуктами** переваривания углеводов являются моносахариды: *глюкоза, фруктоза и галактоза*, которые всасываются стенкой кишечника.

Всасывание моносахаридов происходит с разной скоростью (по уменьшению скорости): галактоза > глюкоза > фруктоза > манноза > ксилоза > арабиноза. **Всасывание** происходит путем облегченной диффузии, но главным механизмом является активный транспорт с помощью Na-зависимой транспортной системы с затратой АТФ за счет градиента концентрации ионов натрия, создаваемого Na^+ , K^+ -АТФ-азой.

С пищей в организм человека и животных в большом количестве поступает полисахарид клетчатка (целлюлоза), в которой остатки глюкозы соединены β -гликозидной связью. Ферментов, расщепляющих этот тип связи, у человека и животных нет, поэтому клетчатка доходит до толстого кишечника в неизменном виде. В толстом кишечнике у человека и особом отделе желудка (рубце) у травоядных животных имеются микроорганизмы, выделяющие ферменты, которые сбразивают клетчатку: целлюлаза – расщепляет целлюлозу с образованием дисахарида целлобиозы; целлобиаза – расщепляет целлобиозу до глюкозы, которая далее ферментами бактерий расщепляется до уксусной, молочной, пировиноградной кислот, которые усваиваются.

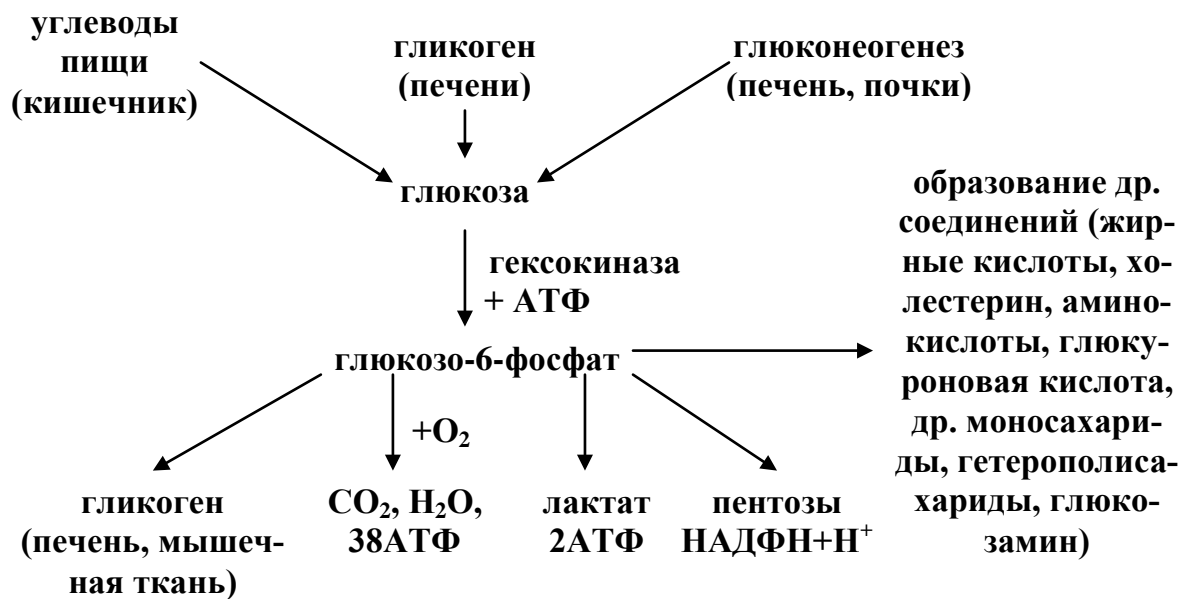
У человека присутствие клетчатки в пище имеет большое значение, так как она усиливает перистальтику кишечника, создавая давление на стенки кишечника, и способствует пищеварению; адсорбирует воду и удерживает ее в полости кишечника; необходима для формирования каловых масс; адсорбирует некоторые токсические вещества, а также радионуклиды; используется микрофлорой кишечника.

Всосавшиеся моносахариды (около 90%) с кровью по системе воротной вены поступают в печень, где фруктоза и галактоза превращаются в глюкозу. Эти превращения моносахаридов могут начаться уже в клетках слизистой кишечника. Около 10% моносахаридов всасывается в

лимфу, с которой поступают в кровь. В печени часть глюкозы используется с энергетическими целями, подвергаясь окислению, часть депонируется в виде гликогена, часть подвергается превращениям с использованием на синтез других соединений (жирных кислот, аминокислот, гетерополисахаридов, глюкуроновой кислоты и др.), часть разносится кровью к тканям. Содержание глюкозы в крови в норме колеблется в пределах 3,65-6,11 ммоль/л и поддерживается на этом уровне с помощью ряда систем. В мышечной ткани, как и в печени, глюкоза депонируется в виде гликогена.

Глюкоза как важнейший метаболит углеводного обмена. Общая схема источников расходования глюкозы в организме. Ключевая роль глюкозо-6-фосфата в метаболизме углеводов.

Глюкоза является основным метаболитом и транспортной формой углеводов в организме человека и животных. Ее источником являются углеводы пищи, депонированный гликоген, процесс глюконеогенеза в печени и почках (синтез из неуглеводных предшественников). Чтобы глюкоза могла вступить в те или иные превращения, она должна фосфорилироваться с образованием фосфорного эфира – глюкозо-6-фосфата, который далее превращается по различным путям.



Основными путями превращений глюкозы является окисление ее с энергетическими целями (в аэробных и анаэробных условиях), депонирование в виде гликогена, превращение в другие углеводы и соединения других классов.

Распад углеводов

Распад углеводов может происходить без участия кислорода

(называется **анаэробным**) и с его участием. Распад углеводов с использованием молекулярного кислорода как конечного акцептора отщепляемых от субстрата атомов водорода и образованием конечных продуктов в виде H_2O и CO_2 называется **аэробным**. Оба эти процесса тесно взаимосвязаны.

Гликолиз – это серия реакций, в результате которых глюкоза распадается на две молекулы пирувата (**аэробный гликолиз**) или две молекулы лактата (**анаэробный гликолиз**). Первые десять реакций аэробного и анаэробного гликолиза до образования пировиноградной кислоты совпадают, идут при участии одних и тех же ферментов и характерны для всех органов и тканей. На стадии образования пирувата эти пути расходятся. Аэробный распад является основным путем катаболизма глюкозы.

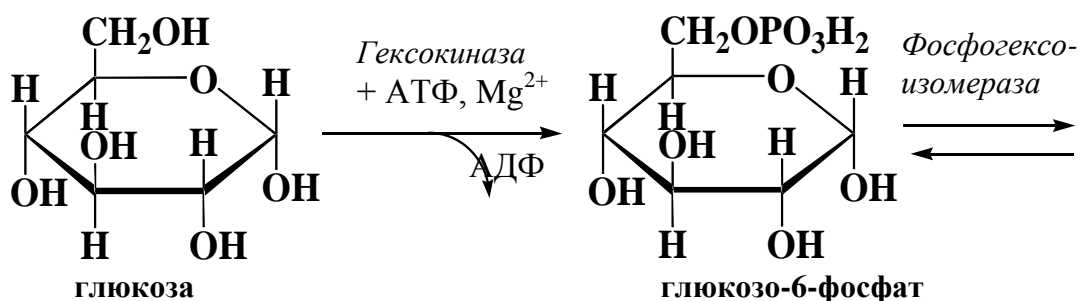
Аэробный распад глюкозы включает реакции аэробного гликолиза и последующее окисление пирувата в реакциях катаболизма (окислительное декарбоксилирование пирувата, ЦТК).

Анаэробный распад включает те же реакции специфического пути распада глюкозы до пирувата, но с последующим превращением пирувата в лактат (т.е. термины **анаэробный распад** и **анаэробный гликолиз** совпадают).

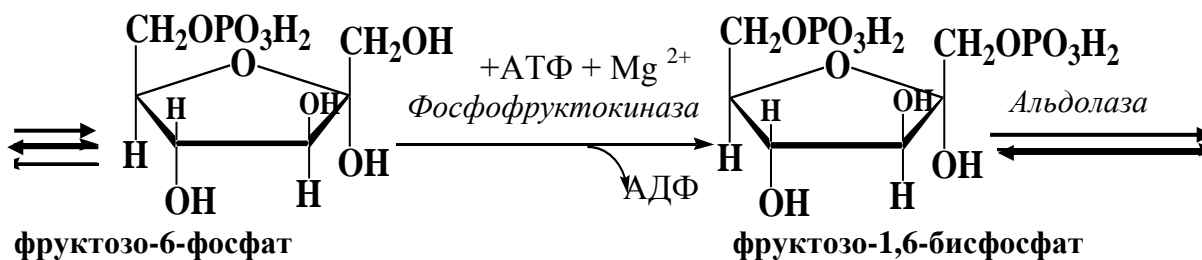
Распад глюкозы до пирувата – специфический путь ее катаболизма

Процесс протекает в цитоплазме клеток.

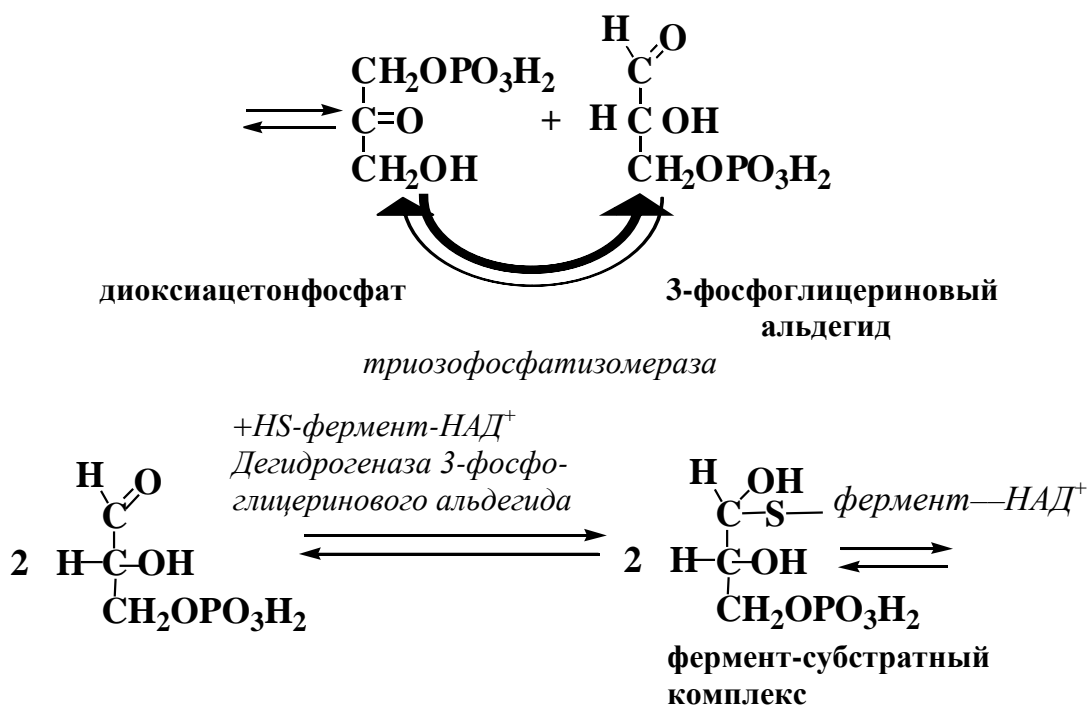
Фосфорилирование глюкозы осуществляется гексокиназой (с низкой $K_m=10^{-5}$ М в тканях) и специфической глюкокиназой (с большой $K_m=10^{-3}$ М, содержащейся в печени) за счет АТФ. Гексокиназа – не специфична, может фосфорилировать и другие гексозы: фруктозу, маннозу. Это аллостерический фермент, ингибируется глюкозо-6-фосфатом. Глюкокиназа в печени не регулируется.



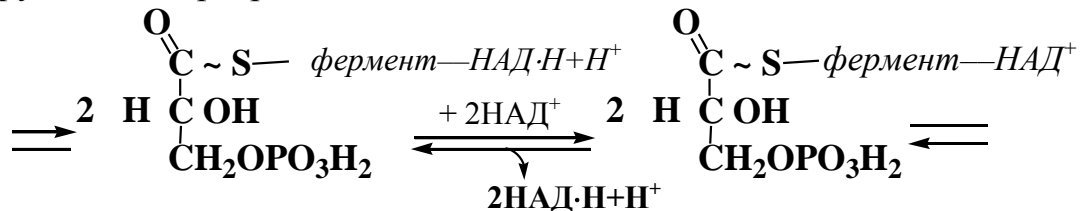
Реакция необратима, так как сопровождается выделением большого количества свободной энергии. Глюкозо-6-фосфат изомеризуется фосфогексоизомеразой во фруктозо-6-фосфат.



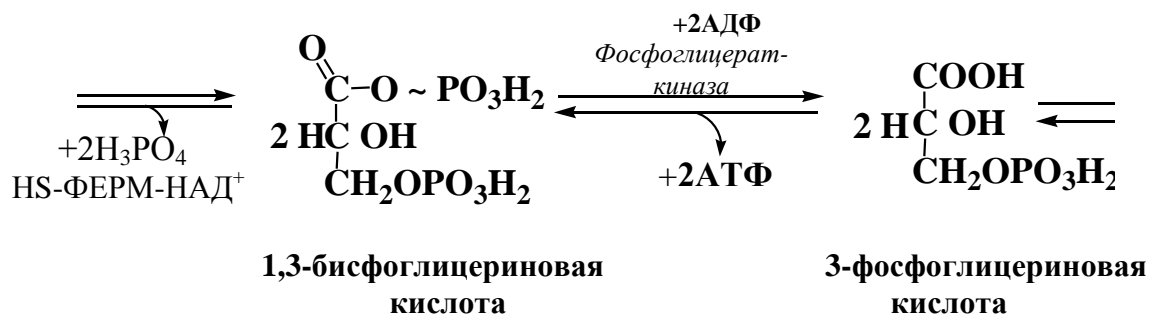
Фруктозо-6-фосфат фосфорилируется по первому углеродному атому ферментом фосфофруктокиназой за счет АТФ. Реакция необратима. **Фосфофруктокиназа – аллостерический фермент**, активность которого регулируется: активируется АДФ и АМФ и тормозится АТФ и цитратом. Реакция протекает в присутствии ионов Mg. Эта стадия лимитирует скорость всего процесса распада. Таким образом, на активность фосфофруктокиназы (а соответственно на скорость распада глюкозы) влияет отношение АТФ/АМФ в цитозоле клетки. Фруктозо-1,6-бисфосфат, образовавшийся в этой реакции, далее расщепляется альдолазой на две фосфотриозы: 3-фосфоглицериновый альдегид и диоксиацетонфосфат, которые являются изомерами по отношению друг к другу. Под действием триозофосфатизомеразы они легко превращаются друг в друга, но дальнейшим превращениям подвергается 3-фосфоглицериновый альдегид, и по мере его убыли происходит превращение диоксиацетонфосфата в его изомер (хотя образуется 95% диоксиацетонфосфата и только 5% 3-фосфоглицеринового альдегида). Поэтому можно считать, что молекула фруктозо-1,6-бисфосфата распадается на 2 молекулы 3-фосфоглицеринового альдегида.



3-фосфоглицериновый альдегид взаимодействует с дегидрогеназой 3-фосфоглицеринового альдегида. Это сложный фермент с четвертичной структурой. Построен из четырех идентичных субъединиц. В каждой полипептидной цепи в активный центр фермента входит SH-группа остатка цистеина. Каждая полипептидная цепь прочно соединена с молекулой НАД. НАД защищает фермент от термоинактивации, протеолитического расщепления. Таким образом, в ферменте есть четыре структурно независимых каталитических центра. При взаимодействии дегидрогеназы с 3-фосфоглицериновым альдегидом образуется фермент-субстратный комплекс типа тиополуацетала. Происходит окисление этого комплекса с переносом протонов и электронов к НАД, т.е. происходит окисление альдегида в кислоту, а энергия окисления аккумулируется в макроэргической связи.



Протоны и электроны с НАД⁺, прочно связанного с ферментом, переносятся на свободный цитоплазматический НАД⁺, а макроэргическая связь закрепляется фосфатом с образованием 1,3-бисфосфоглицериновой кислоты. Фермент освобождается из комплекса.

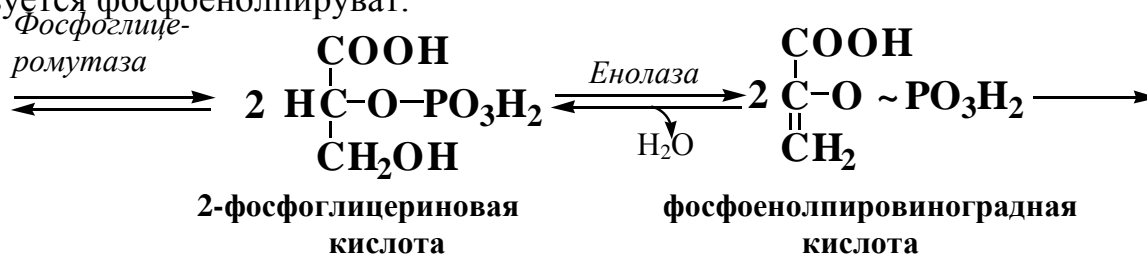


Фосфоглицераткиназа переносит фосфатный остаток, богатый энергией, на АДФ с образованием АТФ и 3-фосфоглицериновой кислоты. Таким образом, энергия окисления 3-фосфоглицеринового альдегида в кислоту аккумулируется в макроэргических связях АТФ.

Синтез АТФ, связанный с переносом на АДФ фосфата из высокоэнергетических соединений, образовавшихся в результате внутримолекулярных превращений субстратов, называется субстратным фосфорилированием.

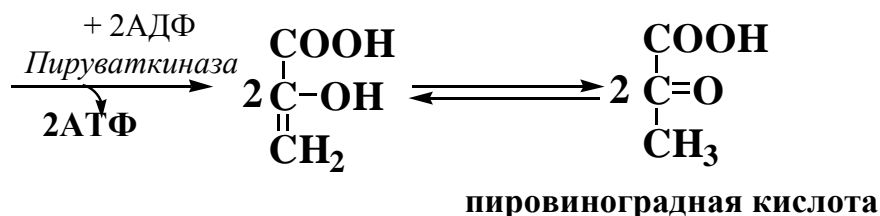
В 3-фосфоглицериновой кислоте фосфоглицеромутаза переносит фосфатную группировку во 2-ое положение, и образуется 2-фосфоглицериновая кислота. Фермент енолаза отщепляет от нее воду, и

образуется фосфоенолпируват.



При отщеплении воды связь с фосфатом становится макроэргической. Енолаза активируется Mg^{2+} и Mn^{2+} , ингибируется фторидом.

Пируваткиназа переносит фосфатный остаток, богатый энергией, с фосфоенолпирувата на АДФ, и образуются еще две молекулы АДФ (субстратное фосфорилирование). Реакция необратима. В результате образуются две молекулы пировиноградной кислоты.



Таким образом, в результате специфического пути превращения глюкозы в цитозоле клеток образуются две молекулы пировиноградной кислоты, две молекулы восстановленного кофермента НАД ($2\text{НАД}\cdot\text{H}+\text{H}^+$) и 4 молекулы АДФ, однако 2 молекулы АДФ были израсходованы на фосфорилирование глюкозы и фруктозо-6-фосфата. Поэтому $4-2=2$ АДФ – энергетический баланс распада молекулы глюкозы на две молекулы пировиноградной кислоты.

Аэробный распад глюкозы

В аэробных условиях (а большинство тканей в организме получают энергию за счет аэробных процессов) образовавшиеся в цитоплазме продукты – пировиноградная кислота и восстановительные эквиваленты ($\text{НАД}\cdot\text{H}+\text{H}^+$) переносятся в митохондрии.

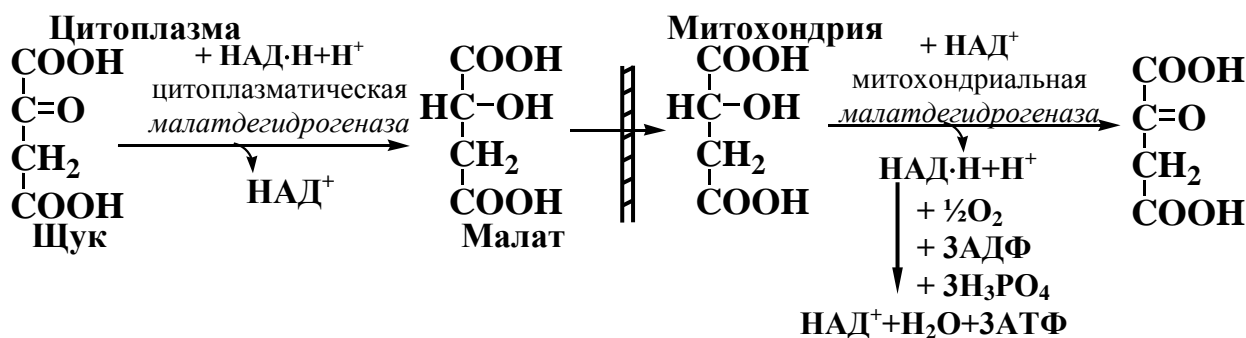
Пировиноградная кислота вступает в митохондриях в общий путь катаболизма: подвергается окислительному декарбоксилированию с образованием ацетил-КоА, который окисляется в цикле трикарбоновых кислот до CO_2 и H_2O .

Наружная мембрана митохондрий хорошо проницаема для большинства низкомолекулярных соединений. Внутренняя мембрана проницаема для воды, небольших нейтральных молекул (глицерофосфат, жирные кислоты с короткой углеродной цепью), непроницаема для катионов Na^+ , K^+ , анионов Cl^- и других, сахаров, большинства аминокис-

лот, НАД, НАД·Н+Н⁺, НАДФ, НАДФ·Н+Н⁺ и др. Обмен между цитоплазмой и внутренней средой митохондрий представляет сложный процесс, осуществляющийся с помощью особых переносчиков. Специальный переносчик обеспечивает перенос молекул пирувата по механизму симпорта с протоном.

Основным механизмом переноса восстановительных эквивалентов из цитоплазмы в митохондрии (протонов и электронов, восстановивших НАД на стадии окисления 3-фосфоглицеринового альдегида) является малат- оксалацетатный челночный механизм.

Он заключается в восстановлении в цитоплазме щавелевоуксусной кислоты в малат, для которого есть переносчик во внутренней мембране митохондрий. В матриксе митохондрий малат окисляется митохондриальной малатдегидрогеназой до щавелевоуксусной кислоты. Восстановившийся при этом кофермент НАД отдает протоны и электроны в полную дыхательную цепь. Образуется вода и 3 АТФ.



Энергетический баланс аэробного окисления молекулы глюкозы

Специфический путь распада глюкозы в цитозоле приводит к образованию 2 молекул пирувата, **2 АТФ** и 2 НАД·Н+Н⁺.

Две молекулы пирувата в митохондриях подвергаются окислительному декарбоксилированию с образованием двух молекул ацетил-КоА и шести молекул АТФ (3x2=6 АТФ). Ацетил-КоА окисляется в цикле трикарбоновых кислот и при этом образуются:

- 3 АТФ – при окислении изоцитрата;
- 3 АТФ – при окислительном декарбоксилировании α-кетоглутарата;
- 2 АТФ – при окислении сукцината;
- 3 АТФ – при окислении малата;
- 1 АТФ – при субстратном фосфорилировании;
- 12 АТФ.

Таким образом, полное окисление молекулы пирувата дает 15 АТФ (из них 12 образуются при окислении ацетил-КоА в цикле трикарбоновых кислот), окисление 2 молекул – **30 АТФ**.

Перенос протонов и электронов от 2 молекул НАД·Н+Н⁺ из цитоплазмы в митохондрию малат-оксалацетатным челночным механизмом к О₂ дает еще **6 АТФ**.

$$2+30+6=38 \text{ АТФ}$$

Итак, полное окисление молекулы глюкозы в аэробных условиях до СО₂ и Н₂О приводит к образованию 38 АТФ.

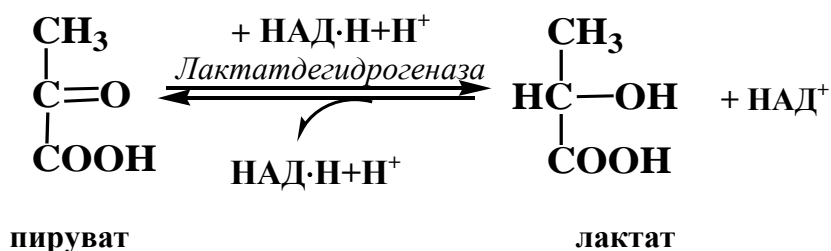
Лекция 13

АНАЭРОБНЫЙ РАСПАД ГЛЮКОЗЫ. СПИРТОВОЕ БРОЖЕНИЕ. МЕТАБОЛИЗМ ЭТАНОЛА. ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ. ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ЦИКЛ

Анаэробный распад глюкозы

Напомним, что аэробный распад глюкозы – это предельное ее окисление до СО₂ и Н₂О, а анаэробный гликолиз – это специфический путь катаболизма, т.е. часть аэробного распада глюкозы и термины **анаэробный распад и анаэробный гликолиз совпадают**.

В анаэробных условиях и в клетках, не имеющих митохондрий (зрелые эритроциты), образовавшаяся пировиноградная кислота восстанавливается лактатдегидрогеназой до лактата с использованием НАД·Н+Н⁺, образовавшегося при окислении 3-фосфоглицеринового альдегида в 1,3-бисфосфоглицериновую кислоту.



НАД играет роль промежуточного переносчика протонов и электронов от 3-фосфоглицеринового альдегида к пирувату. Этот процесс получил название гликолитической оксидоредукции.

Энергетический баланс анаэробного гликолиза: молекула глюкозы в анаэробных условиях распадается на 2 молекулы лактата. При этом образуются 4 АТФ, но 2 АТФ затрачиваются на фосфорилирование глюкозы и фруктозо-6-фосфата. Поэтому энергетическая эффектив-

ность процесса составляет 2 АТФ.

Если в анаэробных условиях распада подвергается гликоген, то образуются 3 АТФ.

Анаэробный гликолиз протекает во всех тканях и играет роль пути получения энергии, но его значение для разных органов различно. Следует отметить, что в живых тканях анаэробных условий не бывает. Определение «анаэробный» в данном случае указывает лишь на то, что кислород в этом процессе не используется.

Анаэробный гликолиз используется для получения энергии:

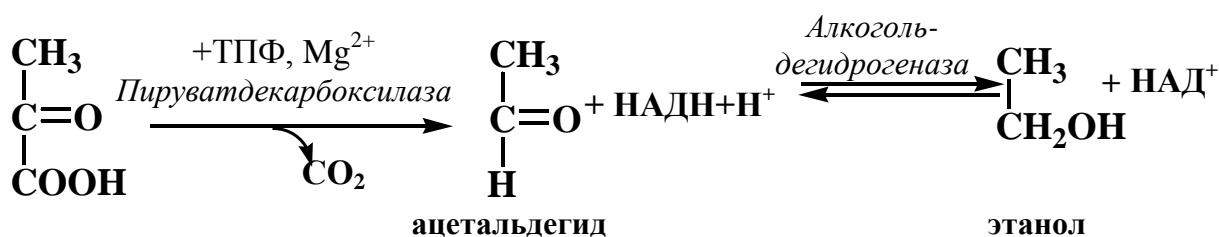
1) В условиях ограниченной доставки кислорода в ткани (при интенсивной мышечной работе, гипоксии, ишемии органов и тканей).

2) В клетках с малым количеством митохондрий (мозговой слой почек, лейкоциты).

3) В клетках, не имеющих митохондрий (в зрелых эритроцитах это единственный путь образования АТФ).

Спиртовое брожение

В дрожжевых клетках и микроорганизмах, подобных им, анаэробный распад углеводов протекает сходно с гликолизом за исключением конечных стадий. Первые стадии до образования пируватидной кислоты идут одинаково. При спиртовом брожении пируватид подвергается декарбоксилированию ферментом пируватиддекарбоксилазой, имеющей кофермент тиаминпирофосфат и требующей ионов Mg^{2+} . При этом образуется уксусный альдегид, который восстанавливается в этанол алкогольдегидрогеназой с использованием $НАД \cdot Н + Н^+$, образовавшегося при окислении 3-фосфоглицеринового альдегида в 1,3-бисфосфоглицериновую кислоту.



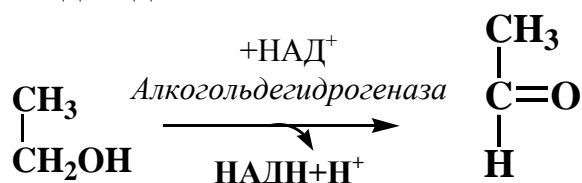
Таким образом, конечными продуктами спиртового брожения являются этанол и CO_2 .

Метаболизм этанола в организме

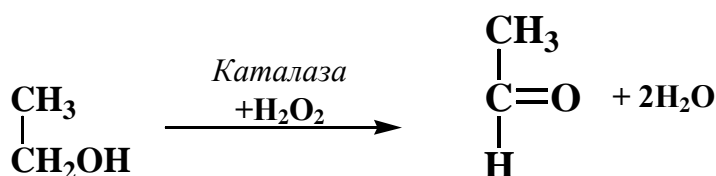
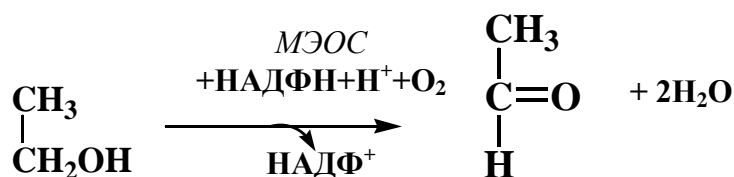
В организме человека и животных этанол может образоваться как метаболит (эндогенный), а в организм человека может поступить извне (экзогенный).

Всасывание поступившего этанола происходит в желудке (20%) и в кишечнике (80%). Метаболизм этанола осуществляется тремя ферментативными системами: алкогольдегидрогеназой (80%), микросомальной этанолюкисляющей системой (МЭОС – 15%) и каталазой (5%).

Алкогольдегидрогеназа наиболее активно метаболизирует этанол в печени, затем в слизистой кишечника, почках и легких. Фермент преимущественно локализован в цитозоле клеток, но около 10% – в эндоплазматической сети и митохондриях. В активном центре содержит атомы цинка, которые участвуют в каталитическом акте и стабилизируют четвертичную структуру фермента. В результате окисления этанола образуется ацетальдегид.

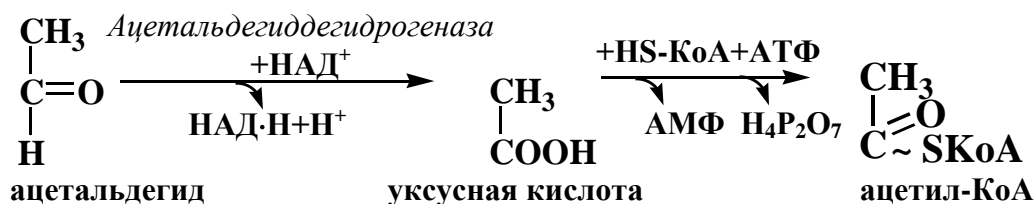


Этот же продукт образуется и при окислении этанола МЭОС и каталазой.



В качестве донора протонов и электронов микросомальная этанолюкисляющая система использует НАДФ·Н+Н⁺.

Образующийся ацетальдегид далее окисляется ацетальдегиддегидрогеназой в уксусную кислоту, которая активируется путем присоединения к коферменту А, и активная форма уксусной кислоты – ацетил-КоА вступает в цикл трикарбоновых кислот, где окисляется.



В сутки в тканях человека образуется и окисляется 1-9 г этанола. Полагают, что его предшественниками являются пировиноградная кис-

лота, некоторые аминокислоты (треонин, β -аланин), дезоксирибоза. Содержание эндогенного этанола повышается при неврозах, шизофрении, сахарном диабете, заболеваниях почек, в условиях гипоксии и при физической нагрузке, может повышаться при избыточном потреблении углеводов с пищей.

Независимо от пути окисления этанола в организме промежуточным продуктом его распада является ацетальдегид, который обладает сильным токсическим действием. Обычно его концентрация чрезвычайно мала. При употреблении этанола содержание токсичного ацетальдегида несоизмеримо возрастает, что приводит к структурно-функциональным изменениям в клетках тканей.

Взаимоотношения аэробного и анаэробного путей распада глюкозы

Еще в XIX веке Л. Пастером было открыто явление, получившее впоследствии название «эффект Пастера» и заключающееся в том, что **дыхание** всегда приводит к снижению скорости анаэробного гликолиза, т.е. **подавляет брожение**. При этом снижается потребление глюкозы и не происходит накопления лактата.

Этот эффект объясняется тем, что:

1. Цитоплазматический НАД·Н+Н⁺ окисляется с помощью малат-оксалацетатной системы, и в конкуренции за НАД·Н+Н⁺ с лактатдегидрогеназой выигрывает челночный механизм.

2. Фосфофруктокиназа – аллостерический фермент, активность которого стимулируется АДФ, подавляется АТФ и цитратом. При высоком содержании АТФ, характерном для окислительного фосфорилирования, фосфофруктокиназа тормозится.

3. В конкурентной борьбе за АДФ между фосфоглицераткиназой, пируваткиназой и митохондриальной системой окислительного фосфорилирования выигрывает последняя, т.к. обладает более высоким сродством к АДФ. Фосфорилирование АДФ в митохондриях происходит при более низких концентрациях, чем субстратное фосфорилирование в цитоплазме.

Глюконеогенез

В количественном отношении в биосфере одним из важнейших биосинтетических процессов является биосинтез глюкозы и других углеводов. Фотосинтезирующие организмы образуют огромные количества углеводов из CO₂ и H₂O (крахмал, целлюлозу и другие полисахариды из гексоз). В клетках животных организмов синтез углеводов идет из таких предшественников как лактат, аминокислоты, глицерин.

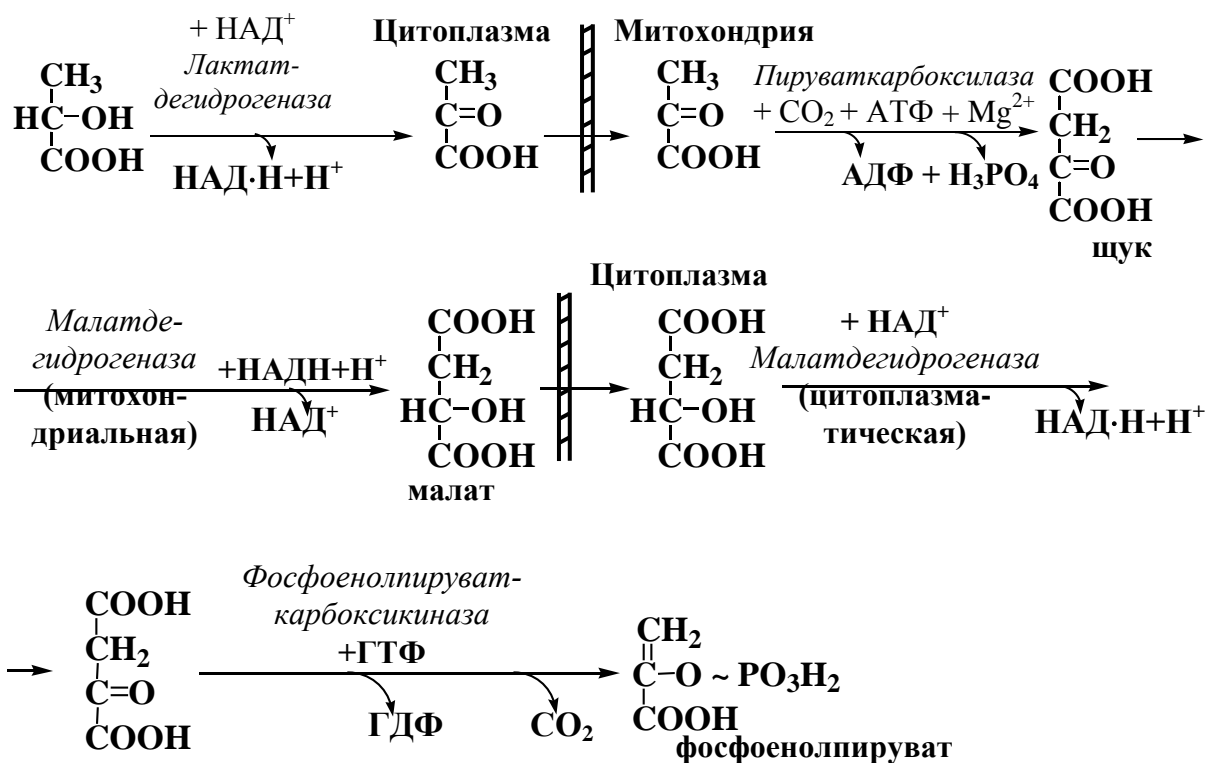
Синтез глюкозы из неуглеводных предшественников – лактата, аминокислот, глицерина (в узком смысле – из аминокислот) называется **глюконеогенезом**, протекает в печени и корковом веществе почек. В этот процесс могут быть вовлечены вещества, которые способны превратиться в пируват или любой другой метаболит глюконеогенеза. Запасов гликогена в организме достаточно для удовлетворения потребностей в глюкозе в период между приемами пищи. Цель глюконеогенеза – поддержание уровня глюкозы в крови после истощения запасов гликогена в печени при длительной физической работе или длительном голодании. При длительной физической работе субстратами для глюконеогенеза служат лактат, поступающий из мышечной ткани, и глицерин – из жировой ткани. При длительном голодании с этой целью используются аминокислоты, поступающие из мышечной ткани вследствие распада белков, и глицерин – из жировой ткани.

В организме человека и животных после интенсивной мышечной работы активно происходит синтез глюкозы, гликогена из лактата.

Лактат, образовавшийся в мышцах, вымывается кровью и доставляется ею в печень. **Превращение пирувата в глюкозу происходит по пути, обратному анаэробному гликолизу.** Из 11 реакций гликолиза восемь легко обратимы и используются в глюконеогенезе, но 3 киназные реакции необратимы: 1) пируваткиназная, 2) фосфофруктокиназная и 3) гексокиназная, в глюконеогенезе они называются обходными путями гликолиза.

В цитозоле клеток лактатдегидрогеназой лактат превращается в пирувиноградную кислоту, которая транспортируется в митохондрии. Здесь 1/5 часть ее окисляется до CO_2 и H_2O , давая энергию для превращения остальных 4/5 в глюкозу.

Реакция превращения фосфоенолпирувата в пируват, катализируемая пируваткиназой, необратима (ΔG макроэргической связи фосфоенолпирувата – 61,9 кДж/моль). Поэтому для ее преодоления необходима затрата энергии. В митохондриях остальные 4/5 пирувата подвергаются карбоксилированию пируваткарбоксилазой (с коферментом биотином) с затратой АТФ. Образующийся оксалацетат восстанавливается в малат, который с помощью переносчика транспортируется в цитоплазму, где окисляется цитоплазматической малатдегидрогеназой вновь до щавелевоуксусной кислоты. Последняя подвергается декарбоксилированию фосфоенолпируваткарбоксикиназой с участием ГТФ, и образуется фосфоенолпируват. Это первый обходной путь гликолиза.



Фосфоенолпируват превращается далее по пути обратному гликолизу при участии тех же ферментов до образования фруктозо-1,6-бисфосфата. Далее следуют необратимые фосфофруктокиназная и гексокиназная реакции. Для их обращения используются специальные ферменты: дефосфорилирование фруктозо-1,6-бисфосфата осуществляется фосфатазой фруктозо-1,6-бисфосфата, глюкозо-6-фосфата – глюкозо-6-фосфатазой. Это второй и третий обходные пути гликолиза.

Ряд аминокислот, называемых гликопластическими (глицин, аланин, серин, цистеин, треонин, метионин, валин, глютаминовая и аспарагиновая кислоты, аргинин, триптофан, гистидин, пролин), в результате специфических путей превращаются в пируват, щавелевоуксусную или α-кетоглутаровую кислоты, которые используются для глюконеогенеза. Глицерин включается в этот процесс на стадии образования 3-фосфоглицеринового альдегида.

Между распадом глюкозы (гликогена) в мышцах и глюконеогенезом в печени существует тесная взаимосвязь для координации работы этих тканей в интересах всего организма. При распаде гликогена в печени образуется глюкоза, которая кровью доставляется в мышцы, где используется для синтеза гликогена или с энергетической целью при мышечной работе с образованием лактата в анаэробных условиях. Лактат из мышечной ткани кровотоком доставляется в печень, где используется для синтеза глюкозы и гликогена. Этот цикл превращений назван глюкозо-лактатным или **циклом Кори**.



Цикл Кори функционирует и в эритроцитах, которые для получения энергии используют анаэробный гликолиз, накопившийся лактат также током крови доставляется в печень и вступает в глюконеогенез, образовавшаяся глюкоза вновь поступает в эритроциты и окисляется до лактата.

Регуляция гликолиза и глюконеогенеза происходит за счет АМФ и АТФ через фермент фосфатаза фруктозо-1,6-бисфосфата (фермент глюконеогенеза). Когда в клетке мало энергии – накапливается АМФ и ингибирует фосфатазу. Глюконеогенез подавляется и весь фруктозо-1,6-бисфосфат превращается по пути распада углеводов с целью продукции энергии.

Накопление АТФ активирует фосфатазу и проходят реакции глюконеогенеза, т.е. образуется глюкоза, а из нее гликоген.

Пентозофосфатный путь (пентозный цикл) окисления глюкозы

Основным путем превращения глюкозы, обеспечивающим ткани энергией, является дихотомический – расщепление до двух фосфотриоз (т.е. пополам). Однако часть глюкозы в организме превращается еще по одному пути – **пентозофосфатному** или **апотомическому** (от слова «арех» – верхушка). Механизмы его расшифрованы работами Варбурга, Дикенса, Рэккера, В.А. Энгельгардта, С.Е. Северина и др.

В аэробных условиях судьба глюкозы решается на стадии образования фруктозо-6-фосфата: если произошло его фосфорилирование, то образующийся фруктозо-1,6-бисфосфат превращается по дихотомическому пути до фосфотриоз; если вторичное фосфорилирование не произошло, то фруктозо-6-фосфат изомеризуется в глюкозо-6-фосфат, который превращается по апотомическому пути.

Ферменты процесса локализованы в цитоплазме клеток печени (до 33% глюкозы превращается здесь по пентозному пути), жировой ткани (до 20%), молочной железы, эритроцитов (до 10%), коры надпочечников, половых желез, т.е. в тех тканях, где идет синтез жирных кислот, стероидов, аминокислот, интенсивно протекает микросомальное окисление.

В пентозофосфатном пути превращения глюкозы можно выделить 2 части: **окислительный (А)** и **неокислительный (Б)** пути образования

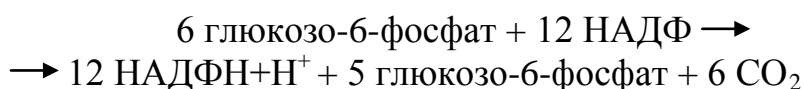
пентоз.

Окислительный путь образования пентоз включает 2 реакции дегидрирования. Коферментом дегидрогеназ является НАДФ, который восстанавливается в НАДФН+Н⁺. Пентозы образуются в результате реакции окислительного декарбоксилирования.

Неокислительный путь образования пентоз включает реакции переноса 2 и 3 углеродных фрагментов с одной молекулы на другую. Этот путь служит для синтеза пентоз. Неокислительный путь образования пентоз обратим, следовательно, с помощью него избыток пентоз, превышающий потребности клетки, может быть возвращен в фонд гексоз (регенерация глюкозо-6-фосфата). В любом случае постоянным является образование 6 СО₂ и 12 НАДФ·Н+Н⁺. Регенерация глюкозо-6-фосфата происходит лишь тогда, когда пентозы не используются для синтеза нуклеотидов.

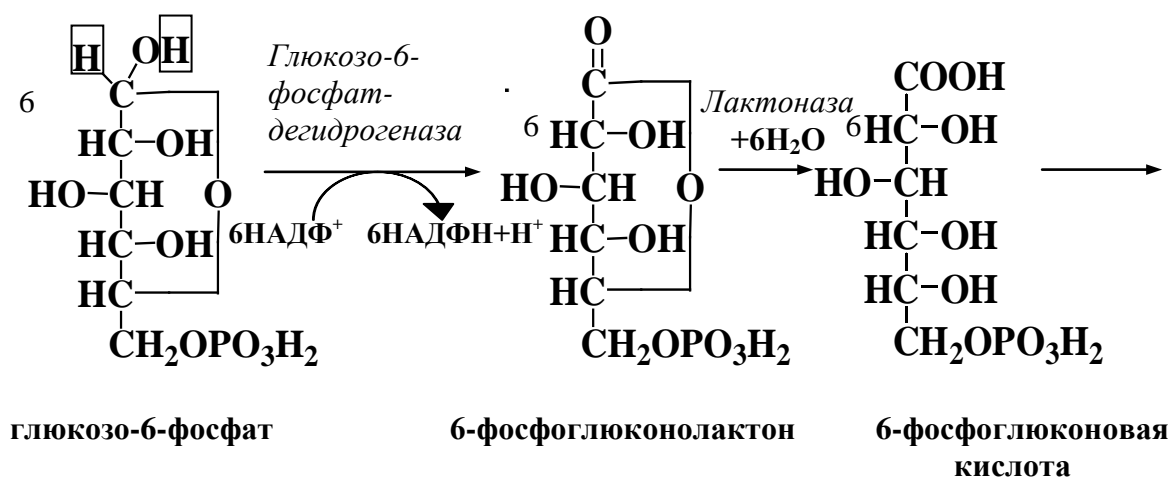
Окислительный путь синтеза пентоз (путь А) и путь возвращения пентоз в гексозы (путь Б в обратном направлении) вместе составляют циклический процесс (пентозофосфатный цикл) – за один оборот цикла полностью распадается одна молекула глюкозы.

Суммарное уравнение пентозофосфатного цикла:

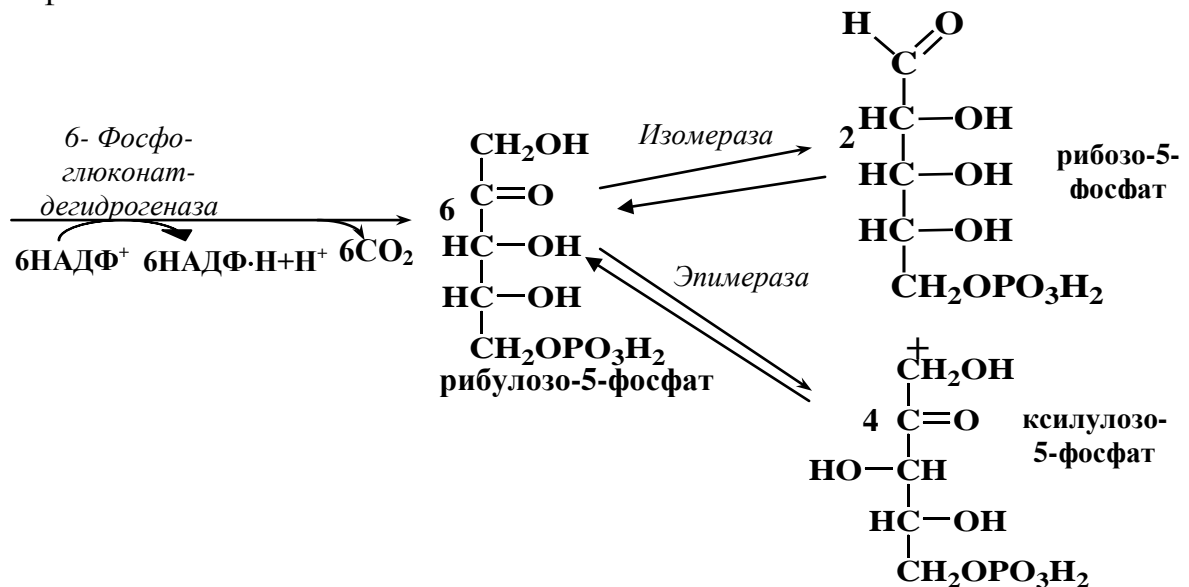


Окислительные реакции

Глюкозо-6-фосфат дегидрируется по первому углеродному атому глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой с коферментом НАДФ, который восстанавливается. Образующийся 6-фосфоглюконолактон гидратируется лактоназой и получается 6-фосфоглюконовая кислота. Для удобства дальнейших подсчетов продуктов процесса рассматривают превращения 6 молекул глюкозы.

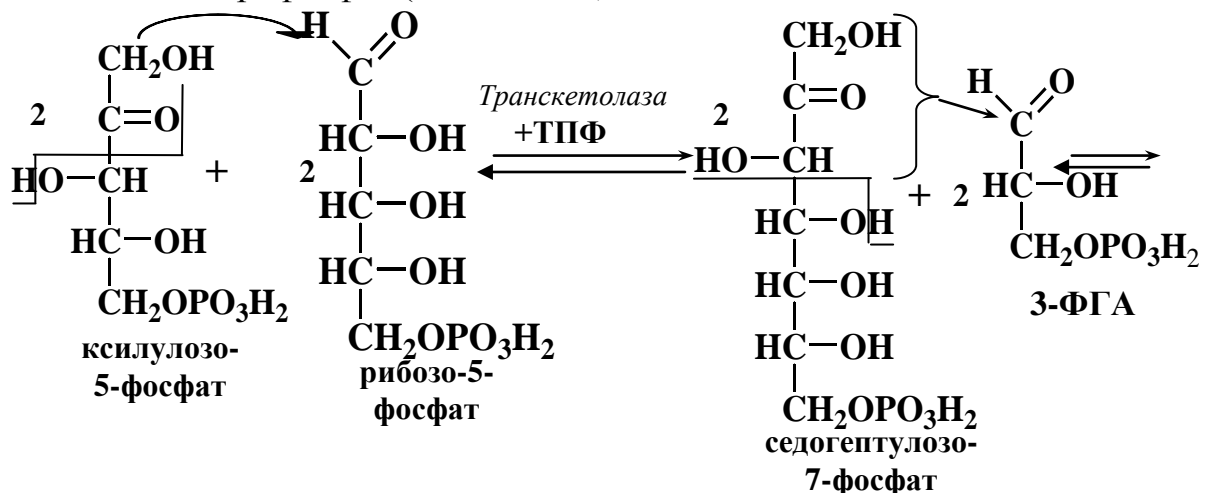


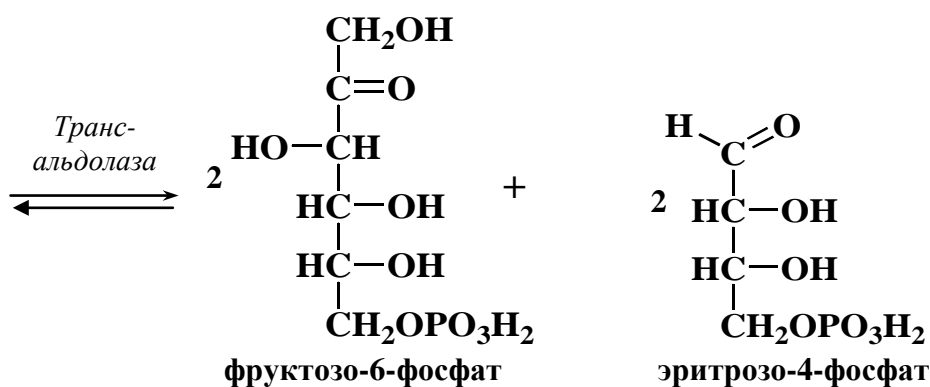
6-фосфоглюконовая кислота окисляется по третьему углеродному атому 6-фосфоглюконатдегидрогеназой с коферментом НАДФ с одновременным декарбоксилированием карбоксильной группы, в результате чего образуется рибулозо-5-фосфат. На него действуют два фермента: изомераза, превращающая кетозу в альдозу - рибулозо-5-фосфат, и эпимераза, превращающая рибулозо-5-фосфат в его эпимер-ксилозу-5-фосфат.



Неокислительные реакции

Продукты окислительного пути взаимодействуют между собой, вступая в транскетолазную реакцию. Коферментом транскетолазы является тиаминпирофосфат (витамин В₁).

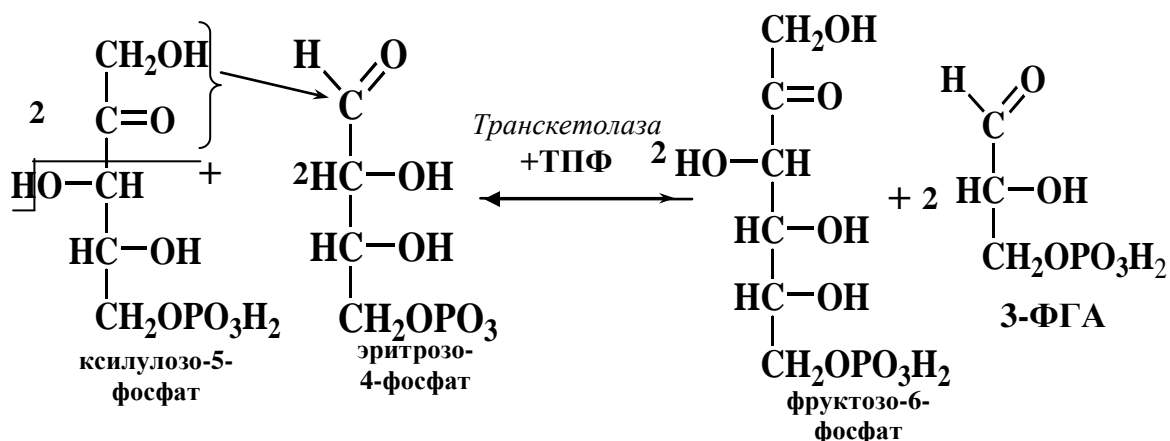




Транскетолаза отщепляет от ксилулозо-5-фосфата гликолевый альдегид и переносит его на рибозо-5-фосфат с образованием седогептулозо-7-фосфата и 3-фосфоглицеринового альдегида, на которые действует трансальдолаза. Она отщепляет от седогептулозо-7-фосфата диоксиацетон и переносит его на 3-фосфоглицериновый альдегид с образованием фруктозо-6-фосфата и тетразы – эритрозо-4-фосфата.

2 молекулы эритрозо-4-фосфата взаимодействуют с оставшимися двумя молекулами ксилулозо-5-фосфата при участии транскетолазы, которая переносит гликолевый альдегид с пентозы на эритрозо-4-фосфат. В результате образуются еще две молекулы фруктозо-6-фосфата и две молекулы 3-фосфоглицеринового альдегида.

Одна из молекул 3-фосфоглицеринового альдегида изомеризуется в диоксиацетонфосфат, который вступает в реакцию альдольной конденсации с оставшейся молекулой 3-ФГА. Образуется фруктозо-1,6-бисфосфат, который дефосфорилируется фосфатазой, и получается 5-ая молекула фруктозо-6-фосфата.



Некоторые метаболиты неокислительного пути являются также и метаболитами гликолиза. Из этого следует, что оба процесса тесно связаны и в зависимости от потребностей клетки возможны переключения с одного пути на другой. При сбалансированной потребности в НАДФН+Н и пентозах в клетке происходит

окислительный путь синтеза пентоз. Если потребности в пентозах превышают потребности в НАДФН+Н, то окислительный путь шунтируется за счет использования метаболитов гликолиза: фруктозо-6-фосфат и глицероальдегидфосфат в реакциях неокислительного пути превращаются в пентозы.

Если же НАДФН+Н необходим в большей степени, чем пентозы, то возможны два варианта: при высоком энергетическом статусе клетки излишки пентоз путем обратных реакций неокислительного пути превращаются в фруктозо-6-фосфат и глицероальдегидфосфат, из которых в процессе глюконеогенеза образуется глюкоза; при низком энергетическом статусе клетки из пентоз также образуются глицероальдегидфосфат и фруктозо-6-фосфат, которые затем включаются в гликолиз.

Значение пентозофосфатного пути

Процесс используется только с пластической целью:

1. Образующиеся пентозы – рибозо-5-фосфат используются для синтеза нуклеотидов, нуклеиновых кислот.
2. НАДФ·Н+Н⁺ используется для синтеза высших жирных кислот, холестерина, аминокислот.
3. НАДФ·Н+Н⁺ необходим как донор протонов и электронов в процессе микросомального окисления (при превращении эндогенных субстратов и обезвреживании ксенобиотиков).
4. В растениях рибулозо-5-фосфат участвует в темновой стадии фотосинтеза как акцептор СО₂.
5. В цикле происходят взаимопревращения моносахаридов, содержащих от 3 до 7 углеродных атомов.

Лекция 14

СИНТЕЗ И РАСПАД ГЛИКОГЕНА

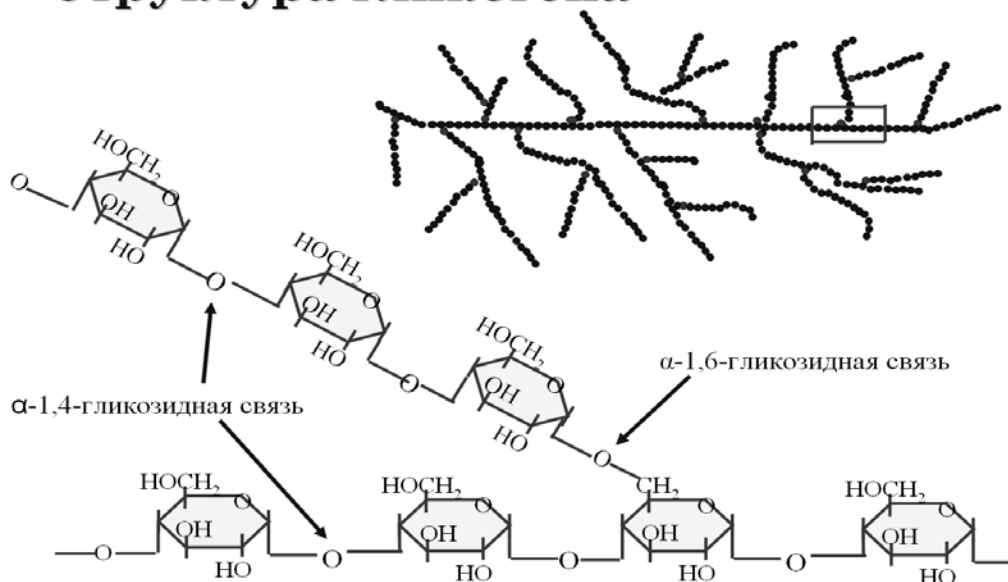
Синтез гликогена

Гликоген играет роль депо глюкозы в организме. Структура его молекулы идеально приспособлена для этой цели:

- 1) крупные полимерные молекулы не диффундируют через клеточные мембраны и являются стабильным источником глюкозы в клетке;
- 2) гликоген – высокомолекулярное вещество и, в отличие от глюкозы, очень мало влияет на величину осмотического давления в клетке.

- 3) накопление свободной глюкозы привело бы к повышению осмотического давления и, как следствие, отеку клетки;
- 4) разветвленная молекула выгодна, т.к. ветвление увеличивает скорость синтеза и распада гликогена;
- 5) ветвление повышает растворимость гликогена.

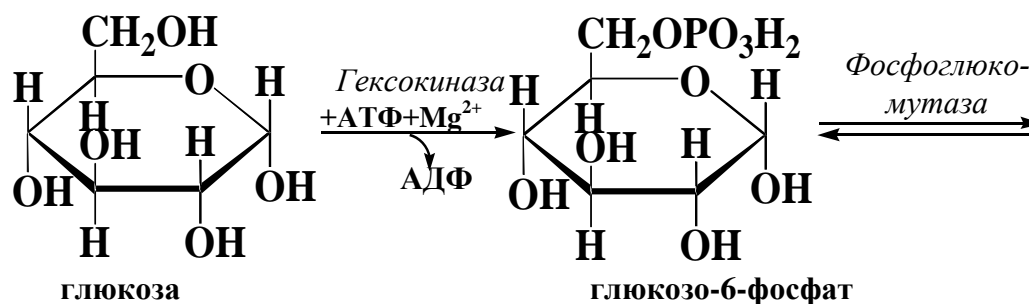
Структура гликогена



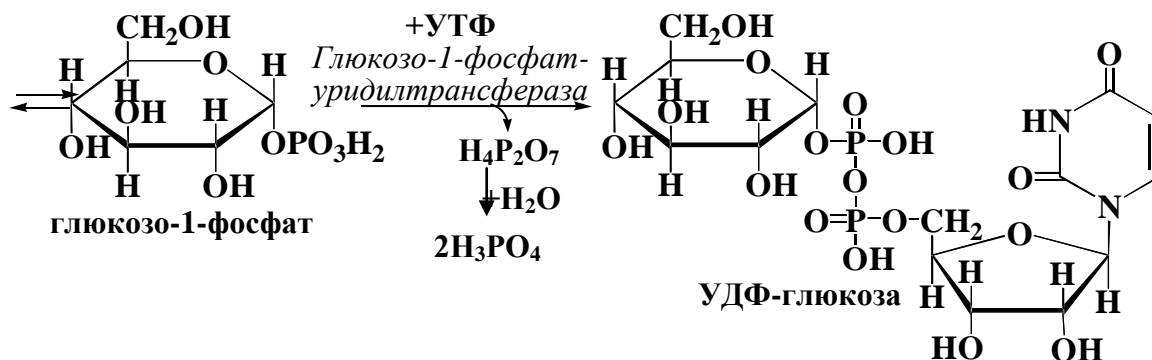
Депонирование глюкозы в виде гликогена происходит в печени и мышечной ткани, ферменты синтеза локализованы в цитоплазме клеток. Процесс включает 3 этапа:

1. Активация C_1 атома глюкозы, образование активной формы глюкозы – УДФ-глюкозы.

Глюкоза фосфорилируется гексокиназой (или глюкокиназой в печени) с образованием глюкозо-6-фосфата.

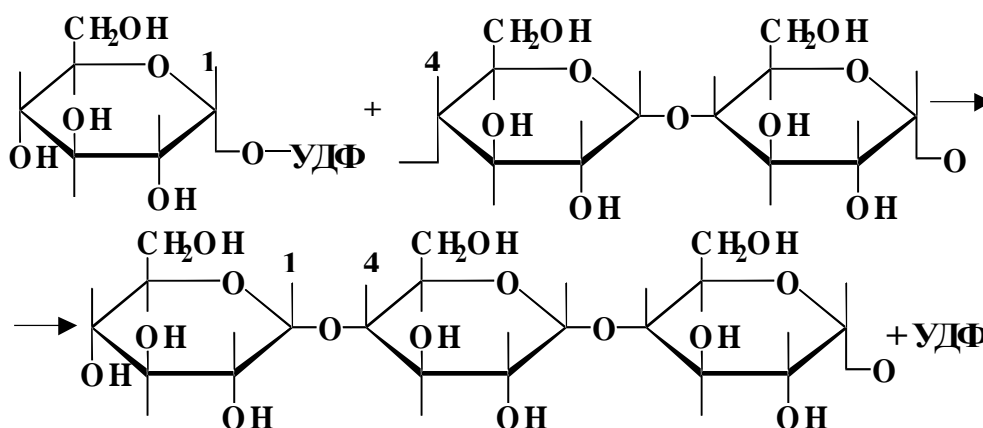


Фосфоглюкомутаза переносит фосфатную группировку из шестого положения в первое, и образуется глюкозо-1-фосфат, который взаимодействует с УТФ при участии глюкозо-1-фосфат-уридилтрансферазы. Образуется активная форма глюкозы – УДФ-глюкоза.

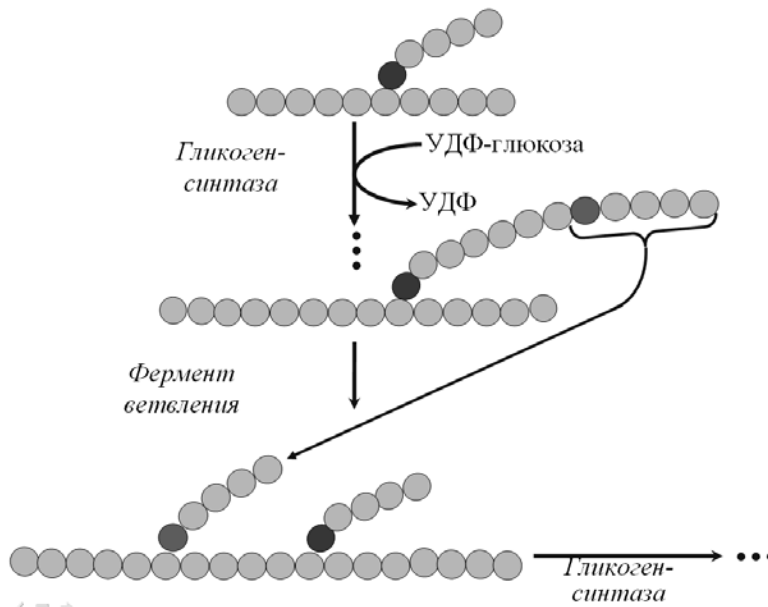


Образование УДФ-глюкозы необратимо, т.к. пиррофосфат гидролизуется пиррофосфатазой с выделением энергии.

2. Образование α -1,4-гликозидных связей – удлинение ветвей гликогена. Для этого этапа необходимо наличие «затравки» гликогена – т.е. цепи гликогена, содержащей не менее 4-х остатков глюкозы, образуется при гидролитическом расщеплении гликогена. Фермент гликогенсинтаза присоединяет остаток глюкозы из УДФ глюкозы ее C_1 атомом к C_4 атому глюкозы «затравки», т.е. к нередуцирующему концу, образуя α -1,4-гликозидную связь.



3. Образование α -1,6-гликозидных связей (ветвление молекулы). Молекула гликогена сильно разветвлена за счет наличия α -1,6-гликозидных связей. Образование их осуществляет **амилозо-1,4 \rightarrow 1,6-трансглюкозидаза** (ветвящий, браншинг фермент). Когда длина линейного участка цепи включает минимально 11 остатков глюкозы, этот фермент переносит фрагмент (1 \rightarrow 4) цепи (с минимальным количеством 6-7 остатков глюкозы) на соседнюю цепь или на несколько остатков глюкозы дальше, образуя α -1,6-гликозидную связь. Образуется точка ветвления. Ветви растут путем присоединения остатков глюкозы α -1,4-гликозидной связью, т.е. линейно, а затем вновь ветвятся.

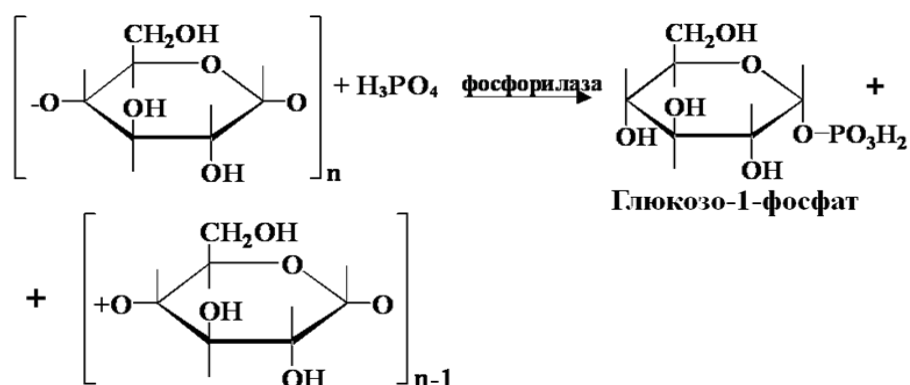


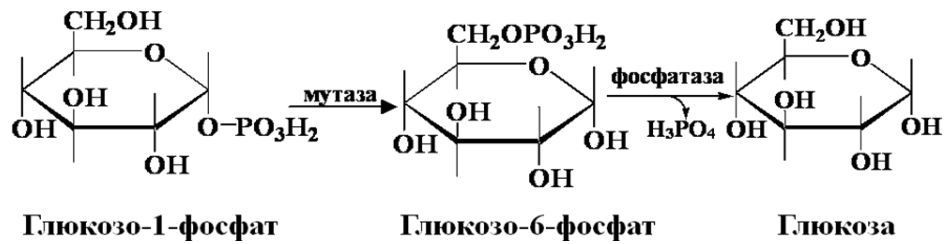
Распад (мобилизация) гликогена

Осуществляется двумя путями:

1. Амилолитическое (или гидролитическое) расщепление менее значимо, заключается в гидролитическом отщеплении концевых остатков глюкозы от цепей гликогена с помощью фермента **α -1,4-глюкозидазы** (**γ -амилазы**). При этом в цитозоле появляются молекулы свободной глюкозы. Полагают, что этот путь служит для подготовки небольших количеств «затравок» для синтеза гликогена.

2. Фосфоролитическое расщепление гликогена имеет большее значение, при этом образуется фосфорилированная глюкоза – глюкозо-1-фосфат. Расщепление проводит фермент **фосфорилаза** в присутствии неорганического фосфата. Это основной путь распада гликогена.



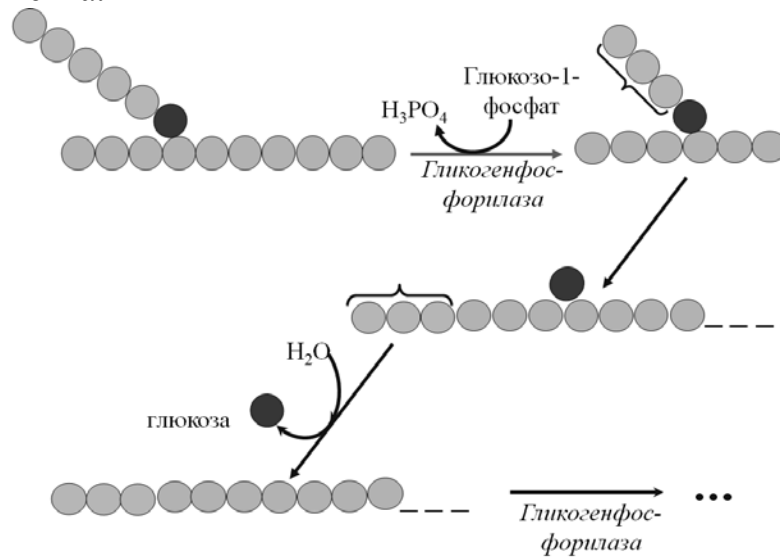


Механизм распада гликогена

1. Фосфорилаза расщепляет α -1-4-гликозидные связи, образуя глюкозо-1-фосфат, действуя с нередуцирующих концов ветвей гликогена до тех пор, пока на ветвях, идущих от точки ветвления (α -1-6 гликозидная связь), не останется примерно по 4 остатка глюкозы.

2. Фермент α -1,4 \rightarrow 1,6-глюкотрансфераза переносит фрагмент из 3-х остатков глюкозы с одной ветви на другую.

3. Оставшийся один остаток глюкозы из бывших 4-х, связанный α -1,6-гликозидной связью отщепляется гидролитически с помощью деветвящего фермента.



Особенности мобилизации гликогена в печени и в мышцах

	Печень	Мышцы
Схема процесса	Гликоген ↓ Глюкозо-1-фосфат ↓ Глюкозо-6-фосфат ↓ H_3PO_4 Глюкоза ↓ В кровь	Гликоген ↓ Глюкозо-1-фосфат ↓ Глюкозо-6-фосфат ↓ Аэробный или анаэробный распад

	Печень	Мышцы
Особенности процессов	Фосфатаза катализирует дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата. Свободная глюкоза поступает в кровь.	Фосфатаза глюкозо-6-фосфата отсутствует.
Физиологическое значение	Гликоген используется для поддержания концентрации глюкозы в крови и снабжения глюкозой других органов в период между приемами пищи	Гликоген используется для энергообеспечения только самих мышц

Характеристика ферментов, участвующих в регуляции обмена гликогена

Гликогенсинтаза – регуляторный фермент, тетрамер из четырех идентичных субъединиц, синтезирует гликоген, образуя α -1,4-гликозидные связи. Существует в двух формах: **неактивная форма** – фосфорилированный тетрамер, обозначается буквой D (D – dependent, зависимая активность, зависит от наличия глюкозо-6-фосфата). **Активная форма I** (I – independent, активна и в отсутствие глюкозо-6-фосфата) образуется из D при дефосфорилировании под действием фосфатазы гликогенсинтазы. Превращение активной I-формы в неактивную D происходит при участии протеинкиназы путем фосфорилирования за счет АТФ. В покоящейся мышце гликогенсинтаза находится в форме I, в сокращающейся – в форме D.

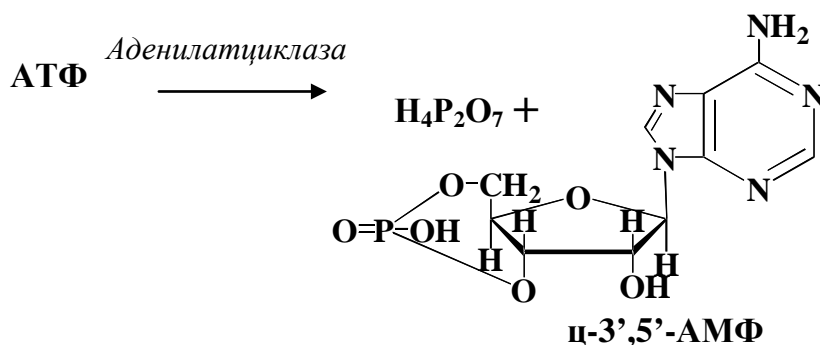
Фосфорилаза – сложный регуляторный фермент, расщепляет гликоген. Существует в двух формах – активной и неактивной. **Активная форма – фосфорилаза «а»** – фосфорилированный тетрамер. Под действием фосфатазы фосфорилазы происходит дефосфорилирование, отщепляются 4 молекулы H_3PO_4 , и фосфорилаза «а» превращается в **неактивную форму – фосфорилазу «b»**, распадаясь на две димерных молекулы. Фосфорилаза «b» активируется путем фосфорилирования за счет АТФ ферментом **киназой фосфорилазы**. В свою очередь этот фермент также существует в двух формах. **Активная киназа фосфорилазы** – фосфорилированный фермент, превращается в **неактивную форму** под действием фосфатазы. Активация киназы фосфорилазы осуществляется путем фосфорилирования за счет АТФ в присутствии ионов Mg^{2+} протеинкиназой.

В покоящейся мышце фосфорилаза и киназа фосфорилазы находятся в неактивной – дефосфорилированной форме, а фосфатаза – в активной. Киназа фосфорилазы может также активироваться ионами кальция, высвобождающимися под действием нервного импульса, которые одновременно ингибируют фосфатазу фосфорилазы.

Регуляция синтеза и распада гликогена

Протеинкиназа – сложный регуляторный фермент, состоящий из двух типов субъединиц: две рецепторные R и каталитические C. Рецепторная часть является ингибитором фермента. Комплекс C–R неактивен. Аллостерическим активатором протеинкиназы является циклический 3',5'-АМФ (ц-3',5'-АМФ), четыре молекулы которого связываются со специфическими участками двух рецепторных субъединиц (по две с каждой), при этом освобождаются каталитические субъединицы, которые образуют активный фермент. В мышцах протеинкиназа может активироваться ионами Ca^{2+} , которые связываются с кальмодулинподобной субъединицей фермента.

Аденилатциклаза катализирует превращение АТФ в цАМФ, связана с рецепторами плазматической мембраны.



Фосфодиэстераза катализирует разрушение цАМФ.

Протеинфосфатазы (фосфатаза гликогенсинтазы, фосфорилазы и киназы фосфорилазы) обеспечивают отщепление фосфата от фосфорилированных форм ферментов, т.е. проводят дефосфорилирование.

Активность аденилатциклазы регулируется гормонами: стимулируется адреналином (гормоном мозгового вещества надпочечников) и глюкагоном (гормоном поджелудочной железы) и тормозится инсулином.

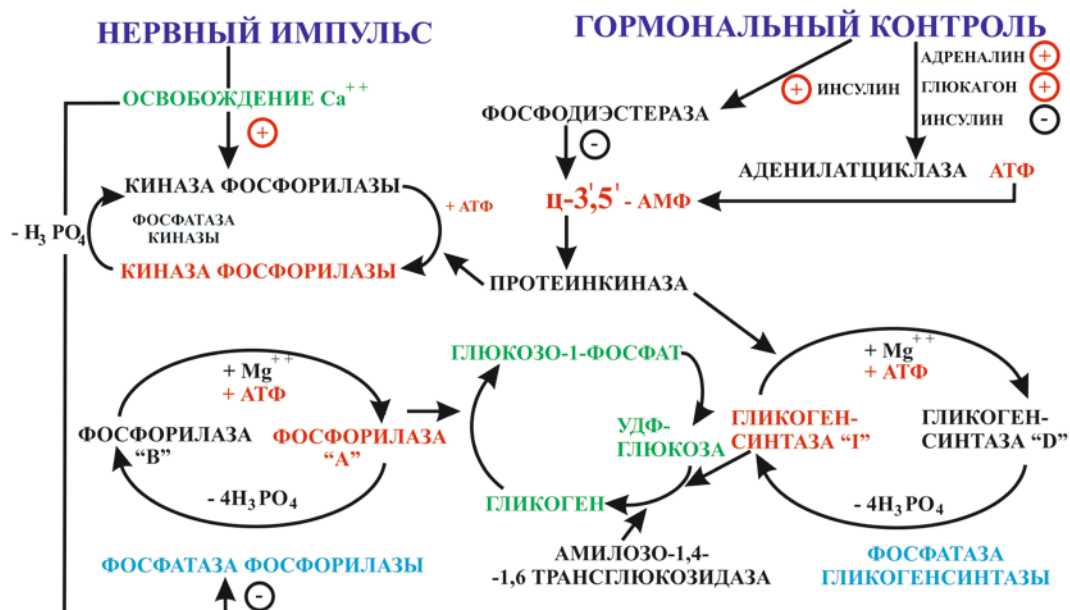
Адреналин и глюкагон стимулируют аденилатциклазу и тем самым повышают содержание ц-3',5'-АМФ, который активирует протеинкиназы. Протеинкиназы переводят активную форму (I) гликогенсинтазы в неактивную (D), т.е. **тормозят синтез гликогена**. В то же время они активируют киназу фосфорилазы, которая фосфорилирует неактивную фосфорилазу «b». Таким образом, адреналин и глюкагон **стимулируют распад гликогена**.

Гормон поджелудочной железы инсулин понижает активность аденилатциклазы и стимулирует фермент фосфодиэстеразу, расщепляющую ц-3',5'-АМФ. В результате содержание **ц-3',5'-АМФ уменьшается**.

ется, и протеинкиназы неактивны. Гликогенсинтаза находится в активной форме, а киназа фосфоорилазы и фосфоорилаза в неактивной. Таким образом, **инсулин стимулирует синтез гликогена и тормозит распад.**

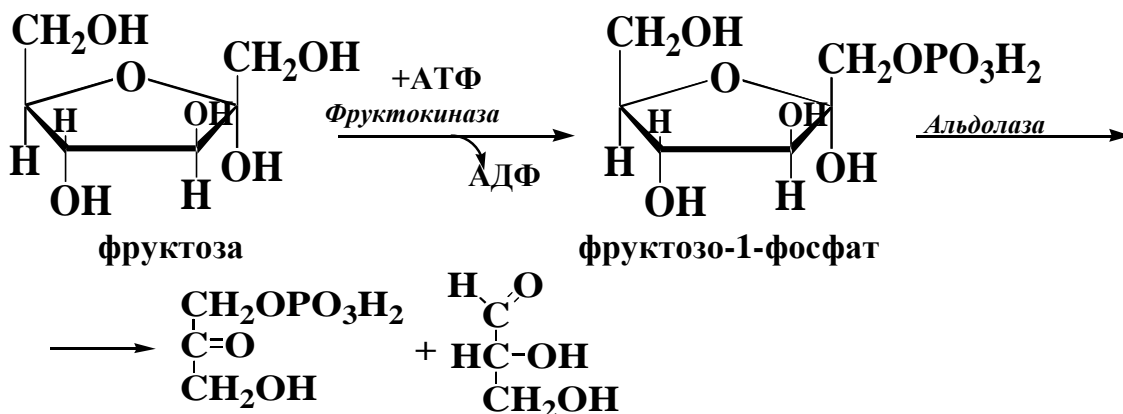
В итоге можно сказать, что регуляция и синтеза и распада гликогена носит каскадный характер и происходит путем химической модификации ферментов.

СХЕМА РЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА И РАСПАДА ГЛИКОГЕНА В МЫШЦЕ И ПЕЧЕНИ



Обмен фруктозы

Основное количество фруктозы (около 80%), поступившей с пищей, **метаболизируется в печени.** Возможны два пути превращения, главным из которых является ее фосфорилирование по первому углеродному атому ферментом **фруктокиназой** с образованием фруктозо-1-фосфата. Специфическая альдолаза фруктозо-1-фосфата расщепляет его на две триозы – диоксиацетонфосфат и глицеральдегид.



**диоксиацетон-
фосфат**

**глицериновый
альдегид**

Глицериновый альдегид фосфорилируется **триозокиназой** с затратой АТФ, превращаясь в 3-фосфоглицериновый альдегид.

Оба продукта (3-фосфоглицериновый альдегид и диоксиацетон-фосфат) могут подвергаться распаду (аэробному или анаэробному) или превращаться в глюкозу в процессе глюконеогенеза.

Второй возможный путь превращения фруктозы – фосфорилирование **гексокиназой** шестого углеродного атома с образованием фруктозо-6-фосфата, который затем изомеризуется в глюкозо-6-фосфат. Однако сродство к глюкозе гексокиназы в 20 раз выше, чем к фруктозе, поэтому этот процесс происходит слабо.

Возможны **наследственные нарушения обмена фруктозы** вследствие дефектов двух ферментов.

1. **При дефекте фруктокиназы** печени нарушается фосфорилирование фруктозы, и развивается заболевание **эссенциальная фруктозурия**, которая проявляется повышением содержания фруктозы в крови (фруктоземия) и выделением ее с мочой (фруктозурия). Заболевание протекает бессимптомно, т.к. энергетическое обеспечение клеток осуществляется глюкозой и не страдает.

2. Возможен **генетический дефект** выработки **альдолазы фруктозо-1-фосфата**, что приводит к развитию непереносимости фруктозы – заболеванию **фруктоземии**. Оно проявляется судорогами, рвотой, гипогликемией, поражением печени и почек. Заканчивается смертельным исходом. Гипогликемия является следствием ингибирования фруктозо-1-фосфатом, накапливающимся в крови и в тканях, ферментов фосфоорилазы гликогена, альдолазы фруктозо-1,6-бисфосфата, фосфоглюкомутаза, т.е. нарушается энергообеспечение клеток.

Обмен галактозы

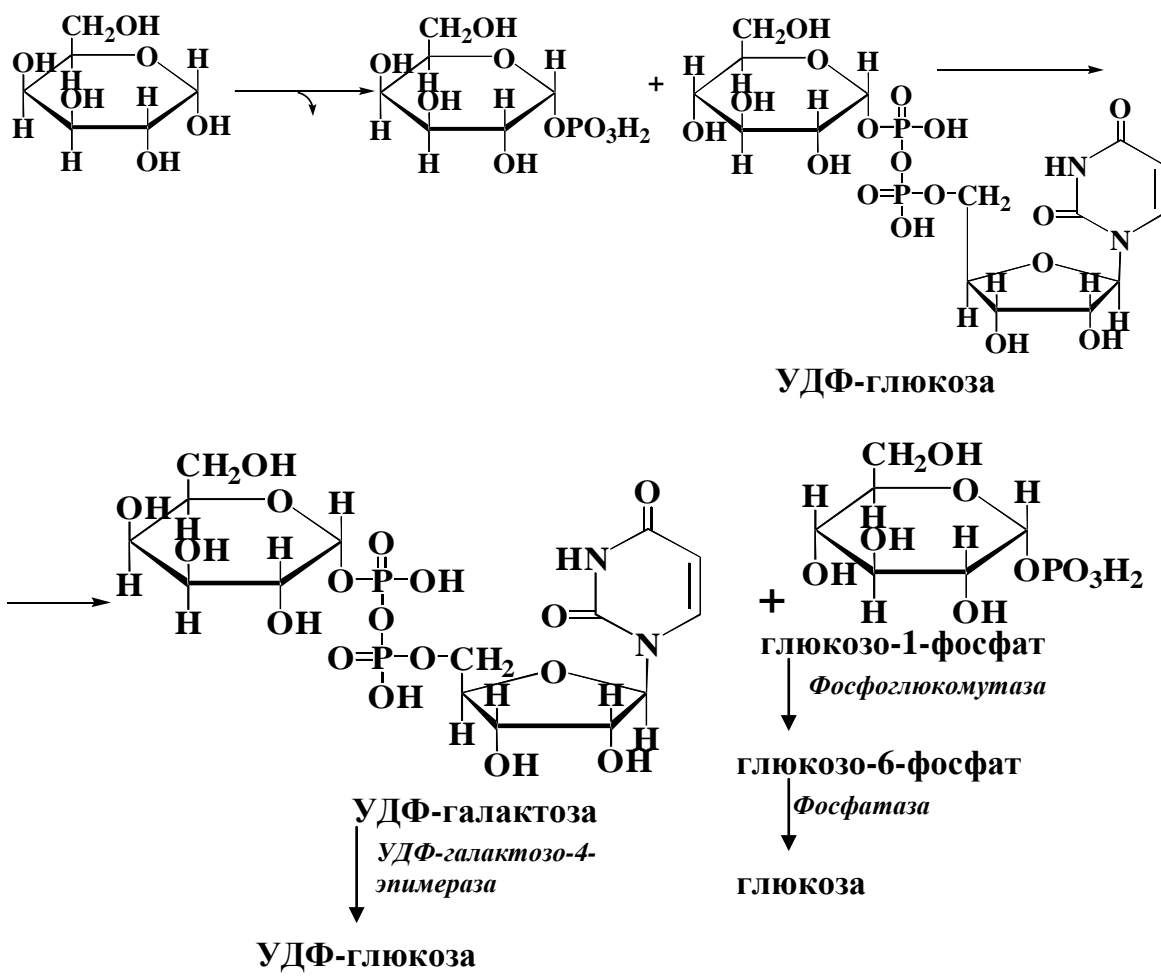
Галактоза **фосфорилируется** в печени по первому углеродному атому ферментом **галактокиназой** с образованием галактозо-1-фосфата, который далее взаимодействует с УДФ-глюкозой под действием гексозо-1-фосфат-уридилтрансферазы. В результате реакции выделяются глюкозо-1-фосфат и УДФ-галактоза. УДФ-галактозо-4-эпимераза осуществляет реакцию эпимеризации у четвертого углеродного атома, и УДФ-галактоза превращается в УДФ-глюкозу.

*Галактоки-
наза*
+АТФ

*Гексозо-1-фосфат-
уридилтрансфераза*

АДФ

галактозо-
1-фосфат¹⁷⁴



Глюкозо-1-фосфат превращается фосфоглюкомутазой в глюкозо-6-фосфат, который дефосфорилируется с образованием глюкозы.

Возможен **генетический дефект гексозо-1-фосфат-уридилтрансферазы**, что приводит к заболеванию – *галактоземии*. У больных детей наблюдается галактоземия, галактозурия, накопление галактозы в тканях, рвота, понос, цирроз печени, поражение почек, отставание в росте, катаракта, умственная отсталость. Эти глубокие расстройства могут привести к смерти.

Токсическое действие галактозо-1-фосфата связано с ингибированием им фосфоглюкомутазы (нарушение энергообеспечения клеток и, прежде всего, нервных) и образованием спирта галактитола (восстановление первого углеродного атома), вызывающего катаракту.

Исключение молока из диеты больных и замена его соевым устраняет накопление галактозы.

На втором году жизни у детей появляется фермент галактозо-1-фосфат-уридилтрансфераза, отсутствующий у новорожденных. Тогда у детей появляется второй путь превращения галактозы:

галактоза



И хотя по мощности этот путь составляет только 1/6 часть первого, но к этому времени резко уменьшается доля молока в питании детей, и превращение галактозы в глюкозу идет достаточно интенсивно.

Нарушение обмена углеводов

Причиной нарушений обмена углеводов могут быть генетические или приобретенные дефекты тех или иных ферментов. Нарушение выработки в тонком кишечнике ферментов дисахаридаз (лактазы, мальтазы, сахаразы) приводит к патологии переваривания углеводов. Оно может быть наследственным или следствием воспалительного процесса. В некоторых регионах Азии и Африки встречаются группы людей с нарушением выработки лактазы. Неполное расщепление дисахаридов вызывает тяжелые кишечные расстройства. Большой осмотический эффект невсосавшейся лактозы или дисахаридов вызывает приток жидкости в тонкий кишечник. У больных наблюдается вздутие живота, тошнота, боль, водные поносы, обезвоживание организма, возможны судороги. Так проявляется непереносимость лактозы. Расщепление дисахаридов ферментами бактерий до молочной кислоты приводит к хроническому ацидозному поносу. Кроме рассмотренных последствий дефектов лактазы, альдолазы фруктозо-1-фосфата, гексозо-1-фосфатуридилтрансферазы встречаются также дефекты ферментов, катализирующих процессы синтеза и распада гликогена.

При генетических дефектах ферментов, осуществляющих распад гликогена, развиваются заболевания *гликогенозы*, характеризующиеся накоплением гликогена. Изучены IX типов гликогенозов.

Тип	Название болезни	Дефектный фермент	Проявления заболевания
I	Гирке	Глюкозо-6-фосфатаза	Наиболее часто встречающийся. Увеличение печени, почек, поражение слизистой кишечника. Гипогликемия, судороги. Задержка роста. В 50% смерть в раннем детстве. Структура гликогена нормальная.
II	Помпе	Кислая α-1,4-гликозидаза	Наблюдается генерализованное отложение гликогена в мышцах, почках, сердце, селе-

Тип	Название болезни	Дефектный фермент	Проявления заболевания
		лизосом	зенке, лейкоцитах, эритроцитах, нервной ткани (структура его нормальная). Развиваются кардиомегалия, сердечная недостаточность. Летальный исход в раннем детстве.
III	Кори или Форбса	Амило-1,6-гликозидаза	Отложение гликогена в печени, мышцах, лейкоцитах, эритроцитах. Гликоген с короткими многочисленными ветвями.
IV	Андерсона	Амилозо-1,4→1,6-трансгликозидаза	Накопление гликогена с длинными, мало разветвленными цепями в печени, мышцах, почках, лейкоцитах. Гибель в молодом возрасте от цирроза печени.
V	Мак-Ардла	Фосфорилаза мышц	Накопление гликогена в скелетных мышцах. Сильные мышечные боли при физической нагрузке. Распад гликогена только гидролитическим путем.
VI	Херса	Фосфорилаза печени	Накопление гликогена в печени. Гипогликемия, но прогноз благоприятный.
VII	Томсона	Фосфоглюкомутаза	Накопление гликогена в печени, мышцах, эритроцитах. Мышечная слабость.
VIII	Таруи	Фосфофруктокиназа мышц	Накопление гликогена в мышечной ткани. Мышечная слабость, быстрая усталость и боль при нагрузке. Накопление глюкозо-6-фосфата приводит к активации гликогенсинтазы.
IX	Хага	Киназа фосфорилазы	Накопление гликогена.

Наследственные дефекты гликогенсинтазы приводят к **агликогенозам**. В печени почти отсутствует гликоген, что приводит к резкой гипогликемии и развитию умственной отсталости. Наблюдаются судороги, рвота.

Регуляция обмена углеводов

Углеводы являются наиболее легко мобилизуемыми соединениями, обеспечивающими энергетические потребности различных тканей. Чтобы различные метаболические пути любого обмена могли функционировать согласованно и удовлетворять потребности клеток, органов или организма в целом, они должны быть регулируемы. Регуляция скорости протекания реакций метаболического пути осуществляется путем изменения активности ферментов.

Регуляция активности ферментов углеводного обмена осуществляется с помощью механизмов трех типов:

- 1. Изменение скорости синтеза ферментов (гормональная).**
- 2. Изменение активности фермента в результате ковалентной**

химической модификации – фосфорилирование – дефосфорилирование (фосфорилаза, гликогенсинтаза).

3. Аллостерическая. Регуляторными ферментами являются:

	Активатор	Ингибитор
Ферменты гликолиза и цикла трикарбоновых кислот:		
Гексокиназа		глюкозо-6-фосфат
Фосфорилаза	АМФ	глюкозо-6-фосфат, АТФ
фосфофруктокиназа	АМФ, АДФ, фруктозо-1-фосфат, фруктозо-2,6-бисфосфат*	цитрат АТФ
Пируваткиназа	фруктозо-1,6-бисфосфат	АТФ
пируватдегидрогеназа	пируват, АМФ, АДФ, НАД	ацетил-КоА, НАДН+Н ⁺ , АТФ, ГТФ
Цитратсинтаза	ацетил-КоА	АТФ, НАДН+Н ⁺
изоцитратдегидрогеназа	АДФ	АТФ, НАДН+Н ⁺
α - кетоглутаратдегидрогеназа		НАДН+Н ⁺ , сукцинил-КоА
Ферменты глюконеогенеза:		
пируваткарбоксилаза	ацетил-КоА	АДФ
фруктозо-1,6-бисфосфатаза		АМФ, фруктозо-2,6-бисфосфат*

Лекция 15

ОБМЕН ЛИПИДОВ. ПЕРЕВАРИВАНИЕ, ТРАНСПОРТ ЛИПИДОВ

1. Общая характеристика липидов

В одном из руководств по биохимии (Fairley 1966) говорится, что «все определения, данные классу соединений, называемому липидами, были либо беспредельно сложными, либо полностью запутанными».

Липиды – это обширная группа соединений, различающихся по химической структуре и выполняемым функциям. Признаки липидов: 1) нерастворимость в воде, 2) растворимость в эфире, хлороформе, бензоле, т.е. в полярных органических растворителях 3) содержание в своем составе жирных кислот.

По своему строению липиды, в большинстве случаев, это сложные эфиры высших жирных кислот с глицерином или некоторыми

* фруктозо-2,6-бисфосфат образуется при фосфорилировании фруктозо-6-фосфата за счет АТФ фосфофруктокиназой – 2; важный метаболический регулятор обмена углеводов, т.к. при достаточном количестве глюкозы стимулирует гликолиз и тормозит глюконеогенез.

другими спиртами, также в состав могут входить фосфорная кислота, азотистые основания, углеводы.

Функции липидов

1. Липиды в виде комплекса с белками являются структурными элементами клеточных мембран. Они определяют текучесть мембраны и транспорт веществ в клетку.

2. Липиды служат энергетическим материалом для организма. При окислении 1 г. жира выделяется 39 кДж энергии, что в 2 раза больше, чем при окислении 1 г углевода.

3. В виде жировой прокладки предохраняют тело и органы животных от механического повреждения (жировая капсула у почек, сальник защищает органы брюшной полости).

4. Липиды сохраняют тепло в организме, обладая хорошими теплоизоляционными свойствами (морские животные, пловцы-моржи).

5. Эйкозаноиды обладают регуляторной активностью.

6. Гликолипиды являются важными компонентами нервной ткани, оказывая существенное влияние на функционирование нервной системы.

7. Некоторые липиды являются предшественниками многих биологически активных веществ. Например, из фосфолипидов образуются простагландины, тромбоксан, простаглицин, диацилглицерол, инозитолтрифосфат и т.д. Холестерин служит предшественником желчных кислот, стероидных гормонов надпочечников, семенников, яичников и плаценты, из него образуется витамин Д.

8. Эстетическая роль - жировая прокладка смягчает контуры скелета, образуя «округлости», которые создают привычный образ тела человека.

С нарушениями обмена липидов связаны такие грозные заболевания как атеросклероз, ожирение, желчно-каменная болезнь и другие.

2. переваривание липидов. Роль желчных кислот. Всасывание продуктов переваривания

Жиры – это гидрофобные продукты, ферменты их переваривающие – гидрофильны. Поэтому для увеличения поверхности соприкосновения с гидрофильными ферментами жиры должны эмульгироваться (разбиться на капли). Эмульгирование жиров может происходить только в кишечнике, поэтому основное место переваривания жиров – тонкий кишечник (duodenum).

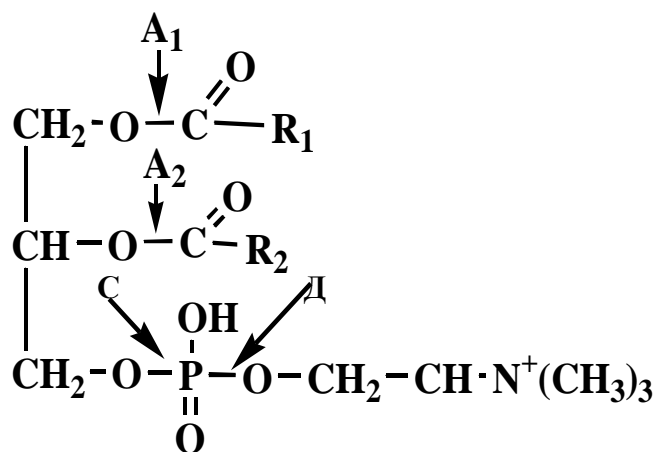
Факторы эмульгирования: 1) перистальтика кишечника, 2) пробулькивание через содержимое кишечника пузырьков CO_2 , образующе-

гося при нейтрализации кислого содержимого желудка бикарбонатами поджелудочного сока, 3) действие поверхностно-активных веществ – желчных кислот, пептонов (продукты переваривания белков) и др.

Основную массу жира пищи составляют триацилглицерины. В их переваривании участвует поджелудочная липаза. Она попадает в кишечник в неактивном виде и активируется колипазой и желчными кислотами, оптимум pH ее действия – слабощелочная среда. Продукты переваривания триацилглицеринов: глицерин, жирные кислоты, диацилглицерины, моноацилглицерины.

У новорожденных в желудке слабокислая среда, они питаются эмульгированным жиром молока, поэтому у грудных детей возможно переваривание ТГ в желудке под действием желудочной липазы.

Гидролиз фосфолипидов происходит в кишечнике под действием фосфолипаз 4-х типов:



Фосфолипаза A₁ – отщепляет жирную кислоту в 1-ом положении, фосфолипаза A₂ – ненасыщенную жирную кислоту во 2-ом, при этом образуется лизофосфолипиды, которые при попадании в кровь могут вызывать гемолиз эритроцитов. Лизофосфолипиды в кишечнике сразу же гидролизуются лизофосфолипазой.

В яде змей содержится фермент фосфолипаза A₂, поэтому смерть от укуса змеи наступает вследствие гемолиза эритроцитов. Фосфолипаза C отщепляет фосфорилированный спирт, фосфолипаза D – свободный спирт. Итак, конечные продукты переваривания фосфолипидов: глицерин, жирные кислоты, H₃PO₄ и азотистые спирты: холин, этаноламин, серин, инозит.

Поступающие с пищей эфиры холестерина расщепляются панкреатической холестеролэстеразой на холестерин и жирную кислоту.

В результате переваривания жиров в кишечнике образуется гидрофобные продукты переваривания (холестерин, жирные кислоты с числом C атомов более 12, ди- и моноацилглицерины и гидрофильные (глицерин, короткие жирные кислоты, H₃PO₄, холин, серин, этаноламин и др.). Всасывание гидрофильных продуктов переваривания в стенку

слизистой кишечника происходит самостоятельно, а гидрофобные продукты всасываются в составе мицелл. Большую роль в образовании мицелл играют желчные кислоты. Мицелла – это сферический комплекс, в центре которого находятся транспортируемые гидрофобные продукты переваривания, окруженные желчными кислотами. Придя в слизистую кишечника, мицелла разгружается. Желчные кислоты могут попасть дальше в воротную вену → в печень → желчь → кишечник. Это рециркуляция желчных кислот. Однако основная масса желчных кислот удаляется с содержимым кишечника.

Роль желчных кислот в переваривании жиров:

1) эмульгируют жиры, 2) активируют липазу, 3) создают оптимум рН для действия липазы 4) участвуют во всасывании гидрофобных продуктов переваривания, образуя мицеллы.

3. Судьба всосавшихся продуктов переваривания. Экзогенный и эндогенный транспорт липидов

При всасывании в составе мицелл (гидрофобные продукты) и самостоятельно (гидрофильные) из просвета кишки в клетки слизистой кишечника поступили: глицерин, жирные кислоты, холестерин, ди- и моноацилглицерины, H_3PO_4 , спирты. Далее в слизистой кишечника вновь происходит **ресинтез жиров**, по составу напоминающие пищевые: образуются триацилглицерины (ТГ), эфиры холестерина (ЭХС), фосфолипиды (ФЛ). Они из кишечника должны поступать в кровь. Транспорт липидов кровью происходит в составе липопротеиновых комплексов или липопротеинов (ЛП).

Общие свойства липопротеинов

1. Поверхность липопротеинов, (или оболочка), состоит из фосфолипидов, свободного холестерина и белка (апопротеина).
2. Каждый липопротеин содержит особый набор апопротеинов.
3. Сердцевина (ядро) липопротеина состоит из триацилглицерина, эфиров холестерина.

Апопротеины играют важную роль во взаимодействии липопротеина с рецепторами клеток, являются кофакторами ферментов метаболизма липопротеинов.

Липопротеины подразделяются на 4 основные класса в зависимости от размеров, плотности (определяемой с помощью ультрацентрифугирования) и электрофоретической подвижности. Класс ЛП по электрофоретической подвижности обозначают греческими буквами.

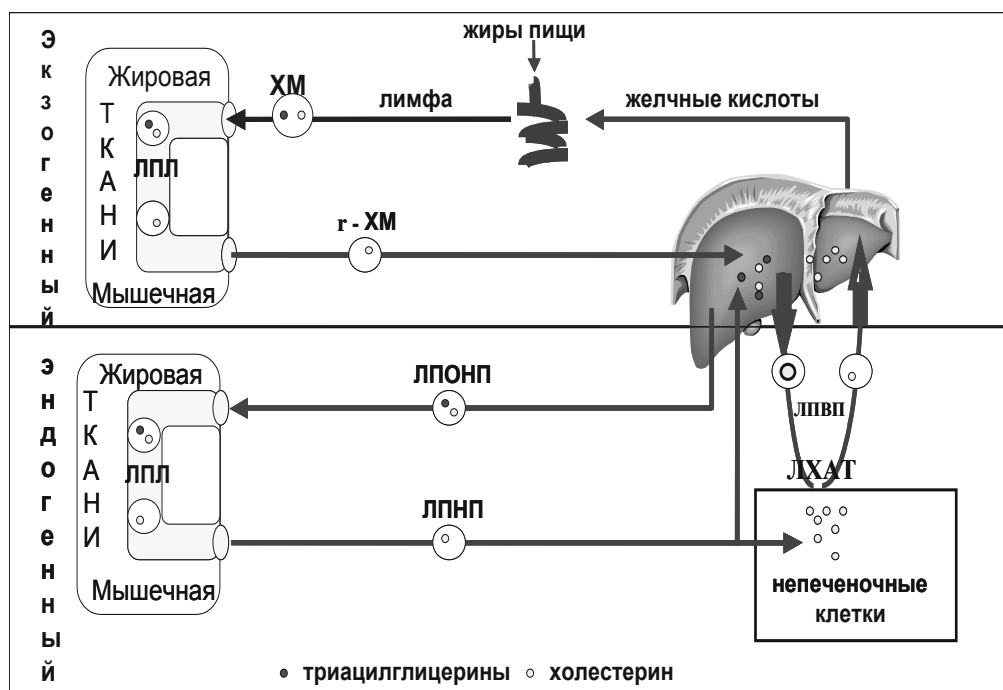
Самые крупные частицы – хиломикроны (ХМ) и липопротеины

очень низкой плотности (ЛПОНП) содержат высокий процент триацилглицеринов и небольшой – белка, при электрофорезе ХМ остаются на старте, а ЛПОНП – называют пре-βЛП. Меньшие частицы – липопротеины низкой плотности (β-ЛП) – основные переносчики холестерина. Липопротеины высокой плотности (ЛПВП) (α-ЛП) содержат самое большое количество белка. И это единственный класс ЛП, которые содержат больше компонентов оболочки, чем сердцевины.

Характеристика основных классов липопротеинов

Название по плотности		Состав		Место синтеза	Функции
ЭФ подвижности	Липиды	Апопротеины			
ХМ (хиломикроны)	ХМ	ТГ, ХС	А, В, С, Е	Кишечник	Экзогенный транспорт
ЛПОНП ЛП очень низкой плотности	Пре-β-ЛП	ТГ, ХС	В, С, Е	Печень	Эндогенный транспорт
ЛПНП ЛП низкой плотности	β-ЛП	ХС	В	Сосуд. русло, печень	Прямой транспорт холестерина
ЛПВП ЛП высокой плотности	α-ЛП	ХС	А, Е, Д	Печень, кишечник	Обратный транспорт холестерина

Различают экзогенный, т.е. транспорт пищевых липидов и эндогенный транспорт – т.е. транспорт липидов, синтезированных в организме.



Экзогенный транспорт

Ресинтезированные в энтероцитах триацилглицерины вместе с фосфолипидами, холестерином и белками включаются в хиломикроны. Хиломикроны содержат апопротеин В48 и апоА. Хиломикроны из энтероцитов попадают в грудной лимфатический проток и далее – в кровь, здесь они встречаются с частицами ЛПВП, содержащими апоЕ и апоСII. ХМ отдают апоА частицам ЛПВП, а взамен приобретают апоЕ и апоСII. Этот обмен очень важен, т.к. апоСII служит активатором фермента липопротеинлипазы – ЛПЛ. Этот фермент синтезируется и секретируется клетками жировой и мышечной ткани, клетками молочных желез. Секретируемый фермент прикрепляется к плазматической мембране эндотелиальных клеток капилляров тех тканей, где он синтезировался. АпоСII, находящейся на поверхности ХМ, активирует ЛПЛ, она гидролизует триацилглицерины в составе ХМ до глицерина и жирных кислот.

Освободившиеся жирные кислоты либо поступают в клетки жировой и мышечной ткани, либо соединяются с альбуминами плазмы и транспортируются в общий кровоток. В результате действия ЛПЛ ХМ резко уменьшаются в размерах и называются уже ремнантами (ремнант-остаток). Ремнанты ХМ рецепторным путем захватываются печенью и с ними в печень попадают в основном холестерин и небольшое количество триацилглицеринов. Клетки печени включают поступивший холестерин, а также вновь синтезированный, триацилглицерины, фосфолипиды и белки в состав ЛПОНП.

Эндогенный транспорт. Основными белками ЛПОНП являются апоВ и апоС, а липидами – триацилглицерины. Кроме того, в печени синтезируется ещё один класс липопротеинов-ЛПВП, у них основной белок – апоА, много фосфолипидов и свободного холестерина, а ядро пустое – так называемые насцентные ЛПВП. Они играют большую роль в обратном транспорте холестерина из клеток периферических тканей в печень. Т.к. ЛПОНП содержат апоСII, происходит активация ЛПЛ, которая гидролизует триацилглицерины ЛПОНП и превращает ЛПОНП в липопротеины промежуточной плотности ЛППП. ЛППП под действием фермента, синтезируемого в печени и секретируемого в кровь, – печеночной триацилглицеринлипазы, превращаются в ЛПНП. Основным липидом в ЛПНП становится холестерин, который в составе ЛПНП переносится к клеткам всех тканей. ЛПНП образуются непосредственно в сосудистом русле и участвуют в прямом транспорте холестерина.

Доказано, что синтез ЛПЛ происходит под влиянием инсулина. При сахарном диабете, когда отмечается дефицит инсулина, уровень ЛПЛ снижается. В результате в крови накапливается большое количество липопротеинов, богатых триацилглицеринами (IV тип ГЛП).

Лекция 16

ЭЙКОЗАНОИДЫ - НОВЫЙ ТИП БИОЛОГИЧЕСКИХ РЕГУЛЯТОРОВ

1. Классификация эйкозаноидов, механизм образования

Эйкозаноиды - это производные эйкозаполиеновых жирных кислот, т.е. С:20 жирных кислот. Медицинское значение имеют эйкозатетраеновая жирная кислота ω -6 20:4 (арахидоновая) и эйкозопентаеновая ω -3 20:5 (ЭПК). Арахидоновая кислота может синтезироваться из линолевой жирной кислоты (незаменимая жирная кислота), содержится в печени, мясе. ЭПК синтезируется из линоленовой (незаменимая жирная кислота), содержится в морской рыбе.

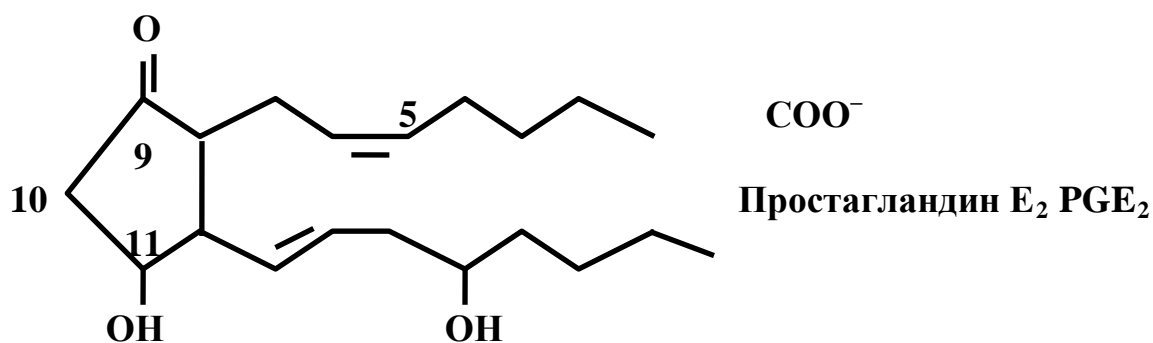


Термин «простагландины» часто используют для обозначения всех простаноидов.

Простагландины были вначале открыты в семенной жидкости, но сейчас известно, что они содержатся практически во всех тканях и их называют «местные гормоны».

Простагландины образуются из арахидоновой кислоты путем циклизации под действием циклооксигеназы.





В зависимости от числа двойных связей все простагландины делят на три группы –1,2,3. Номер группы указывают цифрой справа внизу от названия. Каждая из этих групп, в зависимости от конфигурации пятичленного кольца и характера заместителя в кольце, называется А,В,Е,F и т.д. Например, PGE в девятом положении имеет кетогруппу, PGF – OH группу.

Механизм образования простагландинов

Источником арахидоновой кислоты служат фосфолипиды мембран. Из фосфолипидов она освобождается под действием фосфолипазы А₂. Активация фосфолипазы А₂ происходит под действием Ca²⁺, тромбина, ангиотензина, брадикинина, липопероксидов.

Арахидоновая кислота подвергается циклизации под действием изоферментов циклооксигеназы 1 и 2 (ЦОГ).

ЦОГ-1 контролирует синтез простагландинов, участников физиологических процессов. Они регулируют:

1) целостность слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта; 2) функцию тромбоцитов (тромбоксан А₂); 3) функцию эндотелия (простациклины); 4) почечный кровоток.

ЦОГ-2 участвует в синтезе простагландинов в воспаленных тканях.

ЦОГ-1 является конститутивным изоферментом, постоянно присутствует в большинстве тканей организма для обеспечения нормальной функциональной активности клеток.

ЦОГ-2 это индуцируемый изофермент, в нормальных условиях присутствует в тканях в крайне низких концентрациях, в больших количествах появляется в активированных макрофагах, синовиоцитах. Мощными индукторами ЦОГ-2 являются митогены, эндотоксины, цитокины, факторы роста.

Кортикостероиды (глюкокортикоидные гормоны) ингибируют фосфолипазу А₂, прекращая выработку всех эйкозаноидов, но наиболее значимо ингибируют активность ЦОГ-2, вызывая противовоспалительный эффект.

Нестероидные противовоспалительные препараты (аспирин и др.) подавляют активность ЦОГ-1 и ЦОГ-2. С подавлением активности ЦОГ-2 связано их противовоспалительное действие, с подавлением активности ЦОГ-1 – побочное, например, повреждение слизистой желудка. В настоящее время ведется поиск противовоспалительных препаратов, селективно ингибирующих ЦОГ-2.

Инактивация простагландинов происходит при участии фермента 15-гидрокси-простагландин-дегидрогеназы. Она активна во всех тканях, но особенно в легких. Время жизни простагландинов – один оборот крови.

2. Биологические эффекты эйкозаноидов

В мембранах клеток различных тканей есть рецепторы для простагландинов. После связывания простагландинов E с рецепторами в клетках увеличивается содержание цАМФ, при связывании PGF – цГМФ. Поэтому часто эффекты разных простагландинов на одну и ту же клетку могут быть разными.

Примеры эффектов простагландинов

Процесс, ткань	PGE ₂	PGF
Гладкая мускулатура матки	Расслабляет	Сокращает
Аллергические реакции	Индукцирует	Подавляет

Тромбоксаны образуются в тромбоцитах, простаглицлины образуются в сосудистой стенке. Они по-разному влияют на агрегацию тромбоцитов на поврежденной поверхности эндотелия: тромбоксан ускоряет агрегацию и свертывание крови, простаглицлин тормозит эти процессы. Поэтому соотношение тромбоксана и простаглицлина во многом определяет условия тромбообразования на поверхности эндотелия сосудов.

При употреблении жителями Крайнего Севера с пищей эйкозапентаеновой кислоты из нее образуется иная серия простагландинов и тромбоксанов, чем при использовании арахидоновой кислоты; так как такие тромбоксаны обладают слабым агрегационным действием по сравнению с тромбоксанами из арахидоновой кислоты, то в целом происходит антиагрегационный сдвиг. Считается, что именно по этой причине у эскимосов Гренландии наблюдается пониженная свертываемость крови и низкая распространенность ИБС. В ряде стран (Норвегия, Япония, Россия и др.) производятся в качестве пищевых добавок препараты, содержащие выделенные из рыбьего жира

эйкозапентаеновую и докозагексаеновую кислоты с целью профилактики сердечно-сосудистых заболеваний.

Лейкотриены представляют собой недавно открытое семейство соединений, обладающих исключительно высокой физиологической активностью. Название «лейкотриены» происходит от двух слов: «лейкоциты» (впервые эти соединения были обнаружены в лейкоцитах) и «триены» (у всех представителей этого класса соединений из четырех ненасыщенных связей три являются конъюгированными).

Различают 6 типов лейкотриенов (А, В, С, D, Е, F), причем последние 4 (С-F) содержат остаток трипептида глутатиона или аминокислоты, составляющие его. Более распространены лейкотриены, не содержащие аминокислот.

Лейкотриены образуются в лейкоцитах, моноцитах и макрофагах в ответ на определенные стимулы, направленные на фосфолипазы мембран этих клеток. Освободившаяся из фосфолипидов при действии фосфолипазы А₂ арахидоновая кислота подвергается в указанных клетках липооксигеназному пути превращений, в ходе которого и образуются лейкотриены. Последние активируют лейкоциты и рассматриваются как медиаторы воспалительных реакций. Они также влияют на проявление анафилаксии и другие реакции иммунного ответа, вызывают сокращение мускулатуры бронхов в концентрациях в 100-1000 раз меньших, чем гистамин, способствуют сокращению коронарных артерий и, возможно, участвуют в развитии ишемии миокарда.

Лекция 17

ЖИРЫ КАК ИСТОЧНИК ЭНЕРГИИ

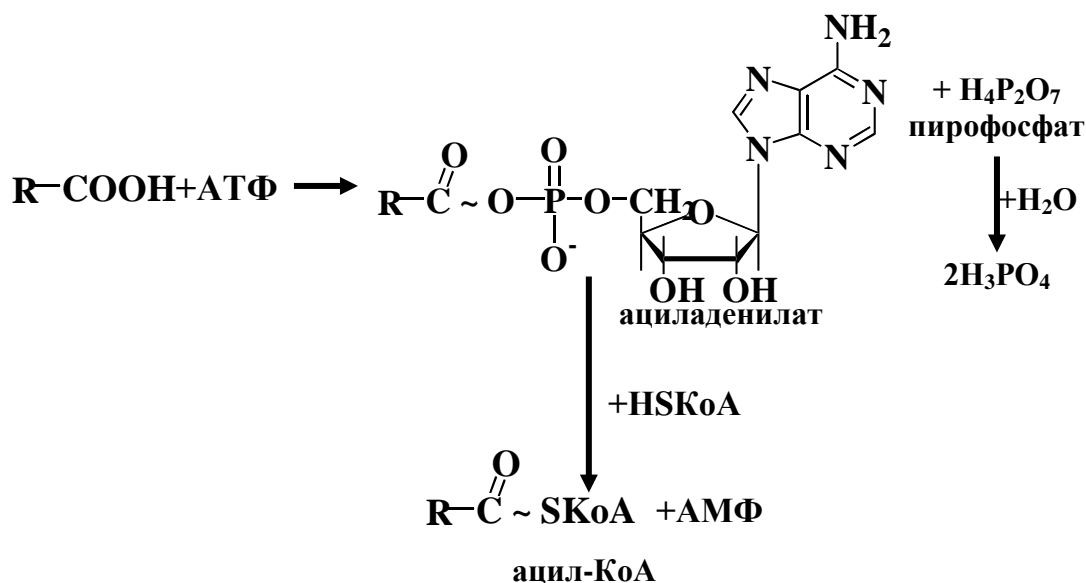
1. β-окисление жирных кислот

Назначение окисления жирных кислот:

1) с энергетической целью протекает в печени, почках, скелетной и сердечной мышцах; 2) источник эндогенной воды. Окисление жирных кислот происходит в митохондриях. Для удобства процесс окисления можно считать состоящим из 3-х этапов: 1) активация жирных кислот и их транспорт в митохондрии; 2) сам процесс β-окисления; 3) окисления в ЦТК образующегося ацетил-КоА.

β-окисление жирных кислот означает, что атом С, находящейся в β-положении в процессе окисления становится карбоксильным концом укороченной ацильной цепи.

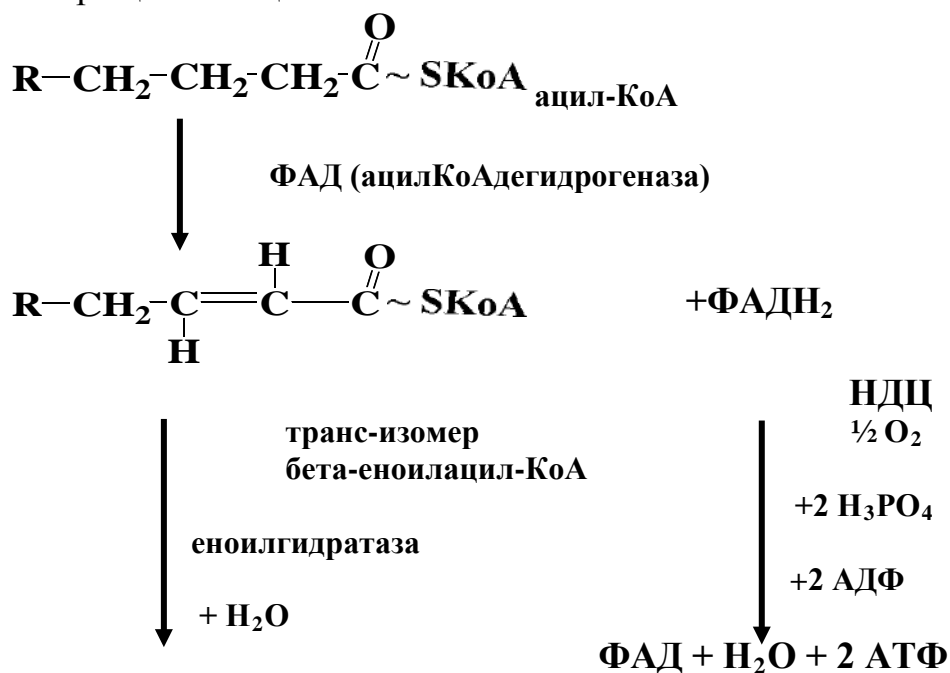
1. Активация и транспорт жирной кислоты.

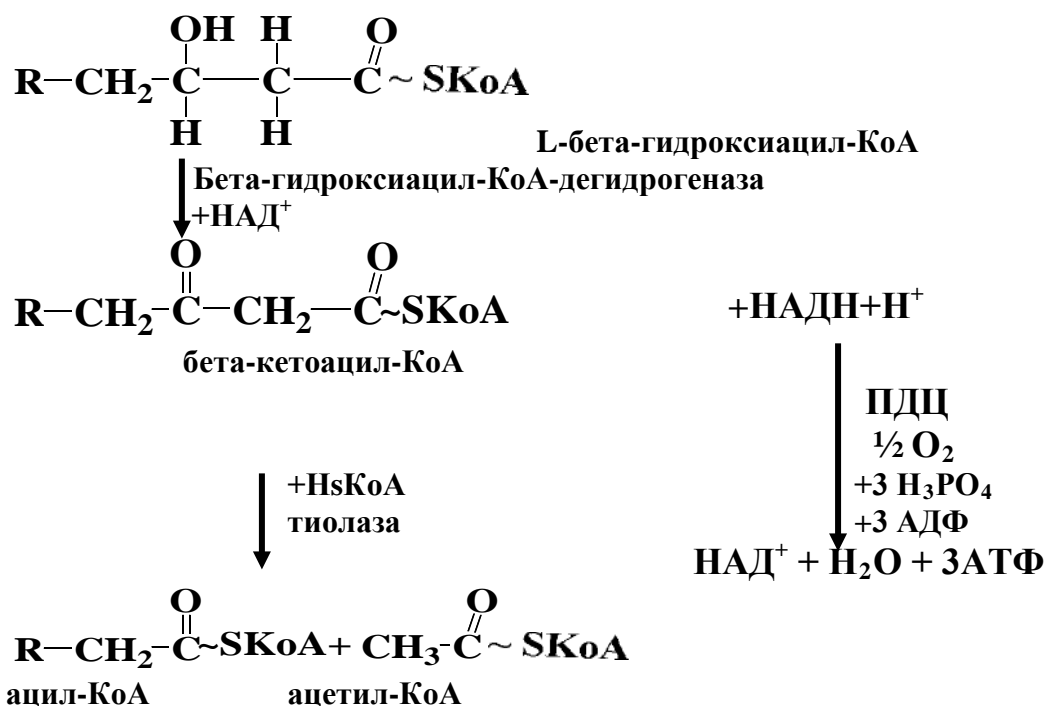


Происходит в цитозоле. Образуется активная форма жирной кислоты – ацил-КоА. Далее ацил-КоА должен попасть в митохондрии, где непосредственно проходит процесс β-окисления. Мембрана митохондрий не проницаема для ацил-КоА, поэтому его перенос происходит с помощью карнитина – ацил-карнитин (транспортная форма).

II. β-окисление

В митохондриях происходит перенос остатка жирной кислоты с карнитина на КоА митохондрий с образованием ацил-КоА. Карнитин вновь возвращается в цитозоль.





Далее ацил-КоА подвергается вновь процессу β-окисления (т.е. действует ацил-КоАдегидрогеназа), а ацетил-КоА окисляется в ЦТК (общий путь катаболизма). Процесс β-окисления продолжается до образования ацетоацетил-КоА, который распадается до двух молекул ацетил-КоА.

Катаболизм жирных кислот обеспечивает продукцию энергии. Расчет ведут по формуле:

$$[5 (n/2-1) + n /2 \times 12] - 1$$

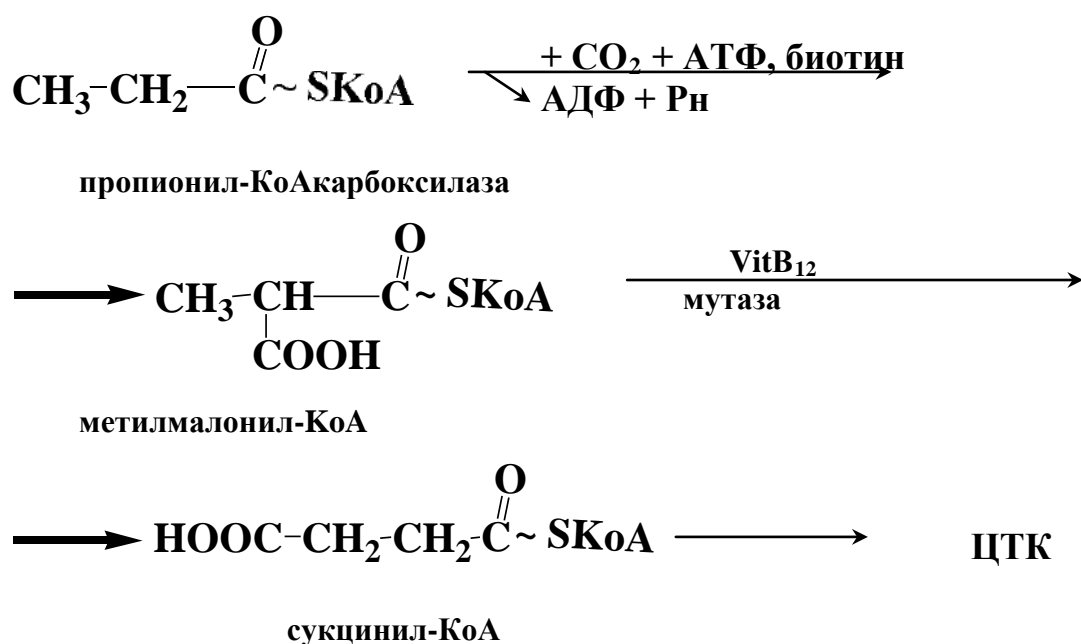
5 – число молекул АТФ, образуемое при одном акте β-окисления; **n** – число атомов С в жирной кислоте; **n/2-1** число актов β-окисления; **n/2** число молекул ацетил-КоА; **12** – число молекул АТФ при полном окислении одной молекулы ацетил-КоА в ЦТК; **1** – молекула АТФ, затраченная на активацию жирной кислоты.

Представление об окислении ненасыщенных жирных кислот и жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов

Ненасыщенные жирные кислоты до места двойной связи окисляются также, как насыщенные. Если двойная связь не имеет трансконфигурации, то действуют специальные ферменты, обеспечивающие перемещение двойной связи и изменение конфигурации из цис в трансформу. Далее процесс идет обычным путем.

При окислении жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов образуется не ацетил-КоА, а пропионил-КоА, он превращается в

сукцинил-КоА.



Регуляция окисления жирных кислот

Скорость β -окисления определяется количеством жирных кислот и запасом энергии в клетке. Количество жирных кислот зависит от содержания жиров в пище и от скорости липолиза эндогенных липидов. β -окисление активируется при накоплении в клетке АДФ и ингибируется накоплением АТФ.

2. Окисление глицерина

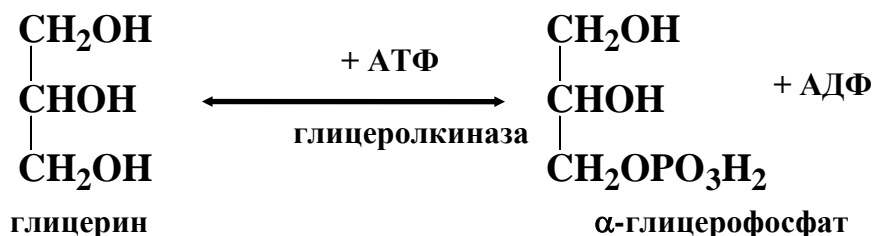
Источники глицерина:

1. Гидролиз триацилглицеринов (ТГ) пищи в кишечнике под действием поджелудочной липазы;
2. Гидролиз триацилглицеринов, входящих в состав ядра хиломикронов, ЛПОНП под действием липопротеинлипазы в капиллярах жировой, мышечной ткани;
3. Гидролиз триацилглицеринов ядра ЛПВП под действием печеночной триацилглицерин липазы в общем кровотоке;
4. Гидролиз триацилглицеринов жировой ткани под действием внутриклеточных липаз.

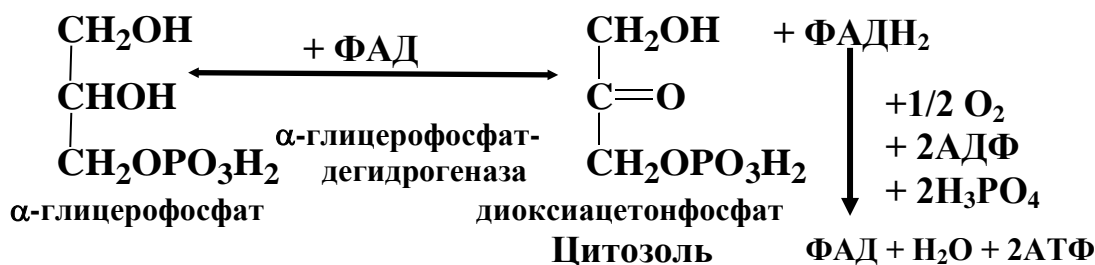
Освободившийся глицерин с током крови разносится ко всем органам и тканям. В печени, почках, кишечнике, где есть активная глицеролкиназа, происходит окисление глицерина с образованием 21 АТФ.

Цитозоль

Происходит активация глицерина с образованием α -глицерофосфата, который поступает в митохондрии с участием α -глицерофосфатного челночного механизма:



Митохондрии



Образующийся в митохондриях диоксиацетонфосфат возвращается в цитозоль, где вступает в реакции специфического пути катаболизма глюкозы.



Дальнейшие превращения 3-фосфоглицеринового альдегида могут быть двоякими:

- 1) по реакциям глюконеогенеза до глюкозо-6-фосфата и далее с образованием свободной глюкозы;
- 2) по реакциям гликолиза до пирувата, который затем окисляется в общей стадии катаболизма до CO_2 и H_2O .

Энергетический эффект окисления глицерина до CO_2 и H_2O

- На стадии глицеролкиназы затрачена на образование α -глицерофосфата	-1 АТФ
--	--------

На стадии α -глицерофосфатдегидрогеназы (глицерофосфатный челночный механизм)	+2 АТФ
- Катаболизм 3 ФГА до пирувата	
а) Субстратное фосфорилирование:	+2 АТФ
б) НАДН+Н ⁺ малатный челночный механизм	+3 АТФ
Окисление пирувата в общих путях катаболизма +15АТФ	+15 АТФ
Итого:	21 АТФ

Лекция 18

ЦЕНТРАЛЬНАЯ РОЛЬ АЦЕТИЛ КоА В МЕТАБОЛИЗМЕ ЛИПИДОВ

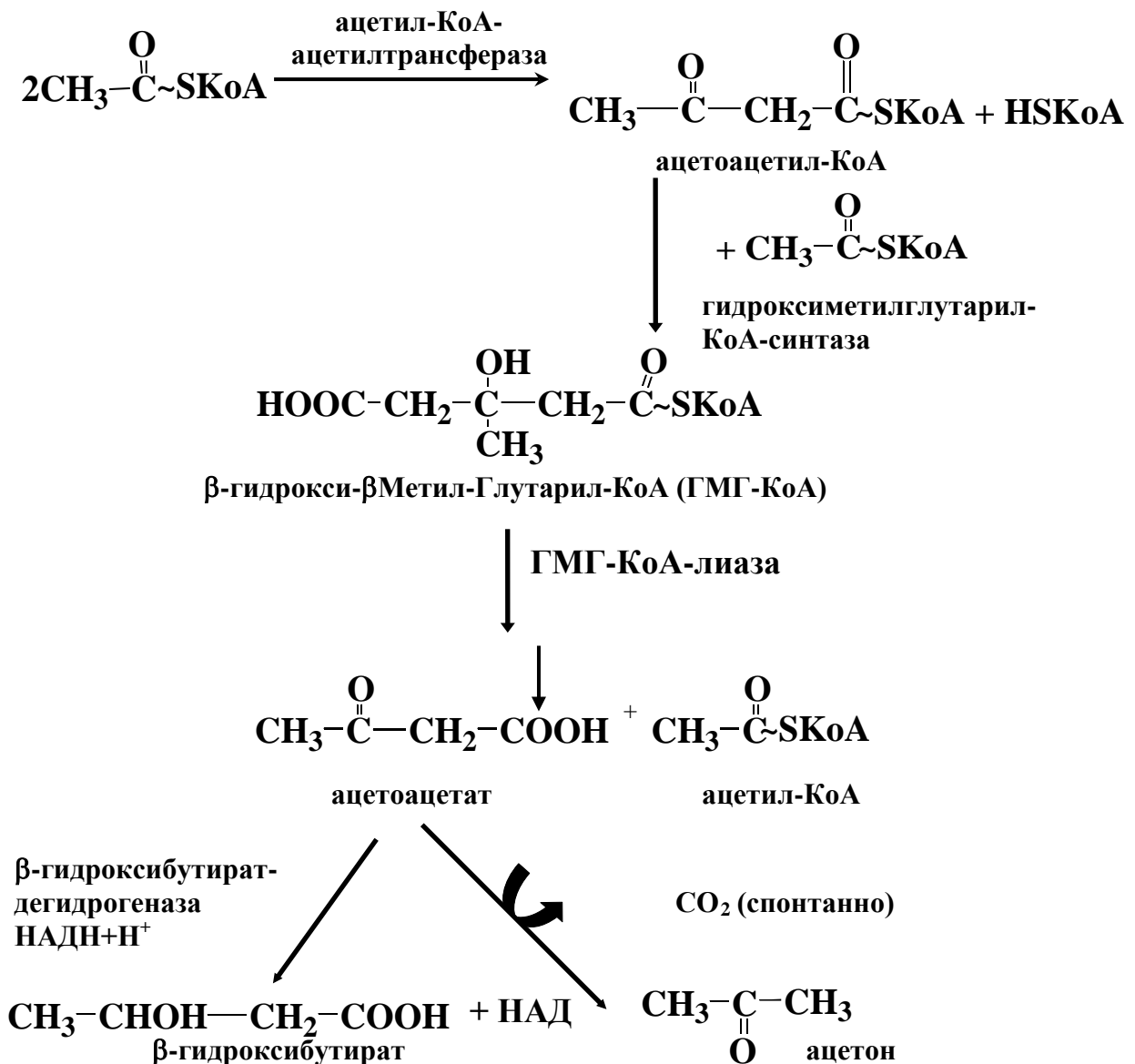
1. Источники ацетил-КоА и его использование

Основными источниками ацетил-КоА служат: β -окисление жирных кислот, расщепление кетогенных аминокислот, окисление глюкозы до пирувата и окислительное декарбоксилирование его до ацетил-КоА.

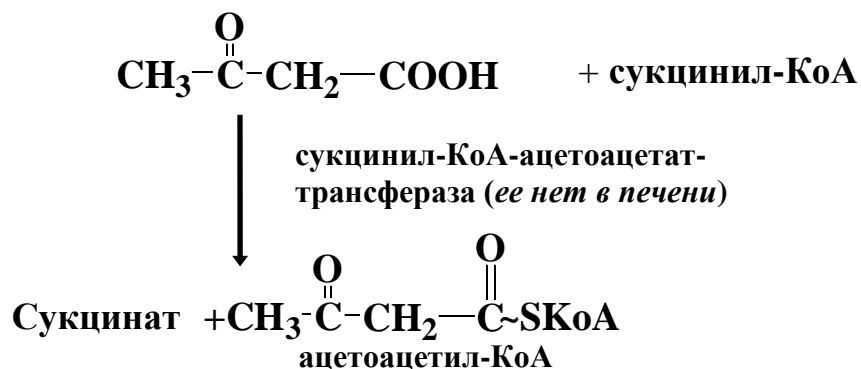
Образующийся ацетил-КоА служит отправной точкой следующих важнейших метаболических путей: 1) окисление в ЦТК, 2) синтез кетонных тел, 3) синтез холестерина, 4) биосинтез жирных кислот.

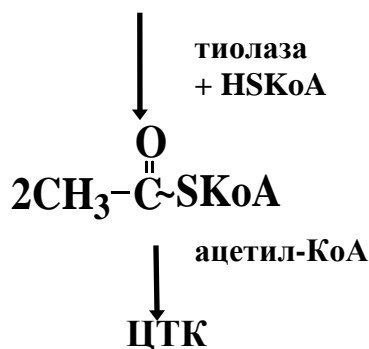
2. Кетогенез

Ацетил-КоА включается в ЦТК в условиях, когда расщепление жиров и углеводов сбалансировано. Ускоренный катаболизм жирных кислот или сниженный уровень использования углеводов (как порознь, так и в сочетании) могут приводить к накоплению ацетил-КоА и синтезу из него кетонных тел: **ацетоацетата, β -гидроксибутирата и ацетона**. Синтез кетонных тел происходит в митохондриях печени. Ацетоацетат образуется из ацетил-КоА в 3 стадии. Вначале 2 молекулы ацетил-КоА конденсируются с образованием ацетоацетил-КоА:



В норме в митохондриях печени образуется небольшое количество кетоновых тел. В печени ацетоацетат не может окислиться, поэтому с током крови он попадает в скелетные мышцы, сердце, мозг, которые способны превращать ацетоуксусную кислоту вновь в ацетил-КоА.





Таким образом, ацетоацетат в норме выполняет роль источника энергии для сердечной мышцы, скелетных мышц, мозга.

Голодание и диабет, ведущие к усиленному освобождению жирных кислот из тканевых депо и к снижению метаболизма углеводов в печени, **приводят к образованию такого избытка кетоновых тел**, что внепеченочные ткани не справляются с их утилизацией. Это приводит к накоплению кетоновых тел в крови (кетонемия), которые обладают свойствами кислот, что снижает pH и развивается метаболический ацидоз. При большом избытке кетоновых тел они выводятся почками, т.е. возникает кетонурия. В крайне тяжелых случаях ацетон выводится через легкие и может быть обнаружен в выдыхаемом воздухе.

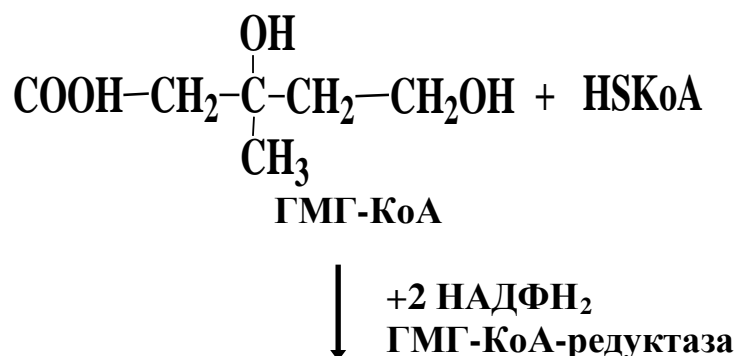
3. Синтез холестерина

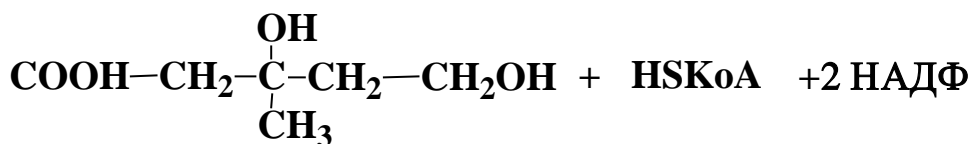
Холестерин может поступать с пищей или синтезироваться de novo. Синтез холестерина осуществляется в клетках почти всех органов и тканей, однако в значительных количествах он синтезируется в печени – 80%, стенке тонкой кишки – 10% и коже – 5%. За сутки в организме взрослого синтезируется около 800 мг холестерина.

Синтез происходит из ацетил-КоА с затратой АТФ, в эндоплазматическом ретикулуме, необходимы Mg, НАДФН₂. В синтезе выделяют 3 этапа:

1 этап. Образование 5-углеродного метаболита – изопентенила (синтез изопреновых блоков).

Начало синтеза совпадает с синтезом кетоновых тел до стадии ГМГ-КоА.



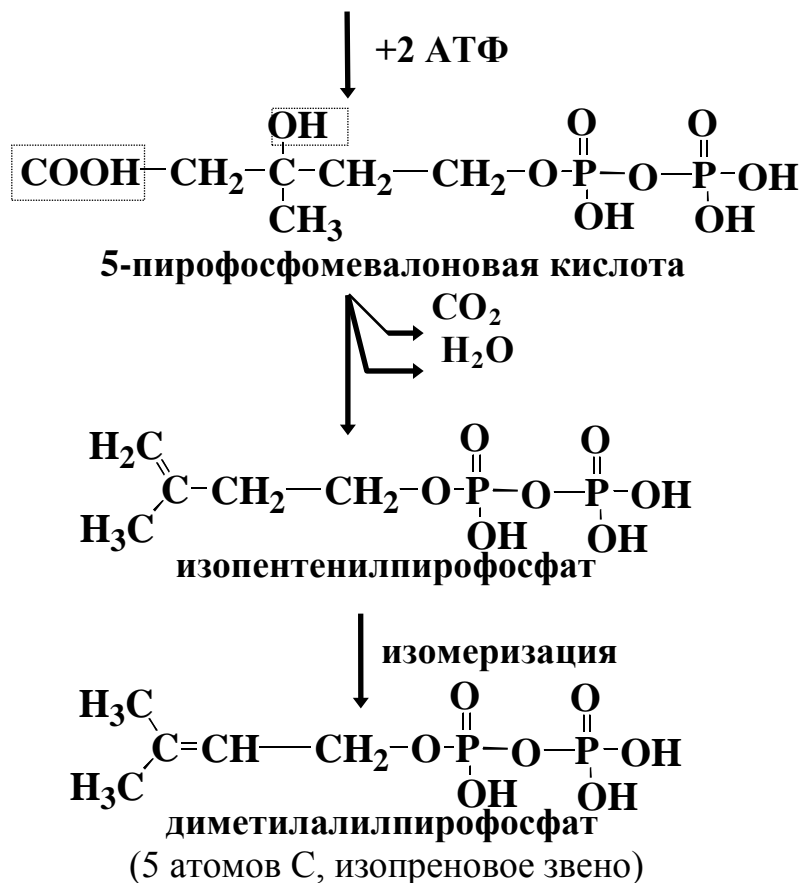


мевалоновая кислота

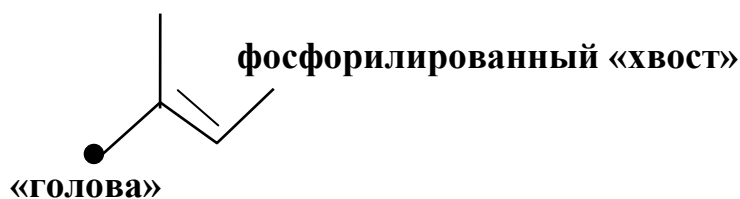
Это практически необратимая реакция лимитирует скорость синтеза холестерина. ГМГ-КоА-редуктаза – регуляторный фермент. Скорость синтеза редуцтазы в печени подвержена четким суточным колебаниям: максимум ее приходится на полночь и минимум на утренние часы. **Активность ГМГ-КоА-редуктазы** (или содержание ее в клетках печени) **возрастает** при действии ионизирующей радиации, введении инсулина и тиреоидных гормонов, а также при гипопизэктомии, что **приводит к усилению синтеза холестерина** и повышению его уровня в крови. Напротив, **угнетение синтеза холестерина**, связанное с воздействием на редуцтазу, отмечается при голодании, тиреоэктомии, при введении глюкагона и глюкокортикоидов, а также больших доз никотиновой кислоты.

В отличие от печени, в стенке тонкой кишки синтез холестерина регулируется исключительно концентрацией желчных кислот. Так, отсутствие желчных кислот в кишечнике при наличии желчной фистулы ведет к повышению синтеза холестерина в тонкой кишке в 5-10 раз.

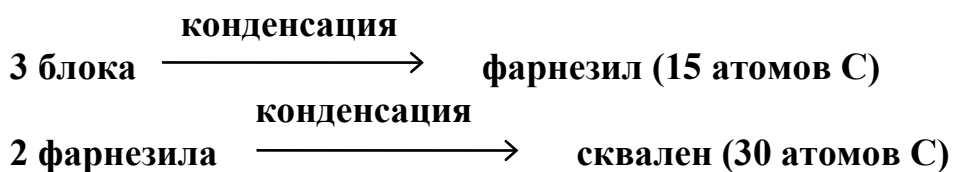
Далее идет 2 фосфорилирования мевалоновой кислоты:



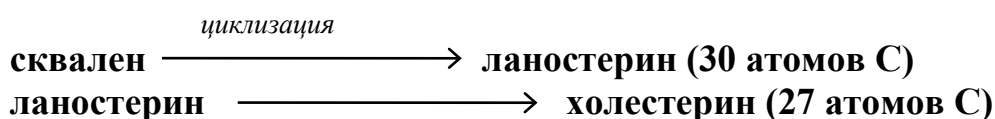
Изопреновое звено схематически можно изобразить следующим образом:



2 этап. Конденсация изопреновых блоков в сквален (30 атомов С).

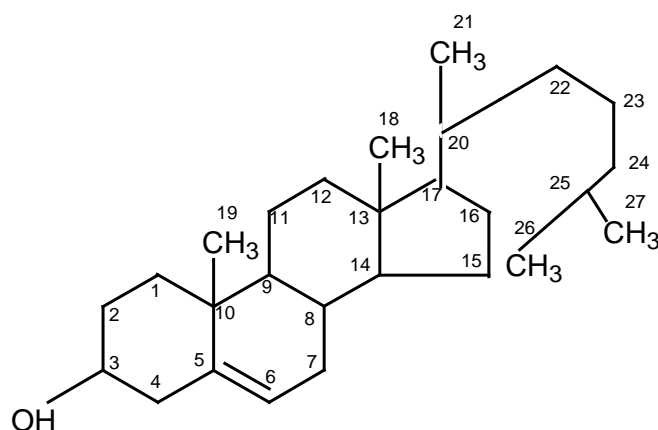


3 этап. Модификация и образование холестерина.



При образовании холестерина из ланостерина происходит:

1. Удаление трех метильных групп.
2. Насыщение двойной связи в боковой цепи.
3. Перемещение двойной связи в кольцо из положения 8,9 в положение 5,6.



Холестерин

Начиная со сквалена и кончая самым холестерином, все промежуточные продукты биосинтеза нерастворимы в водной среде. Поэтому они участвуют в конечных реакциях биосинтеза холестерина, будучи связанными со стеринпереносящими белками. Это обеспечивает их растворимость в цитозоле клетки и протекание соответствующих реакций.

Стеринпереносящие белки обеспечивают также перемещение холестерина внутри клетки, что имеет важное значение для вхождения его в клеточные мембраны, окисления в желчные кислоты, превращения в стероидные гормоны.

Наиболее интересной находкой явилось установление того факта, что пищевой холестерин угнетает синтез собственного холестерина в печени и что синтез холестерина в целом регулируется по принципу отрицательной обратной связи.

Предполагается, что холестерин или продукты его окисления в клетке могут угнетать непосредственного синтез редуктазы или индуцировать синтез энзимов, участвующих в ее деградации. И в этом, и в другом случае тормозится восстановление ГМГ-КоА в мевалоновую кислоту, что незамедлительно сказывается на синтезе холестерина в целом. В 70-е годы XX века в ряде стран (Япония, США и др.) проводился усиленный поиск лекарственных ингибиторов редуктазы, завершившийся к настоящему времени большим успехом - внедрением в клиническую практику соединений, известных под названием «статинов» (ловастатин, правастатин, симвастатин и др.) Эти соединения, структурно близкие лактону мевалоновой кислоты, в относительно небольших дозах (20-80 мг в день) эффективно снижают уровень холестерина в крови за счет угнетения его синтеза в печени на стадии превращения ГМГ-КоА в мевалоновую кислоту.

В 1964 г. M. Siperstein и V. Fagan показали, что в гепатоме мыши отсутствует регуляция синтеза холестерина по принципу отрицательной обратной связи, и, таким образом, синтез стерина, столь необходимого для построения мембран быстро пролиферирующих раковых клеток, идет бесконтрольно. Это наблюдение оказалось справедливым и для гепатомы человека, и для некоторых других злокачественных новообразований. Здесь уместно упомянуть еще об одной интересной находке: V. Hupceus и соавт. (1979) нашли, что мевалоновая кислота, помимо того, что является промежуточным продуктом в синтезе холестерина, активно участвует в репликации ДНК, хотя механизм этого участия еще не ясен. Все это побудило высказать мнение, что бесконтрольное образование не только холестерина, но и мевалоната играет определенную роль в развитии злокачественной опухоли [Siperstein M., 1984].

4. Биосинтез жирных кислот

Биосинтез жирных кислот можно рассматривать как процесс, складывающийся из 3 этапов.

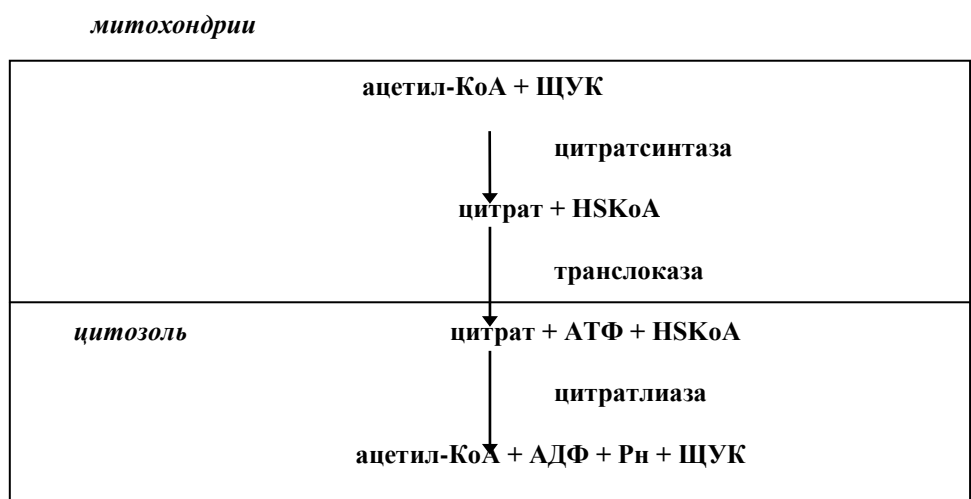
I. Транспорт ацетил-КоА в цитозоль из митохондрий;

II. Образование малонилКоА;

III. Конденсация этих молекул и их восстановление с образовани-

ем высших насыщенных жирных кислот, главным образом пальмитиновой.

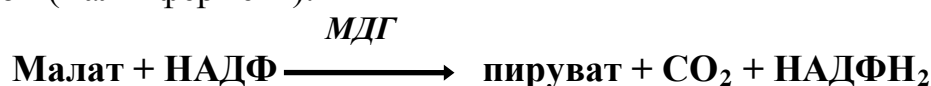
I этап. Образование ацетил-КоА происходит в митохондриях, а их мембрана непроницаема для ацетил-КоА. Перенос ацетильных групп происходит при помощи цитрата (цитратный челночный механизм).



ЩУК может вернуться в митохондрии с помощью своей транслоказы, но чаще она восстанавливается до малата с участием малатдегидрогеназы (МДГ).

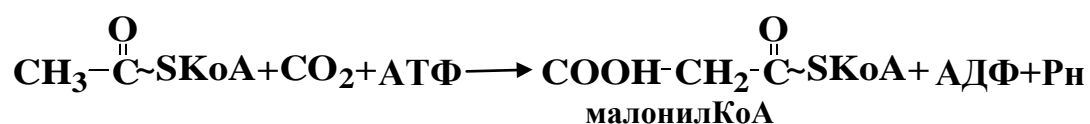


Малат декарбоксилируется НАДФ-зависимой малатдегидрогеназой (маликфермент):



Образующийся НАДФН₂ используется в дальнейшем для синтеза жирных кислот.

II этап. Ацетил-КоА карбоксилируется под действием ацетил-КоА-карбоксилазы, сложного фермента, коферментом которого служит витамин биотин.



Эта реакция лимитирует скорость всего процесса синтеза жирных кислот.

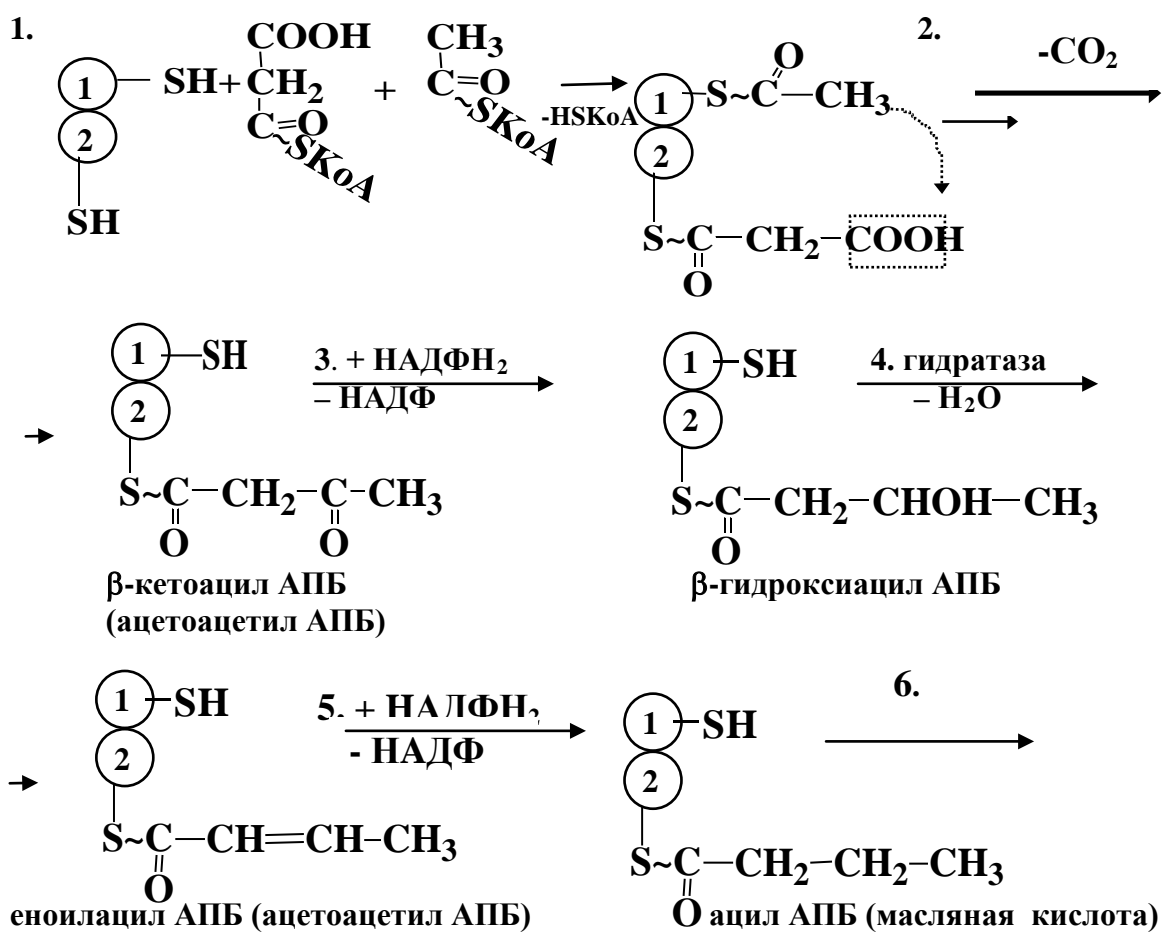
III этап. Протекает при участии мультиферментного пальми-

татсинтазного комплекса. Он состоит из двух полипептидных цепей. Каждая полипептидная цепь содержит все 6 ферментов синтеза (трансаццилаза, кетоацилсинтаза, кетоацилредуктаза, гидратаза, еноилредуктаза, тиоэстераза). Ферменты связаны между собой ковалентными связями, ацилпереносающий белок (АПБ) является также частью полипептидной цепи, но его функция связана только с переносом ацильных радикалов. В процессе синтеза важную роль играют **тиогруппы**. Одна из них принадлежит 4-фосфопантотеину, входящему в состав АПБ (**центральная**) и вторая – цистеину кетоацилсинтазы (периферическая). Функциональная единица синтеза состоит из половины одного мономера, взаимодействующего с комплементарной половиной второго мономера, где центральная SH-группа одного мономера очень близка к периферической SH-группе другого. Т.е. на синтазном комплексе синтезируются одновременно 2 жирные кислоты и только димер активен. Перенос субстрата от фермента к ферменту происходит при участии АПБ.

Многие мультиферментные комплексы эукариот состоят из полифункциональных белков, в которых различные ферменты ковалентно связано в единую полипептидную цепь. Преимущество такой организации - возможность координирования синтеза различных ферментов. Кроме того, мультиферментный комплекс, состоящий из ковалентно соединенных ферментов, является более стабильным, чем комплекс, образованный нековалентными связями.

Гибкость и максимальная длина в 20 Ангстрем фосфопантотенильного компонента представляются критическими для функции мультиферментного комплекса, поскольку они обеспечивают тесный контакт удлиняющейся цепи жирной кислоты с активным центром каждого фермента в комплексе. Для взаимодействия субъединиц фермента с субстратом не требуется их большой структурной перестройки, поскольку сам субстрат на длинном гибком плече может достигнуть каждого активного центра. Организованная структура синтаз жирных кислот у дрожжей и высших организмов повышает общую эффективность процесса благодаря прямому переносу промежуточных продуктов от одного активного центра к следующему. Реагирующие соединения не разбавляются в цитозоле. Кроме того, им не нужно «находить» друг друга путем случайной диффузии. Еще одним преимуществом такого мультиферментного комплекса является то обстоятельство, что ковалентно связанные промежуточные продукты изолированы и защищены от конкурирующих реакций.

Реакции III этапа



Обозначения:

$$\begin{array}{c} \textcircled{1} \\ \textcircled{2} \end{array} \text{—SH} \text{ — периферическая SH-группа,} \\
 \textcircled{2} \text{—SH} \text{ — центральная SH-группа.}$$

Пояснения к реакциям III этапа:

1. При участии трансацилазы остатки малонила переносятся на центральную SH-группу, а ацетила – на периферическую.

2. Кетоацилсинтаза переносит ацетильный остаток с периферической SH-группы на остаток малонила, это реакция конденсации, энергия для нее освобождается при одновременном декарбоксилировании малонила.

3. Для удаления O₂ далее проходят 3 последовательные реакции: восстановление – дегидратация – восстановление. Первая реакция восстановления происходит при участии кетоацилредуктазы с коферментом НАДФН₂, при этом кетогруппа восстанавливается в спиртовую.

4. Удаление воды происходит при участии гидратазы.

5. Восстановление двойной связи еноилредуктазой с коферментом НАДФН₂. В результате последних трех реакций – восстановления, дегидратирования и второго восстановления – происходит превращение

ацетоацетил-АПБ в бутирил-АПБ, которое завершает первый цикл элонгации.

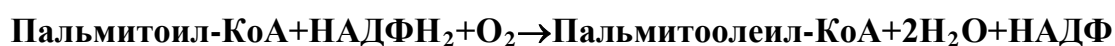
6. Если в данный момент в клетке нужна именно масляная кислота, то тиоэстераза (деацилаза) отщепляет масляную кислоту с центральной SH группы на цитоплазматический КоА. При необходимости жирной кислоты с более длинной цепью, трансацилаза переносит остаток масляной кислоты на периферическую SH-группу, а к центральной вновь переносится малонил-КоА и элонгация повторяется, пока не образуется пальмитиновая кислота. Она отщепляется тиоэстеразой и соединяется с цитоплазматическим коферментом А. Полученный комплекс пальмитоил-КоА ингибирует пальмитатсинтазу, вызывая диссоциацию димера на мономеры. Синтез жирных кислот прекращается.

Дальнейшее удлинение пальмитиновой кислоты может происходить двумя механизмами:

1. Митохондриальный. Остаток пальмитиновой кислоты карнитином переносится в митохондрии, где происходит удлинение за счет присоединения ацетил-КоА по пути, обратному β -окислению. Отличие: используется кофермент НАДФН₂, а не ФАД и НАД.

2. Микросомальный. Напоминает цитоплазматический, т.е. удлинение происходит за счет малонил-КоА, отличие – промежуточные продукты не связываются с АПБ, т.е. все ферменты действуют разрозненно.

В микросомах с помощью оксидаз также происходит введение двойных связей в насыщенные жирные кислоты с образованием мононенасыщенных жирных кислот, при этом используется НАДФН₂ и O₂:



Скорость синтеза жирных кислот регулируется механизмами кратковременного и долговременного контроля. Кратковременная регуляция происходит аллостерически на уровне фермента ацетил-КоА-карбоксилазы: цитрат - активатор, пальмитат и др. жирные кислоты – ингибиторы. Долговременная регуляция осуществляется через синтез ферментов и их деградацию при участии гормонов.

Полиеновые жирные кислоты - линолевая и линоленовая в организме человека не синтезируются, а должны поступать с пищей (незаменимые). Все остальные полиненасыщенные жирные кислоты синтезируются из этих кислот, особенно важен синтез арахидоновой и эйкозапентаеновой кислот, являющимися предшественниками эйкозаноидов.

Сопоставление некоторых особенностей окисления и синтеза жирных кислот

Показатели	Окисление	Синтез
Локализация ферментов	Митохондриальный матрикс	Цитозоль
Состояние ферментов	Неассоциированные в комплекс ферменты	Полиферментный комплекс
Переносчик ацила	Коэнзим А	АПБ
Окислительно-восстановительная система	НАД ⁺ /НАДН + Н ⁺ ФАД/ФАДН ₂	НАДФ ⁺ /НАДФН ₂
«С»-единица	Ацетат	Малонат
Термодинамическое равновесие	Благоприятствует окислению	Благоприятствует синтезу

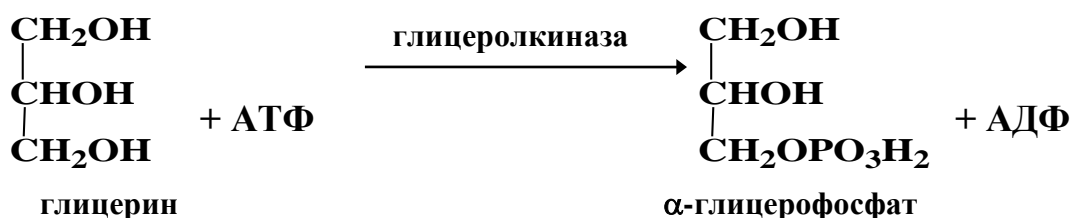
5. Синтез триацилглицеринов

Триацилглицерины синтезируются во многих органах и тканях, но наиболее важную роль в их синтезе играют **печень, стенка кишечника, лактирующая молочная железа и жировая ткань.**

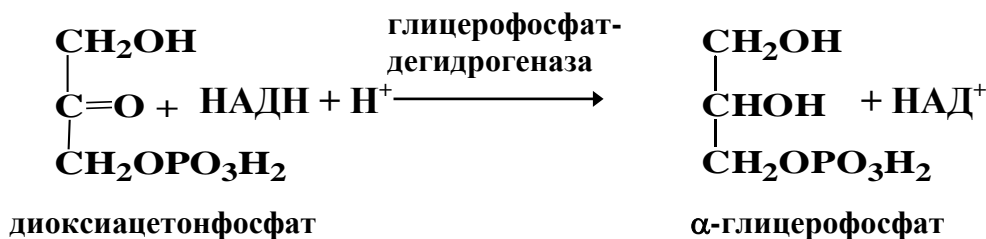
Для синтеза необходима активная форма глицерина – α-глицерофосфат и активная форма жирной кислоты – ацил-КоА.

Активация глицерина может происходить двумя способами:

1. В стенке кишечника и почках, печени есть активная глицеролкиназа:

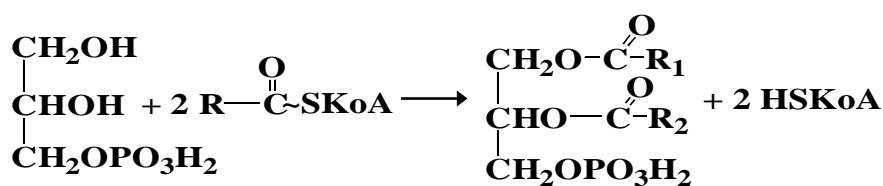


2. В жировой ткани и мышцах активность этого фермента очень низкая и образование α-глицерофосфата связано с гликолизом:

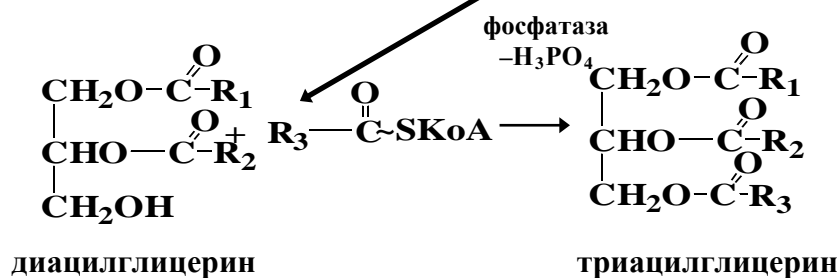


α-Глицерофосфат, образованный любым из этих путей, взаимодействует с двумя молекулами активированных жирных кислот (ацил-

КоА) с образованием фосфатидной кислоты:



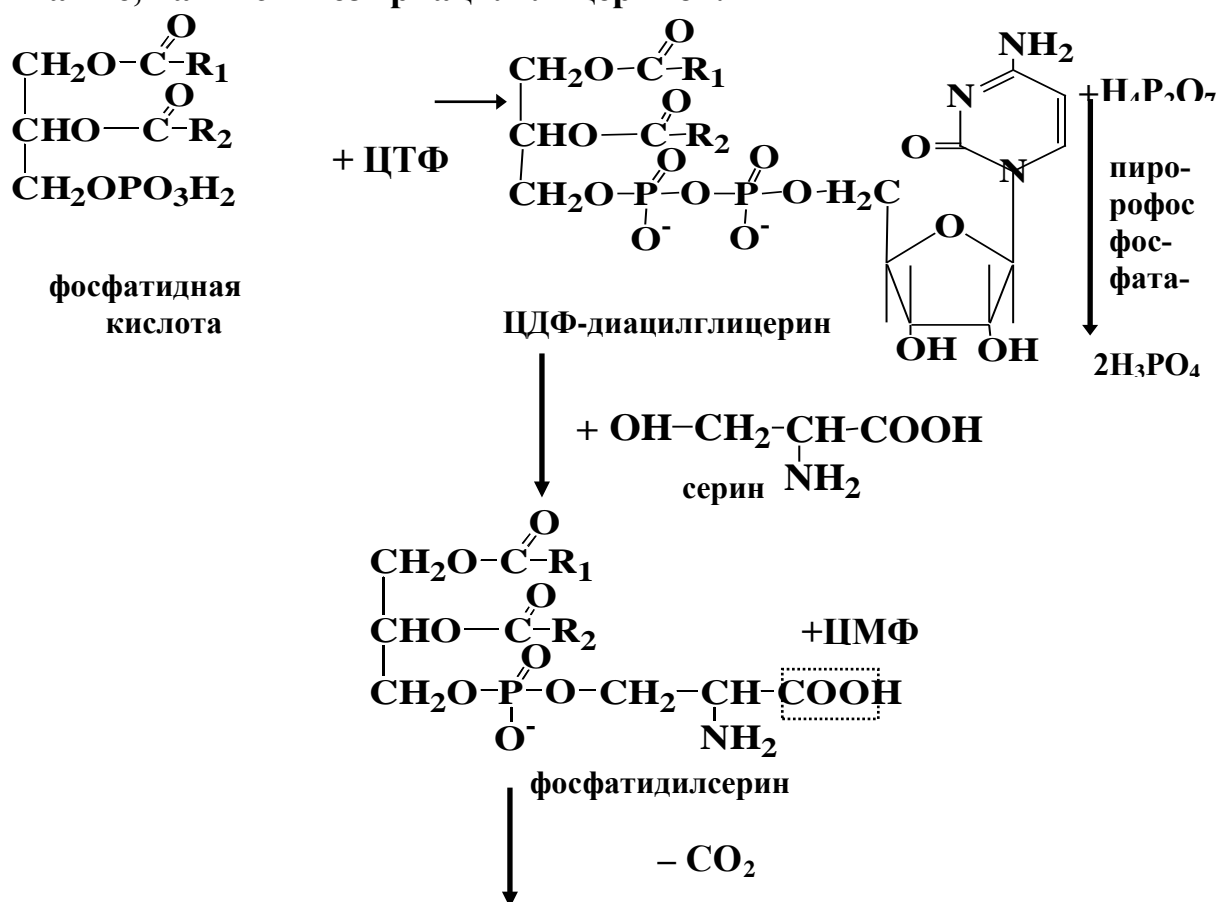
фосфатидная кислота

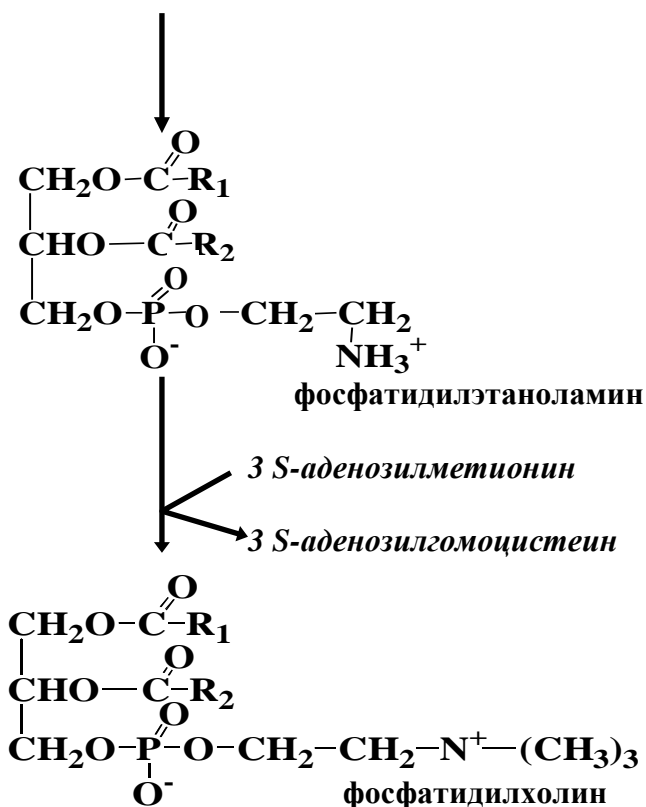


6. Синтез глицерофосфолипидов

Биосинтез глицерофосфолипидов наиболее интенсивно происходит в печени, стенке кишечника, семенниках, молочной железе. Реакции синтеза локализованы в эндоплазматической сети.

Синтез до образования фосфатидной кислоты происходит также, как и синтез триацилглицеринов.





Лекция 19

ДЕПОНИРОВАНИЕ И МОБИЛИЗАЦИЯ ЖИРОВ. ОЖИРЕНИЕ

1. Общая характеристика жировой ткани

Жиры и жировая ткань столь тесно связаны с проблемами ожирения, что их, к сожалению, рассматривают как нечто патологическое. Однако жировые депо очень важны для повседневного поддержания энергетического баланса.

Одно время жировую ткань рассматривали как единый огромный орган. Теперь же очевидно, что липоциты разных жировых депо могут **различаться по размерам и реакции на гормоны**. Так, у мужчин жир откладывается преимущественно на животе и верхней части туловища, а у женщин – в нижней половине туловища. Известно, что метаболические последствия ожирения (нарушенная толерантность к глюкозе, диабет, гипертония, гиперлипидемия, инфаркт миокарда) более тесно коррелируют с ожирением верхней половины тела, чем нижней. Это объясняется на клеточном уровне. Было показано, что абдоминальные липоциты человека гораздо более чувствительны к липолитической (β) стимуляции адреналином, чем бедренные.

В результате в абдоминальных липоцитах происходит более быстрый кругооборот триацилглицеринов и больше освобождается свободных жирных кислот. Они тормозят липогенез и ключевые ферменты превращения глюкозо-6-фосфата, т.е. те процессы метаболизма, которые активирует инсулин. Это приводит к инсулинорезистентности и в дальнейшем к сахарному диабету. Кроме того, свободные жирные кислоты идут на увеличенный синтез печенью ЛПОНП, что приводит к гиперлипидемии и атеросклерозу. Бедренные липоциты обеспечивают более медленный оборот триацилглицеринов, не приводя к таким метаболическим последствиям.

Несмотря на то, что жировая ткань – это депо жира, липоциты метаболически активны. Они обладают способностью синтезировать триацилглицерины при поступлении пищи и освобождать жирные кислоты для нужд тканей между приемами пищи.

2. Липогенез (депонирование жиров) и липолиз (мобилизация жира)

Для синтеза триацилглицеринов в жировой ткани важное значение имеет гликолиз. В жировых клетках нет глицеролкиназы, они должны получать α -глицерофосфат, необходимый для синтеза фосфатидной кислоты, путем восстановления образующегося при гликолизе диоксиацетонфосфата. Помимо синтеза жиров из глюкозы крови, жировая ткань может использовать жирные кислоты, освобождающиеся из липопротеинов крови после действия внеклеточной липопротеинлипазы.

Жировая клетка не способна к образованию липопротеинов и, следовательно, не может экспортировать свои жиры в кровоток. Все образующиеся в жировой ткани триацилглицерины резервируются в виде жировой капли.

Мобилизация жира (липолиз) Жировая ткань помимо внеклеточной липопротеинлипазы, содержит внутриклеточную липазную систему, действующую на депонированные триацилглицерины. В процессе внутриклеточного липолиза действуют два фактора: 1) липаза, которая медленно воздействует только на триацилглицерины и стимулируется цАМФ и 2) ферменты, которые полностью гидролизуют диацилглицерины. Именно первый фермент лимитирует скорость гидролиза, это гормончувствительная липаза. Мембрана жировой клетки обладает двумя типами рецепторов гормонов: 1) рецепторы катехоламинов, которые усиливают образование цАМФ при участии аденилатциклазы, т.е. стимулируют липолиз; 2) рецепторы инсулина, которые противодействуют активации аденилатциклазы и снижают уровень цАМФ, т.е. подавляют липолиз.

3. Регуляция липолиза и липогенеза

Под действием адреналина в мембране липоцита активируется аденилатциклаза. В клетке увеличивается концентрация цАМФ, цАМФ активирует протеинкиназу. Протеинкиназа фосфорилирует гормоночувствительную триацилглицеринлипазу, которая переходит в активную форму. Она гидролизует депонированные триацилглицерины (ТГ) на жирную кислоту и диацилглицерин. Диацилглицерин гидролизуется диацилглицеринлипазой на жирную кислоту и моноацилглицерин. Моноацилглицерин гидролизуется на глицерин и жирную кислоту моноглицеринлипазой.

Освободившиеся глицерин и жирные кислоты на альбуминах крови переносятся к тканям, где используются как источник энергии.

Инсулин ингибирует аденилатциклазу и активирует фосфодиэстеразу, в результате в клетке падает уровень цАМФ, протеинкиназа не активируется, не происходит фосфорилирование гормоночувствительной триацилглицеринлипазы, она остается не активной, т.е. не происходит липолиз и активируется липогенез.

4. Ожирение

По статистике ВОЗ, в экономически развитых странах около 30% взрослых и до 10% детей имеют ту или иную форму и степень ожирения. Ожирение больше распространено в возрастных группах после 50 лет.

В настоящее время установлено, что у больных с ожирением

- снижены стимулированная секреция соматотропного гормона и чувствительность тканей к тиреоидным гормонам; увеличено образование трийодтиронина, часто наблюдается гиперкортицизм, характерны гиперурикемия, гипернатриемия, гипергидратация и склонность к ацидозам;
- в 2-3 раза чаще встречаются сахарный диабет II типа, гипертоническая болезнь, гиперлипидемия, атеросклероз и его клинические проявления, варикозная болезнь и тромбофлебит, холелитиаз, артриты, остеохондрозы, плоскостопие, подагра, пиквикский синдром (приступы гиповентиляции и сонливости вплоть до апноэ во сне), стеатоз печени и др.;
- наблюдается относительный иммунодефицит, преимущественно связанный с нарушением Т-клеточных функций и фагоцитоза, поэтому повышена частота грибковых и стрептококковых кожных заболеваний.

У женщин с ожирением чаще встречаются рак эндометрия, яичника, шейки матки, желчного пузыря и молочной железы, у мужчин - рак предстательной железы и толстой кишки, снижение потенции.

Ожирение - не особенность конституции организма. Оно не должно восприниматься как результат дурных привычек или, наоборот, как общий признак здоровья и благополучия. Жировая ткань, составляющая в норме 15-20% от массы тела у мужчин и 20-29% у женщин; - это метаболически активное образование, контролируемое нейроэндокринной системой. Для поддержания постоянной массы тела жировая ткань и гипоталамус обмениваются сложными гормональными сигналами, определяющими аппетит, усвоение пищи, расход энергии и вес.

Наиболее важным критерием ожирения считают индекс массы тела (ИМТ – отношение веса в кг к площади поверхности тела в м²). Ожирением считается превышение ИМТ 27 кг/м² (нормальные границы - 20-25 кг/м²). По рекомендации И. Майера (Германия), принято считать, что патологическим является избыток массы тела над идеальной > 20% для мужчин, и > 25% для женщин. Именно при таком избытке реальной массы тела над массой происходит существенное увеличение заболеваемости и смертности. Превышение массы тела на 50% для мужчин и 70% – для женщин считается тяжелым ожирением.

4.1. Патогенез и классификация ожирения

Ожирение – это патологический избыток триацилглицеринов в организме.

В зависимости от патогенеза формирования избытка триглицеридов в жировой ткани выделяют первичное и вторичное ожирение.

Первичное ожирение (ПО) – это болезнь, вызванная нарушением адипоцитарногипоталамических информационных взаимодействий, из-за которых меняются пищевое поведение больного, его психология и выбор определенного образа жизни. Прежде ПО характеризовали как алиментарно-конституционально-гиподинамическое. Считалось, что хроническое превышение калорического содержания потребляемой еды над энергозатратами организма ведет к накоплению дополнительных триглицеридов в жировой ткани и приводит к ожирению.

ПО – это аддитивно-полигенная болезнь с пороговым эффектом по диете (чаще заболевают носители гена HLA-B18. У детей здоровых родителей оно развивается не более чем в 14% случаев. Если болен один из родителей, шансы заболеть ожирением у ребенка составляют около 56%. Дети из семей, где тучными были и мать и отец, страдают ожирением в 76% случаев.

Вторичное ожирение (ВО) – синдром, возникающий при наличии в организме каких-либо расстройств, усиливающих запасы и ослаб-

ляющих темпы расщепления триацилглицеринов на фоне изначально нормальных сигнальных взаимоотношений адипоцитов и гипоталамуса. Оно носит симптоматический характер и порождается различными эндокринопатиями.

Главная отличительная черта ПО - относительная или абсолютная лептиновая недостаточность.

Центр голода (аппетита) и центр насыщения локализованы соответственно в вентро-латеральных и вентро-медиальных ядрах подбугорья (Б.К. Ананд). Эмоционально-поведенческие аспекты приема пищи регулируются центрами, расположенными в кортикальной части лимбической системы (поясная извилина, гиппокамп, инфраорбитальная область), а также в миндалине, разрушение которой вызывает психическое безразличие к виду и характеру предлагаемой пищи («пищевая слепота»). Секреция эндогенных опиатов в процессе еды, создающая положительное эмоциональное подкрепление процесса приема пищи, значительно усилена у лиц обоего пола с склонностью к первичному ожирению.

Лептин (пептидный гормон) вырабатывается адипоцитами в «сытом» состоянии, его количество пропорционально массе жировой ткани, а синтез стимулируется инсулином. Рецепция лептина осуществляется вентромедиальными ядрами гипоталамуса. Он вызывает насыщение и продукцию тормозных сигналов, адресованных вентро-латеральным центрам голода, в которых уменьшается выработка нейропептида, стимулирующего аппетит и пищевое поведение.

Лептин активирует центры теплопродукции, норадренергические симпатические механизмы, обеспечивающие увеличение калорических затрат. Около 20% больных с ожирением имеют абсолютную лептиновую недостаточность. Более 80% пациентов, страдающих ПО, характеризуются выраженной гиперлептинемией, вероятно, вызванной первичной лептинорезистентностью. По характеру гистологических изменений жировой ткани различают два вида ожирения:

- гипертрофическое, при котором количество жировых клеток остается нормальным, а накопление жира идет путем увеличения их размера;
- гиперпластическое, при котором адипоциты не достигают предельной величины, но их количество больше нормы.

Гиперпластическое ожирение начинается намного раньше, чем гипертрофическое. Дифференцировка фибробластических клеток-предшественников в адипоциты происходит до рождения и в раннем грудном периоде. Поэтому считается, что в развитии гиперпластического ожирения огромное значение имеет наследственность, определяющая пролиферативные возможности этих клеток. Пролиферативная активность преадипоцитов повышается в подростковом и пременопаузальном

ском периодах. Избыток калорий в критические периоды может индуцировать их пролиферацию. Поэтому гиперпластические проявления возникают при позднем ожирении у взрослых.

Типы ожирения:

- андронидный (яблочный) тип, когда избыточные отложения жира располагаются на животе и верхней части туловища (наиболее характерен для мужчин);
- гиноидный (грушевидный) тип, когда избыточные отложения жира располагаются на бедрах, ягодицах и в нижней части туловища (наиболее характерен для женщин);
- смешанный - комбинирует признаки андронидного и гиноидного типов.

Гиноидное ожирение нередко носит гиперпластический характер, поэтому оно более резистентно к диетотерапии. Более патогенными считаются гиперпластическое, андронидное, а более благоприятными - гипертрофическое, гиноидное, смешанное.

4.2. Патогенез и лечение ожирения

Диетотерапия и лечебная гимнастика являются неотъемлемыми условиями лечения ожирения во всех случаях. Однако это только симптоматическое лечение. Разумеется, при первичном ожирении многие из расстройств метаболизма после нормализации веса корректируются (уменьшается или совсем проходит инсулинорезистентность, гиперлипотеинемия, купируется синдром Пиквика). Тем не менее, у больного сохраняется лептиновая недостаточность, повышена активность липопроотеиновой липазы жировой ткани, снижена реакция центров насыщения на серотонин, а адипоцитов - на β -адреномиметики, нарушена рецепция инсулина в гипоталамусе, а при гиперпластическом и смешанном ожирении увеличено число адипоцитов и т.д.

В ответ на антропометрическую «нормализацию» веса возникает понижение продукции тиротропина, относительный гипотиреоз, снижается холодовая адаптация. При падении веса еще больше снижается основной обмен. Отмечается тенденция к лейкопении, брадикардии и гипотонии, снижается иммунитет. У женщин возможно нарушение овариально-менструального цикла, которое связано со снижением эстрогенопродуцирующей функции адипоцитов. Многие похудевшие пациенты испытывают дисфорию, отмечаются неврозы в связи с понижением выработки опиатных пептидов. Некоторые психосоматические особенности похудевших лиц с первичным ожирением напоминают картину, наблюдаемую при психогенной анорексии. Адекватное лечение больного ожирением должно быть патогенетическим. Оно возможно лишь под наблюдением врача и не сводится к диетотерапии и лечебной гимнасти-

ке. В последнее время большие надежды связывают с применением выделенного в чистом виде лептина для лечения абсолютной лептиновой недостаточности при первичном ожирении.

Лекция 20

ОБМЕН И ФУНКЦИИ ХОЛЕСТЕРИНА. БИОХИМИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА

1. Обмен холестерина

Функции холестерина:

- 1) входит в состав клеточных мембран,
- 2) из него образуются другие физиологически важные соединения: желчные кислоты, кортикостероидные и половые гормоны, витамин Д.

Условно в организме человека можно выделить **три пула холестерина:**

- А – быстрообменивающийся (около 30 г холестерина);
- В – медленнообменивающийся (около 50 г холестерина);
- С – очень медленнообменивающийся (около 60 г холестерина).

К первому пулу А следует отнести холестерин печени и других паренхиматозных органов, а также холестерин кишечной стенки и плазмы крови. Обновление холестерина этого пула происходит в среднем за 30 сут (1 г/сут). К третьему пулу (пул С) можно отнести холестерин головного и спинного мозга, нервов и холестерин соединительной ткани. Скорость обновления холестерина в белом веществе мозга исчисляется годами. Холестерин остальных органов и тканей составляет промежуточный медленнообменивающийся пул В.

За сутки в организме человека около 500 мг холестерина окисляется в желчные кислоты, примерно такое же количество экскретируется с фекалиями, около 100 мг удаляется со слущивающимся эпителием кожи и секретом сальных желез и менее 100 мг используется на образование стероидных (половых и кортикоидных) гормонов. Таким образом, ежедневный расход холестерина составляет около 1,2 г, и он черпается из быстрообменивающегося пула А. Для того, чтобы восполнить эту потерю, организм синтезирует в сутки около 800 мг холестерина и примерно 400 мг получает с пищей.

2. Транспорт холестерина

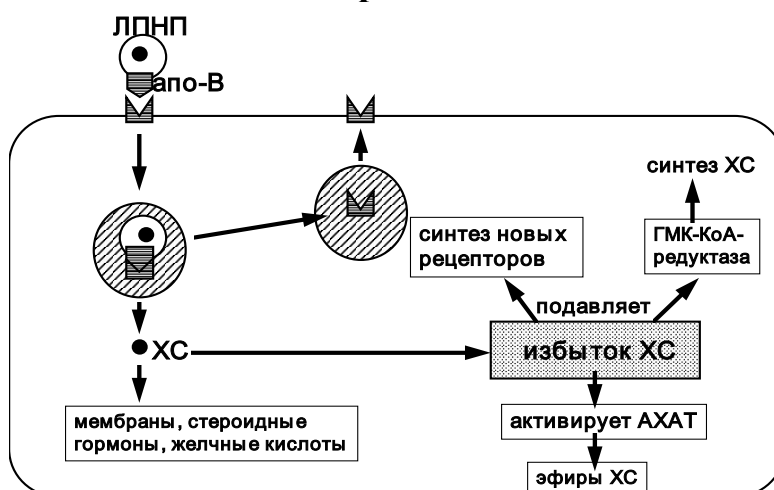
Прямой транспорт холестерина

Это транспорт холестерина в клетку в составе ЛПНП. Основное место синтеза холестерина – печень, в остальные органы и ткани он поступает в составе ЛПНП. В 1985 году американцы Браун и Гольдштейн за раскрытие механизма захвата ЛПНП клетками получили Нобелевскую премию. Они открыли на поверхности клеток рецепторы, высокоспецифичные к апопротеину В, а это – основной белок ЛПНП.

Поступление холестерина в клетку включает следующие этапы:

1. Связывание ЛПНП с рецепторами.
2. Эндоцитоз комплекса ЛПНП – рецептор в клетку.
3. Расщепление лизосомальными ферментами апоВ до аминокислот, эфиров холестерина до холестерина и жирной кислоты.
4. Возвращение молекулы рецептора на поверхность клетки.

Рецепторы захвата ЛПНП



Поступивший холестерин клетка использует для построения мембран. Такой рецепторно-опосредованный путь поступления холестерина в клетку предохраняет ее от перегрузки холестерином, т.к.:

- 1) ингибируется фермент синтеза холестерина – ГМК-КоА-редуктаза;
- 2) подавляется синтез рецепторов для ЛПНП.
- 3) активируется ацил-КоАхолестеринацилтрансфераза (АХАТ), которая переводит свободный холестерин в запасную форму – эфиры холестерина;

Нерегулируемые пути поступления холестерина в клетку:

- 1) неспецифический эндоцитоз через скэвенджер рецепторы;
- 2) рецепторный путь с помощью рецепторов, не имеющих высокой специфичности к отдельным апопротеинам;

3) путь физико-химического обмена холестерином между мембраной клетки и ЛПНП.

Эти пути транспорта холестерина могут привести к накоплению холестерина в клетке.

Обратный транспорт холестерина

Это транспорт холестерина из клеток периферических тканей (в том числе и из сосудистой стенки) в составе ЛПВП в печень. ЛПВП синтезируются в печени в виде дисков, богатых лецитином и апопротеинами AI, AII (**насцентные ЛПВП**). Кроме того, подобные частицы образуются в капиллярах во время липолиза ХМ и ЛПОНП.

Перенос холестерина из клеток на дисковидные частицы ЛПВП (насцентные ЛПВП) происходит по градиенту концентрации. При контакте ЛПВП с клеткой апоAI связывает свободный холестерин мембраны клетки. Фермент лецитинхолестеринацилтрансфераза (ЛХАТ), находящийся на поверхности ЛПВП, присоединяет остаток жирной кислоты из лецитина (в составе ЛПВП) к свободному холестерину. Образуется гидрофобная молекула эфира холестерина, которая перемещается в центр диска ЛПВП. При этом освобождаются участки поверхности апоAI для связывания новых молекул свободного холестерина из мембраны клетки. Вновь происходит эстерификация холестерина, в результате частица ЛПВП из диска превращается в сферическую молекулу и в такой форме захватывается рецепторным путем печенью. **В печени холестерин, поступивший в составе ЛПВП, используется для биосинтеза желчных кислот и в конечном итоге выводится из организма.**

Вывод: холестерин в клетку поступает с ЛПНП (прямой транспорт), а удаляется с ЛПВП – обратный транспорт холестерина.

3. Биохимия атеросклероза

XX-XXI века войдут в историю медицины как эпоха эпидемии атеросклероза. Главным проявлением атеросклероза является наличие на стенке сосудов бляшек, затрудняющих кровотоки и вызывающих ишемию. Сердечно-сосудистые заболевания, возникающие на почве атеросклероза магистральных артерий, являются основной причиной смертности во всех развитых странах мира.

С момента возникновения термина «атеросклероз» была замечена связь между нарушением обмена холестерина и развитием атеросклероза.

Историческая справка.

Некоторые хронологические вехи в изучении атерогенеза, холестерина и транспорта липидов.

Дата	Исследователи	
ок. 1500	<i>Постулировано, что у стариков... сосуды ограничивают прохождение крови</i>	Леонардо да Винчи
1768	<i>Отмечено, что при грудной жабе сыворотка жирная, как сливки</i>	Геберден (Heberden)
ок. 1785	<i>Интима артерий “изъязвлена и покрыта жиром”</i>	Скарпа (Scarpa)
1833	<i>Предложен термин “атеросклероз”</i>	Лобштейн (Lobstein)
1905	<i>Описана внезапная закупорка коронарных артерий</i>	Геррик (Herrick)
1908	<i>Воспроизведен атеросклероз у кроликов путем скармливания им молока и яичных желтков</i>	Игнатовский
1912	<i>Показано, что скармливание подсолнечного масла и рыбьего жира не вызывает атеросклероза</i>	Стуки (Stuckey)
1913	<i>Показано, что скармливание чистого холестерина вызывает атеросклероз у кроликов</i>	Аничков и Халатов
1939	<i>Идентифицирована семейная гиперхолестеринемия как наследственное заболевание</i>	Мюллер (Muller)
1950-е	<i>Расшифрован путь биосинтеза холестерина</i>	Блох (Bloch), Линен (Lippen)
1960-е	<i>Описана гомозиготная и гетерозиготная гиперхолестеринемия</i>	Качадурьян, Фредриксон (K.Hachadurian, Fredrickson)

3.1. Холестериновая концепция атеросклероза

– Без холестерина не может быть атеросклероза [Аничков Н. Н., 1915].

– Холестерин плазмы (сыворотки) крови коррелирует с опасностью развития атеросклероза (20-40-е годы).

– Липопротеины, как переносчики холестерина, являются ответственными за развитие атеросклероза (40-50-е годы).

– **ЛПНП и ЛПОНП являются атерогенными**, но **ЛПВП – антиатерогенными** и защищают организм от атеросклероза (60-70-е годы).

– Модифицированные ЛПНП и ЛПОНП, а также независимая от них фракция ЛП (а) в первую очередь ответственны за развитие атеросклероза (80-90-е годы).

– Без модифицированных атерогенных липопротеинов и макрофагов нет атеросклероза (В.С.Репин, 1995 г.).

Модификация липопротеинов (ЛП) может происходить в результате нескольких процессов: 1) протеолиза белковой части ЛП, 2) химической модификации липидов и белков, 3) агрегации ЛП, 4) образования иммунных комплексов. В результате таких модификаций ЛП становятся атерогенными и токсичными, увеличивается захват этих ЛП макрофагами. Свойство макрофагов захватывать модифицированные ЛП (м-лп) связано, по-видимому, с их защитной функцией, направленной на удаление из организма всего чужеродного, т.е. модифицированные липиды считаются чужеродными веществами. Т.о., модификация ЛП - физиологический процесс, способствующий их быстрому удалению из циркуляции и из внесосудистого русла. Рецепторы к модифицированным ЛП (скэвенджер-рецепторы) не снижают своей активности при накоплении ХС в макрофагах, т.е. отсутствует регуляция поглощения ЛП. Значительная часть макрофагов после захвата ими модифицированных ЛП и накопления в них ЭХС трансформируется в пенистые клетки и остается в интиме артерий.

Выявлено, что ИБС часто встречается в странах, у жителей которых среднее содержание ОХС превышает 5,2 ммоль/л (США, Канада, страны Европы). Напротив, у жителей Италии, Греции, Японии, у которых содержание ОХС составляет 3,9-5,2 ммоль/л распространенность ИБС значительно ниже. Таким образом, сделан вывод, что уров-

ни ОХС выше 5,2 ммоль/л следует считать гиперхолестеринемией, при которой вероятность возникновения ИБС наибольшая.

Атеросклероз развивается при нарушении обмена липопротеинов, приводящему к увеличению количества атерогенных липопротеинов – гиперлипопротеинемии (ГЛП).

Выяснение вида нарушений обмена липопротеинов принято приводить в соответствии с классификацией Фредриксена. Согласно этой классификации различают 5 типов ГЛП.

Фенотипирование гиперлипопротеинемий по Фредриксену

Фенотип	Увеличение класса ЛП	ТГ	ХС	Электрофорез
I	хиломикроны	↑↑	N (↑)	хиломикроны
IIa	ЛПНП	N	↑	бета ЛП
IIb	ЛПНП, ЛПОНП	↑	↑	бета, пребета ЛП
III	ЛППП (IDL)	↑	↑	широкая бета-зона
IV	ЛПОНП	↑	N (↑)	пребета ЛП
V	ЛПОНП хиломикроны	↑↑	↑	хиломикроны

Наибольший интерес представляют атерогенные формы - II, III и IV типы ГЛП. Форма II бывает гомозиготной и гетерозиготной. Гомозиготная форма семейной гиперхолестеринемии встречается с частотой 1 случай на 10^6 человек, концентрация ЛПНП в крови у таких больных превышает норму в 6 раз. Больные погибают от поражения сердечно-сосудистой системы в 20 лет. Гетерозиготная форма встречается чаще – 1 случай на 500 человек, концентрация ЛПНП увеличена в 2-3 раза, поражение сердечно-сосудистой системы развивается к 35 годам. IV тип ДЛП связан с возрастными нарушениями обмена липидов, приводящих к накоплению ЛПОНП, развивается к 60 годам.

3.2. Другие гипотезы патогенеза атеросклероза

В настоящее время рассматривается возможность развития **Ca²⁺-зависимой формы атеросклероза**. Показано, что все состояния, протекающие с повышением содержания кальция в сосудистой стенке, сопровождаются развитием выраженных атеросклеротических изменений артерий (G. Flecknstein et al. 1995). Препараты, ингибирующие Ca²⁺ каналы, препятствуют образованию новых атеросклеротических бляшек.

Возможные механизмы участия кальция в развитии атеросклероза:

1. Регуляция функциональной активности тромбоцитов (агрегация, реакции освобождения).

2. Регуляция функциональной активности эндотелиальных клеток (синтез и освобождение биологически активных веществ) и их проницаемости для макромолекул.

3. Стимуляция пролиферации и миграционной способности гладкомышечных клеток интимы артерий.

4. Стимуляция функциональной способности макрофагов-моноцитов (проникновение в интиму, образование эфиров холестерина, перекисное окисление липидов, разрушение липидов и т.д.).

5. Стимуляция пролиферации интимы и образования матрикса в сосудистой стенке.

6. Участие в развитии некротических изменений в атеросклеротических бляшках.

За последние 10 лет накоплены определенные данные о **роли инфекции в развитии атеросклероза** и его осложнений. Среди инфекционных агентов, поражающих сосудистую стенку и могущих иметь значение в развитии атеросклероза, называют некоторые вирусы, спирохеты, бактерии *Helicobacter pylori*, *chlamidia pneumoniae*.

3.3. Механизм образования атеросклеротической бляшки

Процесс развития атеросклеротических поражений сосудов - это результат взаимодействия различных типов клеток и продуцирования ими разнообразных веществ, включая хемоаттрактанты, факторы роста, цитокины, ферменты и оксиданты на фоне нарушения транспорта холестерина.

Почти общепринятыми являются представления, что уже в сосудах молодых людей начинаются события, которые определяют, быть или не быть бляшке. Уже в возрасте 10-14 лет в крупных артериях появляются желтоватые возвышения разной площади на довольно гладкой и ровной поверхности внутренней выстилки эндотелия (рис. 1, а). Морфологи дали им название "липидные полосы и точки". Исследования под световым микроскопом выявили довольно однотипную картину: под внешне неповрежденным эндотелием накапливаются макрофаги и видоизмененные гладкомышечные клетки, цитоплазма которых заполнена каплями жира (рис. 1, б). У здоровых детей основная часть липидных полосок и точек рассасывается к моменту полового созревания. У детей с наследственной предрасположенностью к раннему атеросклерозу липидные пятна становятся местом роста и прогрессирования бляшек. Повышенное число липидных полосок в сосудах коррели-

рует с повышенной чувствительностью сосудов к атеросклерозу. Отсутствие полосок является одним из факторов резистентности к атеросклерозу. Однако темп и тяжесть атеросклероза определяются не числом и местом липидных полосок, а скоростью их дальнейшей трансформации в бляшку.

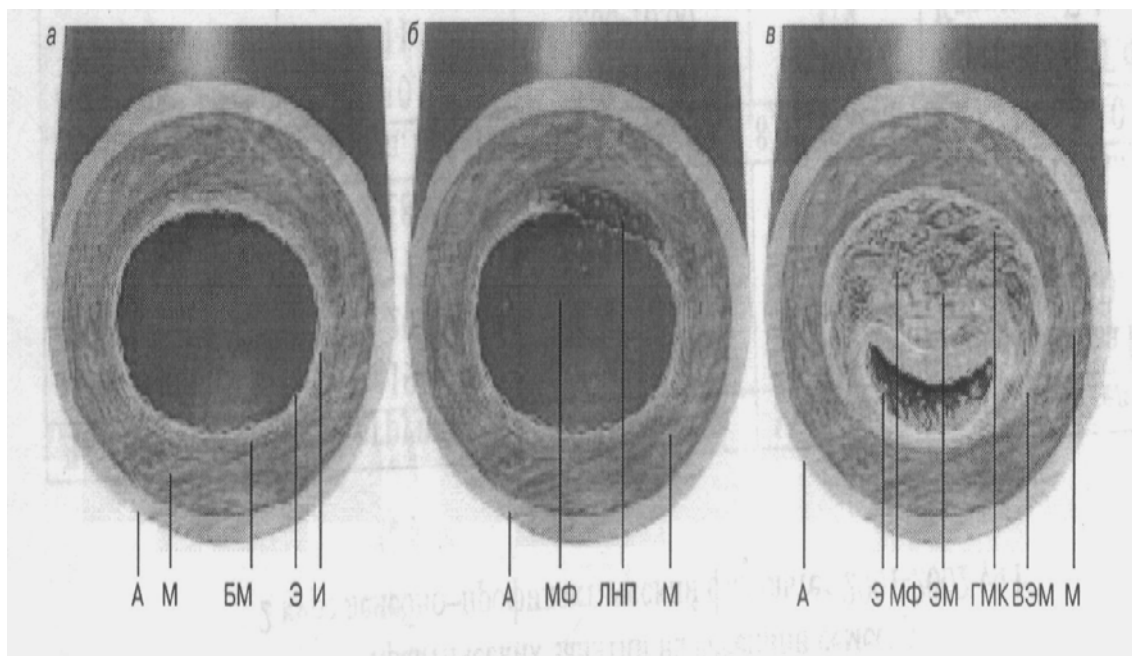


Рис. 1. Схематическое строение атеросклеротической бляшки артерии: а - строение нормальной артерии на срезе; Э - слой эндотелиальных клеток, покрывающих поверхность сосуда, обращенную к току крови; М - слой меди (средней, мышечной оболочки); А - адвентиция (наружный соединительнотканый чехол артерии); И - интима - пространство между эндотелиальным покровом и базальной мембраной (БМ), которая отделяет субэндотелиальное пространство от мышечного слоя; б - липидная полоска в ЛПНП артерии. Под слоем эндотелия накапливаются макрофаги (МФ) с липидными включениями ЛПНП и мЛПНП; в - стенозирующая бляшка в артерии: МФ - макрофаг с липидными включениями; ГМК - гладкомышечная клетка в интиме; ЭМ - экстрацеллюлярный матрикс; ВЭМ - внутренняя эластическая мембрана.

(Репин В.С. Клеточные механизмы атеросклероза).

Бляшки, сужающие просвет артерий, в случае повышения артериального давления или механических напряжений дают трещины и разрываются (рис. 1, в). Кровь, соприкасаясь с тромбогенной поверхностью ядра бляшки, свертывается, и на вершукке лопнувшей бляшки формируется кровяной сгусток, который перекрывает кровоток и вызывает региональную гибель миокарда (инфаркт). Лопнувшая бляшка с тромбом чаще всего является причиной гибели пациента.

В отличие от стенозирующего (быстро развивающегося) атеросклероза людей молодого и среднего возраста доброкачественный, вяло текущий атеросклероз в пожилом возрасте, редко осложняется появлением стенозирующих бляшек. Бляшки в сосудах пожилых людей в основном растут по длиннику сосудов.

Исследования сосудов умерших показали, что стенозирующие атеросклеротические бляшки развиваются лишь в определенных участках аорты, коронарных и сонных артерий. Бляшки чаще всего появляются в зонах разветвлений, сгибов сосудов, местах гемодинамических и механических нагрузок - там, где чаще всего внутренняя клеточная выстилка (эндотелий) сосудов подвергается повреждению и износу. В этих местах прежде всего образуются предшественники бляшек - липидные точки и полосы.

Сейчас хорошо известно, что в инициации атеросклероза может участвовать большое число разнообразных этиологических и патогенетических факторов, действующих как в отдельности, так и в комбинации друг с другом. Однако **ключевым звеном в развитии процесса является образование пенистой клетки.**

Рассмотрим механизм возникновения бляшки в условиях повреждения клеток эндотелия. Через поврежденный эндотелий в стенку сосуда проникают тромбоциты, ЛПНП, макрофаги. Тромбоциты секретуют фактор роста, который вызывает пролиферацию гладкомышечных клеток. Гладкомышечные клетки и макрофаги поглощают ЛПНП неспецифическим эндоцитозом. Это приводит к накоплению в них эфиров холестерина. Такие клетки называют пенистыми. Дальнейшая перегрузка клеток холестерином ведет к разрушению клетки. Выпавшие кристаллы эфиров холестерина раздражают соединительную ткань, которая разрастается и образуется бляшка, выступающая в просвет сосуда.

3.4. Схема патогенеза атеросклероза по А.Н. Климову

Роль пищевого холестерина в развитии экспериментального атеросклероза у кроликов была предсказана Н.Н. Аничковым еще в начале XX века. Гораздо труднее и поныне найти безусловные доказательства роли пищевого холестерина в "эпидемии" атеросклероза в высококоразвитых странах. Ведь биохимики имеют дело лишь со стационарной концентрацией холестерина в плазме крови, которая отражает отношение скоростей притока/оттока холестерина в сосудистой стенке и других органах. Статистика популяционных исследований говорит, что в сосудах человека сохраняется баланс холестерина, когда 75% холестерина находится в частицах ЛПНП (ответственных за приток холестерина к сосудам и органам). Приток 75% "плохих", атерогенных ЛПНП уравнивается 25% "хороших", антиатерогенных липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). Если отношение ЛПНП: ЛПВП сохраняется 3:1, атеросклероз не возникает даже при абсолютно высоких цифрах холестерина в плазме крови. В случае относительного преобладания ЛПНП над ЛПВП в плазме крови в сосудах начинают от-

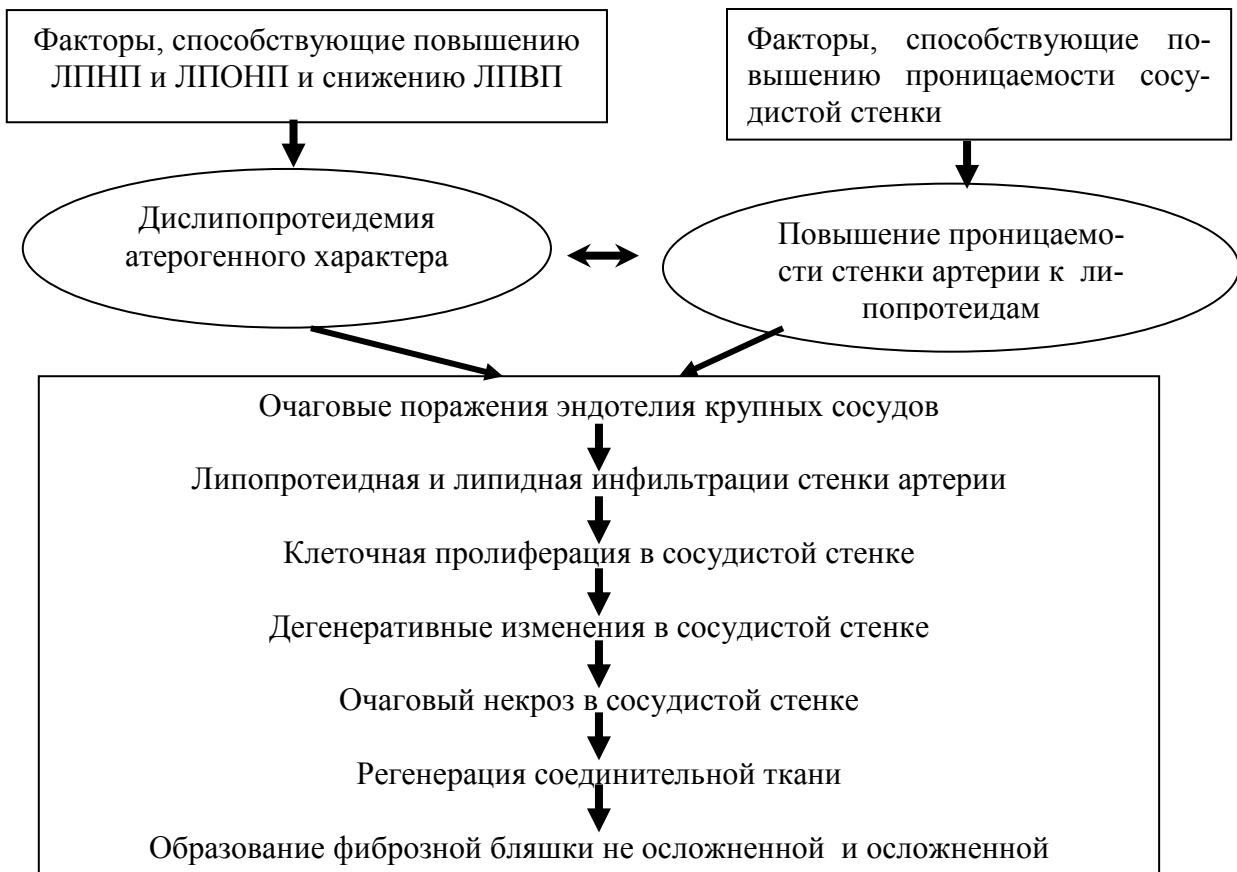
кладываться ЛПНП, что ведет к локальному окислению ЛПНП и накоплению мЛПНП, а также моноцитов, макрофагов и лимфоцитов. Активированный эндотелий и макрофаги интимы запускают миграцию гладко-мышечных клеток из мышечной оболочки в интиму. Некоторые клоны мышечных клеток быстро пролиферируют. Когда масса клеток в интиме достигнет критического размера, рост бляшки выходит из-под контроля. При малой концентрации антиатерогенных ЛПВП в крови ускоренный атеросклероз возникает даже при абсолютно низком уровне общего холестерина. Вот почему всем людям после 40—50 лет с жалобами на боли в сердце и повышенным риском (имеющим историю сердечно-сосудистых заболеваний в семье и среди ближайших родственников) рекомендуется пройти биохимические исследования в кардиологической клинике.

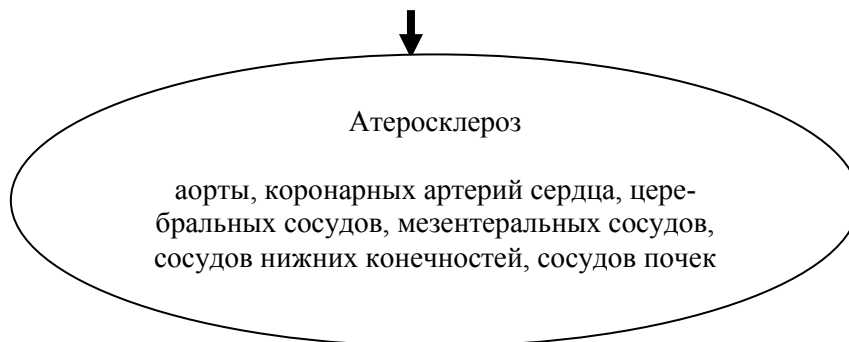
Академиком Климовым А.Н. предложено в качестве «предсказателя» развития атеросклероза рассчитывать индекс атерогенности (ИА): отношение холестерина атерогенных липопротеинов к холестерину антиатерогенных ЛП

$$ИА = \frac{ХС\ общ - ХС-ЛПВП}{ХС-ЛПВП},$$

у здоровых людей ИА 3-3,5.

Атеросклероз - схема патогенеза (по А.Н. Климову)





4. Факторы, влияющие на уровень липопротеинов 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 Гипотиреоз Болезнь Кушинга Уремия Нефроз Семейные гиперлипидемии	Эффективное лечение

Повышение ЛПВП	Снижение ЛПВП
Рыба (белок)	Вегетарианство, углеводная диета
Физические нагрузки	Сидячий образ жизни, ожирение
Эстрогены	Прогестины, андрогены
Гипотиреоз	Эффективное лечение
бета-агонисты	бета-блокаторы
Эффективное лечение	Диабет
	Курение

Факторы риска ИБС

Курение	1 сигарета в день
Избыточная масса тела Индекс Кетле	Масса (кг)/рост ² (м)=30 и более
Артериальная гипертония	АД систол. 160 мм Нг и выше, АД диастол. 85 мм Нг и выше
Гиподинамия	менее 10 часов физ. нагрузки в неделю во время досуга
Психоэмоциональная перегрузка	
Гиперхолестеринемия	5,68 ммоль/л и выше
Пол	Мужской

5. Биохимические аспекты лечения атеросклероза

Любая профилактика, как и лечение атеросклероза, начинается с диеты. Баланс пищевых калорий реализуется главным образом через соотношение атерогенных/ антиатерогенных липопротеинов. Обычно диета частично нормализует липидные показатели крови у большинства населения. Эта часть относительно здорового населения может за счет повышения физической активности практически избавиться от риска преждевременного инфаркта миокарда или инсульта.

Существует большая группа людей, у которых диета не исправляет липидных показателей. Даже на строгой диете эти пациенты имеют высокий уровень ЛПНП или низкий уровень ЛПВП. Таким людям показана коррекция липидного обмена с помощью лекарств. Лекарства назначаются на фоне подобранной диеты. Существуют несколько групп лекарств, которые эффективны при разных формах нарушений липидного обмена.

1. Чаще всего назначают антибиотики - статины, которые блокируют синтез собственного холестерина в печени через ингибирование активности ГМГ-КоА- редуктазы. Мевакор, правастатин снижают уровень ЛПНП в плазме крови на 40-60%. С помощью этих лекарств можно задать условия для такого обмена холестерина, который типичен для детей или строгих вегетарианцев. Эти дорогостоящие препараты приходится принимать всю жизнь - если прекратить их прием, уровень ЛПНП возрастает в 2-3 раза (650-1000 дол. в год).

2. Ловушки желчных кислот представляют собой нерастворимые в воде смолы, которые суспендируются в соках. Связывая и выводя желчные кислоты из кишечника, препараты стимулируют окисление новых порций холестерина в печени.

3. Фибраты (производные фиброевой кислоты) симулируют метаболизм ЛПОНП и эффективны при накоплении в крови ЛПОНП, т.е. IV типе ГЛП.

4. Мировой опыт показывает, что развитие атеросклероза замедляет регулярный прием витаминов-антиоксидантов (водорастворимого витамина С, жирорастворимых витаминов Е и А). Широко используются и природные растительные антиоксиданты в качестве пищевых добавок.

5. В связи с тем, что у человека основная масса ЛПНП катаболизирует в печени при участии апо В,Е-рецепторов, применение средств и воздействий, стимулирующих синтез указанных рецепторов, является одним из наиболее эффективных путей предупреждения и лечения атеросклероза.

6. Средства и воздействия, направленные на повышение синтеза антиатерогенных ЛПВП в организме.

7. Исходя из современных представлений о роли модифицированных ЛП в атерогенезе, наряду со снижением ЛПНП и ЛПОНП, представляют особый интерес средства, предупреждающие атерогенную модификацию этих липопротеинов. Важно еще раз подчеркнуть, что перечисленные препараты нормализуют липидный обмен и баланс жиров и холестерина, не влияя прямо на события в бляшке.

От лекарств к шунтированию и сосудистым протезам

К сожалению, приходится констатировать, что химики не нашли простых молекулярных объяснений атеросклерозу. Поэтому медикаментозное лечение остается симптоматическим («высокий» холестерин - симптом, а не причина болезни). Вот почему стала так бурно развиваться хирургия сосудов. Коронарные артерии, пораженные стенозирующими бляшками, иссекают, а на их место вшивают сегмент вены пациента, которая в течение нескольких недель превращается в артерию по законам клеточной биологии. Только у 25% оперированных скорость повторного зарастания просвета сосуда больше 12% в год. На процесс рестеноза удается влиять с помощью лекарств. В мире благополучно живут тысячи пациентов с повторным и даже трехкратным шунтирование. На подходе дакроновые протезы нового поколения, которые изнутри покрыты генетически модифицированными клетками эндотелия, снабженные молекулами - блокаторами рестеноза. Медицина вступает в новую эру удивительных технологий, которые помогают хирургам успешно лечить болезни, причина которых остается плохо понятной ученым.

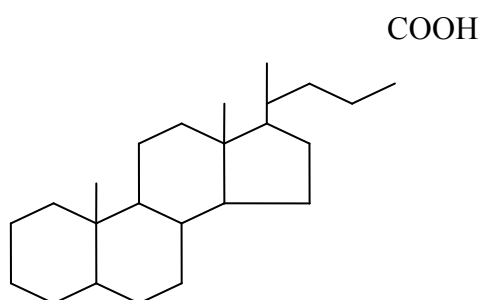
Лекция 21

БИОХИМИЯ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ

1. Химия желчных кислот

Желчные кислоты у высших позвоночных по химической природе являются, как правило, производными, C_{24} -5 β -холановой кислоты, не встречающейся в природе.

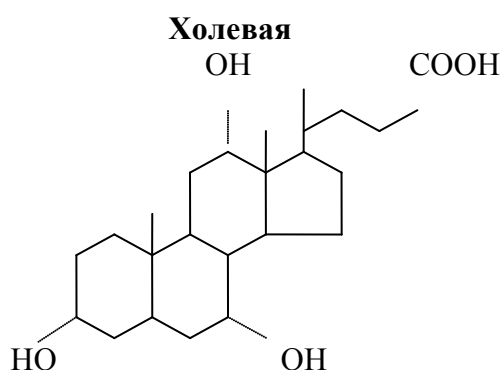
Холановая кислота



Основными (составляют 92-99 % всех желчных кислот желчи) желчными кислотами, обнаруживаемыми у человека являются:

1. Первичные желчные кислоты – холевая (3 α -,7 α -,12 α -тригидрокси-5 β -холановая) кислота и хенодезоксихолевая (3 α -,7 α -дигидрокси-5 β -холановая) кислота, синтезирующиеся в печени из холестерина и составляющие по 30-40% всех желчных кислот в желчи.

Первичные желчные кислоты

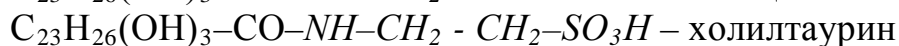


2. Вторичные желчные кислоты – дезоксихолевая (3 α ,12 α -дигидрокси-5 β -холановая) кислота и литохолевая (3 α -гидрокси-5 β -холановая) кислота, образующиеся в кишечнике под воздействием

ферментов кишечной микрофлоры и составляющие 20-25% и 1-2% всех желчных кислот желчи, соответственно.

3. Третичные желчные кислоты – урсодезоксихолевая (3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановая) кислота, которая образуется в печени и в кишечнике при участии ферментов кишечных бактерий из вторичных желчных кислот. Урсодезоксихолевая кислота составляет 1-2% от всех желчных кислот желчи.

Молекулы желчных кислот имеют полярную и неполярную части и могут действовать как детергенты. В желчи они практически все (> 99,5%) присутствуют в конъюгированной форме, то есть в виде амидных соединений с глицином или таурином. Глициновые и тауриновые конъюгаты желчных кислот обычно присутствуют в желчи здоровых субъектов в соотношении примерно 3:1, соответственно. Строение таких конъюгатов, называемых иногда парными желчными кислотами, может быть представлено в следующем виде:



Ранее конъюгаты желчных кислот называли, например, гликоли или таурохолат; в настоящее время рекомендуется использовать термин холилглицин вместо гликохолат, что более правильно отражает структуру аминокислотных амидов желчных кислот. Поскольку желчь содержит значительное количество ионов Na⁺ и K⁺, а все глициновые и тауриновые производные желчных кислот полностью ионизированы при pH кишечного содержимого, принято рассматривать конъюгаты желчных кислот в форме солей. В 1978 году G. Haslewood был предложен общий термин *соли желчных кислот*.

По физико-химическим свойствам основные желчные кислоты разделяют на гидрофобные (литохолевая, дезоксихолевая, хенодесоксихолевая и холевая) и гидрофильные (урсодезоксихолевая) кислоты. Существенное уменьшение липофильности урсодезоксихолевой кислоты обусловлено наличием 7-*бета*-ОН-группы.

2. Метаболизм желчных кислот

Для желчных кислот термин “метаболизм” означает их биосинтез и биотрансформацию во время кишечно-печеночной рециркуляции.

2.1. Биосинтез первичных желчных кислот и его регуляция

Синтез в печени желчных кислот из холестерина: 1) обуславливает около 40 % ежедневного удаления холестерина из организма; 2) пополняет ежедневную потерю желчных кислот с фекалиями, сохраняя пул циркулирующих желчных кислот.

Первичные желчные кислоты, холевая и хенодезоксихолевая, синтезируются в печени из холестерина. При этом происходит два главных изменения в молекуле холестерина:

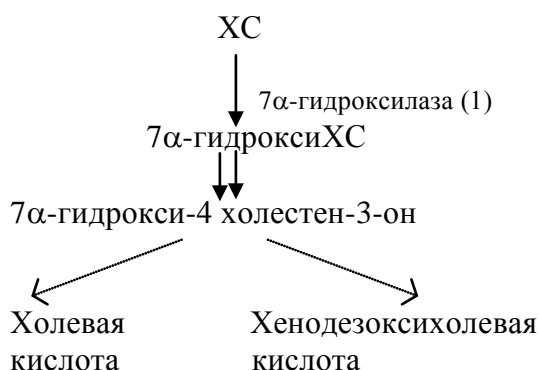
1) модификация циклопентанпергидрофенантренового кольца или стероидного ядра;

2) окисление и укорочение восьмиуглеродной боковой цепи или углеводородного “хвоста”.

Биосинтез желчных кислот включает в себя 14 ферментативных реакций, происходящих в эндоплазматическом ретикулуме, цитозоле, митохондриях и пероксисомах гепатоцита.

Иницирующим и скорость-лимитирующим шагом в этом пути биосинтеза желчных кислот является превращение холестерина в 7α -гидроксихолестерин. Эта реакция катализируется холестерин- 7α -гидроксилазой (КФ 1.14.13.17), микросомальным ферментом, находящимся только в печени. Активность холестерин- 7α -гидроксилазы стимулируется тиреоидными гормонами, ингибируется гидрофобными желчными кислотами и глюкагоном. Далее 7α -гидроксихолестерин превращается через реакции изомеризации и окисления в ключевой интермедиат 7α -гидрокси-4-холестен-3-он (не имеет тривиального названия). Этот ненасыщенный интермедиат является точкой ветвления для синтеза холевой или хенодезоксихолевой кислот.

Схема биосинтеза желчных кислот в печени.

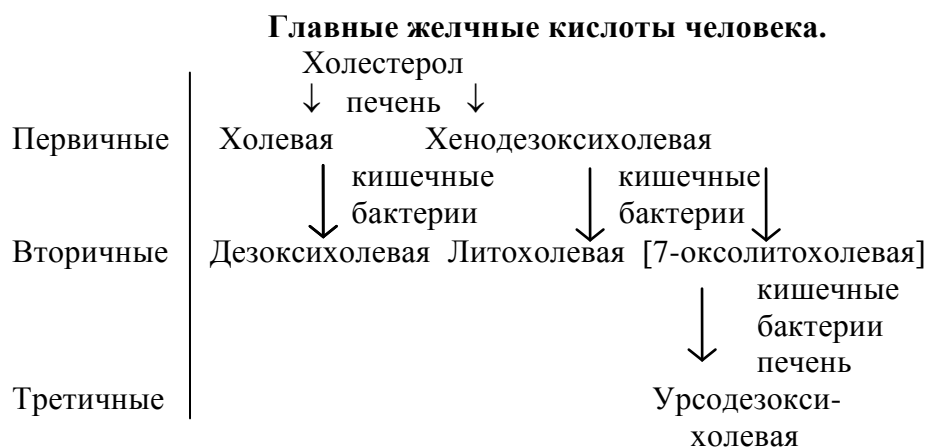


Активность 7α -гидроксилазы ингибируется гидрофобными желчными кислотами.

У здоровых людей размеры пулов первичных желчных кислот схожи (около 1 г каждый). Однако объем ежедневного синтеза хенодезоксихолевой кислоты равен только половине от такового для холевой кислоты, 0,1-0,25 г и 0,18-0,36 г, соответственно. Различия объясняются более эффективным всасыванием конъюгатов хенодезоксихолевой кислоты в тонком кишечнике и неконъюгированной ее формы в толстом кишечнике. Это обуславливает и более высокую концентрацию хенодезоксихолевой кислоты в сыворотке крови.

2.2. Синтез вторичных и третичных желчных кислот

В толстом кишечнике часть первичных желчных кислот под действием ферментов бактерий образуют вторичные желчные кислоты.



Главными реакциями при этом являются деконъюгирование и 7α -дегидроксилирование с образованием дезоксихолевой кислоты из холевой, а литохолевой кислоты из хенодезоксихолевой. Третья вторичная желчная кислота (неотносящаяся, однако, к основным желчным кислотам желчи), 7-оксолитохолевая (3α -моногидрокси-7-оксо- 5β -холановая), образуется через 7α -дегидрирование хенодезоксихолевой кислоты и является предшественником в синтезе урсодезоксихолевой кислоты.

2.3. Кишечно-печеночная рециркуляция желчных кислот

Функции:

1. Удаление излишков холестерина из организма (в виде желчных кислот и солюбилизованных желчными кислотами неизмененных молекул).
2. Соли желчных кислот возвращаются в гепатоциты и ингибируют свой собственный синтез из холестерина. Тем самым они могут напрямую регулировать синтез холестерина в печени.

стоянии, и продолжают захватываться печенью, имея период полужизни только несколько минут.

Ничтожное количество желчных кислот ($< 0,5$ мг/сут или < 10 мкмоль/сут) выводятся из организма с мочой.

Уровень желчных кислот в периферической крови колеблется в диапазоне 1-5 мкмоль/л. Доминирующими (около 80%) желчными кислотами в сыворотке крови натощак являются хенодезоксихолевая и дезоксихолевая.

3. Холелитиаз

Желчнокаменная болезнь, или холелитиаз (от греч. *chole* - желчь, *lithos* - камень) является второй проблемой в гастроэнтерологии после язвенной болезни. Камни желчного пузыря встречаются у женщин с частотой 1:11, у мужчин – 1:29, то есть женщины болеют желчнокаменной болезнью в 3-5 раз чаще.

Движение холестерина из печени в желчь сочетается с одновременной секрецией фосфолипидов и желчных кислот. Если этот сопряженный процесс нарушается и в желчь поступает больше холестерина, чем может быть солюбилизировано присутствующими желчными кислотами и фосфолипидами, он может преципитировать в желчном пузыре, инициируя образование желчных камней.

Причины возникновения перенасыщенности желчи холестерином следующие: 1) избыточная секреция холестерина в желчь, особенно при ожирении; 2) уменьшенная секреция в желчь желчных кислот; 3) недостаточная секреция в желчь фосфолипидов и 4) комбинация этих причин.

Для лечения желчнокаменной болезни, кроме хирургических методов удаления желчных камней, применяется медикаментозное растворение холестериновых желчных камней с помощью лекарственных средств – хенодезоксихолевая кислота (хенофалк) и урсодезоксихолевая кислота (урсофалк). Прием этих препаратов внутрь: 1) возмещает недостаток эндогенных желчных кислот в желчи; 2) ингибирует синтез холестерина в печени (за счет ингибирования ключевого фермента биосинтеза – 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктазы), что ведет к уменьшению поступления холестерина в желчь. Это препятствует образованию и росту желчных камней. Кроме того, урсофалк образует с холестерином жидкие кристаллы, что также способствует растворению желчных камней.

Лекция 22

ОБМЕН БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ. АЗОТИСТЫЙ БАЛАНС. ПЕРЕВАРИВАНИЕ БЕЛКОВ. ВСАСЫВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

Обмен белков занимает особое положение среди других обменов, что объясняется специфическими функциями белков. Белки, как и углеводы и жиры, выполняют энергетическую функцию. При полном окислении 1 г белков в организме выделяется 4,1 ккал (17,2 кДж), однако для получения энергии белки могут быть полностью заменены углеводами или липидами. Исключение из пищи углеводов и жиров даже на длительный срок не приводит к существенным нарушениям в организме. Исключение же белков из пищи даже на короткий срок приводит к серьезным или необратимым патологическим изменениям. Это связано с нарушением главных функций белков - пластической (белки - основа всех клеточных структур организма) и каталитической.

Даже у взрослого сформировавшегося организма постоянно происходит обновление составных химических частей тела, т.е. его стабильность определяется равновесием скорости синтеза и распада его составляющих и, в первую очередь, белков. Благодаря этому происходит разрушение сложных клеточных структур и их обновление. Таким образом, все белки организма находятся в динамическом состоянии, т.е. постоянно обмениваются, но обновление разных белков происходит с разной скоростью. Так, период полураспада белков плазмы крови, печени, слизистой желудка, кишечника составляет 10 суток, а белков мышечной ткани - 180. Очень медленно обмениваются белки соединительной ткани, мозга. В целом период полураспада всех белков человеческого организма составляет около 80 суток. Синтез белков не прекращается даже при длительном голодании.

Высокая скорость обновления белков организма свидетельствует о постоянной потребности организма в строительном материале - аминокислотах. Источником аминокислот являются белки пищи, в то же время наравне с ними используются аминокислоты, образующиеся при распаде собственных белков. Общий пул (фонд) свободных аминокислот в тканях, таким образом, состоит из аминокислот пищи, аминокислот распавшихся белков организма (внутриклеточный гидролиз), а также заменимых аминокислот, синтезированных в организме из других соединений или при превращении аминокислот друг в друга. Установлено, что 2/3 этого метаболического пула составляют именно эндогенные аминокислоты.

О состоянии обмена белков в организме судят по азотистому балансу, т.е. разнице между количеством азота, поступающего в орга-

низм, и количеством азота, выводимого из организма (с мочой и калом) в виде конечных продуктов обмена. Возможны три состояния азотистого баланса.

Положительный азотистый баланс - состояние, при котором количество поступающего азота превышает количество выводимого из организма. Такое состояние характерно для детского возраста (у растущих организмов), беременности, периода лактации, периода выздоровления людей после перенесенных тяжелых заболеваний, спортсменов в период интенсивной тренировки. При таком состоянии азотистого баланса синтетические процессы превалируют над процессами распада белков органов и тканей.

Отрицательный азотистый баланс - состояние, при котором количество азота, выделяемого из организма, превышает количество азота, принимаемого с пищей в течение суток. Оно встречается при голодании (частичном или полном), белковой недостаточности, тяжелых раневых и инфекционных заболеваниях, в норме в старческом возрасте. Старики, как правило, теряют в весе, хотя в организм может поступать достаточное количество белков.

Азотистое равновесие - состояние, при котором количество вводимого с пищей азота равно количеству азота, выводимого из организма.

Оно характерно для здорового взрослого человека, находящегося на полноценной диете. Таким образом, для того, чтобы здоровый человек находился в состоянии азотистого равновесия, для удовлетворения его потребностей в белках важную роль играет **количество** поступающих в организм белков. Этот фактор очень важен также и у детей для их нормального роста и развития. В связи с этим были определены нормы белков в питании. Исследования проводились на добровольцах, находившихся на безбелковой диете в течение 10 суток. Было установлено, что через несколько суток безбелковой диеты человек начинает выделять постоянное количество азота в сутки - 53 мг на 1 кг массы. Эта величина была названа **коэффициентом изнашивания**, который выражал количество азота распадающихся азотсодержащих веществ (белков, аминокислот) на 1 кг массы тела. В пересчете на среднюю массу человека - 70 кг количество выделяемого в сутки взрослым человеком азота составило 3,71 г (53×70), что соответствует 23,2 г распадающегося белка ($3,71 \times 6,25$, так как содержание азота в белках в среднем составляет 16%). Однако введение такого количества белков в рацион не приводило к азотистому равновесию, и баланс был резко отрицательным. Кроме этого в опытах не были учтены потери белков эпидермиса, волос, ногтей, пота и др. Следующим этапом исследования было введение в диету 46 г белков, в результате чего в состоянии покоя в организме устанавливалось азотистое равновесие, но которое

сменялось отрицательным балансом при выполнении работы. Это количество белка было названо **физиологическим минимумом**. При введении в диету 50 г белков группе добровольцев - студентов из 100 человек в течение 200 дней у них наблюдалось азотистое равновесие, а у некоторых даже положительный баланс. Однако студенты сильно похудели и после эксперимента были переведены на усиленное белковое питание.

Был сделан вывод, что 50 г белка в сутки взрослому человеку - это голодная норма, которая неминуемо в дальнейшем приведет к развитию белковой недостаточности (так как 200 дней – это лишь небольшая часть средней продолжительности жизни человека).

На основании многочисленных исследований для взрослого человека (массой 70 кг) была установлена норма белков 100-120 г при энергозатратах 2 500 ккал (12000 кДж – умственный труд, механизированный физический труд). При этом учитывается ряд условий: климатические, род профессии, пол, возраст, условия труда. При выполнении тяжелой физической нагрузки норма белка увеличивается; на каждые дополнительные 500 ккал добавляется 10 г. Дети до 12 лет должны получать минимально 50-70 г белка в сутки, а от 12 до 15 лет – суточную норму взрослого человека.

Важным фактором в удовлетворении потребности организма в белках кроме количества является их **качество**. Это связано с аминокислотным составом, так как ряд аминокислот не синтезируются в организме животных и человека и являются незаменимыми (эссенциальными). К ним относятся: метионин, треонин, валин, лейцин, изолейцин, фенилаланин, триптофан, лизин. Две аминокислоты - гистидин и аргинин являются полузаменимыми, т.к. их синтез идет, но медленно. Животные организмы не способны синтезировать углеродный скелет этих аминокислот, и они должны поступать с пищей. Природные белки в связи с разным аминокислотным составом имеют разную пищевую ценность. Чем ближе аминокислотный состав пищевого белка к аминокислотному составу белков человека, тем выше его биологическая ценность. Такими биологически ценными белками для человека являются белки мяса, молока, яиц. Исключение хотя бы одной незаменимой аминокислоты из пищи приводит к отрицательному балансу, остановке роста и развития, прекращению синтеза белков. Недостаточное поступление одной незаменимой аминокислоты ведет к неполному усвоению других аминокислот, а в последующем также может привести к остановке роста и тяжелым расстройствам.

Растительные белки от животных отличаются другим соотношением аминокислот, и поэтому для удовлетворения потребностей человека в белках их требуется значительно больше.

Важное значение в удовлетворении потребностей нашего организма в белках имеет **способность белков пищи к усвоению**, что зависит от способности протеолитических ферментов наших пищеварительных соков расщеплять их до аминокислот. Так, белки шерсти, перьев, волос имеют близкий аминокислотный состав к белкам человека, но не гидролизуются протеолитическими ферментами пищеварительных соков человека и большинства животных.

Белковые резервы

Обмен белков от изученных обменов углеводов и липидов отличается тем, что в живых организмах не происходит депонирования белков, подобно тому как депонируются углеводы (гликоген в печени и мышечной ткани) и триацилглицерины (в жировой ткани), которые могут использоваться при необходимости. Экспериментальные исследования на животных и наблюдения над больными в клинике показали, что в качестве белковых резервов для обеспечения жизнедеятельности жизненно важных органов используются белки плазмы крови, печени и мышечной ткани, которые гидролизуются и служат источником аминокислот в экстремальных ситуациях: голодание, потеря крови, тяжелые интоксикации, тяжелые инфекционные заболевания.

Каждый вид организма имеет характерные белки, т.е. обладающие видовой специфичностью. При попадании этих чужеродных белков организм лишает их видовой специфичности, расщепляя до таких структурных компонентов, которые не обладают специфичностью и могут быть использованы для построения собственных белков. Такими структурными элементами являются аминокислоты. Расщепление белков происходит в процессе переваривания в желудочно-кишечном тракте.

Переваривание белков

Происходит в различных отделах пищеварительного тракта (в желудке, двенадцатиперстной кишке и тонком кишечнике) под действием протеолитических ферментов пищеварительных соков.

Переваривание белков начинается **в желудке** под действием ферментов желудочного сока. В сутки выделяется от 1,5 до 2,5 л сока, который отличается от других пищеварительных соков сильно кислой реакцией. рН его 0,9-1,6 благодаря присутствию свободной соляной кислоты, секретлируемой обкладочными клетками слизистой желудка. Секретция соляной кислоты в полость желудка представляет активный транспорт, осуществляемый протонной АТФ-азой с затратой АТФ и

благодаря наличию в клетках карбоангидразы. Процесс сопровождается уменьшением количества хлоридов в крови.

Роль соляной кислоты:

1. вызывает денатурацию белков;
2. вызывает набухание труднорастворимых белков;
3. растворяет белки, растворимые в кислой среде;
4. активирует пепсиноген;
5. создает рН, необходимое для действия пепсина;
6. стерилизует пищу;
7. способствует всасыванию железа;
8. вызывает секрецию секретина в двенадцатиперстной кишке.

В желудочном соке содержатся протеолитические ферменты: **пепсин, гастрин, реннин**. Главным из них является **пепсин**. Он вырабатывается главными клетками слизистой желудка в виде профермента пепсиногена (м.м. 40000 Да). Активация его осуществляется соляной кислотой (медленная) и аутокаталитически в присутствии соляной кислоты (быстрая). При этом с N-конца отщепляются пять пептидов с м.м. каждого около 1000 Да и ингибитор пепсина – щелочной пептид с м.м. 3100 Да. М.м. образующегося пепсина 32000-33000 Да. О том, что активация происходит с N-конца, свидетельствует смена N-концевой аминокислоты лейцина на изолейцин (у пепсина). C-концевая аминокислота – аланин одинаковая и у пепсина и у его профермента. При активации происходит изменение конформации молекулы и формирование активного центра, куда входят COOH-группы двух остатков аспарагиновой кислоты. Пепсин действует при значениях рН от 1,5 до 2,5 с максимумом при рН=1,8.

Пепсин проявляет групповую относительную специфичность действия, является эндопептидазой, расщепляющей пептидные связи внутри белковой молекулы:

- 1) Между двумя ароматическими аминокислотами.
- 2) Образованные аминокислотной группой ароматических аминокислот.
- 3) Ала-ала, ала-сер.

Пепсин хорошо расщепляет связи в мышечных белках, труднее в коллагене, эластине.

Кроме пепсина в желудочном соке содержится фермент **гастрин**, проявляющий протеолитическую активность при рН 3,0-4,0 (максимум 3,2). По-видимому, он начинает переваривание белков.

М.м. гастрина 31500 Да. Полагают, что и пепсин, и гастрин образуются из одного предшественника. Их соотношение в желудочном соке 4:1.

В желудочном соке грудных детей (и маленьких жвачных животных) содержится фермент **реннин** (м.м. 40000 Да). Действует при рН 3,7-4,0. Фермент имеет большое значение для переваривания бел-

ков у грудных детей, т.к. катализирует створаживание молока, т.е. превращение растворимого казеиногена в присутствии ионов Ca^{2+} в нерастворимый казеин.

Продукты расщепления белков пепсином представляют смесь полипептидов и называются **пептонами**.

Переваривание белков в кишечнике

Образовавшиеся в результате действия пепсина в желудке полипептиды и нерасщепившиеся белки поступают в двенадцатиперстную кишку, куда поступает и сок поджелудочной железы.

Панкреатический сок имеет щелочную реакцию (рН 7,5-8,2), что обусловлено высоким содержанием бикарбонатов. В сутки выделяется до 800 мл сока. Кислое содержимое, поступающее из желудка, нейтрализуется, и пепсин теряет свою активность.

В панкреатическом соке содержатся протеолитические ферменты: **трипсин, химотрипсин, карбоксипептидаза и эластаза**, которые вырабатываются в виде проферментов.

Трипсин вырабатывается в виде трипсиногена, который активируется в двенадцатиперстной кишке энтерокиназой и аутокаталитически. Энтерокиназа секретируется клетками слизистой двенадцатиперстной кишки в неактивной форме – в виде киназогена. Он активируется клеточными протеазами лизосом и самим трипсином.

Активация трипсиногена происходит путем отщепления с N-конца гексапептида*, при этом изменяется N-концевая аминокислота (у трипсиногена валин, у трипсина – изолейцин). С-конец, вероятно, замкнут циклически.

После отщепления гексапептида происходит спирализация полипептидной цепи и конформационные изменения, приводящие к формированию активного центра, в который входят остатки серина и гистидина.

Трипсин – эндопептидаза, расщепляет пептидные связи, образованные карбоксильными группами основных аминокислот (лизина, аргинина). Для предотвращения активации профермента в железе, что вызвало бы протеолиз других ферментов и самого органа, здесь и в крови содержатся ингибиторы трипсина.

Химотрипсин вырабатывается в виде химотрипсиногена. Это белок с м.м. около 25000 Да, полипептидная цепь которого замкнута циклически. Активируется трипсином путем расщепления пептидной связи между 15 и 16 аминокислотными остатками. В результате конформационных изменений формируется активный центр, в который

* Поэтому изменение молекулярной массы незначительно (23000-22000).

входят радикалы серина и гистидина. Образуется самая активная форма фермента – π -химотрипсин. Далее от него отщепляется дипептид (14 и 15 аминокислотные остатки) и образуется δ -химотрипсин с меньшей протеолитической активностью. От него отщепляется еще дипептид, в результате чего образуется α -химотрипсин с еще меньшей активностью, т.е. идет деградация самой молекулы фермента.

Химотрипсин – эндопептидаза, расщепляет пептидные связи, образованные карбоксильными группами ароматических аминокислот, а также триптофана, лейцина и метионина с любыми другими аминокислотами.

Таким образом, и трипсин и химотрипсин, как и пепсин, обладают групповой относительной специфичностью.

Карбоксипептидаза вырабатывается в виде прокарибоксипептидазы с м.м. 96000 Да. Активируется трипсином с отщеплением большей части молекулы. М.м. активного фермента 36000 Да. Простетической группой фермента является цинк. Это экзопептидаза, отщепляет С-концевую аминокислоту. Есть две формы фермента: А отщепляет с С-конца ароматические и другие аминокислоты, кроме основных и пролина, В – основные аминокислоты.

Эластаза вырабатывается в виде проэластазы, активируемой трипсином. Расщепляет эластин и коллаген соединительной ткани. Расщепляет пептидные связи, в образовании которых принимают участие гидрофобные аминокислоты (пролин, аланин), а также глицин, серин.

Дальнейшее переваривание происходит в тонком кишечнике при участии ферментов кишечного сока, содержащего амино-, ди- и трипептидаз. Все они вырабатываются в неактивной форме и активируются трипсином. Функционируют преимущественно пристеночно и внутриклеточно.

Аминопептидазы отщепляют аминокислоты с N-конца пептидов (т.е. со свободной аминогруппой). Выделяют активные аланинаминопептидазу и лейцинаминопептидазу. **Ди- и трипептидазы** расщепляют ди- и трипептиды соответственно до аминокислот.

Таким образом, конечными продуктами переваривания белков в желудочно-кишечном тракте являются аминокислоты, которые всасываются.

Переваривание сложных белков

Начинается с отщепления простетической группы, которая в зависимости от химической природы подвергается дальнейшим ферментативным превращениям (например, нуклеиновые кислоты расщепляются панкреатическими РНК-азой и ДНК-азой). Белковая часть гидро-

лизуется рассмотренными выше ферментами до аминокислот.

Регуляция пищеварения гормоноподобными веществами желудочно-кишечного тракта

Секреция пищеварительных соков находится под контролем сложных нейрогуморальных механизмов, среди которых важное место занимают гормоноподобные вещества желудочно-кишечного тракта.

Секрецию желудочного сока стимулируют **гастрин и гистамин**. **Гастрин** – полипептид, вырабатываемый слизистой оболочкой привратника под действием пищи, попадающей в желудок. Секреция его, кроме химических факторов, стимулируется рефлекторным растяжением желудка пищей. Кровотоком гастрин доставляется в клетки слизистой желудка и стимулирует секрецию желудочного сока (воды, электролитов, ферментов). **Гистамин** – продукт декарбоксилирования гистидина – вызывает интенсивную секрецию желудочного сока, чем обусловлено его применение в клинике при исследовании функциональной активности слизистой желудка.

Регуляция секреции панкреатического сока осуществляется **секретином и холецистокинином**. Оба они – полипептиды, синтезируемые слизистой оболочкой двенадцатиперстной кишки. При поступлении из желудка кислого содержимого стимулируется образование секретина (под влиянием соляной кислоты и других химических раздражителей). Он поступает с кровотоком в поджелудочную железу и через аденилатциклазную систему стимулирует секрецию сока, богатого бикарбонатами и с большим содержанием воды.

В ответ на поступление в двенадцатиперстную кишку жирной пищи клетками слизистой оболочкой вырабатывается холецистокинин, который кровью доставляется в поджелудочную железу и стимулирует выработку сока, богатого ферментами (поэтому его раньше называли панкреозимин). Он также вызывает сокращение гладких мышц желчного пузыря и усиливает двигательную функцию кишечника.

Парентеральное белковое питание

В клинике, чаще в хирургической практике при ряде состояний (кровопотери, непроходимость пищевода после ожогов, отравления, при раковом поражении пищевода и желудка, после операций на желудке, ожоговая болезнь, до и после хирургических вмешательств) возникает необходимость введения белков минуя пищеварительный тракт (парентерально). Однако парентеральное введение белков неминуемо приведет к сенсibilизации организма. Поэтому для белкового питания парентеральным путем используют гидролизаты белков, со-

державшие смесь аминокислот. Так, широко используется гидролизин - гидролизат белков крови крупного рогатого скота. Используется для парентерального питания до и после хирургических вмешательств, при кровопотерях, ожоговой болезни как источник аминокислот для биосинтеза белков. Может использоваться при непроходимости пищевода (ожоги, раковые поражения). Для нормализации обмена веществ в ткани мозга используют церебролизин - гидролизат ткани мозга.

Всасывание аминокислот

Происходит путем активного транспорта, т.е. идет с затратой АТФ, против градиента концентрации с участием переносчиков. Выяснено, что существуют специфические транспортные системы, переносящие аминокислоты определенного строения:

1. Нейтральные с небольшим радикалом.
2. Нейтральные с объемным радикалом.
3. Кислые (отрицательно заряженные).
4. Основные (положительно заряженные).
5. Пролин.

В настоящее время расшифрован механизм транспорта аминокислот в клетки кишечника, мозга, почек, получивший название γ -глутамильного цикла. В нем участвуют 6 ферментов и трипептид глутатион. Ключевой фермент – гаммаглутамилтрансфераза (ГГТ) локализован в мембране. Он отщепляет глутаминовую кислоту от глутатиона и переносит ее на поступающую в клетку аминокислоту с образованием дипептида. Он оказывается в клетке и расщепляется другим ферментом цикла на аминокислоту и оксопролин. Через ряд реакций оксопролин превращается в глутаминовую кислоту. Из нее, цистеина и глицина, выделившихся при расщеплении глутатиона, происходит ресинтез глутатиона, при этом на активацию каждой аминокислоты затрачивается АТФ, т.е. на ресинтез глутатиона – 3 АТФ.

Судьба всосавшихся аминокислот

Аминокислоты, всосавшиеся через стенку кишечника, поступают в кровь и по системе воротной вены попадают в печень, где используются с различными целями. Главные пути использования следующие:

- Синтез структурных белков.
- Синтез белков плазмы крови.
- Синтез биологически активных веществ (ферментов, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, аминов, креатина), порфиринов, пептидов – глутатиона.

– Распад аминокислот с использованием углеродного скелета для глюконеогенеза.

– Значительная часть аминокислот с кровью поступает к органам и тканям.

В тканях аминокислоты используются с такими же целями, кроме этого, в эндокринных железах синтезируются гормоны. Не использованные с синтетическими целями аминокислоты подвергаются распаду до конечных продуктов – CO_2 , H_2O и NH_3 .

Лекция 23

ПРЕВРАЩЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ В ТКАНЯХ. РЕАКЦИИ ПО АМИНОГРУППЕ

Превращения аминокислот в тканях могут осуществляться по:

- Аминогруппе.
- Карбоксильной группе.
- Радикалу.

Превращения аминокислот по NH_2 -группе происходят путем:

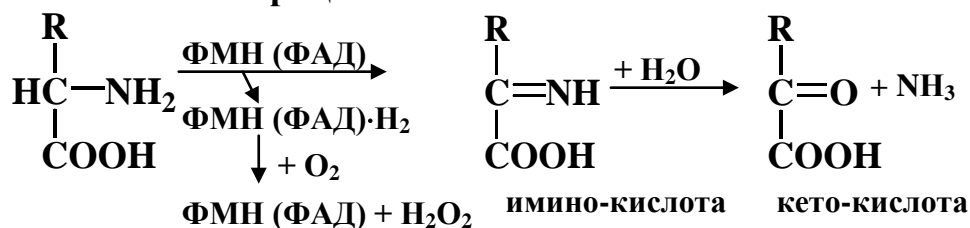
1. Дезаминирования.
2. Переаминирования.

1. **Дезаминирование аминокислот.** Теоретически и *in vitro* возможны следующие виды дезаминирования: окислительное, восстановительное, гидролитическое и путем внутримолекулярной перестройки. Все они обнаружены у бактерий. Но у животных, растений и большинства бактерий дезаминирование происходит окислительным путем. Процесс идет с участием ферментов **оксидаз**. Выделены оксидазы L-аминокислот, превращающие L-изомеры аминокислот, и D-оксидазы.

L-оксидазы имеют простетическую группу **ФМН**, проявляют относительную и стереохимическую специфичность, мало активны (т.к. опт. $\text{pH}=10$) – всего 10% активности, локализованы в пероксиосомах.

D-оксидазы – сложные флавиновые ферменты с простетической группой **ФАД**, проявляют относительную и стереохимическую специфичность, высоко активны, находятся в микросомах.

Химизм процесса:



Аминокислоты наших белков и поступающих с пищей – L-ряда. D-аминокислоты могут поступить с некоторыми бактериями или всосаться из кишечника, где под действием рацемаз микрофлоры может идти рацемизация L-аминокислот в D-изомеры. Из всех L-оксидаз следует выделить фермент **глутаматдегидрогеназу (ГлудГ)**, которая дезаминирует глутаминовую кислоту и отличается тем, что:

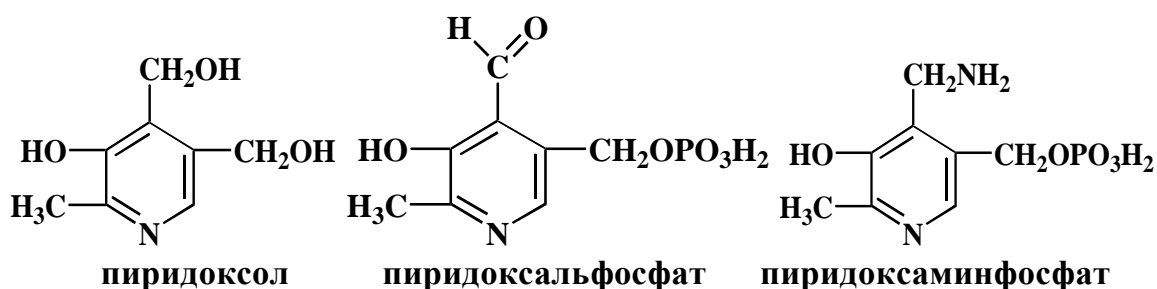
1. Имеет кофермент **НАД**.
2. Обладает абсолютной специфичностью.
3. Высоко активна.
4. Локализована в митохондриях.
5. Регуляторный фермент: активируется АДФ, ингибируется АТФ, ГТФ, эстрогенами, тироксином.

При дезаминировании глутаминовой кислоты образуется α-кетоглутарат.

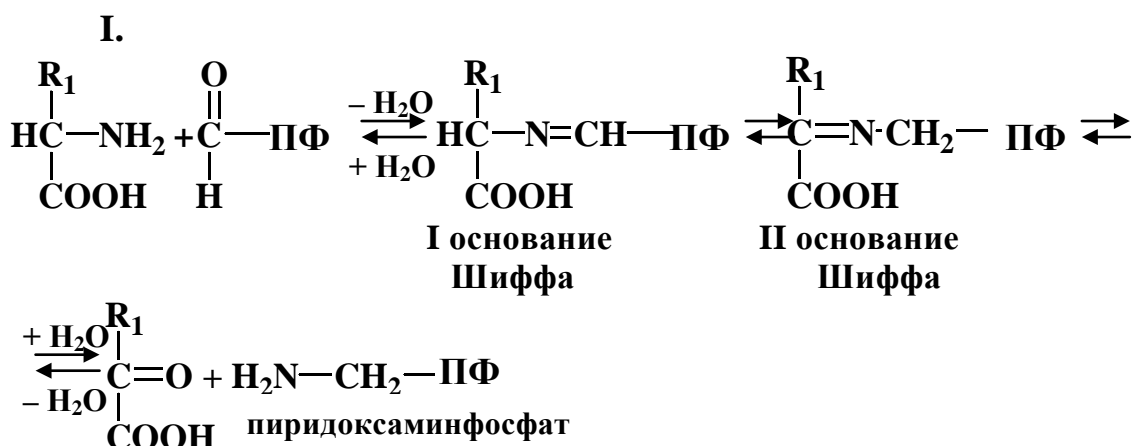
Вывод: таким образом, из всех наших L-аминокислот активно прямо дезаминируется только глутаминовая кислота.

1. Переаминирование (трансаминирование). Процесс открыт в 1937г. советскими биохимиками А.Е. Браунштейном и М.Г. Крицман. Процесс ферментативный, осуществляется ферментами **аминотрансферазами (трансаминазами)** и сводится к переносу аминогруппы с аминокислоты на кетокислоту с образованием соответствующей кетокислоты и новой аминокислоты.

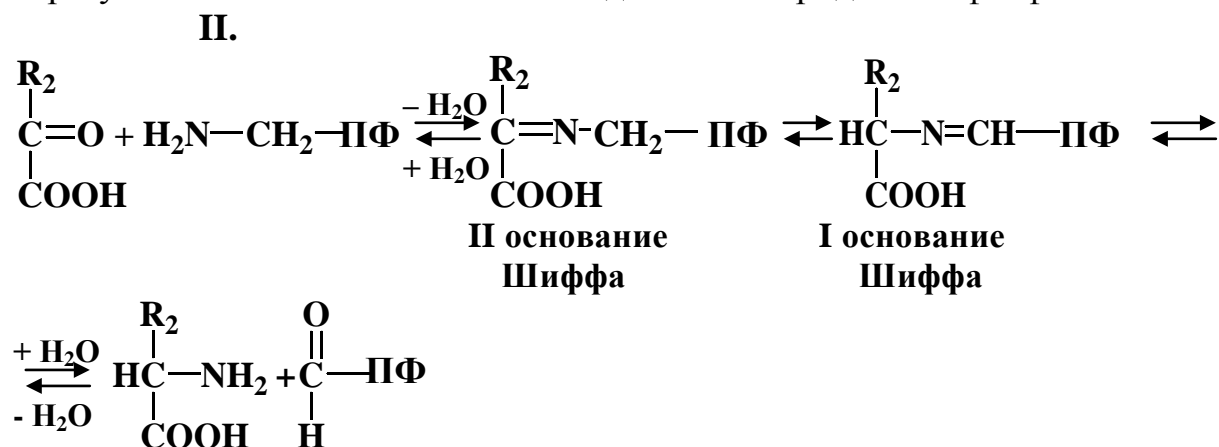
Аминотрансферазы – сложные ферменты с коферментом, представленным пиридоксальфосфатом – производным витамина В₆. Под витамином В₆ понимают группу веществ: пиридоксол, пиридоксаль и пиридоксамин. В тканях они находятся в виде фосфорных эфиров:



Процесс переаминирования протекает в несколько стадий:



Итогом первого этапа являются пиридоксаминфосфат и кетокислота, соответствующая превращающейся аминокислоте. Образовавшийся пиридоксаминфосфат взаимодействует с какой-либо кетокислотой, и процесс идет в обратном направлении. В результате образуется новая аминокислота и выделяется пиридоксальфосфат.



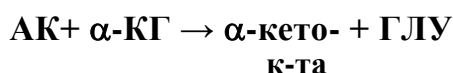
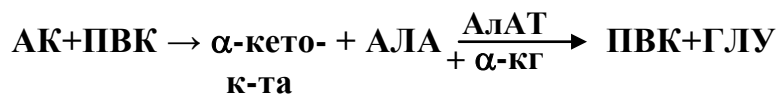
Ферменты локализованы в цитозоле и митохондриях и отличаются высокой активностью.

Значение процесса переаминирования:

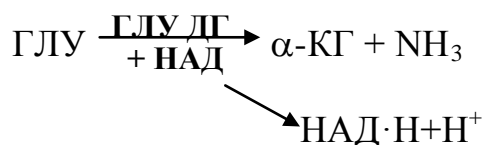
- 1) Путь синтеза в организме заменимых аминокислот.
- 2) Первый этап непрямого дезаминирования аминокислот.
- 3) Осуществление взаимосвязи обменов аминокислот, углеводов и липидов.

В тканях активно дезаминируется лишь глутаминовая кислота. Изучение азотистого обмена, активности ферментов привело к мысли, что дезаминирование большей части аминокислот идет **непрямым** путем. Вначале аминокислоты вступают в переаминирование с кетокислотами: ПВК, ЩУК или α-кетоглутаровой. Образовавшиеся АЛА и

АСП вновь вступают в переаминирование с α -кетоглутаровой кислотой при участии специфических ферментов: **аланинаминотрансферазы (АлАТ)** и **аспартат-аминотрансферазы (АсАТ)**.



Образовавшаяся глутаминовая кислота подвергается окислительному дезаминированию глутаматдегидрогеназой (II этап процесса).



Таким образом, смысл процесса в том, что NH_2 -группы аминокислот переносятся на α -кетоглутаровую кислоту (α -КГ), а глутаминовая кислота затем активно дезаминируется глутаматдегидрогеназой. Этот процесс получил название **непрямого дезаминирования аминокислот путем переаминирования**. Он является основным путем дезаминирования природных аминокислот.

В клинике широко используют с диагностической целью определение активности аланин- и аспартатаминотрансфераз, т.к. они являются органоспецифическими ферментами. Повышение активности АлАТ в крови наблюдается при неспецифическом гепатите (в норме 0,10-0,68 ммоль/ч·л), АсАТ – при инфаркте миокарда (в норме 0,10-0,45 ммоль/ч·л).

Для дифференциальной диагностики используют коэффициент де-Ритиса:

$$\frac{\text{АсАТ}}{\text{АлАТ}} = 1,33 \text{ (в норме)}$$

Повышение коэффициента ($>1,33$) наблюдается при поражении мышцы сердца, снижение ($<1,33$) – при поражении паренхимы печени.

Судьба α -кетокислот

Образовавшиеся в процессе дезаминирования и переаминирования α -кетокислоты могут использоваться в тканях организма с различными целями. Они могут подвергаться:

1) Восстановительному аминированию и переаминированию с образованием соответствующей аминокислоты.

2) Декарбоксилированию с превращением в жирные кислоты, при β -окислении которых образуется ацетил - КоА, сгорающий в цикле трикарбоновых кислот с образованием энергии.

3) Превращению в углеводы, включаясь в процесс глюконеогенеза через пируват, α -кетоглутарат, щавелевоуксусную кислоту, сукцинил - КоА, при этом пируват является центральным связующим звеном. В пируват превращаются аланин, серин, глицин, треонин, цистеин, в ЩУК - аспартат, аспарагин, в α -кетоглутарат - глутамин, в сукцинил- КоА - валин, изолейцин, метионин, треонин. Эти аминокислоты называют гликогенными или гликопластическими. Глюконеогенез с участием аминокислот особенно активно происходит при голодании, при преимущественно белковом питании. Полагают, что примерно 50% аминокислот в организме могут служить источником для образования глюкозы.

4) Превращениям с образованием ацетоуксусной кислоты и ацетил-КоА (фенилаланин, тирозин, лейцин, лизин), из которых образуются жирные кислоты и кетонные тела. Поэтому их называют кетогенными или кетопластическими.

В то же время такие аминокислоты как тирозин, фенилаланин, триптофан и изолейцин являются одновременно и гликогенными и кетогенными, так как часть их молекул при катаболизме превращается в пируват, а другая часть включается в ацетил-КоА.

Лекция 24

ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ АММИАКА В ОРГАНИЗМЕ

Обезвреживание аммиака в организме

Аминокислоты, не использованные для построения тканевых белков или биологически активных веществ, подвергаются распаду с образованием конечных продуктов – CO_2 , H_2O и NH_3 .

Образование NH_3 происходит во всех тканях в результате:

1. Окислительного дезаминирования аминокислот.
2. Окислительного дезаминирования глутаминовой кислоты.

3. Дезаминирования аминов аминоксидазами.
4. Дезаминирования пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.
5. Дезаминирования аминокислот ферментами бактерий в кишечнике с последующим всасыванием этого NH_3 в портальную вену.

В сутки в организме подвергаются распаду до 70 г аминокислот, в результате чего образуется большое количество NH_3 . Аммиак для клеток является ядом, и его накопление в тканях представляло бы серьезную угрозу для организма. При попадании больших количеств аммиака в кровь (цирроз печени) развивается интоксикация, проявляющаяся, прежде всего, поражением центральной нервной системы (затруднение речи, тремор, потеря сознания, эпилептические припадки, кома). Несмотря на непрерывное образование его в тканях и поступление в кровь, количество NH_3 в крови очень мало и составляет 0,05 ммоль/л.

Это свидетельствует о существовании механизмов обезвреживания аммиака, которые могут нарушаться.

Различают механизмы **местного** и **общего** обезвреживания аммиака. Местное обезвреживание сводится к временному связыванию аммиака с образованием его транспортных форм, в составе которых он доставляется к органам, где происходит общее обезвреживание. Последнее заключается в образовании инертных, ненужных организму соединений, которые выводятся с мочой.

Местное обезвреживание аммиака

Осуществляется в тканях (мозг, мышцы, сетчатка и др.), где происходит непосредственное образование NH_3 , по нескольким механизмам.

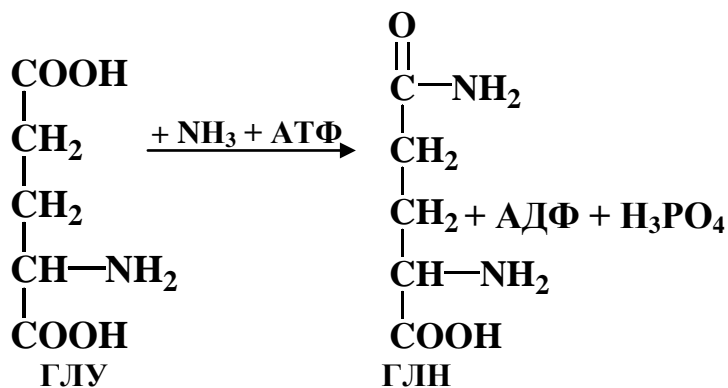
1. Главным путем обезвреживания аммиака является его связывание с глутаминовой (у животных) и аспарагиновой (больше у растений) кислотами, т.е. их амидирование. Протекает в мышечной ткани, мозгу, печени, почках с затратой АТФ. Катализируется глутаминсинтетазой, локализованной в ЭПС.

Образуется глутамин, который легко проходит через мембраны (у растений – аспарагин).

Образовавшиеся **глутамин и аспарагин являются главными транспортными формами аммиака**, в виде которых он доставляется в **печень и почки**, где происходит общее обезвреживание.

Глутамин и аспарагин являются и главными резервными формами аммиака. Азот амидной группы глутамина и аспарагина используется при синтезе важных органических соединений: пуриновых, пиримидиновых нуклеотидов, триптофана, гистидина, глюкозаминфосфата, карбамоилфосфата. Глутаминсинтетаза - это регуляторный фермент,

ингибирующийся каждым из этих конечных продуктов метаболизма (типичный пример регуляции по типу обратной связи). Полагают, что в молекуле фермента имеются участки связывания для каждого из этих ингибиторов.

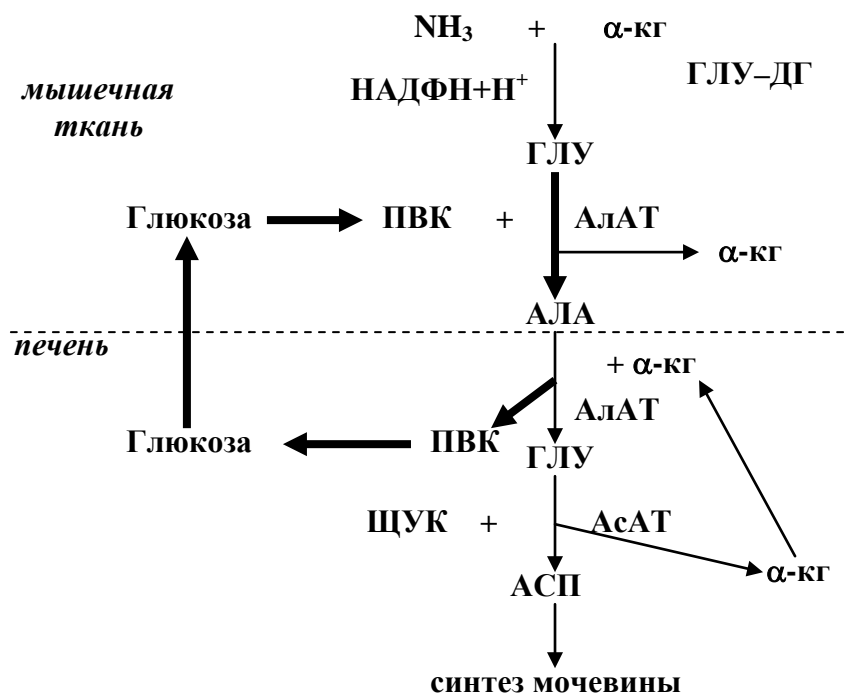


2. Обезвреживание аммиака в тканях происходит также путем амидирования остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот в белках.

3. Восстановительное аминирование (ретрансаминирование) α -кетоглутарата. В мышечной ткани этот процесс приводит к образованию еще одной транспортной формы аммиака. При интенсивной мышечной работе выделяющийся аммиак связывается с α -кетоглутаровой кислотой под действием глутаматдегидрогеназы. Образуется глутамат:



Глутаминовая кислота вступает в переаминирование с пируватом, образующимся при интенсивной мышечной работе в результате распада гликогена или глюкозы. Образующийся **аланин является транспортной формой аммиака**, доставляемой кровью в печень, где он вступает в переаминирование с α -кетоглутаратом, в результате чего получают пируват и глутамат. Глутаминовая кислота через аспартат (переаминирование со щавелевоуксусной кислотой) включает свою NH_2 -группу в мочевины. Пируват используется в глюконеогенезе для синтеза глюкозы, которая поставляется печенью мышцам. Этот механизм имеет важное значение для выведения аммиака из мышечной ткани и получил название **глюкозо-аланинового цикла**.

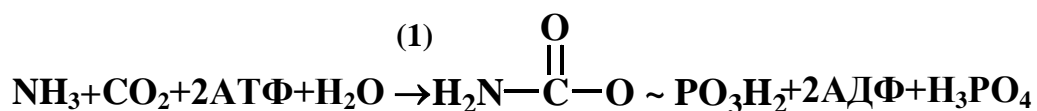


Общее обезвреживание аммиака

Происходит в печени и почках, где образуются безвредные для организма инертные соединения, которые выводятся с мочой. В печени синтезируется мочевина, в почках – аммонийные соли. У животных и человека азот выводится, в основном, в виде мочевины (около 85-90%). На соли аммония приходится около 3-6% всего азота, выводимого с мочой.

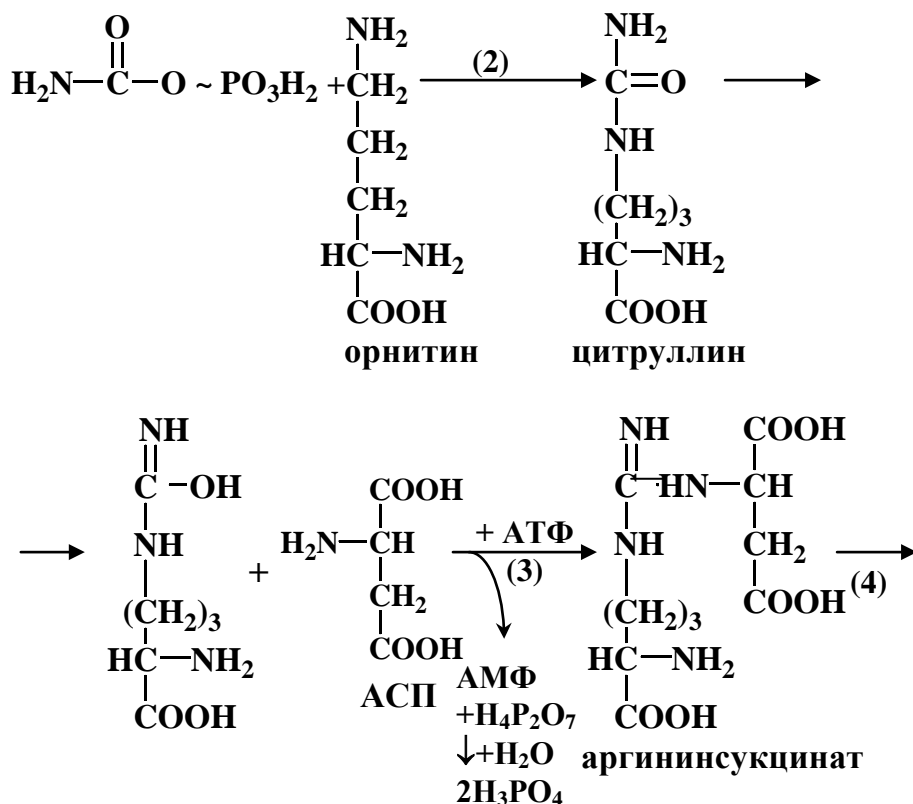
Синтез мочевины

Синтез мочевины представляет собой циклический процесс, открытый Г.Кребсом в 1932 году. В печень с кровотоком поступают транспортные формы аммиака глутамин и аланин, и, кроме того, по воротной вене аммиак, всосавшийся в кишечнике. Глутамин под действием глутаминазы распадается на глутаминовую кислоту и аммиак. В митохондриях гепатоцитов из аммиака, CO_2 с затратой АТФ под действием карбамоилфосфатсинтетазы (1) синтезируется карбамоилфосфат.



карбамоилфосфат

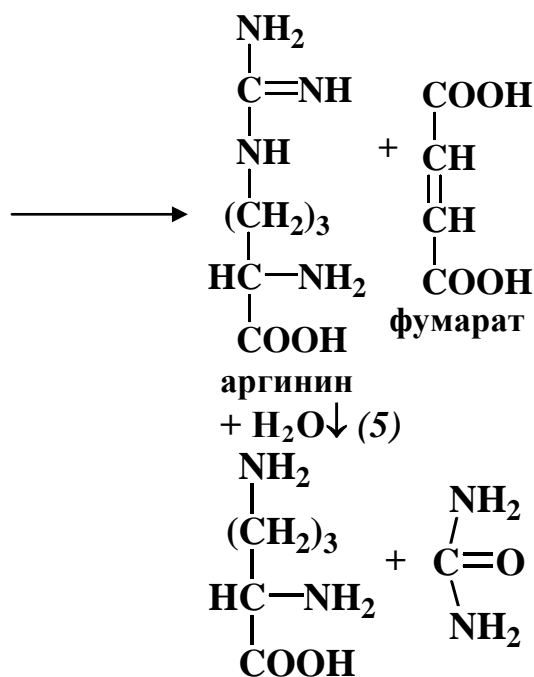
Карбамоилфосфат взаимодействует с орнитином при участии орнитинкарбамоилтрансферазы (2) с образованием цитруллина, кетоформа которого подвергается таутомерной перегруппировке, переходя в енольную.



Цитруллин вступает в конденсацию с аспарагиновой кислотой под действием аргининсукцинатсинтетазы (3) с затратой АТФ. Образуется аргининянтарная кислота, которая аргининсукцинатлиазой (4) расщепляется на аргинин и фумаровую кислоту.

Аргинин расщепляется аргиназой (5) на орнитин и мочевины, которая простой диффузией (по градиенту концентрации) выходит из клеток в кровь и выделяется с мочой. В сутки в норме выделяется от 20 до 40г мочевины.

Фумаровая кислота является промежуточным продуктом цикла трикарбоновых кислот и фумаратгидратазой превращается в малат, который окисляется малатдегидрогеназой в щавелевоуксусную кислоту. Оксалацетат вступает в реакцию переаминирования с глутаминовой кислотой и превращается в аспарагиновую, которая вновь используется в синтезе мочевины. Образовавшийся из глутамата α-кетоглутарат вступает в реакцию переаминирования с любыми аминокислотами печени.



Таким образом, процесс синтеза мочевины – циклический и требует орнитина и затраты АТФ. Атомы азота мочевины имеют разное происхождение: один атом поступает в составе глутамина, образовавшегося в тканях, и принадлежит азотсодержащим соединениям периферических тканей. Второй атом включается аспарагиновой кислотой, образующейся при переаминировании щавелевоуксусной и глутаминовой кислот. Глутаминовая кислота забирает аминокислоты печени (в том числе, поступившего аланина).

Синтез аммонийных солей

Глутамин, доставляемый кровотоком в почки, расщепляется глутаминазой, активируемой протонами и самим глутамином, на глутаминовую кислоту и аммиак. Аммиак взаимодействует с протонами, образуя ион аммония, который соединяется с анионами различных кислот: фосфорной, серной, угольной, соляной, щавелевой, мочевой.



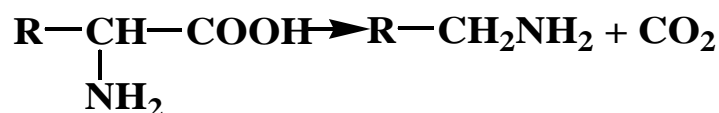
Образуются соли аммония – фосфаты, сульфаты, карбонаты, хлориды, оксалаты, ураты, которые выводятся с мочой. Всего в сутки у здорового человека выделяется 1-1,2 г таких солей.

Процесс имеет важное значение, т.к. является не только механизмом общего обезвреживания аммиака, но участвует в поддержании кислотно-щелочного равновесия в организме, а также сберегает от выведения с мочой катионы натрия и калия.

Лекция 25

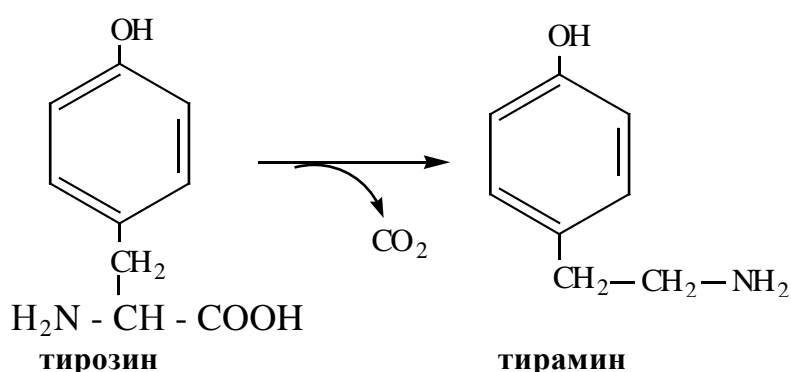
ПРЕВРАЩЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ ПО КАРБОКСИЛЬНОЙ ГРУППЕ – ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЕ

В тканях животных процесс декарбоксилирования аминокислот протекает под действием декарбоксилаз с образованием аминов.

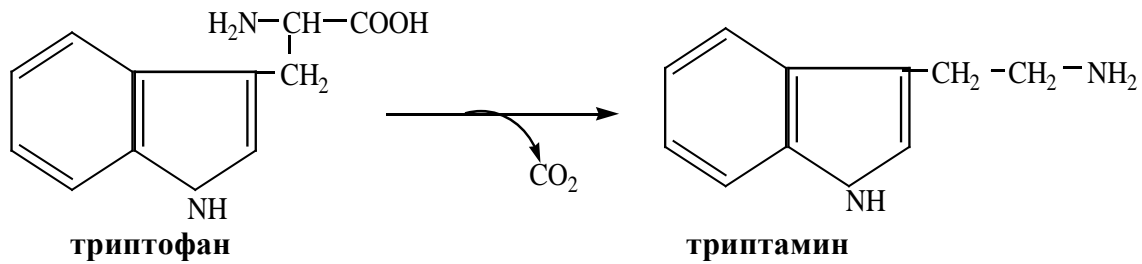


Декарбоксилазы аминокислот – сложные ферменты, коферментом которых является пиридоксальфосфат. Обнаружены процессы декарбоксилирования гистидина, триптофана, 5-гидрокситриптофана, тирозина, глутаминовой, аспарагиновой, цистеиновой кислот с образованием соответствующего амина: гистамина, триптамина, серотонина, тирамина, γ -аминомасляной кислоты, β -аланина, таурина. Их называют биогенными аминами, так как в малых дозах это биологически активные вещества с мощным фармакологическим действием, в больших дозах – фармакологические яды. Декарбоксилазы ароматических аминокислот, гистидина, глутаминовой кислоты и других не отличаются строгой специфичностью. Ферменты мало активны, и процесс протекает с малой скоростью.

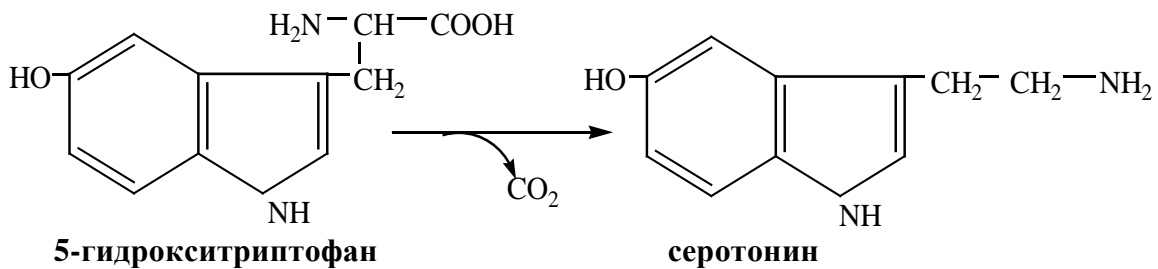
При декарбоксилировании тирозина образуется тирамин, проявляющий сосудосуживающее действие.



Декарбоксилирование триптофана сопровождается образованием триптамина, также обладающего сосудосуживающим действием.

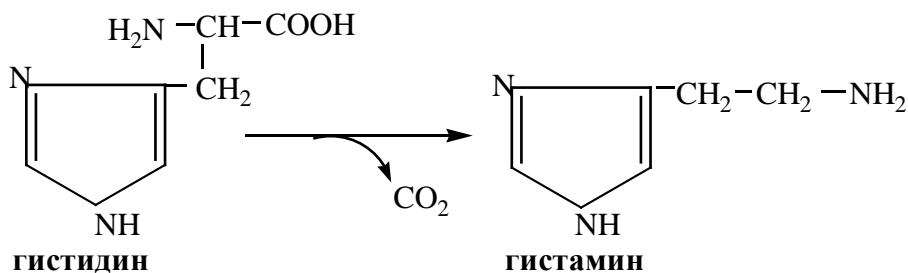


При декарбоксилировании производного триптофана – 5- гидрокситриптофана образуется 5- гидрокситриптамин или серотонин.



Серотонин преимущественно образуется в нервной ткани и кишечнике. Обладает сильным сосудосуживающим действием, является нервным медиатором, поддерживает нормальную психическую деятельность, участвует в центральной регуляции артериального давления, температуры тела, дыхания, в почечной фильтрации, способствует развитию аллергической реакции, токсикоза беременности.

Декарбоксилирование гистидина приводит к образованию гистамина.



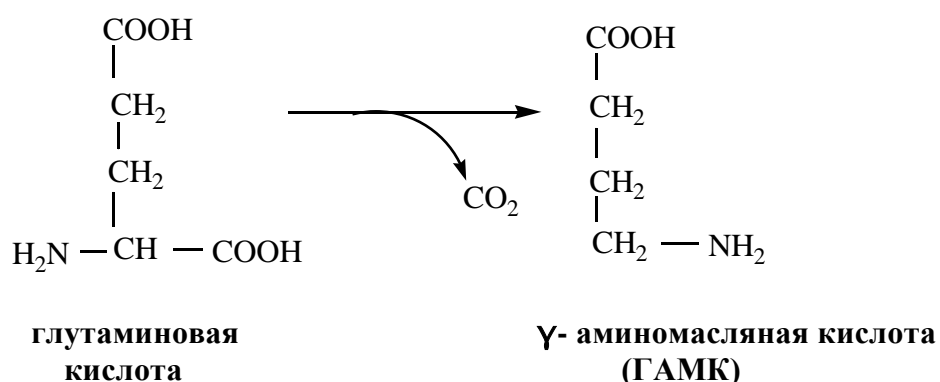
Декарбоксилирование гистидина гистидиндекарбоксилазой происходит главным образом в тучных клетках, которые имеются в соединительной ткани (практически во всех органах). Гистамин накапливается и хранится в этих клетках в соединении с белками в специальных секреторных гранулах и может освобождаться и выделяться в кровь при разнообразных механических воздействиях (травма, ожог, электрическое раздражение), действии эндогенных веществ.

Физиологическое действие гистамина на сосуды отличается от действия других биогенных аминов: он расширяет сосуды и поэтому

снижает кровяное давление. В большом количестве гистамин образуется в месте травмы, в очаге воспалительного процесса, вызывает расширение сосудов, повышает проницаемость капилляров, способствует выходу лейкоцитов, развитию воспалительной реакции. Является медиатором нервных процессов, медиатором боли. Укусы насекомых (комары, клопы, осы и др.) вызывают зуд, боль, отечность, что связано с выделением гистамина. Гистамин стимулирует секрецию желудочного сока и слюны (поэтому его используют в клинике при исследовании секреторной функции желудка - гистаминовый завтрак). Если слизистая желудка на введение гистамина не усиливает секрецию сока, то это свидетельствует о повреждении секреторных клеток - атрофическом гастрите. Гистамин сокращает гладкие мышцы легких, что проявляется приступом удушья. Гистамин способствует сенсibilизации организма и развитию аллергических реакций.

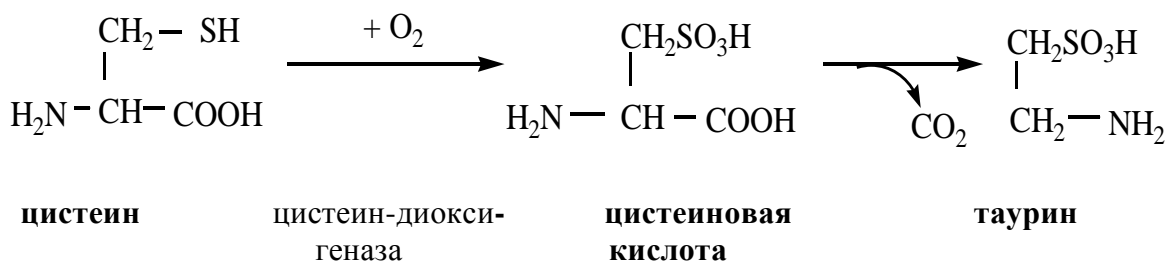
Обезвреживание гистамина происходит путем его метилирования с образованием 1-метилгистамина, который выводится с мочой.

При α -декарбоксилировании глутаминовой кислоты образуется γ -аминомасляная кислота.

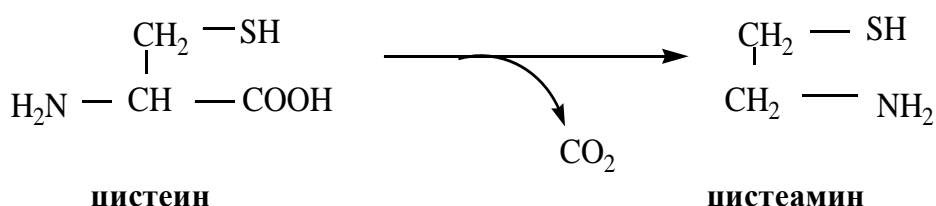


ГАМК в большом количестве содержится в сером веществе мозга, в то время как в белом веществе мозга и периферической нервной системе ее почти нет. Является тормозным фактором в нервных клетках. В опытах с изолированной петлей кишечника показано, что ГАМК вызывает прекращение перистальтики даже в присутствии ацетилхолина, стимулирующего перистальтику. Используется в клинике при лечении заболеваний центральной нервной системы, связанных с резким возбуждением коры головного мозга (эпилепсия).

Цистеин окисляется в цистеиновую кислоту, которая в тканях животных декарбоксилируется с большой скоростью с образованием таурина.

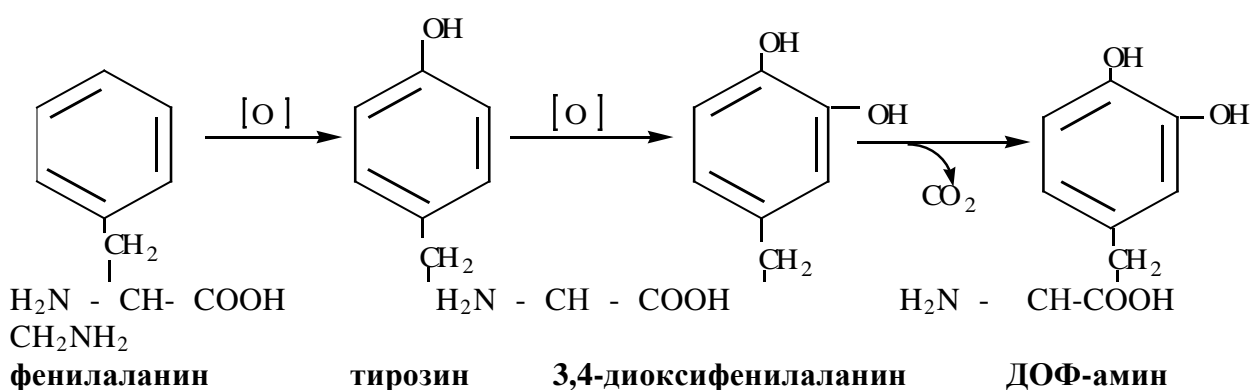


Таурин используется в реакциях конъюгации с желчными кислотами для увеличения их гидрофильности. Непосредственное декарбоксилирование цистеина, протекающее в организме с небольшой скоростью, сопровождается образованием цистеамина.



Цистеамин оказывает защитное действие при лучевой болезни, однако его действие является непродолжительным, поэтому были синтезированы его производные, аналоги, которые нашли применение в терапии лучевых поражений.

В животных тканях с большой скоростью протекает декарбоксилирование 3,4-диоксифенилаланина - производного фенилаланина. При этом образуется ДОФ-амин, оказывающий мощное сосудосуживающее действие. ДОФ-амин является промежуточным продуктом в синтезе катехоламинов норадреналина и адреналина.



Под действием декарбоксилаз из диаминокарбоновых кислот образуются диамины: из орнитина – путресцин, лизина – кадаверин.

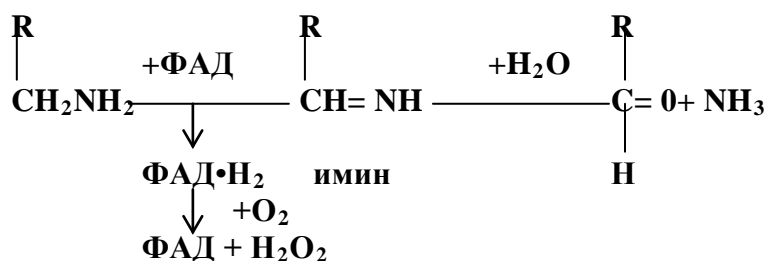


Путресцин является предшественником полиаминов – спермина и спермидина. Последние несут большой положительный заряд и легко ассоциируются с ДНК и РНК, стабилизируют структуру ДНК, стимулируют синтез ДНК и РНК, влияют на процессы пролиферации. В сутки в организме взрослого человека образуется около 0,5 ммоль спермина. Фармакологические дозы полиаминов вызывают понижение температуры и артериального давления. Кроме этого они способны ингибировать ферменты.

Таким образом, биогенные амины, являясь сильными фармакологически активными веществами, влияют на различные функции организма. Знание их физиологического действия, механизмов их образования и обезвреживания является важным для врачей, так как их накопление может привести к ряду серьезных нарушений.

Обезвреживание аминов происходит под действием ферментов **моноаминоксидаз (МАО)** и **диаминоксидаз (ДАО)**. Это сложные ферменты, локализованы в митохондриях. Простетическая группа **МАО – ФАД**, **ДАО – пиридоксальфосфат и медь**.

Амины подвергаются окислительному дезаминированию:



Образовавшиеся альдегиды далее окисляются в жирные кислоты, которые окисляются до конечных продуктов.

В клинике широко используются антигистаминные препараты: димедрол, пипольфен, тавегил, супрастин, бикарфен, диазолин, кетотифен, зиртек, гисманал, терфенадин.

Также используются фармпрепараты, ингибирующие моноаминоксидазы: ипрониазид, ниаламид, пиразидол, сиднофен, индопан, гармин, паргилин. Все они активные антидепрессанты и используются для лечения депрессивных состояний.

Лекция 26

ПРЕВРАЩЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ ПО РАДИКАЛУ. ОБМЕН СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ

Основными путями превращения аминокислот являются три направления:

1. По аминогруппе (дезаминирование и переаминирование).
2. По COOH-группе (декарбоксилирование).
3. По радикалу.

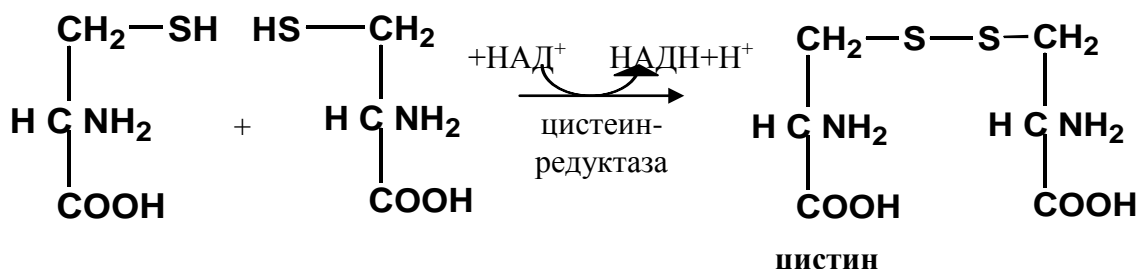
Первые два направления являются общими путями для всех аминокислот. Превращения по радикалу индивидуальны для определенных аминокислот, но имеют важное значение, так как образующиеся при этом метаболиты могут определять физиологическое состояние организма и обуславливать развитие патологических процессов при их нарушении.

Превращения по радикалу могут происходить путем:

1. Окислительно-восстановительных реакций:
 - дегидрирования;
 - окисления путем включения кислорода;
 - гидроксирования (превращения фенилаланина и тирозина).
2. Метилирования и трансметилирования.

1. **Окислительно-восстановительные** превращения аминокислот.

Путем **дегидрирования** происходит окисление **цистеина**. Цистеин - серосодержащая аминокислота. В молекулы белков входят три аминокислоты, содержащие серу: цистеин, цистин, метионин. Цистеин содержит высокореактивную SH-группу. При взаимодействии двух молекул (или остатков) цистеина образуется цистин, в котором остатки аминокислот связаны дисульфидной связью.



Дисульфидная связь между остатками цистеина образуется в одной полипептидной цепи или между соседними полипептидными цепями, что имеет важное значение в формировании и стабилизации третичной и четвертичной структур белковой молекулы.

Многие ферменты в активном центре содержат SH-группы ци-

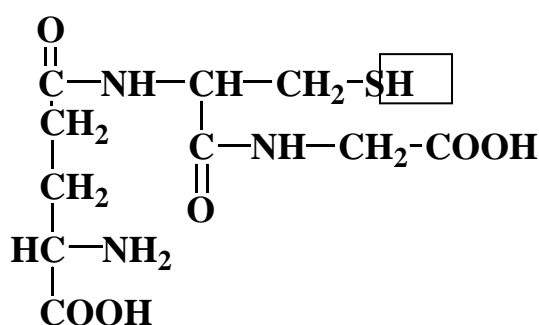
стеина, абсолютно необходимые для течения реакций. Окисление этих групп приводит к инактивации ферментов.

Свободный цистин в клетках имеется либо в незначительном количестве, либо вообще отсутствует.

Остаток цистеина входит в состав трипептида *глутатиона*.

При окислении его SH-группы образуется окисленная форма глутатиона $\text{Gl-SH} + \text{Gl-SH} \xrightarrow{-2\text{H}} \text{Gl-S-S-Gl}$, которая может восстанавливаться глутатионредуктазой.

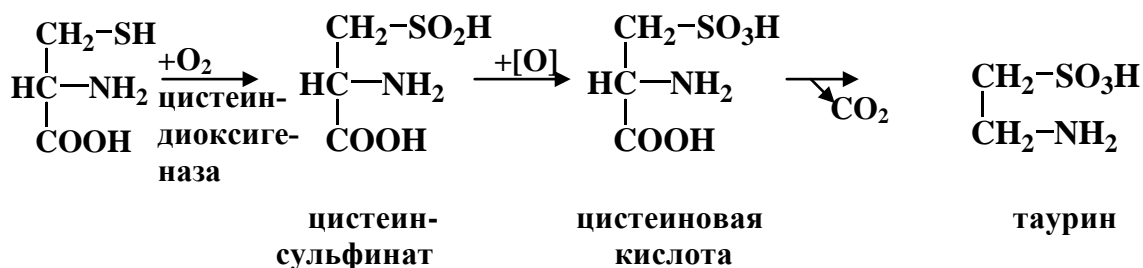
Глутатион играет важную роль в транспорте аминокислот через клеточные мембраны, в создании окислительно-восстановительного потенциала в клетке, поддерживающего в восстановленной форме SH-группы белков, ферментов. Глутатион является коферментом глутатионпероксидазы, осуществляющей обезвреживание пероксида и органических перекисей, образующихся при свободнорадикальном окислении органических молекул. Глутатион является коферментом глутатионинсулинтрансгидрогеназы, осуществляющей инактивацию инсулина путем восстановления дисульфидных связей, соединяющих полипептидные цепи молекулы инсулина.



глутатион

Путем конъюгации с глутатионом в цитозоле печени и почек происходит обезвреживание ароматических и алифатических ксенобиотиков, солей тяжелых металлов, ртути при участии фермента глутатион-S- алкилтрансферазы.

– **При окислении цистеина** (путем включения кислорода) образуется цистеиновая кислота, при декарбоксилировании которой возникает таурин.



Таурин участвует в образовании конъюгатов желчных кислот.

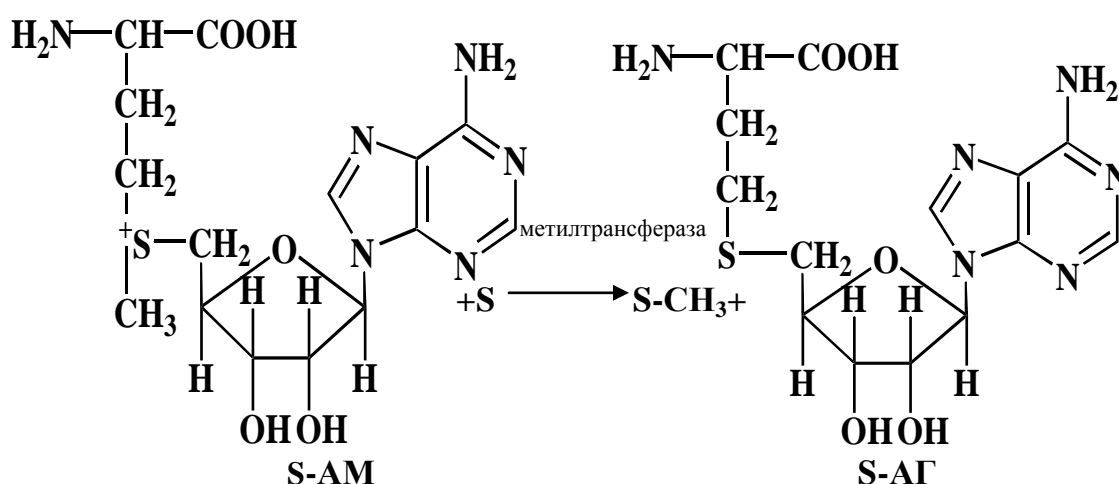
Окислительно-восстановительные реакции происходят с участием пиридинзависимых (с коферментом НАД или НАДФ) и флавиновых (с протетической группой ФМН или ФАД) ферментов.

Цистеинсульфиновая кислота, вступая в переаминирование с α -кетоглутаратом, превращается в β -сульфинилпируват, который далее распадается на пировиноградную кислоту и сульфит. Последний быстро окисляется сульфитооксидазой в тканях и выводится с мочой в виде нетоксичных сульфатов и эфирсерных кислот.

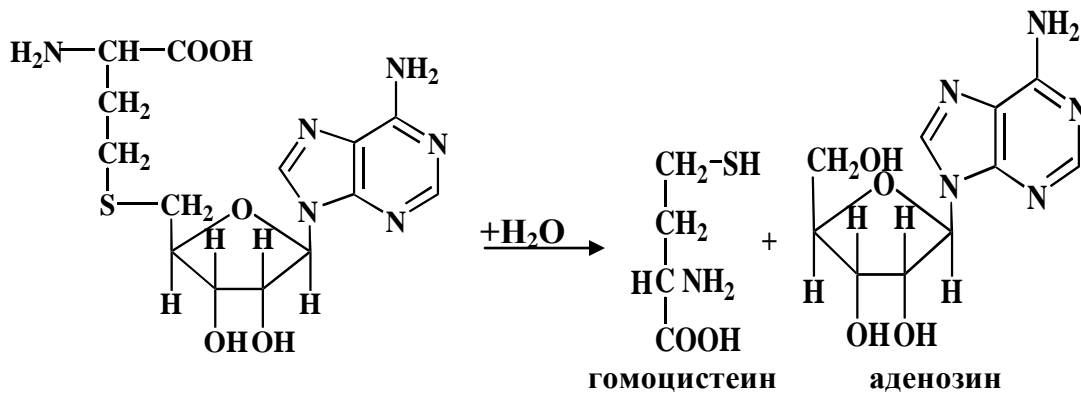
Неорганический сульфат и его эфиры являются главными продуктами метаболизма серы. На долю неорганического сульфата приходится около 80% всей серы в суточной моче. Остальная часть приходится на долю сульфатных эфиров различных метаболитов (стероидов, оксиароматических соединений, олигосахаридов и др.).

О важности окисления сульфита в сульфат в ходе нормального метаболизма человека свидетельствуют нарушения обмена у детей, в печени и почках которых отсутствует сульфитооксидаза. В их моче содержатся большие количества тиосульфата и сульфита, но практически отсутствует сульфат. Начиная с рождения, у этих детей проявляются выраженные неврологические нарушения, которые прогрессивно нарастают и в возрасте 9 месяцев завершаются гибелью. Можно полагать, что патологический эффект обусловлен накоплением сульфита и (или) продуктов его превращения.

Важной серосодержащей аминокислотой является метионин, который участвует в реакциях метилирования субстратов в активной форме - в виде S-аденозилметионина (S-AM). При этом S-аденозилметионин превращается в S-аденозилгомоцистеин (S-АГ).

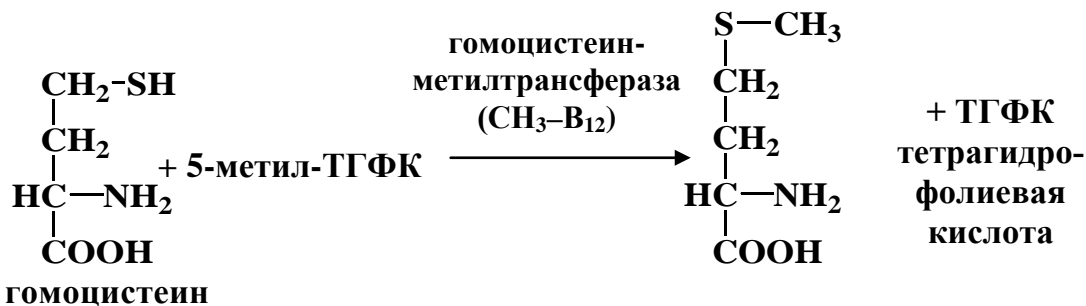
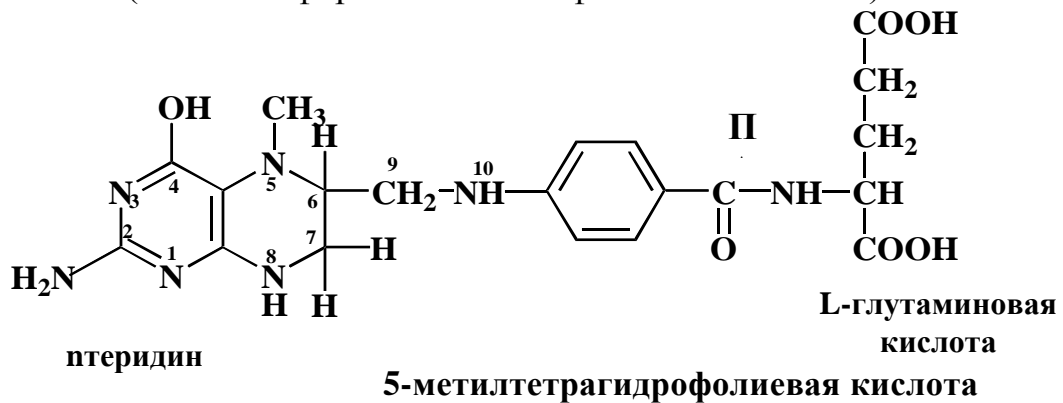


Образовавшийся S-аденозилгомоцистеин далее распадается на аденозин и гомоцистеин.



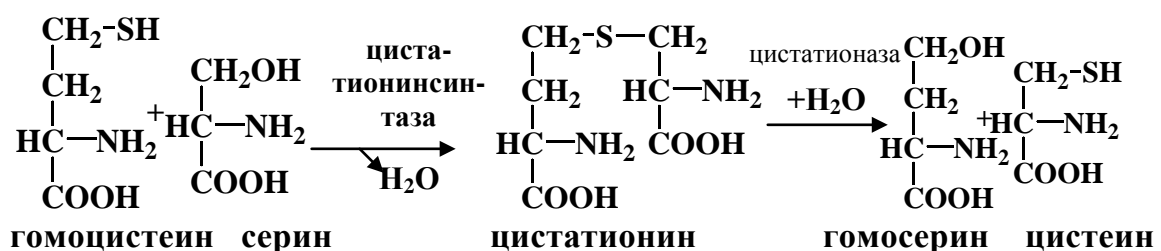
Гомоцистеин может:

1. **Вновь метилироваться** и превращаться в **метионин** под действием гомоцистеинметилтрансферазы. Коферментом фермента является **метилкобаламин**. Донором метильной группы является **5-метилТГФК** (активная форма витамина фолиевой кислоты).



5-метилТГФК превращается в тетрагидрофолиевую кислоту.

2. Однако **основным путем превращения гомоцистеина** является **взаимодействие с серином**, в результате чего образуется **цистеин**.



Таким образом, источником серы для цистеина может служить только незаменимая аминокислота метионин. Если организм получает достаточное количество метионина, то не возникает дополнительной потребности в цистеине.

При наследственных дефектах генов, отвечающих за синтез ферментов, участвующих в обмене метионина, гомоцистеина, цистина, возникают заболевания, проявляющиеся нарушением метаболизма этих аминокислот.

Известны три наследственных нарушения метаболизма цистина: цистинурия, цистатионинурия и гомоцистинурия. Цистинурия характеризуется высокой экскрецией с мочой цистина в результате дефекта транспортной системы почек - его недостаточной канальцевой реабсорции.

Цистатионинурия наблюдается при дефиците витамина В₆, так как цистатионинсинтаза, катализирующая синтез цистатионина, и цистатионаза, катализирующая его распад, содержат пиридоксальфосфат. Цистатионинурия может быть также при недостаточности фермента N⁵ - метилтетрагидрофолат-гомоцистеин-метилтрансферазы. Возникающий при этом избыток гомоцистеина приводит к накоплению цистатионина.

Гомоцистинурия наблюдается при дефекте гена цистатионинсинтазы. Неиспользованный в ходе метаболизма гомоцистеин экскретируется с мочой в виде гомоцистина, образующегося из гомоцистеина. В тканях имеется высокая концентрация метионина и гомоцистеина. Нарушается умственное развитие и развитие скелета.

Дефект метилтетрагидрофолатредуктазы также приводит к гомоцистинурии в результате повышения концентрации гомоцистеина и его выделения с мочой в виде гомоцистина при нормальном содержании метионина. Сопровождается нарушением умственного развития.

Лекция 27

МЕТИЛИРОВАНИЕ И ТРАНСМЕТИЛИРОВАНИЕ

Метилирование – введение метильной группы в молекулу субстрата.

Назначение метилирования:

1. Образование низкомолекулярных соединений – холина, адреналина, креатина, тимидиловых нуклеотидов.
2. Инактивация биологически активных веществ – катехоламинов, гормонов.

3. Обезвреживание ксенобиотиков.

4. Созревание ДНК, всех видов РНК. В печени есть фермент полинуклеотидметилтрансфераза, она метилирует основания, входящие в состав нуклеиновых кислот. Метилированные основания (5-метилурацил, 6-метиладенин): 1) служат маркерами специфических участков полинуклеотидных цепей и 2) защищают ДНК от воздействия ферментов, образующихся при попадании в клетку вирусов.

5. Возможно, при некоторых формах шизофрении повышено метилирование дофамина и серотонина (метионин может вызвать у хронических шизофреников острые психотические реакции).

Несмотря на все усилия, которые предпринимались исследователями в течение многих десятилетий, успехи в биологическом изучении шизофрении невелики. Анализировать данные трудно, потому что отсутствуют качественные или количественные критерии, по которым можно диагностировать шизофрению; более того, диагностические стандарты часто различаются у разных психиатров и в разных странах.

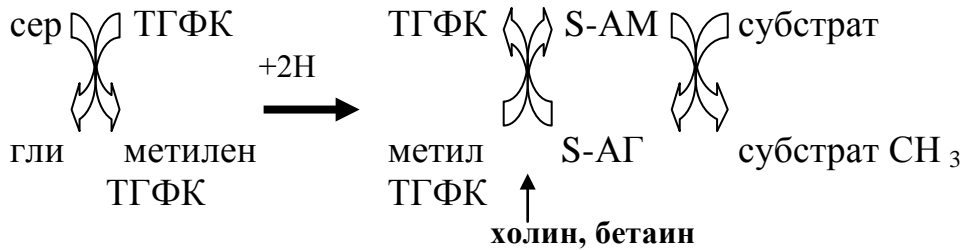
Существует гипотеза о предрасположенности к стрессу. Стрессовые ситуации, которые преодолеваются большинством людей или приводят у них к “невротическим” симптомам, у людей, предрасположенных генетически, могут вызвать шизофренический психоз. Вопрос состоит в том, какие генетически определяемые физиологические изменения увеличивают риск заболевания шизофренией? Имеющиеся в настоящее время гипотезы сконцентрированы на аномалиях в метаболизме нейромедиаторов. Например, метионин может вызвать у хронических шизофреников острые психотические реакции. Возможно, что у некоторых больных шизофренией патологически повышено метилирование дофамина и метионин усиливает эту патологию, являясь источником метильных групп. Другими возможными кандидатами на роль эндогенных психотоксинов являются метилированные производные серотонина.

Трансметилирование – это транспорт метильной группы от источника метильных групп к субстрату метилирования с помощью доноров или переносчиков метильных групп.

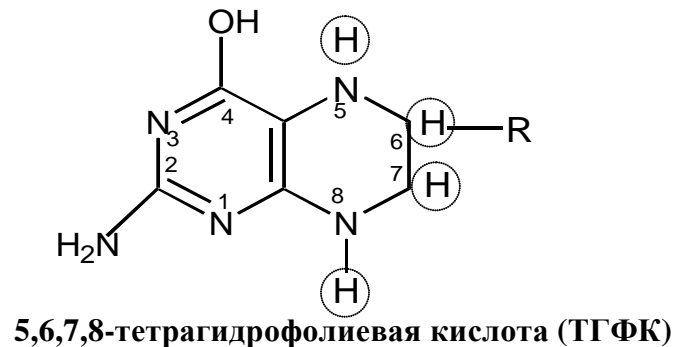
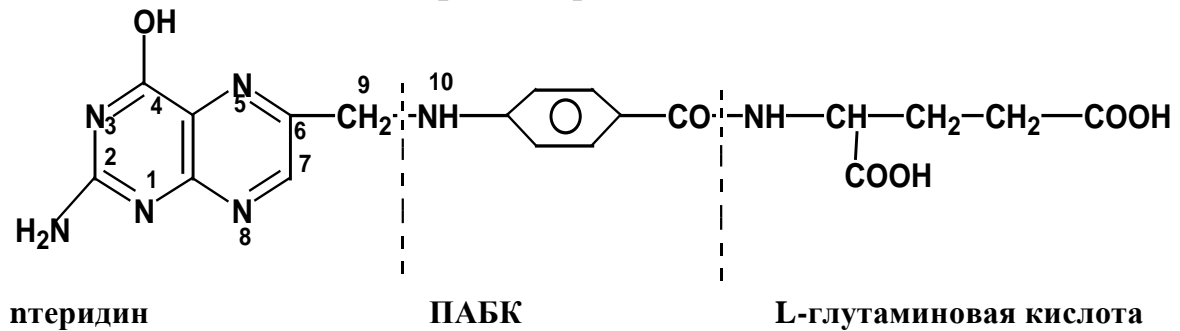
Источниками метильных групп служат серин, холин, бетаин.

Переносчиками или донорами метильных групп для субстратов служат активная форма фолиевой кислоты – тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК) и активная форма метионина – S-аденозилметионин (S-AM).

Схема трансметилирования

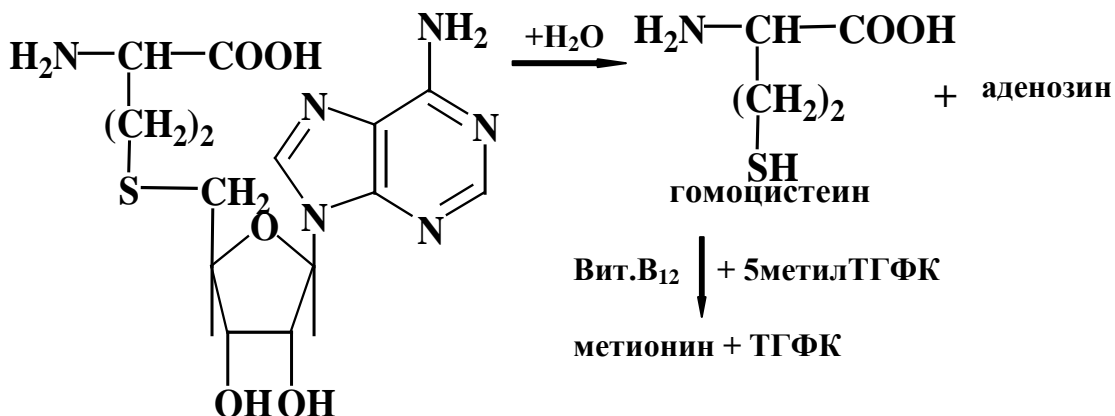
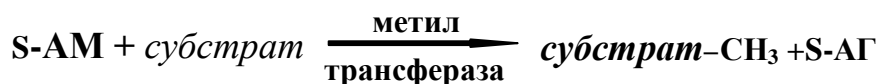
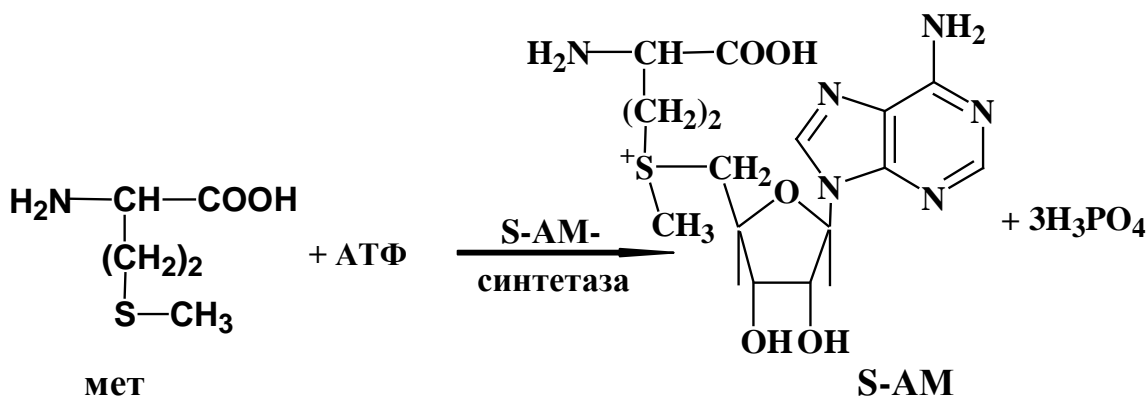
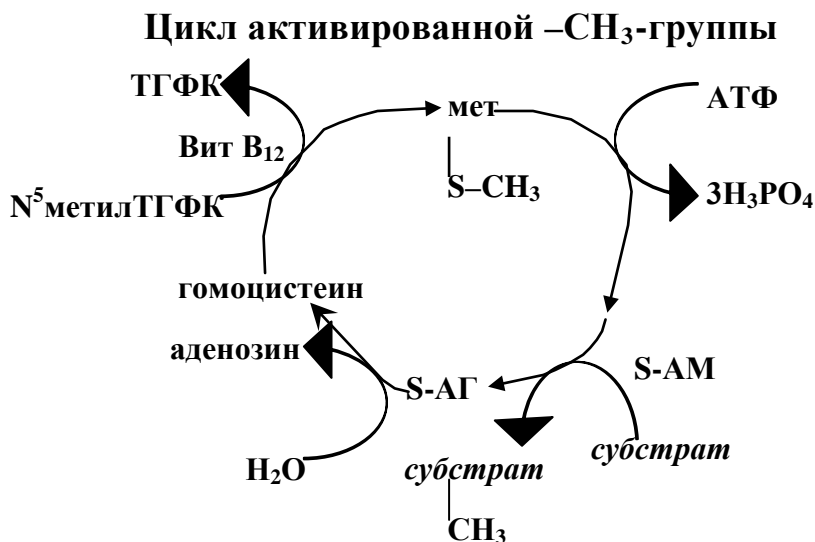


Строение фолиевой кислоты



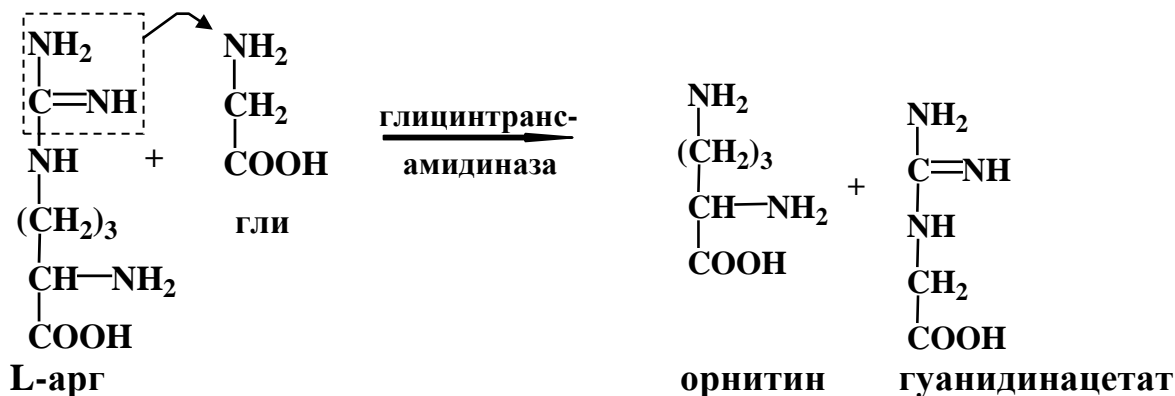
Метильная группа переносится в 5-ом положении – 5-метил ТГФК, но ТГФК может переносить и другие одноуглеродные фрагменты: $N^5 N^{10}$ метилен ТГФК ($-\text{CH}_2-$); $N^5 N^{10}$ метенил ТГФК ($-\text{CH}=\text{}$) и др.

В большинстве процессов биосинтеза донором метильной группы служит S-AM. Метильная группа S-AM активируется под действием положительного заряда соседнего атома серы, поэтому ее реакционная способность значительно выше, чем у 5-метил ТГФК. В результате S-AM является универсальным донором метильных групп для самых разнообразных субстратов метилирования. Получает метильную группу S-AM от небольшого числа молекул – главным образом, от 5-метил ТГФК, реже – от холина и бетаина.

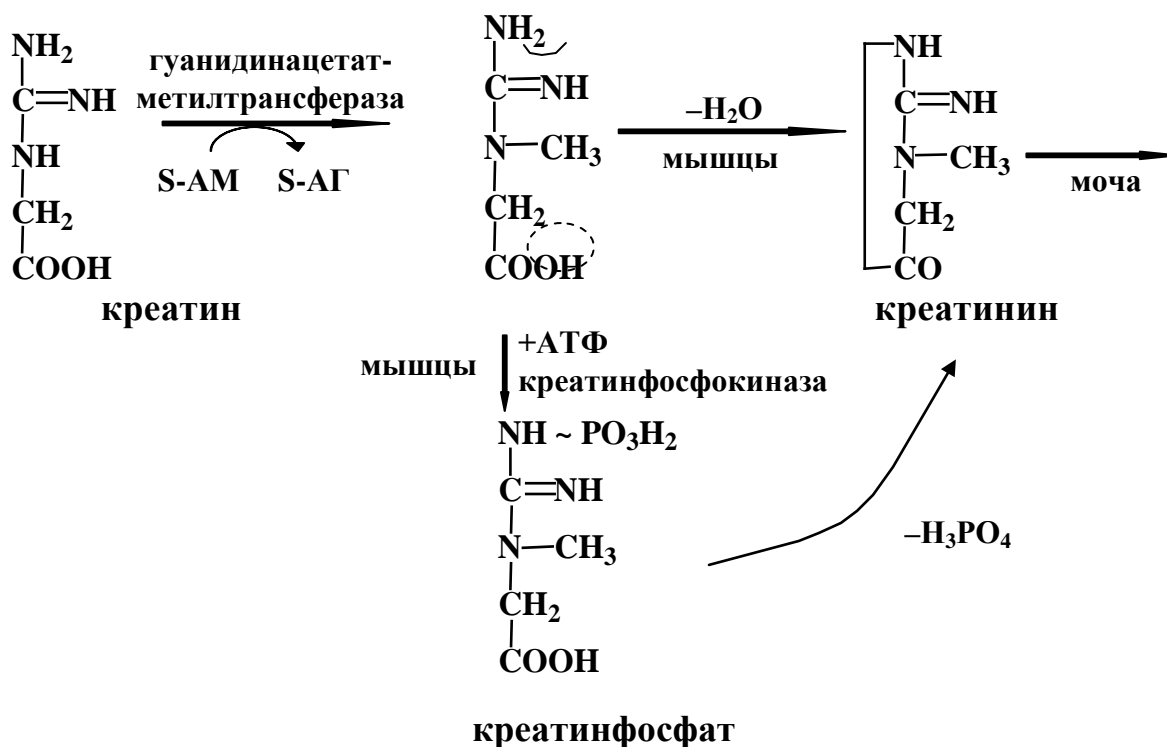


Примеры реакций метилирования

- Синтез креатина идет в 2 стадии.
- В почках и поджелудочной железе образуется гуанидинацетат.



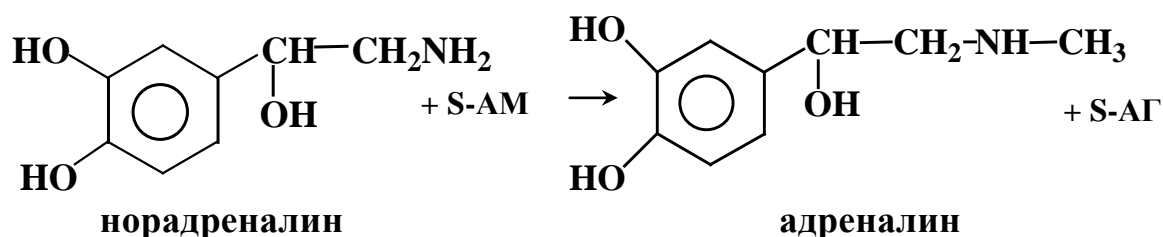
2) В печени происходит метилирование гуанидинацетата и образование креатина.



Креатин из печени разносится кровью к другим органам. В мышцах, особенно в сердце, он участвует в переносе энергии путем обратимого перефосфорилирования с АТФ с образованием макроэргического соединения – креатинфосфата (субстратное фосфорилирование). Здесь же происходит необратимое образование креатинина, который выводится с мочой (у взрослого в норме с мочой выделяется 4,4-17,6 ммоль/сутки креатинина). Креатин выделяется с мочой в норме только у детей.

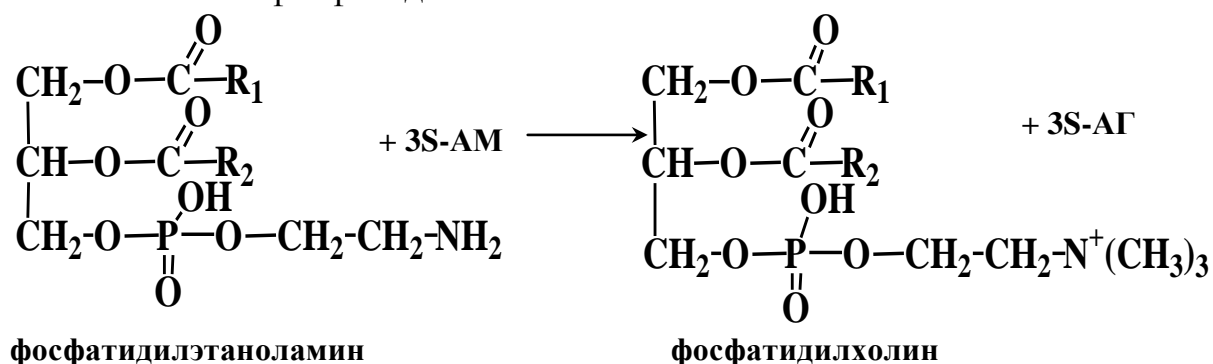
При уменьшении массы мышц вследствие длительного отрицательного азотистого баланса, при состояниях, ведущих к атрофии мышц, выделение креатинина снижается (голодание, диабет, гипертиреоз и др.).

2. Синтез адреналина – происходит в мозговом веществе надпочечников в результате метилирования норадреналина.



Инактивация катехоламинов происходит двумя путями – дезаминированием с участием MAO и метилированием с участием катехол-О-метилтрансферазы.

3. Синтез фосфатидилхолина.



Фосфатидилхолин необходим для построения мембран, в печени – для образования липопротеинов очень низкой плотности и липопротеинов высокой плотности. При дефиците фосфатидилхолина в печени накапливаются нейтральные жиры и развивается жировой гепатоз.

Лекция 28

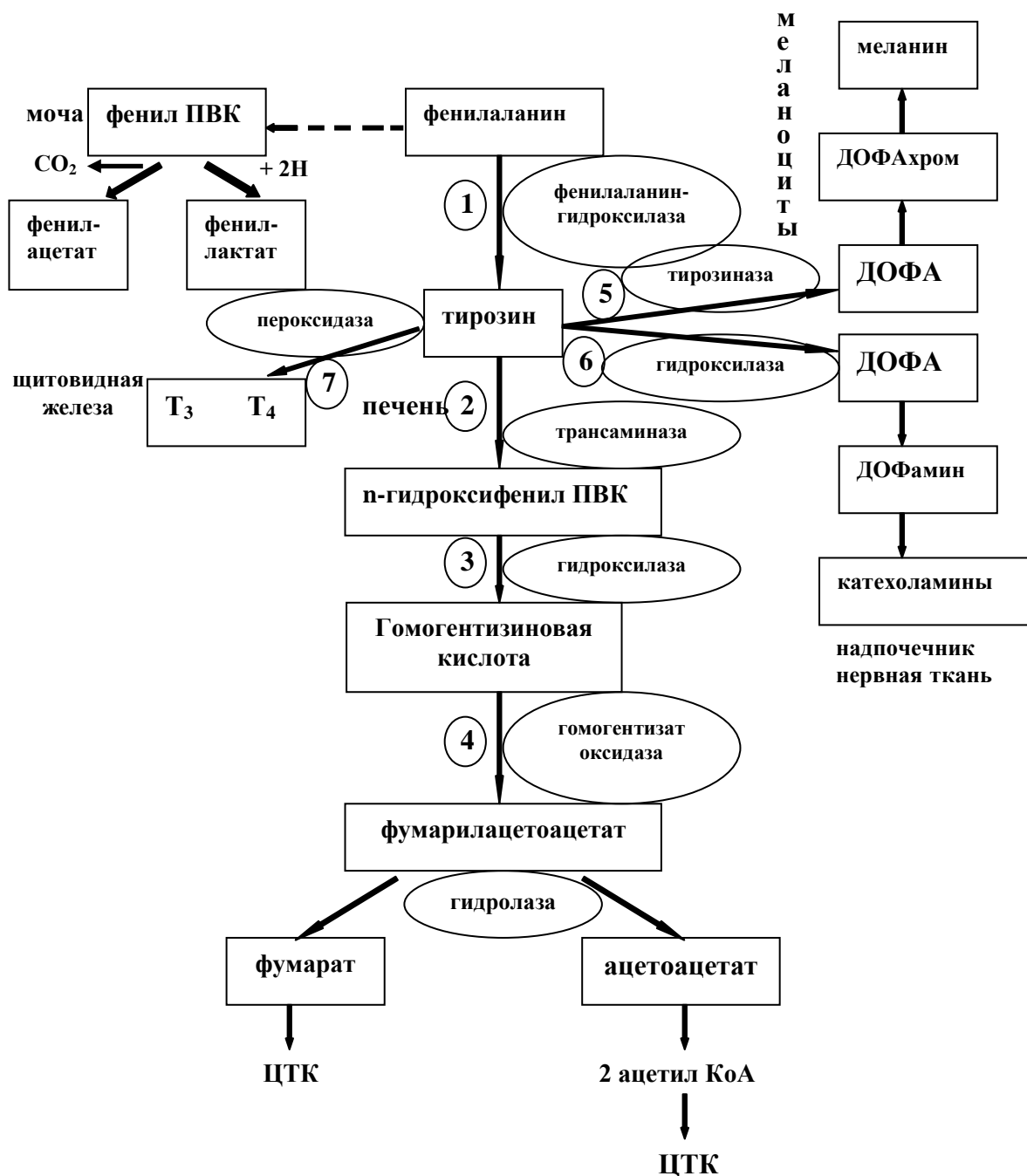
ОБМЕН ФЕНИЛАЛАНИНА И ТИРОЗИНА

1. Обмен фенилаланина и тирозина в норме

Фенилаланин – незаменимая аминокислота, у здоровых людей почти весь фенилаланин, который не был использован для синтеза белка, превращается в печени в тирозин. **Очень незначительная часть** фенилаланина трансаминируется с образованием фенилпиру-виноградной кислоты.

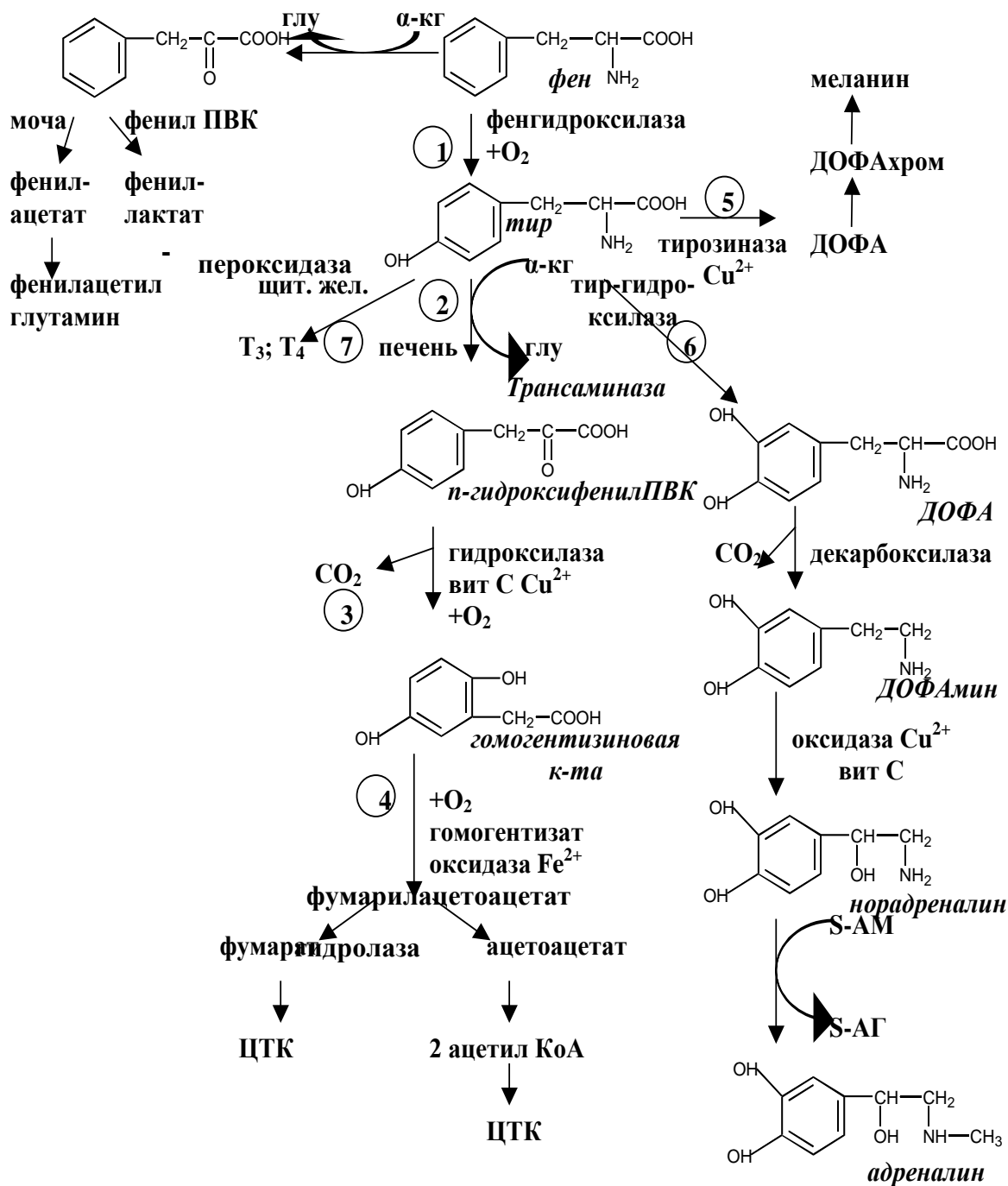
Тирозин – заменимая аминокислота, она используется для синтеза белка, для образования гормонов щитовидной железы, катехоламинов, меланина, оставшийся тирозин подвергается трансаминированию дальнейшему распаду до конечных продуктов.

Схема обмена фенилаланина и тирозина (А)



Цифрами 1-7 показаны возможные нарушения обмена.

Схема обмена фенилаланина и тирозина (Б)



Цифрами 1-7 показаны возможные нарушения обмена.

2. Нарушения обмена фенилаланина и тирозина

Возможные нарушения обмена показаны на схеме обмена фенилаланина и тирозина цифрами 1-7.

1. При отсутствии или недостатке **фенилаланингидроксилазы**

(коферментом фенилаланингидроксилазы служит тетрагидробиоптерин – ТГБП) развивается фенилкетонурия или фенилпировиноградная олигофрения. Это наследственное заболевание развивается с частотой 1 случай на 10 тыс. новорожденных (в Беларуси – 1:6 тыс. новорожденных). Фенилаланин не может превратиться в тирозин и накапливается в крови. Основная масса фенилаланина трансаминируется с образованием фенилпирувата, который выделяется с мочой – **фенилкетонурия**. С мочой также выводятся фениллактат, фенилацетат, фенилацетилглутамин, которые придают моче “запах мышей”.

В результате нарушения превращения фенилаланина в тирозин образуется дефицит тирозина (он становится незаменимой аминокислотой), дефицит катехоламинов, гормонов щитовидной железы, меланина. 80% больных – блондины со светлой кожей и голубыми глазами. Тяжелые проявления фенилкетонурии связаны с токсическим действием на клетки мозга высоких концентраций фенилаланина, фенилпирувата и фениллактата. Большие концентрации фенилаланина ограничивают транспорт тирозина и триптофана через гематоэнцефалический барьер и тормозят синтез нейромедиаторов. Чувствительность нервной системы к токсическому влиянию продуктов обмена фенилаланина, к дефициту гормонов и медиаторов наиболее высока в раннем возрасте в период созревания мозга, поэтому развивается **фенилпировиноградная олигофрения**, отставание в психическом и физическом развитии.

Известны 2 формы фенилкетонурии:

Классическая – наследственное заболевание, связанное с мутациями в гене фенилаланингидроксилазы. Наиболее тяжелые проявления – нарушение умственного и физического развития, судорожный синдром.

Вариантная (коферментзависимая гиперфенилаланинемия) – следствие мутаций в генах, контролирующих метаболизм **тетрагидробиоптерина**. Клинические проявления близки, но не во всем совпадают с классической формой.

Тетрагидробиоптерин необходим для реакций гидроксилирования не только фенилаланина, но и тирозина и триптофана, поэтому при недостатке этого кофермента нарушается метаболизм всех 3 аминокислот, в том числе синтез нейромедиаторов — катехоламинов и серотонина. Заболевание характеризуется тяжелыми неврологическими нарушениями и ранней смертью («злокачественная» фенилкетонурия).

Ранняя диагностика фенилкетонурии осуществляется по программе массового скрининга, основанной на применении **теста Гатри**. Это микробиологический тест, при котором диск фильтровальной бумаги, содержащий кровь из пятки новорожденного, помещают на чашку с посеянными микроорганизмами *Bacillus Subtilis*, нуждающимися для своего роста в фенилаланине, источником которого является обра-

зец крови. Рост микроорганизмов определяется как положительный тест, указывающий на необходимость определения концентрации фенилаланина в крови. Однако более надежным для диагностики фенилкетонурии является определение количества фенилаланина в крови, взятой из прокола кожи на пятке между 6-10 днями жизни (накануне выписки из роддома). Концентрация фенилаланина в норме – 15 мг/л, при заболевании увеличивается до 600 мг/л.

Рекомендуемая некоторыми авторами для диагностики фенилкетонурии проба Фелинга (мочу новорожденных исследуют, добавляя в нее FeCl_3 , который в присутствии фенилпирувата дает оливково-зеленое окрашивание) дает положительный результат примерно через 6 недель после рождения, когда уже могут развиваться необратимые изменения головного мозга.

У недоношенных детей может быть повышенное содержание фенилаланина без фенилкетонурии вследствие замедленного созревания ферментных систем. Диф. диагноз – определение концентрации в крови тирозина – при фенилкетонурии она не повышена, а повышена при других состояниях.

Лечение фенилкетонурии состоит в специальной диете, при которой белок замещается смесью аминокислот с низким содержанием фенилаланина и достаточным содержанием тирозина. Ранее полагали, что пищевой контроль (безфенилаланиновая диета) необходим только в течение первых 10 лет жизни, однако современные данные говорят о необходимости пожизненного придерживания этой диеты.

В некоторых случаях даже раннее начало лечения не может предотвратить умственные нарушения, но в этих случаях тяжесть их существенно меньшая, чем в отсутствие лечения.

Пациенты с фенилкетонурией должны воздерживаться от употребления каких-либо продуктов, содержащих аспартам – очень распространенный искусственный заменитель сахара. Эта пищевая добавка расщепляется в ЖКТ до фенилаланина. Особенно важным является то, что все пищевые продукты, в том числе сладкие напитки, должны иметь указание на этикетке о содержании этого искусственного сахара.

Успех программы по фенилкетонурии породил новые проблемы, связанные с беременностью женщин, которые в детстве успешно лечились от фенилкетонурии и впоследствии не нуждались в диете. У таких беременных уровень фенилаланина повышен, что оказывает повреждающее действие на развивающийся плод. При этом возможны выкидыши, микроцефалия, пороки сердца и задержки внутриутробного развития. Восстановление ограниченной по фенилаланину диеты до начала беременности, должно предотвратить эти аномалии.

2. **Тирозинтрансминаза** печени – при ее недостаточности развивается тирозинемия (синдром Рихнера-Ханхерта). В крови и моче повышается содержание тирозина, клинически отмечается поражение глаз, кожи, умеренная умственная отсталость.

3. Для нормальной активности **п-оксифенилПВКгидроксилазы** необходим витамин С, больные цингой экскретируют с мочой неполностью окисленные продукты метаболизма тирозина. В ходе этой реакции происходит сочетанная миграция боковой цепи, декарбоксилирование и гидроксилирование кольца. При недостаточности этого фермента в крови повышается содержание тирозина и фенилаланина, в моче – п-гидроксифенилпирувата. При лечении назначают бедную белком диету. Клинически обнаруживаются хронические дегенеративные изменения в печени и почках.

4. **Гомогентизатоксидаза** – это диоксигеназа, расщепляющая ароматическое кольцо гомогентизата молекулой O_2 . При недостаточности этого фермента в печени и крови накапливается гомогентизиновая кислота. Она в больших количествах выводится с мочой. При стоянии мочи на воздухе гомогентизиновая кислота чернеет вследствие образования из нее темного пигмента – алкаптона, заболевание – **алкаптонурия**. Никаких других проявлений заболевания в раннем возрасте не наблюдается. Постепенное накопление гомогентизиновой кислоты в тканях, особенно в хрящах и ее окисление приводит с возрастом к общей пигментации или **охронозу** (охра – коричневая) – темный кончик носа, ушей. У пожилых людей это явление сопровождается характерными поражениями крупных сосудов и позвоночника, артритом.

Вот как описывает врач XVII в. проявления алкаптонурии:

Больной был мальчик, моча которого имела черный цвет и который в возрасте 14 лет был подвергнут сильнодействующему лечению, имевшему целью смягчить огненный жар его внутренностей, виновный, как полагали, в его болезни, обжигавший и придававший черный цвет его желчи. В числе предписанных мер были кровопускания, очищение желудка, ванны, холодная и жидкая пища и множество лекарств. Ни одна из этих мер не дала видимого эффекта, и в конце концов больной, уставший от бесполезного и чрезмерного лечения, решил дать вещам идти своим естественным ходом. Ни одно из злоеющих предсказаний не сбылось, он женился, стал родоначальником большой семьи, прожил долгую и благополучную жизнь, все время выделяя мочу черную, как чернила.

1649 г.

Частота заболевания – 2-5 случаев на 1 млн. новорожденных.

5. **Медьсодержащая тирозиназа** в клетках базального слоя эпидермиса, волосяных луковицах, в субстанции “нигра” мозга, в моз-

говом веществе надпочечников, в глазу производит окисление тирозина в ДОФА, который далее в меланобластах неферментативно образует пигмент меланин.

Потемнение кожи человека вызывается ультрафиолетовым облучением тирозина, приводящим к образованию ДОФА. Врожденное отсутствие тирозиназы приводит к **альбинизму**, который в зависимости от степени нарушения проявляется или уменьшением пигментации или ее полным отсутствием. Клинически: нарушение остроты зрения, психопатия, фотобоязнь. Частота заболевания 1:20000.

6. В клетках надпочечников, нейронах окисление тирозина через стадию ДОФА приводит к образованию **дофамина, норадреналина, адреналина**.

Нарушение синтеза катехоламинов может вызывать различные нервно-психические заболевания, причём патологические отклонения наблюдаются как при снижении, так и при увеличении их количества.

Болезнь Паркинсона

Заболевание развивается при недостаточности дофамина в чёрной субстанции мозга. Это одно из самых распространённых неврологических заболеваний (частота 1:200 среди людей старше 60 лет). При этой патологии снижена активность тирозингидроксилазы, ДОФА-декарбоксилазы. Заболевание сопровождается тремя основными симптомами: акинезия (скованность движений), ригидность (напряжение мышц), тремор (непроизвольное дрожание). Дофамин не проникает через гематоэнцефалический барьер и как лекарственный препарат не используется. Для лечения паркинсонизма предлагаются следующие принципы:

– **Заместительная терапия** препаратами-предшественниками дофамина (производными ДОФА) — леводопа, мадопар, наком и др.

– **Подавление инактивации дофамина** ингибиторами МАО (депренил, ниаламид, пиразидол и др.).

Депрессивные состояния часто связаны со снижением в нервных клетках содержания дофамина и норадреналина.

Гиперсекреция дофамина в височной доле мозга наблюдается при шизофрении.

7. В щитовидной железе из тирозина образуются гормоны Т₃ и Т₄. Тиреоидные гормоны синтезируются из тирозина в ходе ряда реакций, инициируемых **тиреоидпероксидазой**. При этом процессе неорганический йод окисляется в присутствии перекиси водорода, и затем йодид замещает атом водорода в тирозине. Дефицит тиреоидной пероксидазы – одна из причин **зоба и гипотиреоза**.

Лекция 29

СТРОЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. ОБМЕН НУКЛЕОТИДОВ

Нуклеопротеиды, строение, функции

Нуклеопротеидами называют сложные белки, небелковая часть которых представлена дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК) или рибонуклеиновой кислотой (РНК), а белковая часть – гистонами и негистоновыми белками, протаминами, и у некоторых вирусов альбуминами.

Функции нуклеиновых кислот:

1. Хранение генетической информации.
2. Участие в делении клеток.
3. Участие в биосинтезе белков.
4. Структурный компонент клеток.

Характеристика белковой части

Гистоны имеются только в эукариотических клетках. Их содержание в клетке достигает 60 млн. молекул каждого типа. Эта группа белков объединена одним общим свойством – наличием положительного заряда, который обусловлен высоким содержанием положительно заряженных аминокислот (20-30%). Молекулярная масса гистонов составляет 11000-21500Д. По процентному содержанию аминокислот аргинина, лизина и серина, все гистоны делятся на основные 5 классов:

- Н1 – богаты лизином.
- Н2а и Н2b – содержат немного меньше лизина чем Н₁.
- **Н3 и Н4 – богаты аргинином.**
- Н5 – часто встречается в клетках с низкой транскрипционной активностью. Он отличается от других гистонов более значительным положительным зарядом.

Положительно заряженные аминокислоты сгруппированы обычно у N-конца молекулы гистона (Н2а, Н2b, Н3, Н4), а иногда у С-конца (Н1). Таким образом, в молекулах гистонов разделены поликатионные области и области, обладающие отрицательным зарядом. Благодаря этому гистоны способны взаимодействовать между собой и с молекулой ДНК (образование комплексов между поликатионными и полианионными областями молекул).

Отличительной чертой Н2а, Н2b, Н3 и Н4 гистонов является высокий консерватизм их строения. Например, гистоны Н4 из проростков гороха отличаются от аналогичного гистона из тимуса крупного рога-

того скота всего двумя аминокислотами.

Протамины встречаются только в сперматозоидах некоторых животных (в том числе и млекопитающих). Они заменяют гистоны в процессе созревания сперматозоида. Эти белки, в большей степени, чем гистоны, обогащены положительно заряженными аминокислотами (pI при pH около 12). Содержание азота аргинина составляет 90% от общего азота белка. Протамины обладают сравнительно небольшой молекулярной массой – примерно 4500 Да. Являясь сильными поликатионами, образуют прочный неактивный комплекс с ДНК, сохраняя ее в наиболее компактном состоянии. Эти белки обладают, так же как и гистоны, высокой консервативностью, что свидетельствует о важности их для организма. Однако, причина их отсутствия в сперматозоидах многих животных неизвестна.

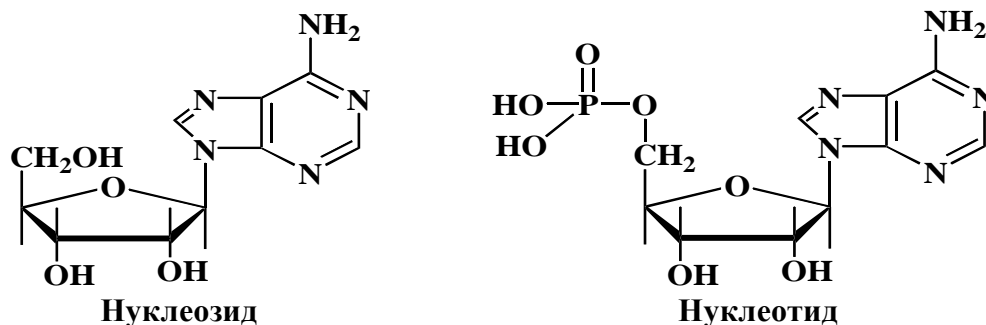
Негистоновые белки – это многочисленная группа белков, сильно отличающихся друг от друга. Трудно выделить какое-либо общее свойство этих белков, кроме их кислых свойств. Общее число этих белков превышает 450. Их молекулярная масса колеблется от 5000 до 200 000 Да, pI – от 3 до 10. Изучены и охарактеризованы лишь немногие из этих белков. Предполагают, что они участвуют в регуляции деятельности генома.

Характеристика нуклеиновых кислот

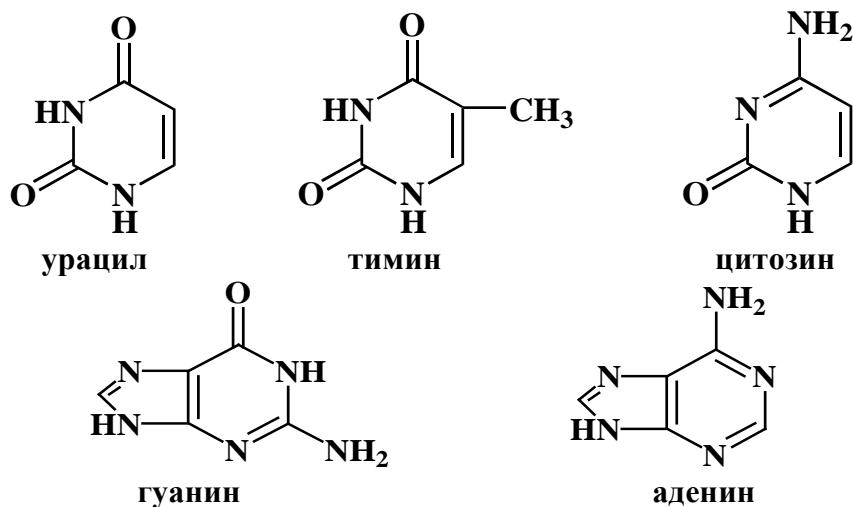
1. Мононуклеотиды – структурные мономеры нуклеиновых кислот. Составные компоненты мононуклеотидов

В организме существует 2 типа нуклеиновых кислот – это ДНК и РНК. ДНК, являясь основным носителем генетической информации, локализуется в ядре клетки, и около 0,1% обнаруживается в митохондриях. РНК является посредником в переносе генетической информации от ДНК на белок и обнаруживается в ядре, цитоплазме, рибосомах и митохондриях. Нуклеиновые кислоты построены из мономерных звеньев – нуклеотидов. **Нуклеотид** состоит из нуклеозиды и одного или нескольких остатков фосфорной кислоты.

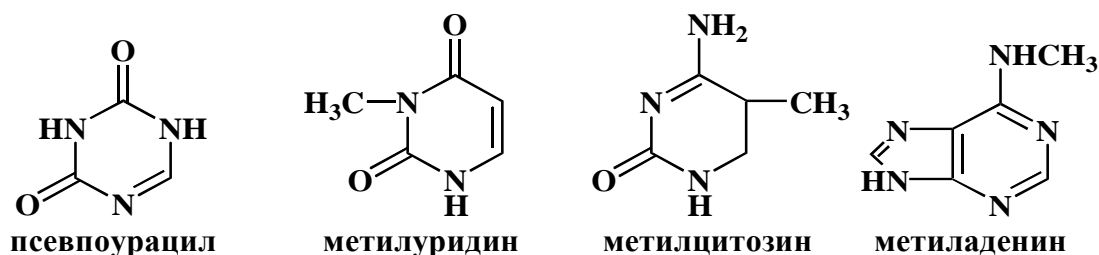
Нуклеозид – сформирован из азотистого основания и молекулы пентозы.



В состав нуклеиновых кислот входят 2 пуриновых основания (аденин и гуанин) и 3 пиримидиновых (тимин, урацил и цитозин):



Кроме указанных, в составе нуклеиновых кислот встречаются минорные (редко встречающиеся) азотистые основания. Особенно богаты минорными азотистыми основаниями тРНК. К минорным основаниям можно отнести *псевдоурацил, метилуридин, метилцитозин, метиладенин*:



Приведенные минорные основания не являются единственными, встречаются и другие.

Номенклатура:

Азотистое основание

Аденин (А)
 Цитозин (Ц)
 Гуанин (Г)
 Урацил (У)
 Тимин (Т)

Нуклеозид

Аденозин (дезоксид...)
 Цитидин (дезоксид...)
 Гуанозин (дезоксид...)
 Уридин
 Тимидин

Нуклеотид

Аденилат (дезоксид...)
 Цитидилат (дезоксид...)
 Гуанилат (дезоксид...)
 Уридилат (дезоксид...)
 Тимидилат

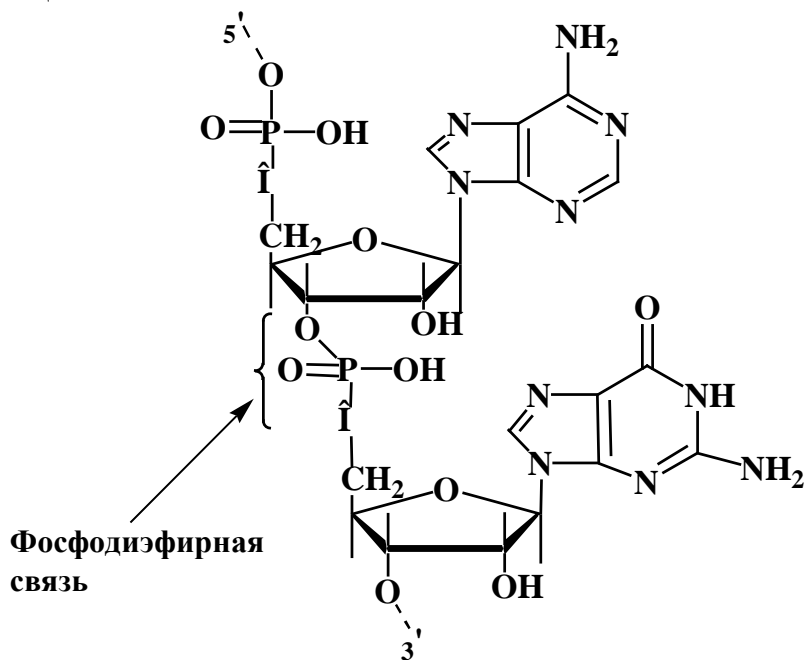
2. ДНК и РНК. Структурная организация молекул

2.1. Нуклеотидный состав и структура ДНК

Первичная структура:

Полинуклеотидная цепь со строго определенной последовательностью нуклеотидов в ней называется первичной структурой.

РНК и ДНК построены из связанных ковалентно рибонуклеотидных (РНК) или дезоксирибонуклеотидных (ДНК) звеньев. Нуклеотиды соединены друг с другом фосфодиэфирной связью между 5'-гидроксильной группой одного нуклеотида и 3'-гидроксильной группой следующего.



В молекуле нуклеиновой кислоты выделяют 5' и 3'-концы. 5'-конец имеет нуклеотид со свободным гидроксильной группой у 5 атома углерода пентозы. 3'-конец имеет нуклеотид со свободным гидроксильной группой у 3 атома пентозы. Последовательность оснований в составе нуклеиновой кислоты читается в направлении от 5' к 3'-концу. О первом и последнем нуклеотиде говорят, что они находятся на 5' и 3' концах соответственно. Для схематического обозначения последовательности нуклеотидов пишут символ нуклеотида, начиная с 5'-конца, например АГТ... Иногда добавляется символ р или д (рибоза или дезоксирибоза) дТдЦдА... или символы минорных оснований.

Правила Чаргаффа.

Чаргаффом был установлен ряд закономерностей соотношения нуклеотидов в нуклеиновых кислотах.

1. Количество пуриновых оснований равно количеству пиримидиновых, т.е. $A+G=T+C$ и отношение $A+G/T+C=1$.

2. Количество аденина равно количеству тимина $A=T$, а количество гуанина равно количеству цитозина $G=C$ и отношения $A/T=1$, $G/C=1$.

3. Количество оснований, содержащих аминогруппу в 4-ом положении пиримидинового кольца и 6-ом положении пуринового коль-

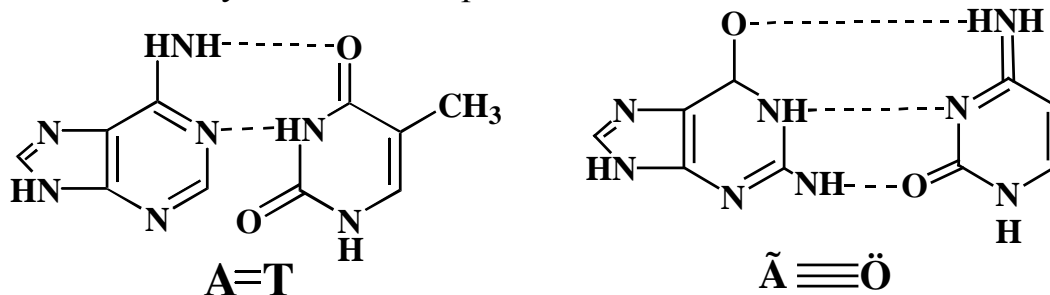
ца, равно количеству оснований, содержащих в этих же положениях кето-группу.

Опираясь на правила Чаргаффа и рентгеноструктурные исследования, проведенные Франклином и Уилкинсоном, Уотсон и Крик в 1953 г. создали модель строения вторичной структуры ДНК.

Вторичная структура:

Вторичной структурой ДНК называют пространственную организацию полинуклеотидных цепей в ее молекуле.

Вторичная структура может существовать в различных конформационных формах. В настоящее время известно 6 форм: А, В, С, Д, Е и Z. При физиологических условиях преобладающим типом ДНК является В-форма. Она представляет собой 2 антипараллельные полинуклеотидные цепи, образующие *правую спираль* вокруг одной общей оси. Обе цепи удерживаются между собой водородными связями, возникающими между комплементарными азотистыми основаниями:



Сахарно-фосфатные остатки обеих цепей обращены наружу и образуют остов спирали. За счет остатка фосфорной кислоты они имеют отрицательный заряд. Азотистые основания ориентированы внутрь спирали и располагаются параллельно друг другу в виде «монетных столбиков». Гидрофобные взаимодействия между азотистыми основаниями (стекинг-взаимодействие) удерживают структуру двойной спирали. Таким образом, стабилизация вторичной структуры ДНК обеспечивается: 1) водородными связями, 2) гидрофобным взаимодействием.

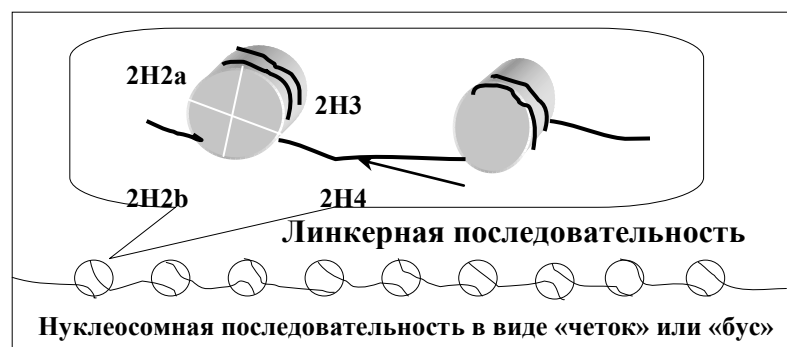
На один шаг спирали приходится примерно 10 пар оснований. Шаг спирали равен 3,4 нм (10×0,34=3,4). Диаметр двойной спирали равен примерно 2 нм. Спираль имеет «большой» и «малый» желобки. Они отграничиваются отрицательно заряженными остатками фосфорной кислоты.

Третичная структура ДНК. Компактизация ДНК, хромосомы.

Третичной структурой ДНК называют пространственное расположение полинуклеотидных цепей в их взаимосвязи с гистоновыми белками.

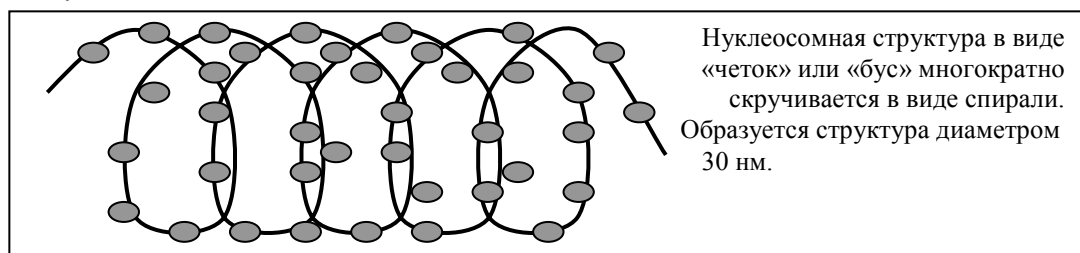
Если всю ДНК, содержащуюся в ядре клетки, вытянуть в одну

линию, то ее длина составит 1,74 м. Такой размер ДНК не соизмерим с размерами ядра. Поэтому ДНК у эукариотических клеток находятся в ядре в виде *хромосом*. Хромосомы – это конденсированные структурные комплексы ДНК и белков. Каждая хромосома образуется из одной длинной молекулы ДНК и содержит от 50×10^6 до 250×10^6 нуклеотидных пар. Вся генетическая информация, хранящаяся в хромосомах, называется *геномом*. Основной структурной единицей хромосом является *нуклеосома*. Нуклеосома состоит из 8 молекул гистонов – по 2 молекулы Н2а, Н2б, Н3, Н4. Эти гистоны образуют белковое ядро, на которое наматывается фрагмент молекулы двухцепочечной ДНК. В интактном хроматине ДНК тянется в виде непрерывной нити от нуклеосомы к нуклеосоме.



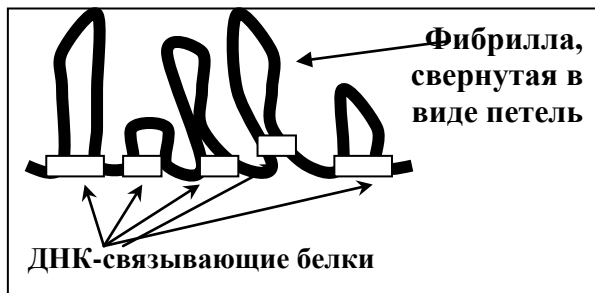
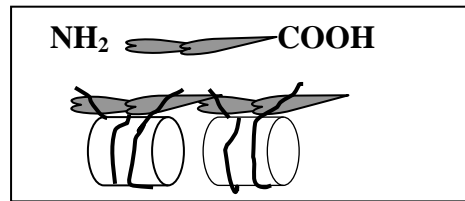
Каждая нуклеосома соединена с соседней *линкерной последовательностью*. Длина такой последовательности от 0 до 80 нуклеотидных пар.

Молекула ДНК оборачивается вокруг белкового ядра, делая $1\frac{3}{4}$ оборота, причем на каждый оборот приходится 83 пары нуклеотидов. В среднем, последовательность нуклеосома + линкерная часть повторяется через 200 нуклеотидов. Образование нуклеосомной последовательности способствует компактизации молекулы ДНК примерно в 7 раз. Дальнейшая упаковка молекулы ДНК происходит путем скручивания нуклеосомной последовательности в виде спирали или «соленида» диаметром 30 нм. При этом достигается компактизация еще примерно в 6 раз. Считают, что этому процессу способствуют гистоновые белки Н1.



Каждая молекула гистона Н1 связывается глобулярной частью с определенным местом на нуклеосоме, а С- и N-концевые аминокис-

лотные последовательности присоединяются к соседним нуклеосомам. При этом нуклеосомы стягиваются вместе и образуют регулярную, повторяющуюся структуру. Области активного хроматина (участки ДНК, в которых происходит считывание генетической информации) обладают низкой способностью связывать H1 гистон и, поэтому, они менее конденсированы и доступны для считывания информации. В дальнейшем формируются нити хроматина диаметром около 100 нм, как располагаются нуклеосомы в этой структуре не выяснено. Упаковка ДНК в хроматиновой



фибрилле позволяет уменьшить ее линейные размеры до 1 мм (компактизация в 400 раз), а диаметр ядра обычно не превышает 5 мкм. Поэтому должны существовать и другие, более высокие уровни компактизации. Считают, что далее фибрилла укладывается в виде петель за счет ДНК-связывающих белков, которые сближают и удерживают определенные части фибрилл. Типичная хромосома человека может содержать до 2000 таких петель. В последующем, образовавшиеся петлеобразные структуры многократно скручиваются и упаковываются в хромосому.

Активный хроматин составляет в разных клетках 2-11%. Таким образом, основная часть хроматина клетки не активна. Компактизация ДНК обуславливает избирательную активность участков ДНК, которые обеспечивают синтез белков, специфичных для метаболизма данной клетки.

2.2. Нуклеотидный состав и структура РНК

В отличие от ДНК РНК построена из 4 основных типов *рибонуклеотидов*: АМФ, ГМФ, ЦМФ, УМФ.

Известны 5 типов РНК:

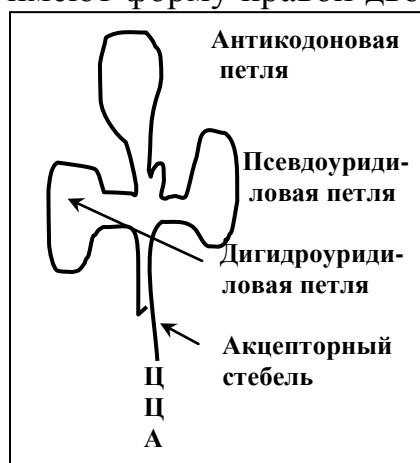
- 1) Информационная РНК (и-РНК или м-РНК (messenger – посредник)).
- 2) Транспортная РНК (т-РНК).
- 3) Рибосомная РНК (р-РНК).
- 4) Гетерогенные ядерные РНК (гигантские или гяРНК).
- 5) Малые ядерные РНК (мяРНК).

Информационная РНК (и-РНК) Синтезируется в ядре из гетерогенных ядерных РНК. Является переносчиком генетической информа-

ции от ДНК к белку. На 3'-конце имеет полиаденилатную последовательность (около 200 нуклеотидов), на 5'-конце находится 7-метилгуанин («кэп» – участок).

Транспортная РНК (т-РНК) состоит примерно из 75 нуклеотидов. Имеет молекулярную массу около 25000 Да. Вторичная структура по форме напоминает «Клеверный лист». Р. Холли в связи с этим дал название вторичной структуре – структура «клеверного листа». Структура имеет 4 стебля. Каждый стебель состоит из двух антипараллельных цепей, удерживающихся водородными связями между комплементарными азотистыми основаниями. Стебли имеют форму правой двойной спирали, на 1 виток приходится 11 пар оснований, шаг спирали равен 3,1 нм.

Акцепторный стебель на 3'-конце имеет ЦЦА последовательность. Эта последовательность необходима для присоединения к т-РНК соответствующей аминокислоты. Характеристика фермента, присоединяющего аминокислоту, и механизм его действия будут рассмотрены позже.



Антикодоновый стебель заканчивается антикодоновой петлей. Она содержит специфичный для каждой т-РНК триплет нуклеотидов (*антикодон*). Антикодон специфически соединяется с соответствующим кодоном и-РНК.

Псевдоуридиловый стебель заканчивается псевдоуридиловой петлей. Название связано с наличием в составе этой петли минорного азотистого основания – псевдоуридина. Петля используется для присоединения т-РНК к рибосоме.

Дигидроуридиловый стебель – заканчивается дигидроуридиловой петлей (в состав входит минорное азотистое основание дигидроурацид). Эта петля необходима для связывания с ферментом аминокил-т-РНКсинтетазой (присоединяет к тРНК соответствующую ей аминокислоту). Иногда могут встречаться и добавочные петли. В третичной структуре молекула т-РНК напоминает букву Г. Акцепторный и псевдоуридиловый стебли образуют «перекладину» буквы Г, а антикодоновый и дигидроуридиловый стебли формируют «ножку».

Рибосомная РНК (р-РНК) вместе с рибосомными белками участвует в формировании рибосом. В рибосомах эукариот на долю РНК приходится около 50% их массы. р-РНК обладают различной молекулярной массой и при ультрацентрифугировании имеют различные константы седиментации (S – константа Сведберга). Все р-РНК классифицируют по константе седиментации. У эукариот р-РНК представлена в большой субъединице рибосом 28S РНК (400 нуклеотидов), 5S (121

нуклеотид), 5,8S РНК (155 нуклеотидов). Малая субъединица рибосом имеет в своем составе одну молекулу р-РНК с константой седиментации 18S (около 200 нуклеотидов). Третичная структура РНК является скелетом рибосомы. Имеет форму палочки или клубочка. Снаружи располагаются рибосомальные белки. Определенные участки РНК могут играть важную роль в прикреплении и-РНК к рибосомам.

Гетерогенные ядерные РНК (гигантские РНК, гяРНК) Являются предшественниками РНК. Синтезируются на ДНК и являются их точной копией, несущей избыточную информацию, которая удаляется в процессе созревания и превращения в соответствующую и-РНК.

Малые ядерные РНК (мяРНК) Состоят из 90-220 нуклеотидов. В настоящее время известно более 30 типов мяРНК. Биологическая роль до конца не изучена. Однако, известно, что некоторые мяРНК участвуют в процессе созревания и-РНК (и сплайсинге). Обнаружено, что эти РНК проявляют ферментативную активность, нарушая, таким образом, монополию белков в отношении катализа.

2.3. Видовые различия первичной структуры нуклеиновых кислот

По нуклеотидному составу ДНК можно определить видоспецифичность организмов (геносистематика по Белозерскому). Так, коэффициент специфичности (Г+Ц/А+Т) у эукариот меньше 1, а у прокариот чаще больше или равен 1. При одинаковом нуклеотидном составе, строение конкретной ДНК зависит от последовательности нуклеотидов. Для РНК коэффициент специфичности чаще превышает 1. Считают, что по нуклеотидному составу ДНК можно, в перспективе, построить все родословное дерево живого мира.

3. Физико-химические свойства нуклеиновых кислот

Подобно белкам нуклеиновые кислоты могут денатурировать. *Денатурация* нуклеиновых кислот состоит в расхождении цепей двойной спирали ДНК и двуспиральных участков РНК. В качестве денатурирующих агентов могут быть кислоты, щелочи, спирты... В результате денатурации каждая из цепей нуклеиновых кислот приобретает форму беспорядочного клубка. Азотистые основания имеют максимум поглощения при длине волны 260 нм. При денатурации нуклеиновых кислот их оптическая плотность увеличивается примерно на 40% в сравнении с нативной. Такое явление получило название *гиперхромного эффекта*. Поэтому о денатурации нуклеиновых кислот судят по увеличению оптической плотности их растворов при 260 нм. При нагревании гиперхромный эффект отмечается в узком диапазоне

температур. Этот диапазон получил название *точки плавления*. Он равен 80-85°C.

Если устранить денатурирующий агент, то структура ДНК может быть восстановлена за счет взаимодействия комплементарных азотистых оснований. Этот процесс получил название *ренативации*. На явлении ренативации основан метод гибридизации ДНК. Этот метод применяется при исследовании нуклеиновых кислот, полученных из разных источников.

Обмен нуклеотидов

1. Распад нуклеиновых кислот

1.1. Краткая характеристика и классификация нуклеаз

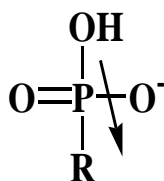
Нуклеазами называют обширную группу ферментов, специфически действующих на нуклеиновые кислоты, разрушая в них фосфодиэфирные связи с высвобождением полинуклеотидных фрагментов различной длины и отдельных нуклеотидов, без выделения неорганического фосфата.

По месту действия нуклеазы подразделяют на эндонуклеазы и экзонуклеазы.

Эндонуклеазы – разрушают сложноэфирные связи в различных местах внутри молекул нуклеиновых кислот. Ряд эндонуклеаз обладают чрезвычайно высокой специфичностью к строго определенным последовательностям нуклеотидов и действуют только на определенные связи в этой последовательности. Такие эндонуклеазы называют *эндонуклеазами рестрикции* или *рестриктазами*. Способность рестриктаз образовывать высокоспецифичные фрагменты широко используется в настоящее время для клонирования ДНК и генной инженерии, в криминалистике. Эндонуклеазы могут быть специфичными к одному из 2-х типов нуклеиновых кислот, и в соответствии с этим называются *рибонуклеазами (РНК-азы)* и *дезоксирибонуклеазами (ДНК-азы)*.

Неспецифические эндонуклеазы – способны атаковать как ДНК, так и РНК.

Экзонуклеазы – способны последовательно отщеплять от одного из концов полинуклеотидной цепи по нуклеотиду. Существует небольшая группа эндонуклеаз, обладающих строгой специфичностью к ДНК или РНК. Однако большинство способно атаковать как ДНК, так и РНК. Как и в случае с ДНКазами I и II, некоторые РНКазы способны образовывать в ходе гидролиза РНК 3'-фосфорпроизводные (эндонуклеазы селезенки) и 5'-фосфорпроизводные (ферменты змеиного яда). Разрыв фосфо-эфирной связи происходит между фосфором и кислородом:



1.2. Нуклеазы пищеварительного тракта

Нуклеиновые кислоты поступают с пищей, главным образом, в составе сложных белков – нуклеопротеидов. Белковая часть разрушается в желудочно-кишечном тракте протеолитическими ферментами до отдельных аминокислот. В результате высвобождается свободная нуклеиновая кислота, которая подвергается действию нуклеаз с образованием нуклеотидов. Нуклеотиды разрушаются нуклеотидазами до нуклеозида и неорганического фосфата. Нуклеозиды способны всасываться в кишечнике или разрушаться нуклеозидазами до пуриновых или пиримидиновых азотистых оснований и рибозы или дезоксирибозы. Пуриновые основания могут окисляться до мочевой кислоты, которая всасывается в кишечнике и затем фильтруется с мочой через почки. Переваривание белковой части нуклеопротеидов и нуклеиновых кислот тесно связаны и дополняют друг друга. Так, панкреатическая ДНК-аза действует более эффективно только в комплексе с протеолитическими ферментами. При гидролизе белковой части нуклеопротеидов высвобождаются лизин, аргинин и гистидин (преобладают в составе гистонов), которые активируют ДНК-азу. Другие аминокислоты не обладают способностью активировать этот фермент.

Пищевые нуклеотиды, полученные в результате переваривания нуклеопротеидов, практически не используются для построения нуклеиновых кислот, хотя введенные парентерально нуклеотиды способны включаться в нуклеиновые кислоты (причина такой избирательности до конца не выяснена).

1.3. Нуклеазы тканей

Во внутренней среде организма (клетки, межклеточное пространство, кровь), а так же на границах с окружающей средой (эпителий кожи и слизистых оболочек) определяется высокая активность нуклеаз. В результате действия этих ферментов, как и в предыдущих случаях, образуются нуклеотиды, затем нуклеозиды и, наконец, азотистые основания и пентозы. Функции этих ферментов, в основном, можно свести к следующим:

- 1) Защита от внедрения чужеродного генетического материала.

Эктоферменты – рибонуклеазы кожи разрушают рибонуклеиновые кислоты на кожной поверхности.

2) Поддержание постоянства собственного генетического аппарата (репарация).

ДНК-репарирующие нуклеазы распознают участки поврежденной ДНК, осуществляют гидролиз фосфодиэфирных связей между поврежденными нуклеотидами и остальной частью молекулы ДНК, в результате происходит удаление поврежденных участков.

3) Гомеостатическая.

Регулируя активность РНК-аз, можно регулировать процессы биосинтеза и деградации нуклеиновых кислот и белков. Так, активность нуклеотидаз контролируется концентрацией нуклеотидов. Баланс между активностью нуклеотидаз и нуклеозидаз обеспечивает поддержание уровня нуклеотидов, используемых для биосинтеза нуклеиновых кислот. и-РНК, использованные для биосинтеза белка, подвергаются действию нуклеаз и разрушаются. В результате прекращается биосинтез белка. Ряд предшественников РНК созревают при участии нуклеаз. Предшественник тирозиновой т-РНК Е.Солу содержит 129 нуклеотидов. РНК-азы отщепляют 44 нуклеотида и превращают предшественник в зрелую т-РНК.

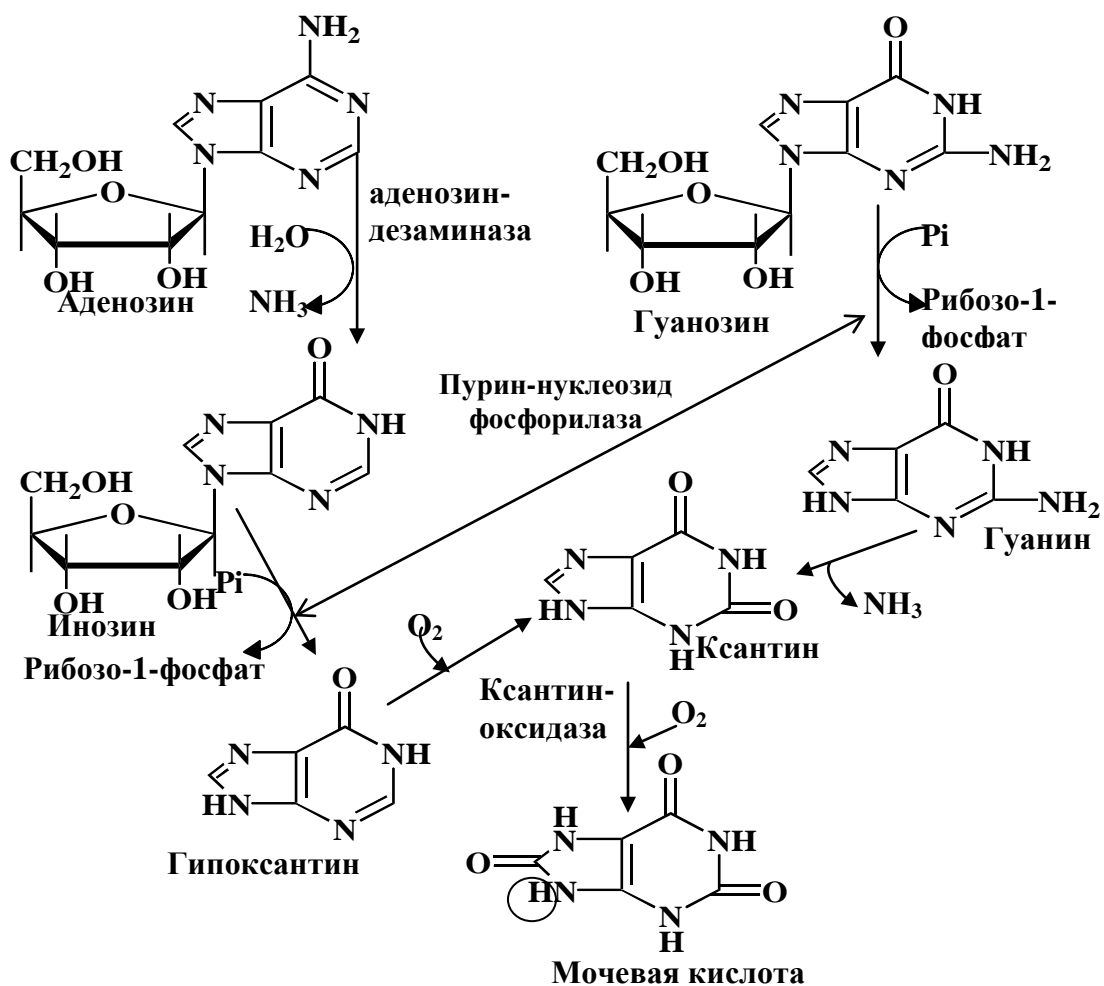
1.4. Распад пуриновых нуклеотидов

Конечными продуктом распада пуринов человека является *мочевая кислота*.

У многих животных, в том числе и у ряда млекопитающих, мочевая кислота разрушается до алантоина ферментом уриказы. Однако у человека этот фермент отсутствует. Считают, что распад пуринов до мочевой кислоты обусловлен невозможностью синтеза аскорбиновой кислоты.

Урат, в какой-то мере, способен заменять аскорбиновую кислоту, поскольку обладает антиоксидантной активностью. Как показано на рисунке, аденин может быть гидролитически дезаминирован в гипоксантин, а гуанин – в ксантин. Фермент ксантиноксидаза окисляет далее гипоксантин и ксантин в мочевую кислоту (в некоторых растениях ксантин при его метилировании превращается в кофеин). Ксантиноксидаза – это флавиновый фермент, относится к группе флавопротеидов (в его состав входит производное витамина В₂ –рибофлавин). Молекула фермента является димером и содержит 2 молекулы ФАД, 2 атома молибдена и 8 атомов железа.

Схема распада пуриновых нуклеотидов



Ⓜ — обозначает кислотный протон
 $pK_a = 5,4$

Пути регенерации пуриновых нуклеотидов

Существует 2 основных механизма регенерации:

1) Фосфорилирование свободных пуриновых оснований. Осуществляется двумя ферментами:

а) *аденинфосфорибозилтрансфераза* — переносит фосфорибозилпирофосфат на аденин с образованием АМФ.

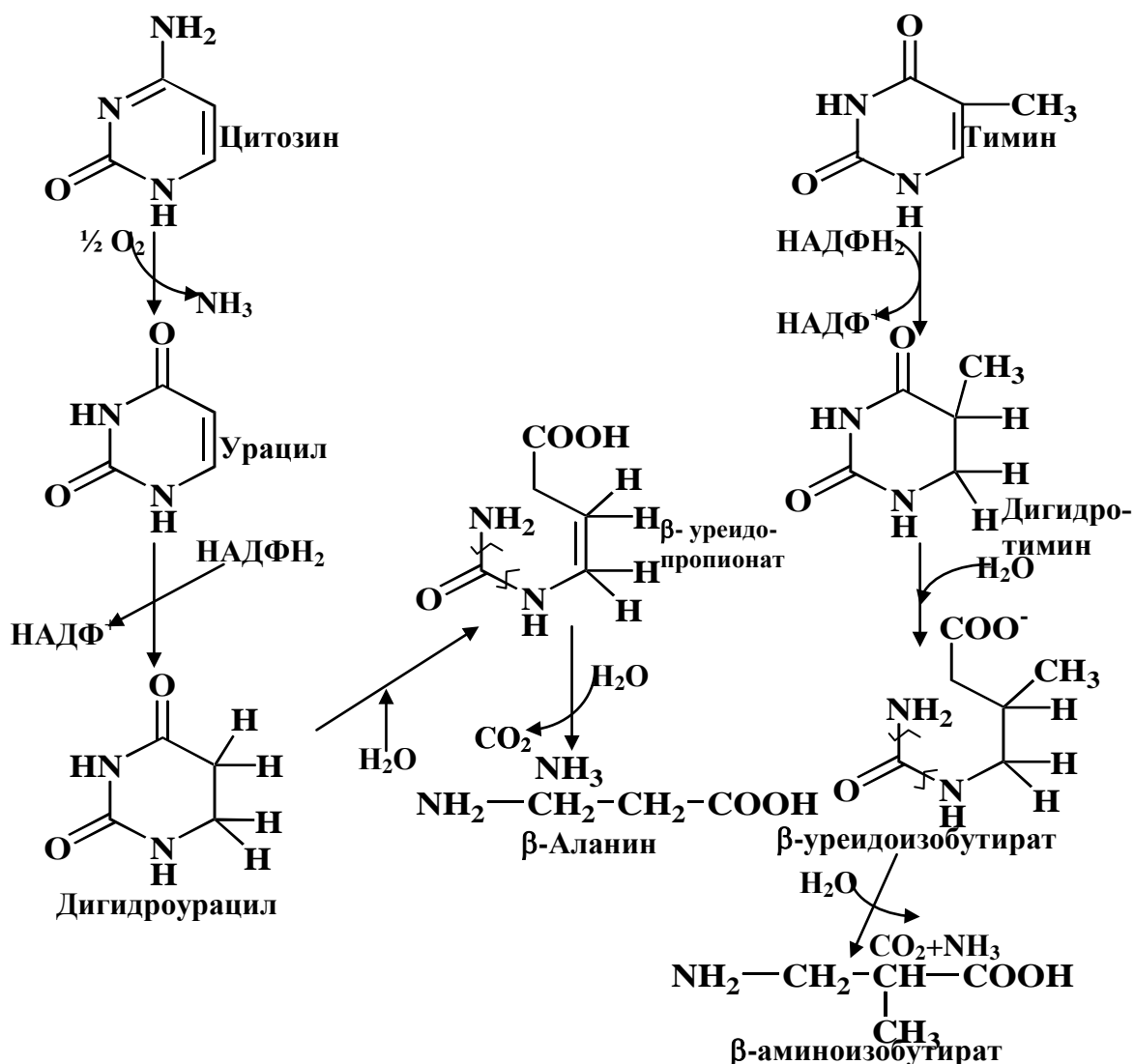
б) более активный — *гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза* — фосфорилирует ксантин и гуанин до ИМФ и ГМФ.

2) Фосфорилирование пуриновых нуклеозидов. Катализируется *аденозинкиназой*.

1.5. Распад пиримидиновых нуклеотидов

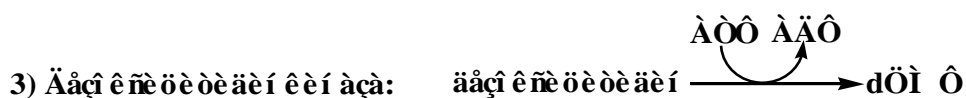
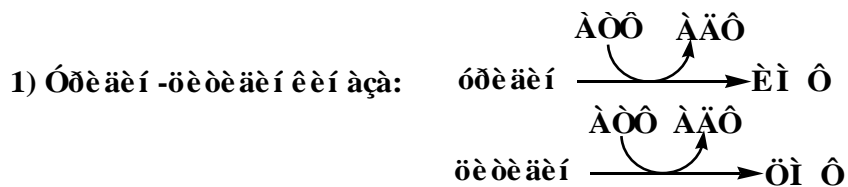
Распад пиримидинов осуществляется преимущественно в печени. Основными конечными продуктами этого процесса являются β -аланин и β -аминоизобутират. Цитозин и урацил разрушаются до β -аланина, а тимин – до β -аминоизобутирата. В отличие от катаболизма пуринов, образующиеся при распаде пиримидинов продукты хорошо растворимы в воде и могут разрушаться до CO_2 и воды или включаться в синтез других соединений, таких как ансерин и карнозин. Считают, что эти вещества играют важную роль в работе мышц. Известно, что они увеличивают амплитуду сокращений утомленных мышц, вероятно регулируя рН. В связи с высокой способностью включаться в метаболизм конечные продукты распада пиримидинов в свободном виде обнаруживаются в малых количествах.

Схема распада пиримидиновых нуклеотидов



Пути регенерации пиримидиновых нуклеотидов

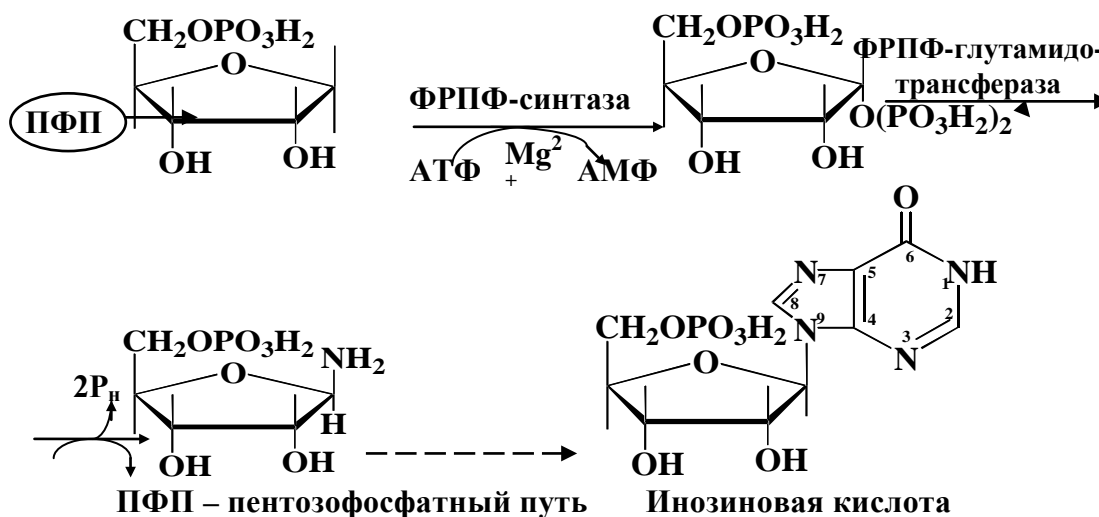
Из образовавшихся пиримидиновых оснований в организме млекопитающих не могут синтезироваться нуклеозиды и нуклеотиды. Единственная возможность вновь синтезировать нуклеотиды – это фосфорилирование ряда нуклеозидов:



2. Синтез нуклеотидов

2.1. Биосинтез пуринов

Первая и самая важная (определяющая) стадия в синтезе пуринов – синтез фосфорибозиламина в реакции 5-фосфорибозилпирофосфата с глутамином. Эта реакция является ключевой в синтезе и ингибируется по принципу обратной связи конечными продуктами.



Происхождение атомов пуринового кольца:

3 и 9 атомы – из глутамина, 6 – CO₂,

2 – N¹⁰-формил-ТГФК,

8 – N⁵,N¹⁰-метилен-ТГФК,

4,5,7 – глицин, 1 – аспартат.

Пуриновые нуклеотиды широко представлены в различных биохимических процессах (обмен белков, энергетический обмен...). Нарушение их синтеза приводит к развитию заболеваний. Знание источников, составляющих пуриновый скелет, позволит корректировать течение ряда патологических состояний. Так, нарушение поступления фолиевой кислоты или синтеза ее производных может привести к развитию анемии. Назначение фолиевой кислоты или улучшение продукции ее производных позволяет устранить указанное заболевание.

Гидролиз АМФ ингибируется ГТФ, а восстановительное дезаминирование ГМФ ингибируется АТФ.

Синтез ГМФ и АМФ

Синтез осуществляется из единого предшественника – инозиновой кислоты (ИМФ). АМФ синтезируется в 2 этапа при участии фермента аденилосукцинатсинтаза (1), с затратой энергии ГТФ и использованием аспартата. Процесс происходит через стадию образования аденилосукцината. Отщепление фумарата от аденилосукцината катализирует фермент аденилосукиназа (2). ГМФ синтезируется так же в 2 стадии. В первой реакции при участии НАД⁺ и H₂O ИМФ-дегидрогеназа (3) окисляет ИМФ с образованием ксантинмонофосфата. На втором этапе, с затратой энергии АТФ, происходит аминирование ксантинмонофосфата.

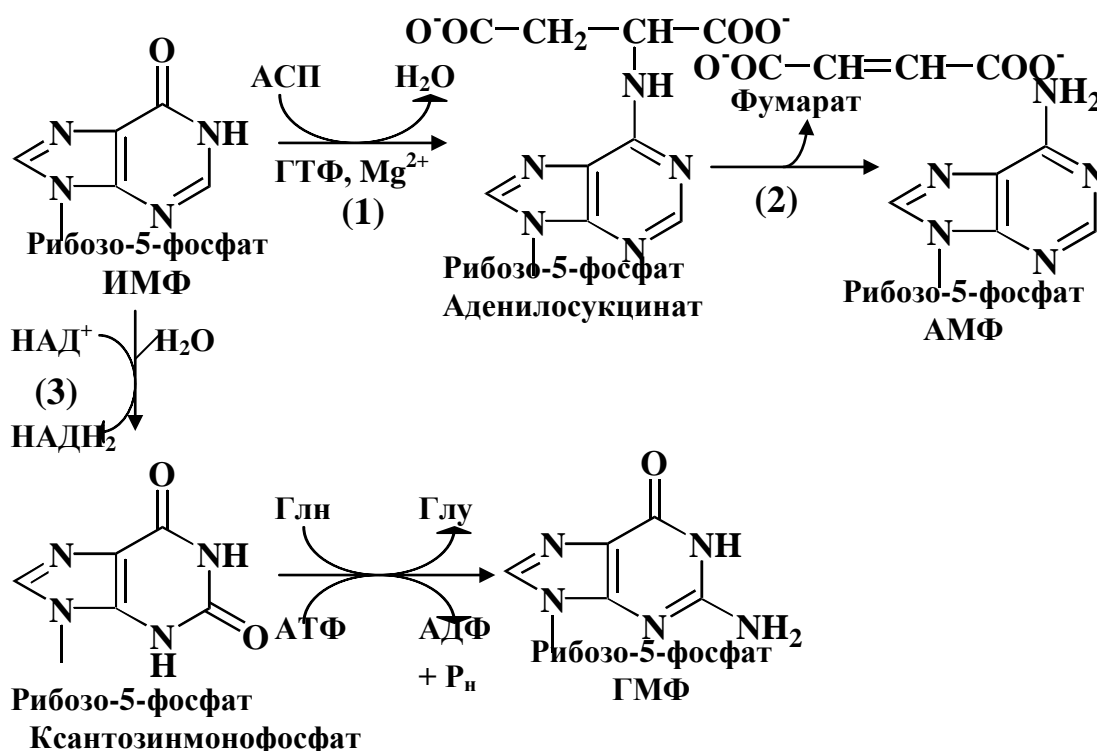
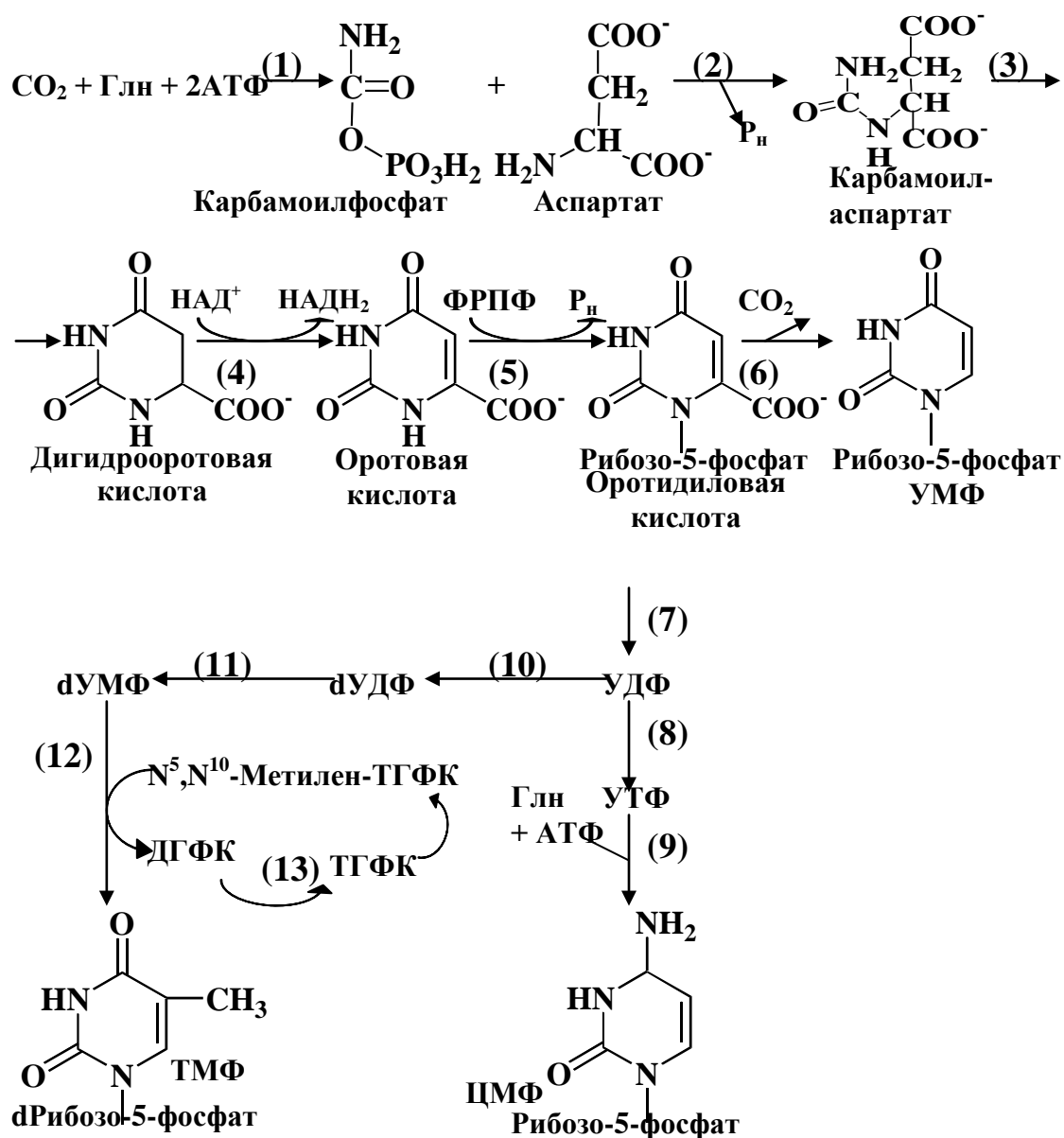


Схема синтеза ГМФ и АМФ

2.2. Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов



В отличие от синтеза пуринов, синтез пиримидиновых нуклеотидов начинается с построения азотистого основания и лишь затем происходит присоединение фосфорибозилпирофосфата. Синтез начинается реакцией, катализируемой цитозольной *карбамоилфосфатсинтазой* (1). Следующая реакция в этом ряду катализируется *аспараткарбамоилтрансферазой* (2) и является ключевой. Последующие реакции осуществляют ферменты: дигидрооротаза(3) – обеспечивает синтез дигидрооротовой кислоты, дигидрооротатдегидрогеназа (4) – с участием НАД окисленного катализирует окисление дигидрооротовой кислоты до оротовой кислоты. Оротатфосфорибозилтрансфераза (5) – присоединяет к оротовой кислоте фосфорибозилпирофосфат (поставляется пентозофосфатным путем). Декарбоксилаза оротидиловой кислоты (6)

– завершает синтез первого пиримидинового нуклеотида – УМФ. Все ферменты, обеспечивающие синтез УМФ, располагаются в цитозоле. Исключение составляет дигидрооротатдегидрогеназа, которая локализуется в митохондриях. Из УМФ синтезируются остальные пиримидиновые нуклеотиды (реакции 7–12).

Регуляция синтеза пиримидиновых нуклеотидов осуществляется по принципу отрицательной обратной связи. Избыток тимина ингибирует рибонуклеотидредуктазу (10), а ЦТФ ингибирует ключевой фермент синтеза пиримидиновых нуклеотидов – аспартаткарбомойлтрансферазу (2).

Образование тимидиловой кислоты требует участия тетрагидрофолиевой кислоты (как источника одноуглеродного фрагмента). В ходе переноса метильной группы на dУМФ и образования ТМФ тетрагидрофолиевая кислота окисляется и преобразуется в дигидрофолиевую кислоту. Для дальнейшего использования фолиевой кислоты ее необходимо восстановить до тетрагидрофолиевой кислоты. Эта реакция осуществляется ферментом дигидрофолатредуктаза (13). Делящимся клеткам крайне необходим ТМФ, поэтому ингибирование образования тетрагидрофолата прекращает рост клеток. Один из таких ингибиторов – метотрексат широко используется в качестве противоопухолевого препарата. Напротив, введение предшественника синтеза пиримидиновых нуклеотидов – оротата калия стимулирует обмен нуклеиновых кислот и белков. Таким образом, знание процессов синтеза нуклеотидов позволяет управлять этими процессами в клинической практике.

Нарушения обмена нуклеотидов

1. Нарушения обменов пуринов

Подагра – одно из наиболее часто встречающихся нарушений пуринового обмена. Заболевают 3 человека из 1000. Частота заболеваемости среди мужчин выше, чем среди женщин. Заболевание характеризуется увеличением содержания мочевой кислоты вначале в крови, а затем в синовиальной жидкости. При закислении окружающей среды мочевая кислота выпадает в осадок в виде кристаллов. Эти кристаллы формируют подагрические узлы, локализующиеся, главным образом, в суставных хрящах, синовиальных оболочках... Кристаллы уратов фагоцитируются полиморфно-ядерными лейкоцитами и способствуют разрушению лизосом и истечению их содержимого в цитоплазму. Структура клетки изменяется и клетка погибает. Многократное повторение этого процесса приводит к развитию воспаления, характеризующегося сильными болевыми приступами. Стабильность лизосомальных мембран увеличивается кортикостероидами и эстрогенами и сни-

жается тестостероном. Это, вероятно, обуславливает более частую заболеваемость подагрой мужчин.

К основным причинам подагры можно отнести:

1) Нарушение функции почек (увеличение реабсорбции мочевой кислоты в канальцах).

2) Увеличение образования уратов:

а) обусловленное массивным разрушением клеток в результате таких заболеваний как псориаз, рак...

б) нарушением активности ряда ферментов (увеличение активности фосфорибозилпирофосфатсинтазы, частичная потеря активности гуанин-гипоксантин-фосфорибозилтрансферазы).

Лечение заболевания осуществляется аллопуринолом – аналогом пуриновых оснований, который способен тормозить активность ксантиноксидазы и, таким образом, снижать уровень синтеза мочевой кислоты. Применение пробенецид р-дипропилсульфанилбензойной кислоты или производных салициловой кислоты приводит к снижению активности реабсорбции мочевой кислоты и к увеличению ее выведения.

Синдром Леша - Нихена

Заболевание наследуется как сцепленный с X-хромосомой рецессивный признак (полное отсутствие гуанин-гипоксантин-фосфорибозилтрансферазы). Характеризуется значительной гиперурикемией, корковым параличом, судорогами, стремлением к членовредительству (больной не чувствует боли и может откусить себе губу, палец). Может наблюдаться образование камней мочевой кислоты. В результате мутации соответствующего гена активность фермента может изменяться незначительно, в этих случаях неврологическая симптоматика отсутствует. Механизмы развития неврологической патологии не выяснены.

Ксантинурия

Для данного заболевания характерно снижение концентрации мочевой кислоты в крови и снижение ее выделения с мочой. В крови накапливаются ксантин и гипоксантин, которые выделяются с мочой в повышенных концентрациях. В тяжелых случаях ксантинурия может привести к образованию ксантиновых камней. Заболевание обусловлено снижением активности фермента ксантиноксидазы (либо при тяжелой патологии печени, либо при врожденном дефекте фермента).

2. Нарушения обмена пиримидинов

Оротацидурия

Известно 2 типа наследственной первичной оротацидурии.

I-тип: Утрачивается функция 2-х ферментов:

а) оротат-фосфотидилтрансферазы и

б) оротидилатмонофосфатдекарбоксилазы.

В детском возрасте характерно: отставание в развитии, мегалобластическая анемия и оротацидурия. Больные склонны к инфекциям. Патология во многом определяется недостатком синтезирующегося уридина, поэтому введение его в организм предотвращает развитие ряда симптомов.

II-тип: Связан только с недостаточностью ОМФ-декарбоксилазы. У таких пациентов с мочой экскретируется, главным образом, оротидин и небольшое количество оротовой кислоты. При лечении подагры аллопуринолом может отмечаться экскреция оротовой кислоты, что обусловлено фосфорибозилированием аллопуринола и, следовательно, снижением активности фосфорибозилирования оротовой кислоты и, как следствие, ее накоплением. Однако, при длительном применении препарата оротацидурия прекращается, поскольку организм адаптируется к работе в данных условиях.

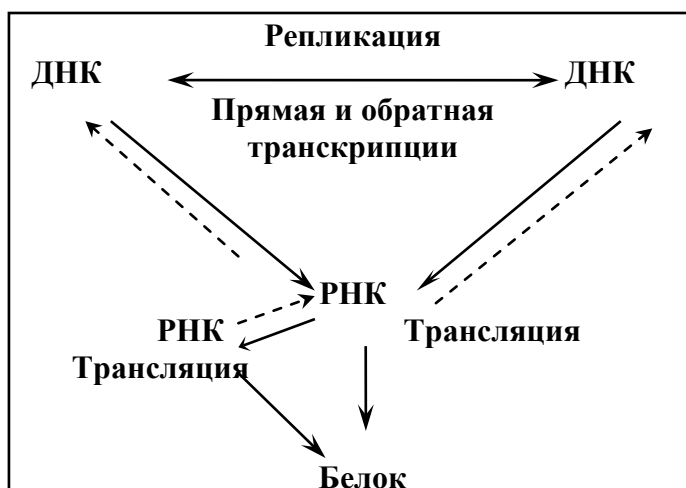
Лекция 30

БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. МАТРИЧНЫЕ СИНТЕЗЫ

Виды переноса генетической информации в клетках

ДНК является хранителем генетической информации. Основной постулат молекулярной биологии отражает направление переноса генетической информации (ДНК → РНК → Белок). Генетическая информация в клетке переносится:

– От ДНК к ДНК (*репликация*) передача генетической информации по наследству;



- От ДНК к РНК (*транскрипция*) и от РНК к белку (*трансляция*) предназначены для реализации генетической информации.
- От РНК к РНК – встречается не часто (у ряда вирусов).
- От РНК к ДНК (*обратная транскрипция*).
- Перенос генетической информации от белка к РНК до настоящего времени не описан.

1. Репликация

1.1. Физико-химические механизмы самовоспроизведения ДНК

Теоретически возможны 3 различных способа удвоения ДНК:

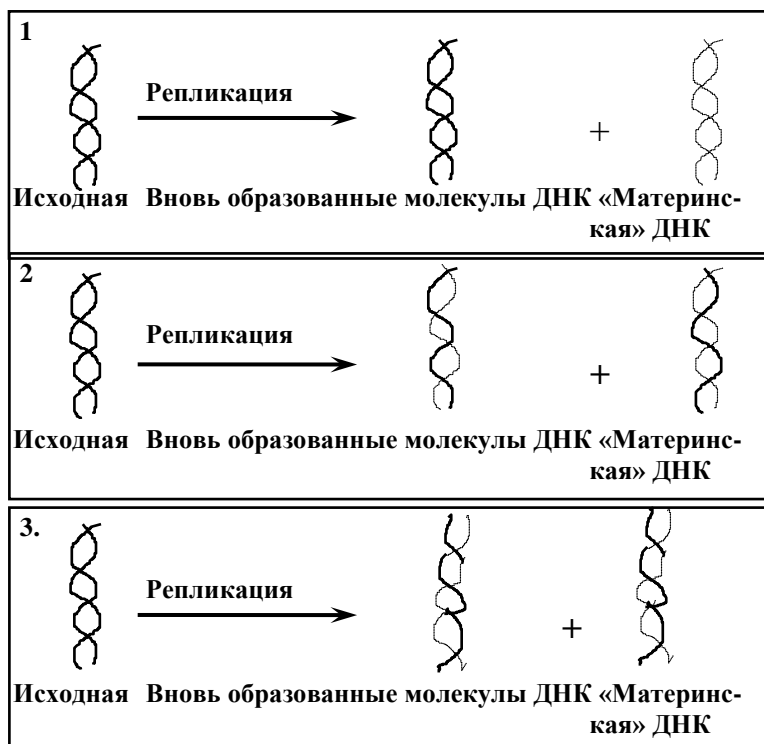
1. *Консервативный* – одна образовавшаяся молекула ДНК должна состоять из двух «материнских» цепей. Вторая – из двух вновь синтезированных.

2. *Полуконсервативный* – образовавшиеся молекулы должны включать одну материнскую и вторую вновь синтезированную дочернюю полинуклеотидную цепь.

3. *Смешанный* – в обеих молекулах ДНК содержатся участки и родительской и дочерних цепей.

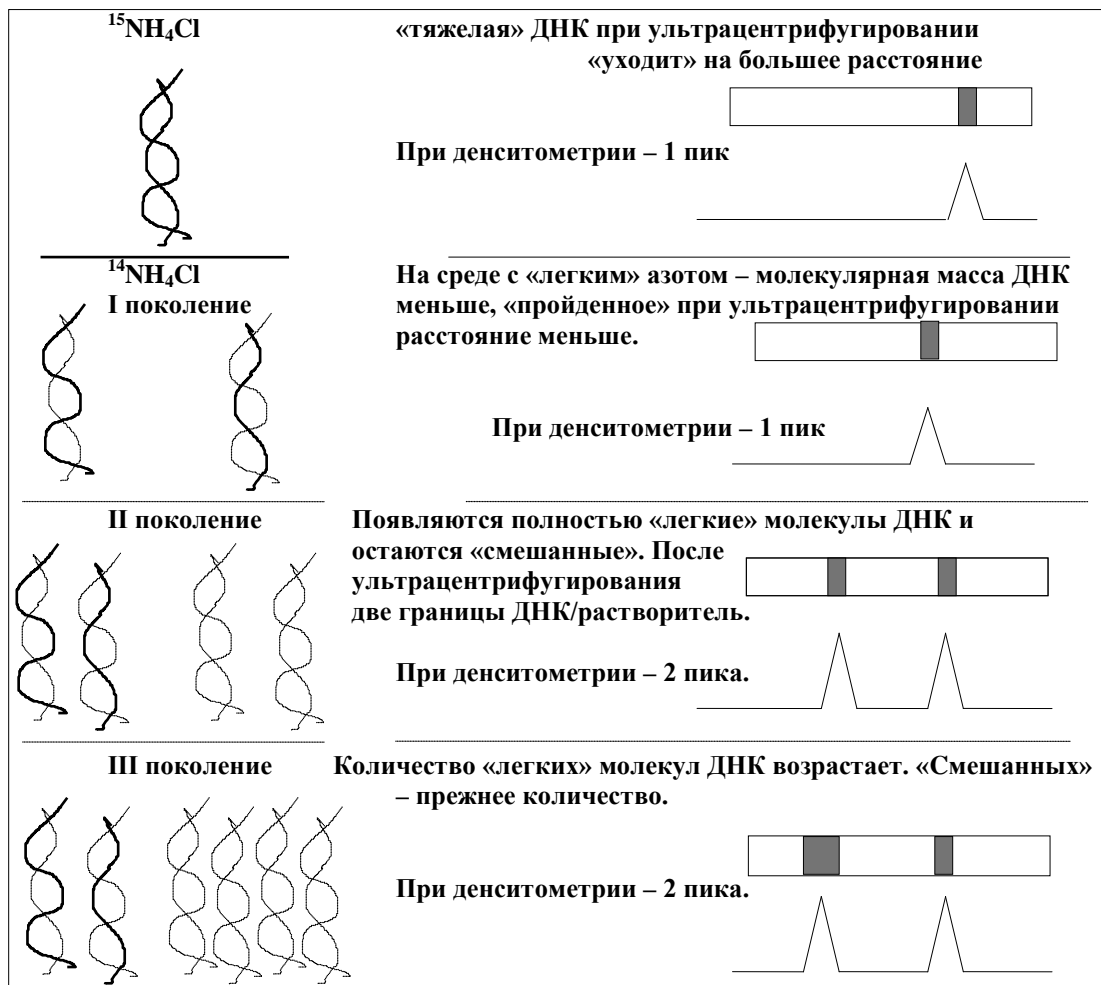
Уотсон и Крик предложили не только модель вторичной структуры ДНК, но и считали, что удвоение ее происходит по полуконсервативному типу.

В 1957 году Метью Мезельсон и Франклин Сталь провели эксперимент, доказавший полуконсервативный способ репликации ДНК. Они выращивали *E. Coli* на среде с «тяжелым» азотом ($^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$). В результате молекулярная масса ДНК становилась примерно на 1% больше обычного. Далее *E. Coli*



переносилась на среду с обычным азотом ($^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$) и методом ультрацентрифугирования оценивалась ДНК трех поколений *E. Coli*. Установлено, что в первом поколении образовались молекулы ДНК, имею-

щие по одной «тяжелой» и одной «легкой» цепи ДНК. Такие молекулы отличаются от «тяжелых» и поэтому после ультрацентрифугирования определяются на меньшем расстоянии от центра вращения, чем «тяжелые». Во втором поколении – появились полностью «легкие» молекулы ДНК и сохранились «смешанные». Поэтому после ультрацентрифугирования идентифицируются 2 границы разделения фаз ДНК/растворитель. В последующих поколениях количество «легких» ДНК увеличивалось, а количество «смешанных» оставалось неизменным и определялись так же 2 границы разделения фаз ДНК/растворитель.



При других типах репликации, отличающихся от полуконсервативного, картина, полученная при ультрацентрифугировании, отличалась бы от указанной. При консервативном типе уже в первом поколении должно появиться 2 границы ДНК/растворитель. При смешанном – не должно быть разделения на 2 фракции. Таким образом, был сделан вывод о том, что ДНК удваивается по полуконсервативному типу.

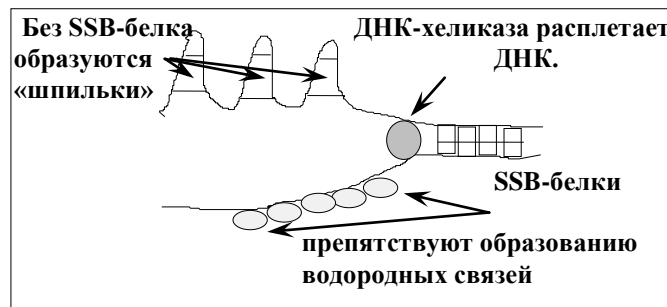
1.2. Механизмы репликации

Репликация ДНК у прокариот и эукариот в общих чертах схожа. Однако, у эукариот этот процесс более сложен и менее изучен. Поэтому в изложении материала будем опираться, в основном, на процессы, происходящие у прокариот.

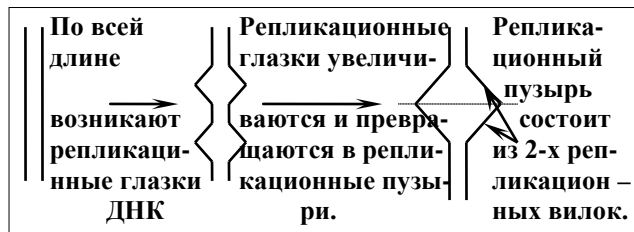
Репликация условно подразделяется на 3 стадии:

1. Инициация
2. Элонгация
3. Терминация

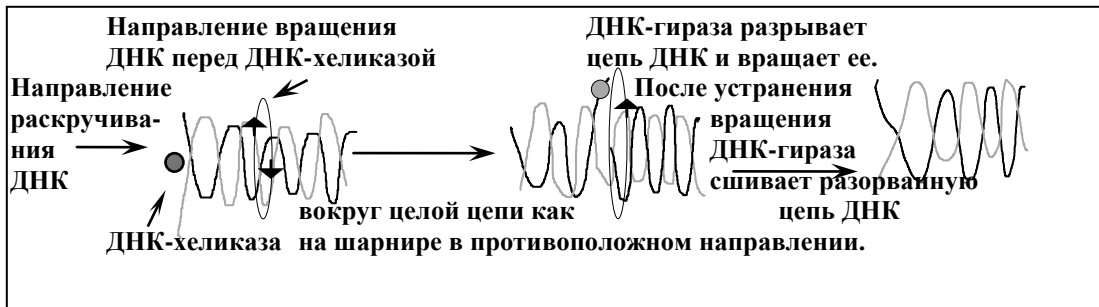
Инициация. Необходимые компоненты: Инициаторный белок, ДНК-хеликаза, ДНК-гираза, ДНК-стабилизирующий белок (SSB-белок), полный набор рибонуклеотидов, праймаза, АТФ.



Инициаторный белок обнаруживает на молекуле ДНК *точки начала репликации* и связывается с ними. Такие точки встречаются по всей длине молекулы ДНК. Для их функционирования необходима определенная последовательность состоящая из 11 нуклеотидов ((А или Т) ТТТАТ (А или Г) ТТТ (А или Т)). Она получила название *консенсусной последовательности*. К инициаторному белку присоединяется ДНК-хеликаза. Этот фермент обладает АТФ-азной активностью. Он разрывает водородные связи между комплементарными нуклеотидами и расплетает ДНК. На разрыв водородных связей одной комплементарной пары затрачивается энергия 2 АТФ. К каждой из освободившихся цепей присоединяется SSB-белок. Он препятствует образованию водородных связей между разделившимися цепями ДНК и в каждой отдельной цепи препятствует образованию «шпилек». В результате по всей длине ДНК возникают, вначале *репликационные глазки*, а затем *репликационные пузыри*. Репликационный пузырь состоит из 2-х *репликационных вилок*.

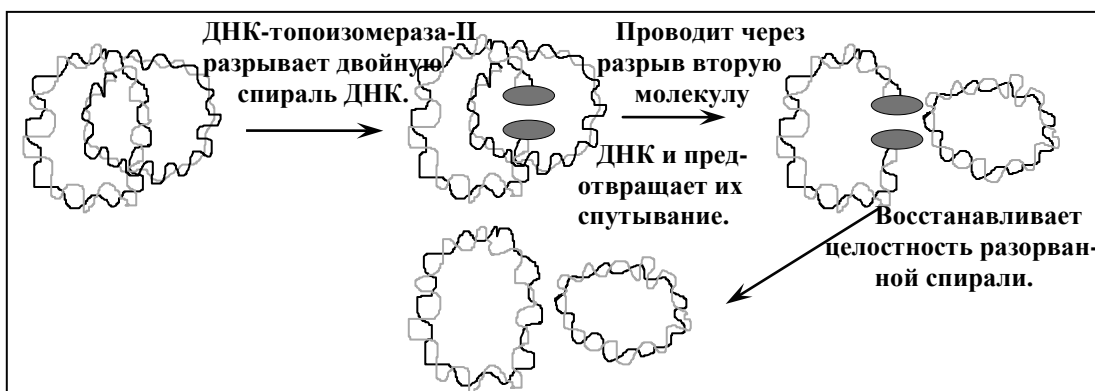


Процесс репликации происходит в обеих репликационных вилках, но имеет противоположное направление. Противоположность направленности синтеза обусловлена тем, что цепи ДНК антипараллельны. Иными словами, нуклеотиды 5'-конца одной цепи комплементарно спарены с нуклеотидами 3'-конца другой цепи. А направление синтеза ДНК всегда одинаково – от 5'- к 3'-концу. В процессе распле-



тения

ДНК перед ДНК-хеликазой возникает очень быстрое вращение ДНК. Это вращение способно в значительной степени затруднить репликацию и даже вызвать повреждения в структуре ДНК и ядре. Данное вращение устраняется ферментом *ДНК-гиразой*. Он обратимо разрывает одну цепь ДНК и обеспечивает ее вращение вокруг второй (целой) цепи как на шарнире. У эукариот ДНК-гираза не обнаружена. Вместо нее используются ферменты *топоизомераза-I* и *топоизомераза-II*. Топоизомераза-I подобна ДНК-гиразе. Топоизомераза-II способна осуществлять разрыв 2-х цепей ДНК, проводя в разрыв другую двойную спираль ДНК и затем восстанавливать целостность разорванных цепей. Таким образом, этот фермент препятствует спутыванию реплицирующейся молекулы ДНК.



Стадия инициации завершается синтезом короткого полирибонуклеотидного фрагмента (около 10 рибонуклеотидов) – *праймера*. Синтез осуществляется комплементарно материнской цепи ДНК ферментом *праймазы*.

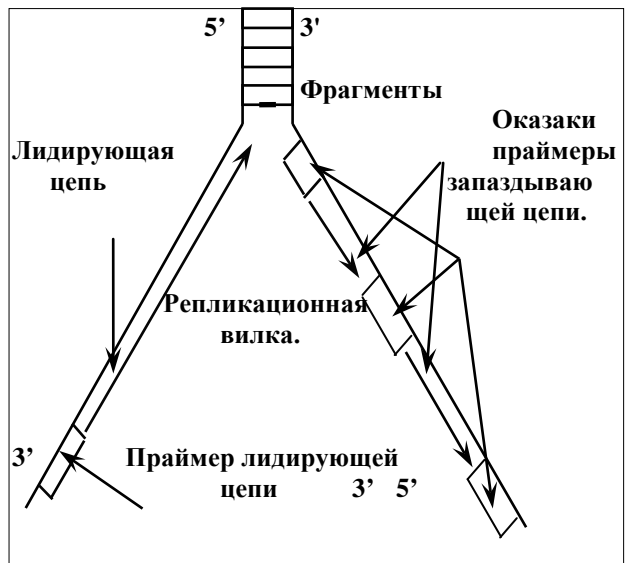
Элонгация. К 3'-ОН группе праймера присоединяется *ДНК-полимераза-III* и осуществляет синтез дочерней цепи ДНК в направлении 5'→3'. Фермент не способен синтезировать дочернюю цепь ДНК на «пустом» месте. Эта особенность обусловлена тем, что перед присоединением очередного комплементарного нуклеотида *ДНК-полимераза-III* проверяет правильность встраивания предыдущего. Поскольку предыдущий нуклеотид отсут-

ствует – то и последующий не может быть присоединен. Поэтому для работы *ДНК-полимераза-III* необходим праймер (затравка). Если направление синтеза дочерней цепи ДНК и направление движения репликационной вилки совпадают, то цепь синтезируется непрерывно и называется *лидирующей*. Напротив, если направление синтеза ДНК и движения репликационной вилки не совпадают – цепь синтезируется фрагментами и называется *запаздывающей*. Фрагменты, образующиеся в запаздывающей цепи, называют *фрагментами Оказаки*. Образование фрагментов Оказаки обусловлено необходимостью синтеза праймера каждый раз по мере продвижения репликационной вилки и обеспечивает так же увеличение скорости репликации ДНК.

Праймер необходим лишь для присоединения *ДНК-полимераза-III*. После завершения синтеза фрагмента Оказаки праймер становится не нужным. Он опознается *ДНК-полимеразой-I* и последовательно, нуклеотид за нуклеотидом, удаляется. Вместо удаленных рибонуклеотидов встраиваются комплементарные материнской цепи ДНК дезоксирибонуклеотиды. При этом для присоединения *ДНК-полимераза-I* используется 3'-ОН группа предыдущего фрагмента Оказаки (или лидирующей цепи). Сшивание синтезированных фрагментов ДНК в одну цепь осуществляется ферментом *ДНК-лигазой*.

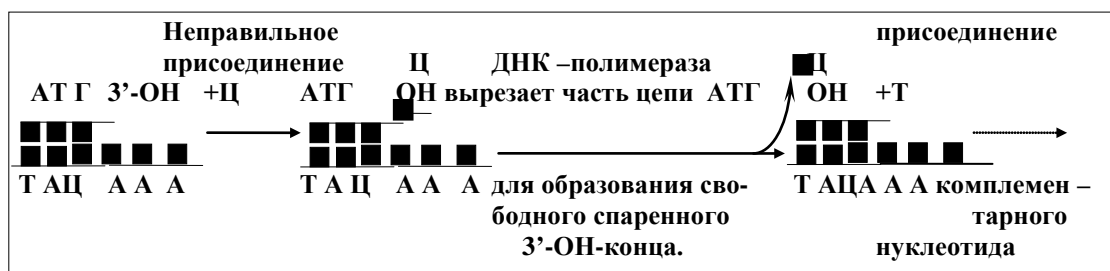
Терминация. На данной стадии происходит слияние всех репликационных пузырей, молекулы дочерней цепи ДНК сшиваются *ДНК-лигазой*, матрица исчерпывается, и процесс репликации прекращается.

У эукариот вместо ферментов *ДНК-полимераза-I* и *III* обнаружены *ДНК-полимеразы* α , β , γ и σ . *ДНК-полимераза* α реплицирует ДНК в ядре клетки, β – необходима для репарации ДНК, γ – реплицирует кольцевую ДНК митохондрий, σ – похожа на α , однако, функция не известна.



1.3. Механизмы, обеспечивающие точность сборки дочерней цепи ДНК

Точность копирования ДНК очень высока. В среднем при копировании возникает 1 ошибка на 1×10^9 пар оснований (геном млекопитающих составляет 3×10^9 пар оснований). Точность сборки обеспечивается рядом механизмов, которые взаимно дополняют друг друга. Первым можно назвать способность ДНК-полимеразы-III проверять правильность встраивания нуклеотидов и, при необходимости, устранять возникшие нарушения.

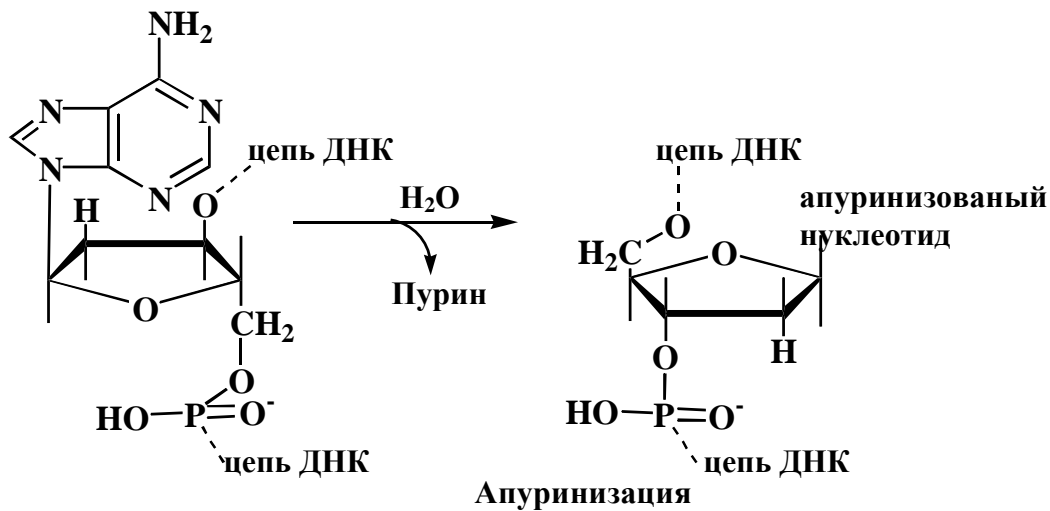


ДНК-полимераза способна наращивать нуклеотидную последовательность, присоединяя нуклеотиды только к спаренному 3'-ОН-концу. Если происходит присоединение не комплементарного нуклеотида, то не образуется спаренный 3'-ОН-конец и, следовательно, ДНК-полимераза не может присоединить очередной нуклеотид. Активируется 3'-5'-экзонуклеазная активность, что и приводит к удалению неправильно присоединенного нуклеотида и восстановлению способности ДНК-полимеразы удлинять цепочку ДНК.

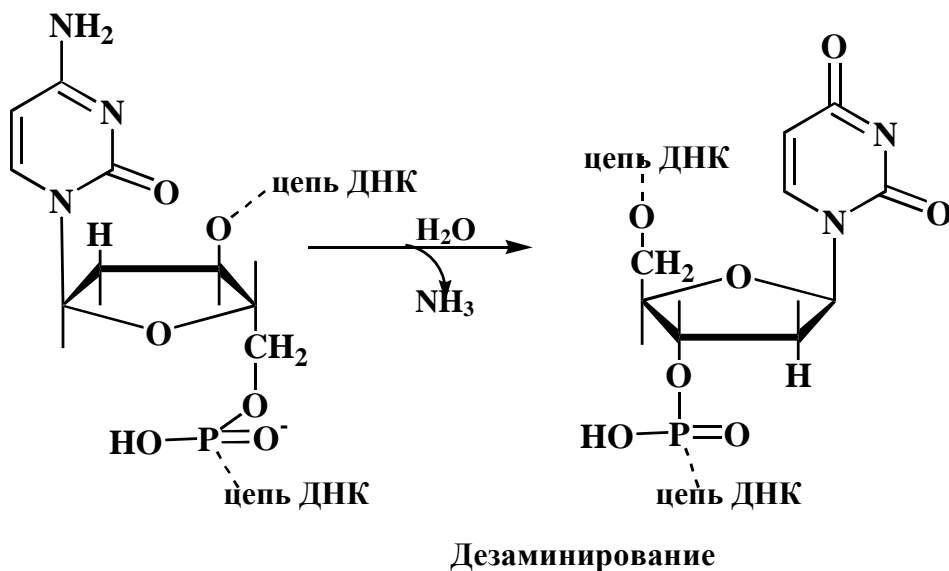
При синтезе праймера предпочтение отдается рибонуклеотидам, а не дезоксирибонуклеотидам. Это также обеспечивает увеличение точности сборки ДНК. Для действия ДНК-полимеразы необходим спаренный 3'-ОН-конец. Для этого синтезируется затравка (праймер). Правильность встраивания нуклеотидов затравки не контролируется. Если бы затравка синтезировалась из дезоксирибонуклеотидов, то при возникновении ошибок спаривания – они не смогли бы быть обнаруженными. Поскольку затравка синтезируется из рибонуклеотидов – то ДНК-полимераза I опознает их как неправильные и замещает на дезоксирибонуклеотиды. Таким образом устраняется вероятность совершения ошибки при построении праймера.

1.4. Повреждения ДНК и ее репарация

В живых системах ежеминутно происходит нарушение структуры молекулы ДНК. Наиболее часто встречаются следующие нарушения:



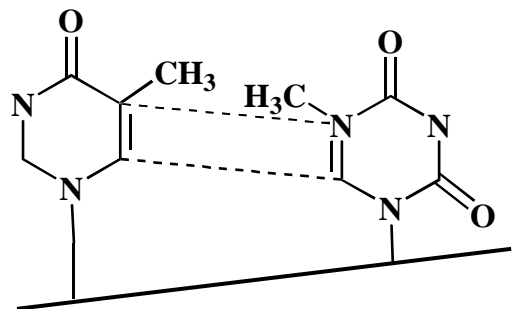
– *апуринизация* (каждая клетка человека теряет за сутки около 5000 пуриновых оснований вследствие термального разрыва N-гликозидных связей между пурином и дезоксирибозой):



– *Дезаминирование* цитозина в урацил (до 100 нуклеотидов на 1 геном в сутки).

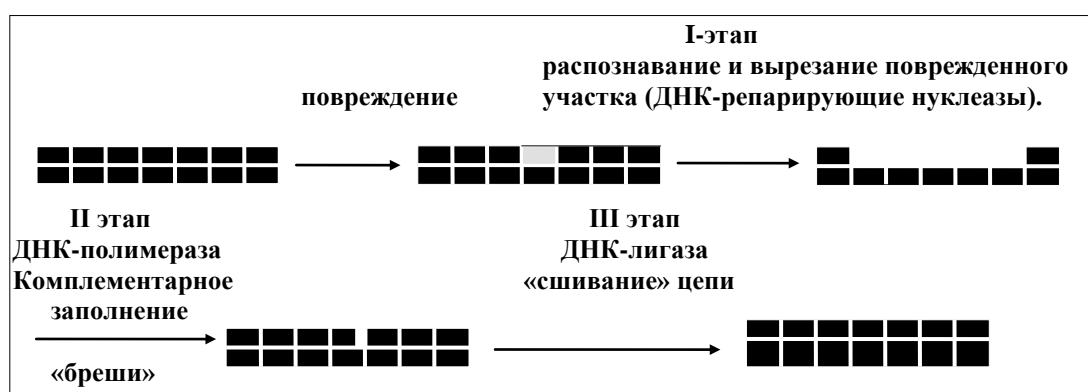
Воздействие ультрафиолетового света может привести к образованию *тиминовых димеров*:

Это лишь наиболее часто встречающиеся нарушения. Существует и значительное количество других нарушений. Большинство из них должно было бы привести к выпадению нескольких пар оснований дочерней цепи ДНК после репликации или замене пары оснований. Например, каждое дезаминирование Ц→У должно было бы вызвать замены пары Ц-Г на



Г-А. Такие замены, если бы они не восстанавливались, могли бы приводить к очень серьезным нарушениям в жизнедеятельности организма. Большая часть этих повреждений носит временный характер, поскольку они устраняются с помощью механизма, называемого *репарацией ДНК*. Если этот механизм не срабатывает, то изменения закрепляются. Подобные изменения называют *мутацией*. Восстановление структуры ДНК возможно только при условии сохранности комплементарного участка второй цепи ДНК.

Основной путь репарации включает 3 этапа:



1. Измененный участок ДНК распознается и удаляется при помощи ферментов *ДНК-репарирующих нуклеаз*. Каждый из этих ферментов распознает какой-либо 1 тип повреждения и устраняет его.

2. *ДНК-полимераза* связывается с 3'-концом поврежденной цепи ДНК и заполняет брешь, присоединяя нуклеотиды друг за другом комплементарно уцелевшей цепи.

3. *ДНК-лигаза* сшивает ДНК и, тем самым, завершает восстановление структуры ДНК.

Некоторые особенности структуры ДНК облегчают ее репарацию. В ДНК, в отличие от РНК, урацил заменен тиминном. Репарационная система ДНК обладает механизмом способным распознавать и удалять продукты спонтанного дезаминирования цитозина – т.е. урацил. Если бы в состав ДНК входил урацил вместо тимина, то при распознавании таких нарушений вырезались бы и нормальные участки. Замена урацила на тимин позволяет избежать таких осложнений.

Важность репарации можно подчеркнуть следующим примером. У больных пигментной ксеродермой в клетках накапливаются пиримидиновые димеры. Это обусловлено нарушением процесса репарации, в котором участвуют как минимум 7 различных генных продуктов. Результатом такого нарушения является развитие тяжелого поражения кожи, включая рак.

Биосинтез РНК (транскрипция)

1. Структурно-функциональная организация транскриптона (оперона)

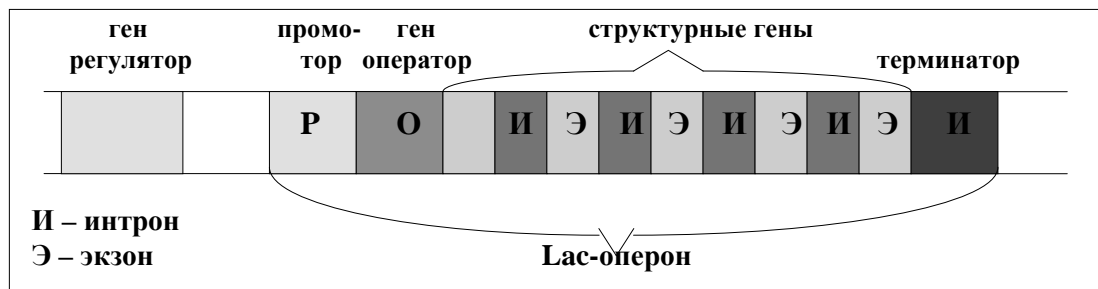
Участок ДНК, отвечающий за синтез белковой молекулы и являющийся единицей транскрипции, называют *транскриптоном* (у эукариот) или *опероном* (у прокариот). По функциональному признаку в опероне выделяют регуляторные и структурные области:

– *Промотор* – участок ДНК, к которому присоединяется РНК-полимераза.

– *Оператор* – место связывания белка – репрессора. Белок-репрессор кодируется геном-регулятором, который располагается вне оперона.

– *Структурные гены* – участки ДНК, несущие информацию о структуре белка. Структурные гены неоднородны и включают в себя *интроны* – не содержащие информации о структуре белка и *экзоны* – кодирующие структуру белковой молекулы.

– *Терминатор* – последовательность нуклеотидов, сигнализирующая о завершении транскрипции. Часто представлена рядом АТ-последовательностей, которые у ряда прокариот распознаются ρ -белком.



Структура Лас-оперона

Такая структура оперона свойственна ДНК *E. Coli*. Он кодирует структуру фермента β -галактозидазы, разрушающего лактозу до глюкозы и галактозы. Поэтому он получил название Лас-оперона.

Структура транскриптона лишь в функциональном отношении совпадает со структурой оперона. Основные его компоненты могут отстоять друг от друга на значительном расстоянии. Например, у эукариот регуляторные белки связываются с участками ДНК, отстоящими от промотора на значительное расстояние. Выявлены участки, усиливающие транскрипцию – *энхансеры* (enhance – усиливать). Существуют последовательности, заставляющие молчать некоторые гены. Их называют *сайленсерами* (silence – заглушать).

Таким образом, структура транскриптона значительно более сложна, чем структура оперона.

2. Механизм транскрипции

Условно выделяют 3 стадии:

1. Инициации
2. Элонгации
3. Терминации

Процесс транскрипции осуществляется ферментом *РНК-полимеразой*. У *E. Coli* РНК-полимераза состоит из 5 субъединиц: α_2 , β , β' , σ и ω . Считают, что β' -субъединица участвует в связывании с матрицей ДНК, β -субъединица осуществляет удлинение цепочки РНК, α_2 -субъединица принимает участие в выборе участка инициации транскрипции, σ -субъединица находит строго определенные последовательности нуклеотидов в промоторе.

На стадии **инициации** σ -субъединица находит соответствующий промотор, и происходит присоединение всей молекулы РНК-полимеразы. После синтеза цепочки РНК примерно из 8 рибонуклеотидов σ -субъединица отделяется от ферментативного комплекса и может быть использована другой РНК-полимеразой. Оставшийся без σ -субъединицы фермент называется *кор-ферментом*. У прокариот РНК-полимеразы одного типа и лишь σ -субъединицы отличаются по строению в зависимости от того, какой промотор они находят.

На стадии **элонгации** кор-фермент осуществляет синтез РНК в направлении $5' \rightarrow 3'$.

На стадии **терминации** белковый ρ -фактор опознает терминирующие последовательности ДНК и прекращает полимеразную реакцию. Кор-фермент отделяется от цепи ДНК и может повторно использоваться после присоединения σ -субъединицы.

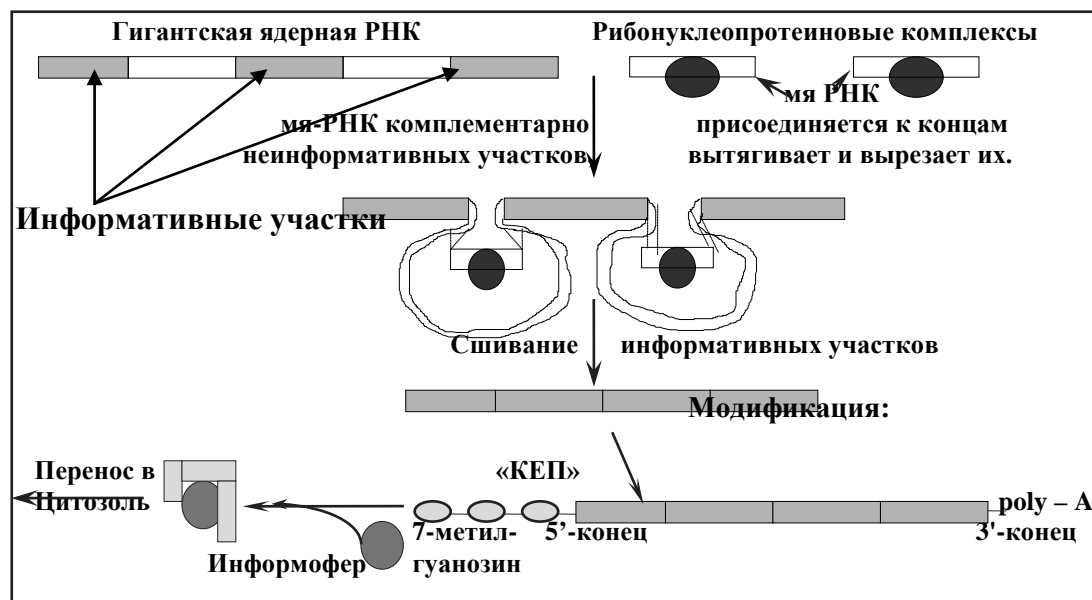
У эукариот выделяют 4 класса РНК-полимераз (I, II, III и IV). РНК-полимераза-I синтезирует большие р-РНК, РНК-полимераза-II – и-РНК, РНК-полимераза-III- мяРНК и т-РНК. Однако, большая часть мяРНК синтезируется РНК-полимеразой-II. РНК-полимераза-IV транскрибирует геном митохондрий. Для опознавания промотора эукариотические РНК-полимеразы используют ряд белков, называемых *факторами транскрипции (TF)*.

2.1. Созревание РНК (процессинг)

В результате транскрипции переписывается нуклеотидная последовательность оперона. Синтезированная молекула РНК является копией оперона и содержит информативные и неинформативные после-

довательности. Такая молекула РНК не может быть использована по назначению. Она называется *предшественником РНК*. Синтезируется 3 типа предшественников:

- 1) пре-иРНК (г-яРНК).
- 2) пре-Трнк.
- 3) пре-м-яРНК.



Процесс преобразования предшественников РНК называют *процессингом*. Процессинг включает в себя 3 операции:

1. Вырезание неинформативных участков.
2. Сшивание информативных участков – *сплайсинг* (to splice – сращивать).
3. Модификация 5' и 3'-концов РНК.

Вырезание неинформативных участков РНК осуществляется рибонуклеопротеиновыми комплексами, в состав которых входят мяРНК.

Процессинг

мяРНК на 5' и 3'-концах имеют нуклеотидные последовательности комплементарные концевым последовательностям неинформативных участков. мяРНК служит матрицей, на которой неинформативный участок вытягивается в виде петли, при этом концы экзонов сближаются. Происходит вырезание неинформативных участков и сшивание информативных участков лигазой.

Модификация 5' и 3'-концов осуществляется также в ядре клетки. К 5'-концу присоединяется олигонуклеотидная последовательность (2-3 метилированных нуклеотида), причем концевым является 7-

метилгуанозин. Эта последовательность носит название «кеп» (колпачок). К 3'-концу строго определенной нуклеотидной последовательности фермент *поли-А-полимераза* присоединяет полиадениловую последовательность. Считают, что такое модифицирование молекулы и-РНК предотвращает ее разрушение экзонуклеазами. Кроме того, «кеп» принимает участие в сборке рибосомы при синтезе белковой молекулы. После всех модификаций молекула РНК связывается с белком *информофером* с помощью поли-А-последовательности и переносится в цитозоль.

Процессинг пре-рРНК (45S) происходит в ядрышке. Вначале метилируется около 100 нуклеотидов, затем рибонуклеазы расщепляют 45S РНК на фрагменты 18S, 5,8S и 28S р-РНК. Гены, кодирующие 5S р-РНК, находятся совершенно в другом месте, и 5SpРНК синтезируется отдельно от 45S р-РНК. Образовавшиеся 5,8S, 28S и 5S РНК включаются в большую субъединицу рибосом. 18S р-РНК формируют малую субъединицу.

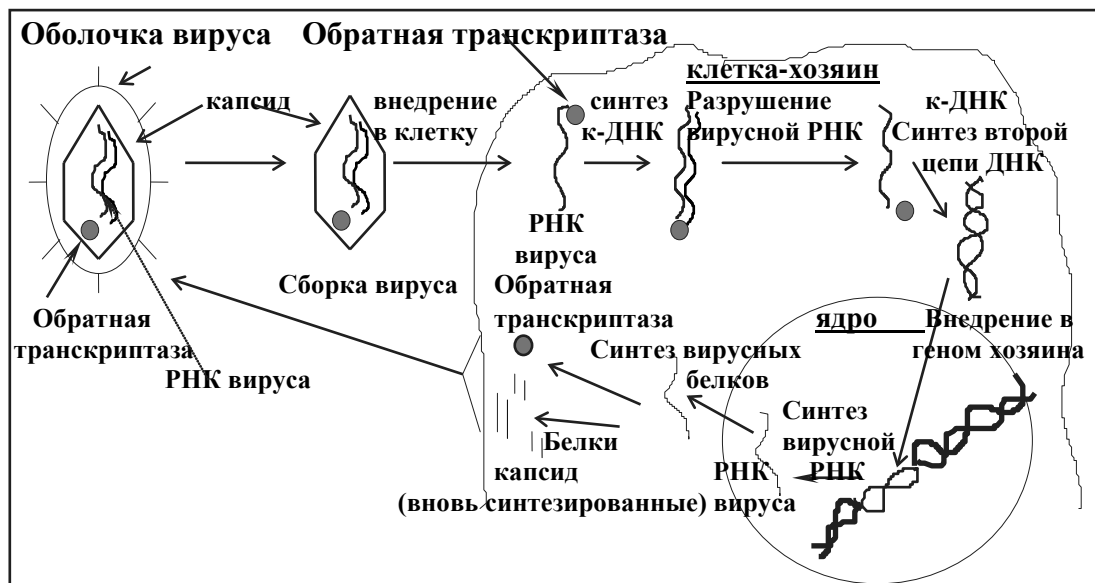
Пре-тРНК образуется в разных местах ДНК хромосом. В ходе процессинга могут образоваться 2 и более молекулы т-РНК. К т-РНК присоединяется 3'-концевая тринуклеотидная последовательность ЦЦА. Это акцепторный участок для присоединения соответствующей аминокислоты. Ряд оснований т-РНК специфически модифицируются (метилование, дезаминирование, восстановление...). Они определяют вторичную структуру молекулы.

Обратная транскрипция

Впервые предсказана в 1962 году Говардом Теминым и открыта в 1970 году Девидом Балтимором. Процесс переноса генетической информации с РНК на ДНК возможен благодаря ферменту *обратная транскриптаза* (*ревертаза*). Это необычная форма ДНК-полимеразы, способная использовать в качестве матрицы и ДНК и РНК. Фермент обладает двумя типами активности.

1) Полимеразной – способен синтезировать цепь ДНК на матрице РНК или на матрице ДНК.

2) Нуклеазной – способен разрушать РНК. Структура молекулы закодирована на молекуле вирусной РНК. Такие вирусы называют *ретровирусами*. К ним относятся такие вирусы как вирус саркомы Рауса, вирус СПИДа и др. Геном ретровируса невелик – около 8500 нуклеотидов. В каждой вирусной частице содержится по 2 таких молекулы. Кроме РНК ретровирус содержит обратную транскриптазу.



Проникновение вируса внутрь клетки приводит к активации обратной транскриптазы. Фермент синтезирует на вирусной РНК так называемую «комплементарную ДНК» (кДНК) – транскрипт. После этого молекула РНК разрушается и на кДНК синтезируется новая цепь ДНК. Образовавшаяся двухцепочечная молекула ДНК встраивается в геном клетки-хозяина. Транскрипция вирусной ДНК приводит к синтезу вирусных белков. В результате вновь формируется вирусная частица. На этом цикл вирусной частицы может быть завершён. Однако ряд вирусных белков могут вмешиваться в процесс клеточного деления. Происходит опухолевая трансформация клетки. Гены, кодирующие синтез таких белков, получили название – *онкогенов*. Изучение вирусных онкогенов значительно приблизило нас к пониманию причин и природы рака и пониманию механизмов регуляции роста и деления клеток.

Лекция 31

БИОСИНТЕЗ БЕЛКОВ (ТРАНСЛЯЦИЯ)

В предыдущей лекции мы рассмотрели направления переноса генетической информации. Генетическая информация хранится в ДНК. В ходе транскрипции переносится на РНК и, наконец, с помощью специфических молекул адапторов (т-РНК), переносится на белок. Перенос генетической информации от РНК на белок получил название *трансляции*.

Генетическая информация записана в нуклеиновых кислотах с помощью генетического кода.

Свойства генетического кода

1) **Триплетность.** Каждая аминокислота кодируется последовательностью из 3 нуклеотидов. Минимальное количество нуклеотидов, способное обеспечить кодирование 20 протеиногенных аминокислот – 3. ($4^2=16$ – недостаточно, $4^3=64$ – даже избыточно).

2) **Вырожденность (избыточность)** – одну и ту же аминокислоту кодирует несколько триплетов. Первый и последний нуклеотиды триплета могут варьировать, средний всегда неизменен. Эту особенность генетического кода можно расценить как защиту от возможных последствий повреждений генетического кода. Если бы каждая аминокислота кодировалась только одним кодоном, то его повреждение обязательно вызвало бы нарушение структуры синтезируемого белка. Наличие нескольких вариантов триплетов уменьшает вероятность таких нарушений.

3) **Наличие иницирующих кодонов** (АУГ и ГУГ). Они кодируют включение в полипептидную цепь формилметионина у прокариот и метионина у эукариот.

4) **Наличие терминирующих кодонов** (УАА, УАГ, УГА). Они указывают место завершения синтеза полипептидной цепи и не кодируют аминокислот.

5) **Неперекрываемость.** Нуклеотид входящий в состав одного триплета не может входить в состав соседнего (при кодировании одного белка).

6) **Однонаправленность считывания.** Направление считывания информации всегда одинаково – $5' \rightarrow 3'$.

7) **Специфичность.** Один триплет соответствует одной аминокислоте.

8) **Универсальность.** У всех живых организмов аминокислоты кодируются одинаковым кодом. Исключение составляют 4 триплета в митохондриальной ДНК. Это, вероятно, обусловлено малым размером генома митохондрий. Поскольку изменения не затрагивали важных белковых структур, то они закреплены в кольцевом геноме. В ядре такие изменения могли бы быть летальными.

9) **Коллинеарность.** Соответствие последовательности аминокислот в белке, последовательности кодонов в РНК.

Трансляция

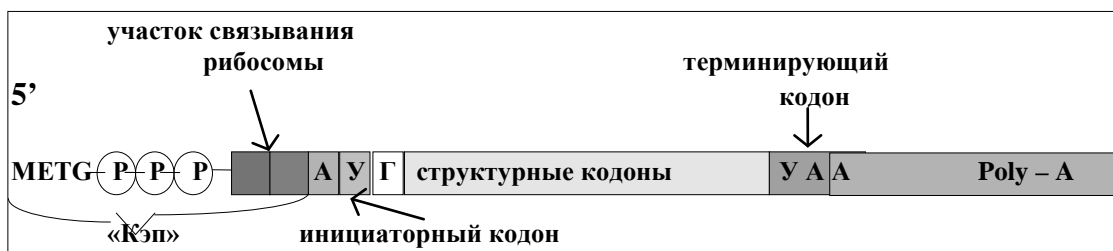
1. Необходимые компоненты и их краткая характеристика

- 1) и-РНК.
- 2) полный набор т-РНК.
- 3) Рибосомы.

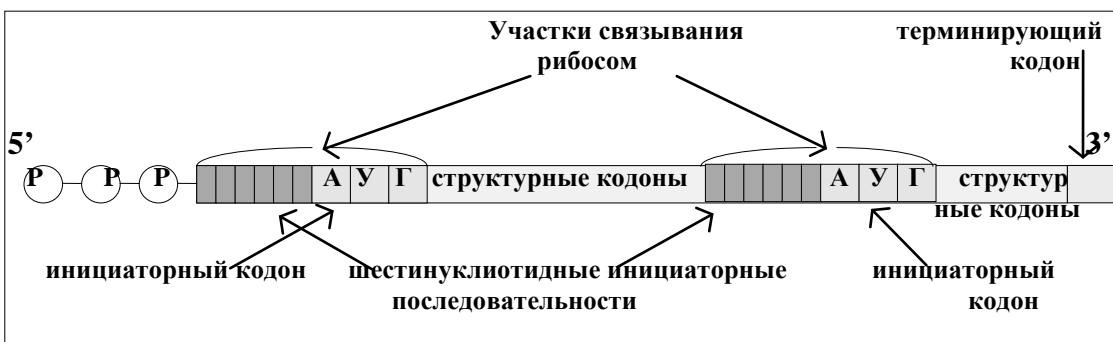
- 4) АТФ, ГТФ, ионы Mg^{++} .
 5) Ферменты аминоацил-т-РНК-синтетазы и пептидилтрансфераза.

6) Ряд вспомогательных белковых факторов.

и-РНК. и-РНК прокариот и эукариот схожи. Однако есть и существенные отличия. У эукариот и-РНК имеет 5'-«кэп». Он состоит из 7-метилгуанозина и двух метилированных по рибозе нуклеотидов. За ними следуют: инициаторный кодон АУГ или ГУГ (кодируют метионин), структурные кодоны (кодируют последовательность аминокислот в белке), терминальные кодоны (УАА, УАГ, УГА – останавливают трансляцию) и полиадениловая последовательность.



Прокариотическая и-РНК не имеет 5'-«кэп» участка и полиадениловой последовательности. Инициаторным кодоном (АУГ), как правило, предшествуют специфические, шестинуклеотидные инициаторные последовательности.



У эукариот инициаторный комплекс, предшествующий сборке рибосомы, опознает именно 5'-«кэп» и следующий за ним инициаторный кодон (АУГ), а затем присоединяется к ним. Ни один другой АУГ – кодон по ходу молекулы и-РНК не может быть местом начала синтеза белка. Поэтому у эукариот синтезируется только 1 белок на основании 1 молекулы и-РНК.

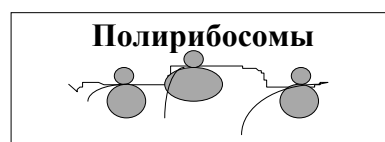
У прокариот рибосома находит специфические шестинуклеотидные последовательности и начинает синтез белка с ближайшего инициаторного АУГ кодона. По-

1.	ААЦ	УЦААГАЦ
2.		

Последовательность 1:
асн-лей-лиз-асн...
 Последовательность 2:
лей-лиз-тре...

сколькx таких последовательностей может быть несколько, то происходит так называемый *сдвиг рамки считывания*. В результате на основе одной молекулы и-РНК прокариот может синтезироваться несколько различных белков. Значение полиадениловой последовательности достоверно не известно. Предполагают, что она обеспечивает связывание с белком информофером при переносе и-РНК в цитозоль, и, возможно, определяет количество молекул белка, которое может быть синтезировано на данной молекуле и-РНК.

Рибосомы. Перенос генетической информации от и-РНК к белку осуществляется с помощью рибосом. Значение их для синтеза белка очень высоко. Именно рибосомы



определяют место начала считывания информации с и-РНК. Ошибка определения места считывания хотя бы на 1 нуклеотид приведет к *сдвигу рамки считывания* и синтезу совершенно иного белка. Именно рибосомы собирают вместе все компоненты синтеза белка и обеспечивают продукцию белковой молекулы. Несколько рибосом могут одновременно считывать информацию с и-РНК, последовательно «сажаясь» на нее, такие комплексы называют *полирибосомами* (или полисомами). Полирибосомы, локализующиеся на эндоплазматическом ретикулуме, в основном синтезируют белки мембран и экспортные белки. Цитозольные полирибосомы обеспечивают синтез белков для нужд клетки.

Рибосомы прокариот по молекулярной массе меньше чем эукариот, и поэтому, при ультрацентрифугировании имеют различные константы седиментации (константы Сведберга S – 70 и 80S соответственно). Они состоят из больших и малых субъединиц. У прокариот 50S и 30S субъединицы, а у эукариот – 60S и 40S. Несоответствие сумм констант Сведберга отдельных субъединиц и целых рибосом обусловлено условиями ультрацентрифугирования (плотность растворов, объем частиц рибосом...). Соотношение р-РНК и белков у прокариот 2:1 (65% РНК и 35% белка) а у эукариот 1:1 (50% РНК и 50% белка). р-РНК эукариот синтезируется в ядрышке в виде предшественника 45S РНК, который затем расщепляется на 5S, 5,8S и 28S р-РНК. Отдельно синтезируется 5S р-РНК. Рибосомные белки синтезируются в цитоплазме и поступают в ядрышко. Здесь образуются рибосомы. Малая субъединица состоит из 18S р-РНК и 33 белков, большая – 5S, 5,8S, 28S р-РНК и 49 белков. У прокариот малая субъединица содержит 16S р-РНК и 21 белок, а большая – 5S, 23S р-РНК и 34 белка.

2. Механизм трансляции

Процесс трансляции условно можно разделить на 5 стадий:

1. Активации аминокислот (образование аминоацил т-РНК).

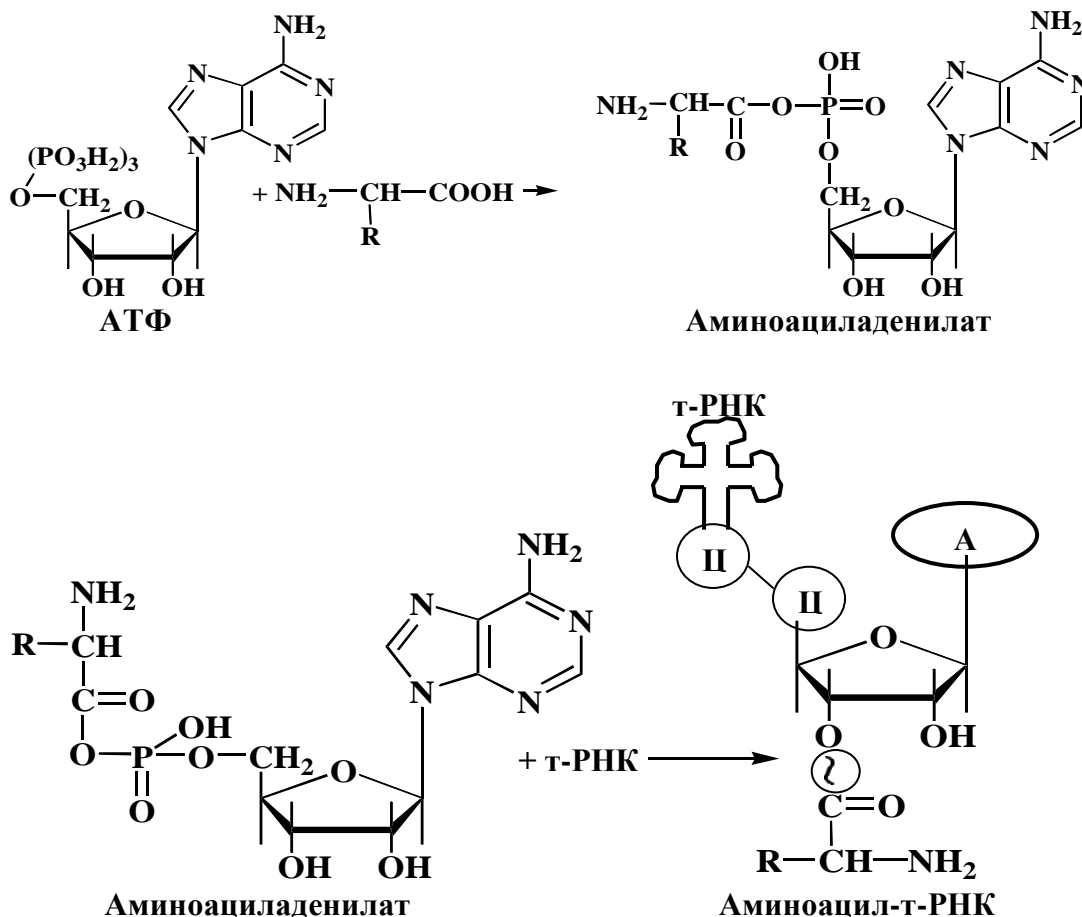
2. Инициации синтеза полипептидной цепи.
3. Элонгации.
4. Терминации.
5. Посттрансляционной модификации.

Активация аминокислот. В синтезе белков участвуют 20 протеиногенных аминокислот. Перед использованием они должны активироваться. Для этого они объединяются с т-РНК, образуя активное макроэргическое соединение – аминоксил-т-РНК. Катализирует этот процесс аминоксил-т-РНК-синтетаза. Для каждой из 20 протеиногенных аминокислот существует свой специфический фермент, который способен проверять правильность присоединения аминокислоты к т-РНК. Если присоединилась неправильная аминокислота, то такая аминоксил-т-РНК разрушается. Редактирующая способность аминоксил-т-РНК-синтетазы достигается благодаря ее особому строению. Фермент имеет 4 центра связывания:

1. Для т-РНК.
2. Для АТФ.
3. Для аминокислоты.
4. Для воды (вода используется для гидролитического устранения неправильно присоединенных аминокислот).

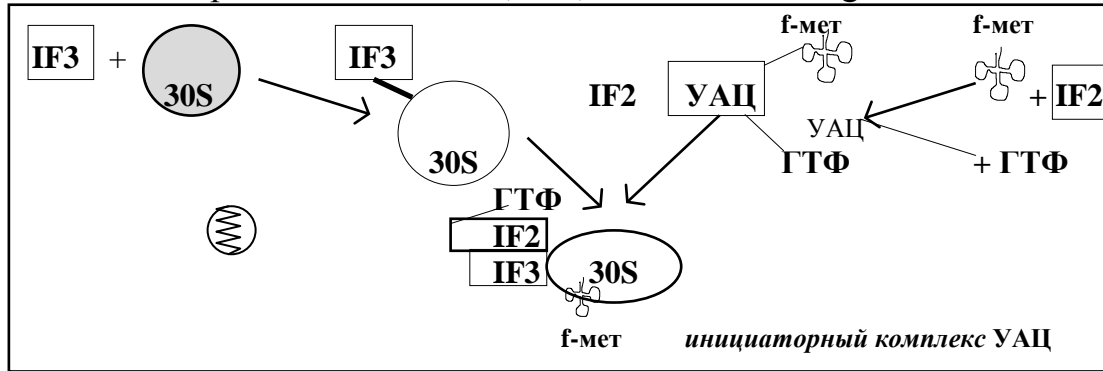
Синтез аминоксил-т-РНК осуществляется в 2 этапа:

1.

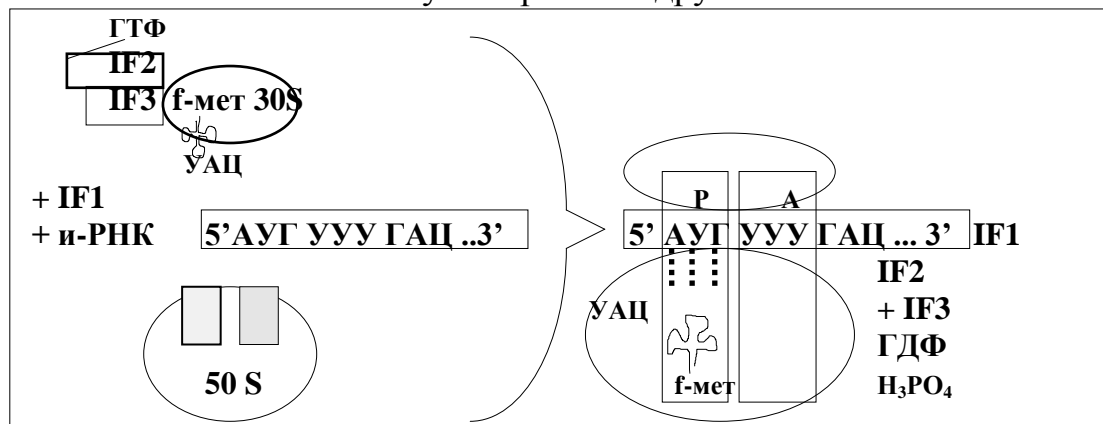


Инициация синтеза полипептидной цепи. Необходимые компоненты:

1. и-РНК.
2. Иницирующая аминоксил-т-РНК (формилметионин-т-РНК у прокариот и метионин-т-РНК у эукариот).
3. Малая и большая субъединицы рибосом.
4. Факторы инициации IF1, IF2, IF3
5. Ионы Mg^{++} и ГТФ.



Стадия инициации начинается с объединения IF3 и малой субъединицы рибосом. IF3 необходима для опознавания на и-РНК иницирующих кодонов (АУГ или ГУГ). В это же время иницирующая формилметионин-т-РНК связывается с IF2 и ГТФ. Оба комплекса объединяются. Образуется *инициаторный комплекс*. Инициаторный комплекс связывается с и-РНК с помощью фактора IF1. IF2 способствует объединению большой и малой субъединиц рибосом. Процесс протекает с затратой энергии ГТФ. После объединения обеих субъединиц высвобождаются все иницирующие факторы, ГДФ и неорганический фосфат. Описанный процесс необходим для определения точного места начала синтеза белка. Ошибка даже в 1 нуклеотид приведет к сдвигу рамки считывания и синтезу совершенно другого белка.



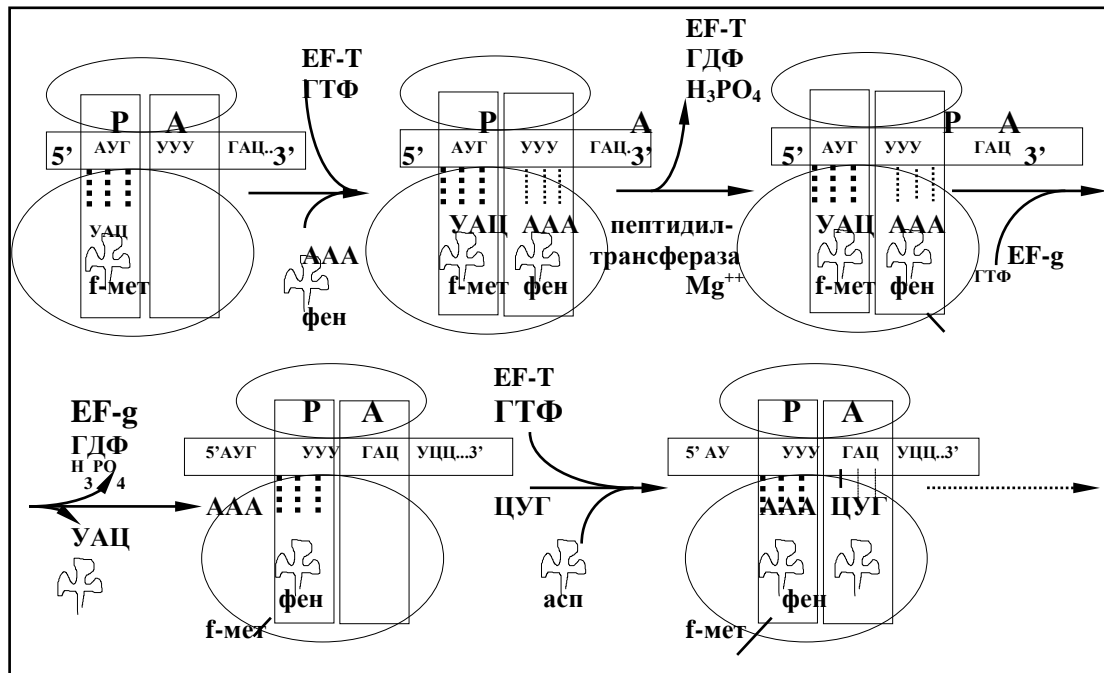
В собранной рибосоме имеются 2 участка:

1. А-участок (аминоацильный) – имеет сродство к аминоксил-т-РНК;
2. Р-участок (пептидильный) – имеет сродство к пептидил-т-РНК.

Стадия инициации завершается присоединением в Р-участке к кодону и-РНК формилметионин-т-РНК соответствующим антикодону. В А-участке находится следующий кодон и-РНК, и он свободен для присоединения соответствующей аминоксил-т-РНК.

Элонгация полипептидной цепи. Необходимые компоненты:

1. Полный набор аминоксил-т-РНК.
2. Фермент пептидилтрансфераза.
3. Факторы элонгации EF-T, EFg.
4. Ионы Mg^{++} и ГТФ.



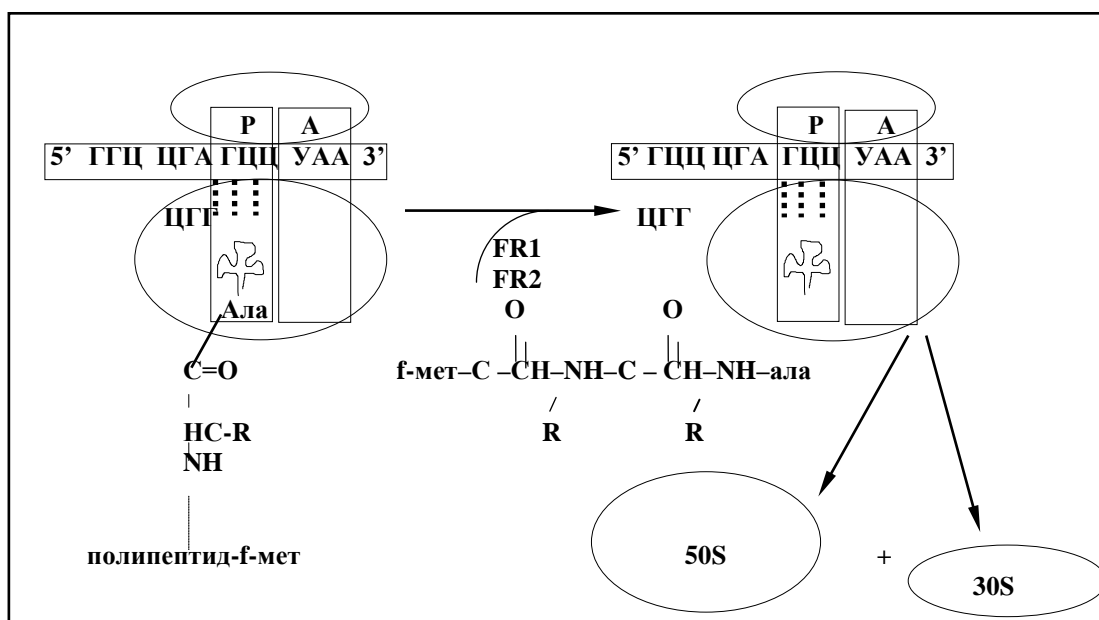
Элонгация начинается с присоединения аминоксил-т-РНК в А-участок рибосомы к комплементарному кодону и-РНК. Присоединение происходит с затратой энергии ГТФ и при участии фактора ЕFT. В результате между кодоном и-РНК и антикодоном аминоксил-т-РНК образуются водородные связи. Когда 2 аминокислоты оказываются рядом, фермент пептидилтрансфераза образует между этими аминокислотами пептидную связь. Пептидная связь образуется за счет макроэргической связи аминоксил-т-РНК. Образовавшийся дипептид силами гидрофобного взаимодействия связан с Р-участком рибосомы, но, в то же время, он связан с т-РНК в А-участке. т-РНК присоединена водородными связями к кодону и-РНК. Дипептид не имеет сродства к А-участку. При участии EFg фактора, с затратой энергии ГТФ происходит перемещение пептидил-т-РНК в Р-участок. EFg обладает ГТФ-азной активностью, иными словами – является ГТФ-азой. В результате рибосома делает 1 шаг по и-РНК, и в А-участке появляется новый кодон и-РНК. Перемещение пептида из А-участка в Р-участок называют *транслокацией*. К поступившему в А-участок кодону и-РНК вновь, по

принципу комплементарности присоединяется соответствующая аминокислота-т-РНК и процесс повторяется снова. Повторы происходят до тех пор, пока в А-участок не придет один из терминирующих кодонов.

Стадия терминации. Необходимые компоненты:

Особые цитоплазматические белки – *факторы высвобождения* (FR1, FR2).

Указанные факторы опознают терминирующие кодоны (не кодирующие аминокислоты-т-РНК, нонсенс-кодоны). FR1 – опознает УАА и УАГ, FR2 – опознает УАА и УГА и связываются с ними. При этом они изменяют активность пептидилтрансферазы. Фермент приобретает пептидилэстеразную активность и присоединяет к пептидил-т-РНК не аминокислоту, а воду. В результате полипептидная цепь отделяется от т-РНК. Рибосома диссоциирует на большую и малую субъединицы.



Фермент деформилаза (у прокариот) отщепляет формильную группу у N-концевого (инициаторного) формилметионина. Часто и у прокариот и у эукариот отщепляется N-концевой метионин от синтезированного пептида. В дальнейшем синтезированная полипептидная цепь спонтанно приобретает вторичную структуру, ферментативными путями – третичную и если белок олигомерен, то приобретает и четвертичную структуру.

Посттрансляционная модификация. На этой стадии происходит формирование белковой молекулы, пригодной для выполнения функции. Для этого может (не всегда) происходить химическая модификация белка: метилирование по аминогруппе лизина и аргинина, фосфорилирование по ОН-группе серина, окисление лизина, пролина, присоединение кофактора, осуществляться частичный протеолиз.

3. Регуляция биосинтеза белков

Регуляции подвержены практически все этапы синтеза белков. Метаболиты и гормоны через ряд посредников способны изменять активность транскрипции; гормоны способны влиять на посттрансляционную модификацию белков через изменение активности ферментов метилаз и др., сами вновь синтезированные белки могут активировать разрушение своих и-РНК.

В 1966 году впервые были идентифицированы и выделены белки-репрессоры лактозного оперона (Лас-оперон). (Структура Лас-оперона была рассмотрена в предыдущей лекции). Открытие белков-репрессоров послужило толчком к изучению деятельности Лас-оперона и позволило Жакобу и Моно сформулировать концепцию регулируемого оперона.

В процессе регуляции участвуют 3 типа генов:

1) Ген оператор – связывается с белком репрессором и предотвращает транскрипцию.

2) Ген регулятор – кодирует структуру белка-репрессора и.

3) Структурные гены (кодируют β -галактозидазу – фермент, расщепляющий лактозу до глюкозы и галактозы, галактозидпермиазу – обеспечивает транспорт галактозидов из среды в клетку и тиогалактозил-ацетилтрансферазу).

В состав оперона входят:

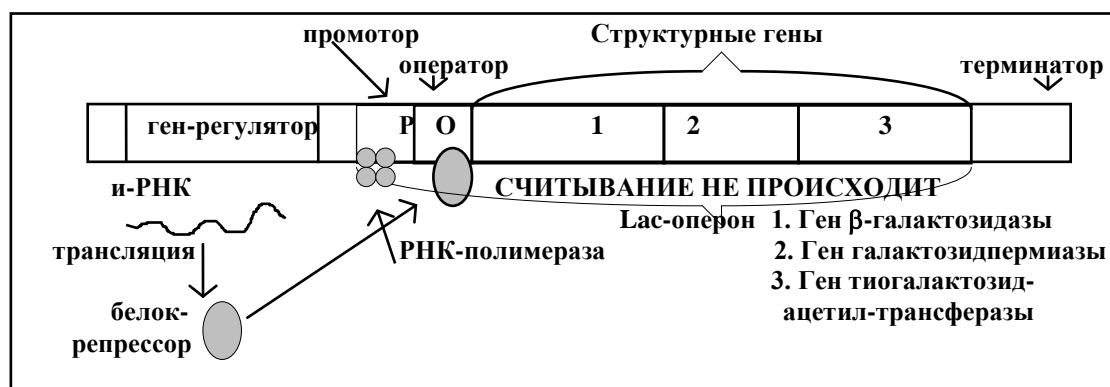
1) Промотор (к нему присоединяется РНК-полимераза).

2) Ген-оператор.

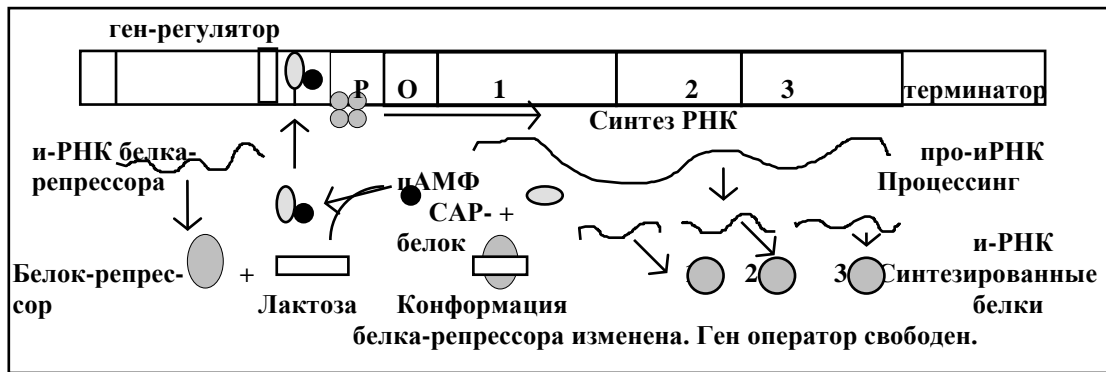
3) Структурные гены.

4) Терминирующая последовательность.

Если клетки *E. Coli* растут на среде, содержащей лактозу, то в них синтезируется фермент β -галактозидаза. Если в среде вместо лактозы находится глюкоза, β -галактозидаза не синтезируется.



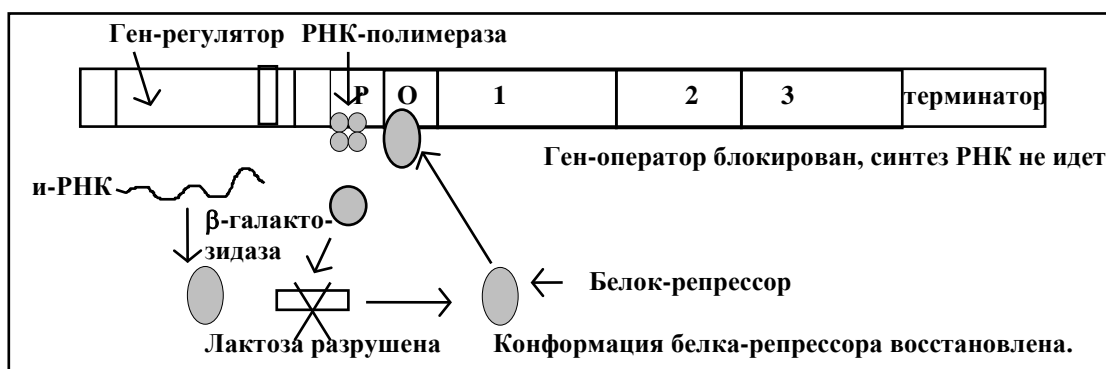
Появление в культуральной среде лактозы (индуктор) стимулирует синтез β -галактозидазы по следующему механизму:



Индуктор (лактоза) связывается с белком-репрессором и образует прочный комплекс. Конформация белка-репрессора изменяется, и он отделяется от гена оператора. Одновременно индуцируется образование комплекса цикло-АМФ-связывающего белка (САР-белок – catabolite activator protein) и ц3'5'-АМФ. Образовавшийся комплекс связывается с промотором и активирует транскрипцию ДНК ферментом РНК-полимеразой. Синтезированная РНК подвергается процессингу, и образуется 3 молекулы и-РНК, на основании которых синтезируются β-галактозидаза, галактозидпермиаза и тиогалактозид-ацетилтрансфераза. Индукция синтеза этих белков получила название *позитивной регуляции*.

После переваривания лактозы комплекс белок-репрессор – лактоза разрушается. Конформация белка-репрессора меняется на исходную и он присоединяется к гену-оператору. Такая регуляция получила название *негативной*.

В течение длительного времени оставалось неизвестным, можно ли применить эту модель контроля биосинтеза белка к клеткам эукариот. В настоящее время известно, что модель Жакоба и Моно лишь частично применима для эукариот. Регуляция биосинтеза белка в клетках эукариот значительно сложнее. Это обусловлено более сложной организацией ДНК эукариот. В эукариотических клетках ДНК упакована в нуклеосомы, регуляторные белки часто связываются с участками, удаленными от промоторов на значительные расстояния. У эукариот более обширны регуляторные зоны.



Антибиотики – ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот и белков

Многие из наиболее эффективных антибиотиков, применяемых в современной медицине, действуют через ингибирование биосинтеза белка в бактериальной клетке. Знания особенностей структуры белок-синтезирующего аппарата у прокариот и эукариот позволили создавать высокоэффективные препараты, действующие преимущественно на метаболизм прокариот. Избирательность действия этих препаратов позволяет применять их в больших концентрациях без риска вызвать токсический эффект у человека.

Антибиотики, эффективные только в отношении прокариот:

1) **Тетрациклин** – предотвращает связывание аминоацил-т-РНК с А-участком рибосомы. Прекращается элонгация белковой молекулы.

2) **Неомицин и стрептомицин** – связываются с 30S субъединицей рибосом и изменяют ее конформацию. На стадии инициации нарушается сборка рибосомы на и-РНК.

3) **Левомецетин** (хлорамфеникол) – связывается с 50S субъединицей рибосомы и ингибирует фермент пептидилтрансферазу. Не образуется пептидная связь между аминокислотами и прекращается удлинение полипептидной цепи.

4) **Эритромицин и олеандомицин** – блокируют реакцию транслокации пептидил-т-РНК в Р-участок рибосомы.

5) **Рифампицин** – ингибирует стадию инициации транскрипции, связываясь с ДНК-зависимой РНК-полимеразой. Прекращается синтез и-РНК. Препарат активен также и в отношении вирусов.

Антибиотики, эффективные в отношении прокариот и эукариот.

1) **Пурамицин** – связывается с пептидил-т-РНК и вызывает преждевременное отделение полипептида от рибосомы.

2) **Актиномицин Д** – связывается с остатком дезоксигуанина в молекуле ДНК и блокирует перемещение РНК-полимеразы по молекуле ДНК. Прекращается удлинение молекулы РНК.

Эффективны только в отношении эукариот.

1) **Циклогексимид** – прекращает реакцию транслокации на рибосомах.

2) **Анизомидин** – ингибирует пептидилтрансферазную реакцию на рибосомах.

И в заключении можно указать еще одно вещество, не относящееся к антибиотикам, однако, часто встречающееся в медицинской практике – яд бледной поганки – **α -аманитин**. Он избирательно ингибирует активность РНК-полимеразы II. В результате прекращается синтез и-РНК.

Все указанные вещества действуют на различных уровнях биосинтеза белка.

На уровне транскрипции (биосинтез РНК):

1. Актиномицин Д.
2. Рифампицин.
3. Яд бледной поганки – α -аманитин.

На различных стадиях трансляции:

1. Тетрациклин.
2. Стрептомицин и неомицин.
3. Левомецетин.
4. Эритромицин и олеандомицин.
5. Пурамицин.
6. Циклогексимид.
7. Анизомицин.

Лекция 32

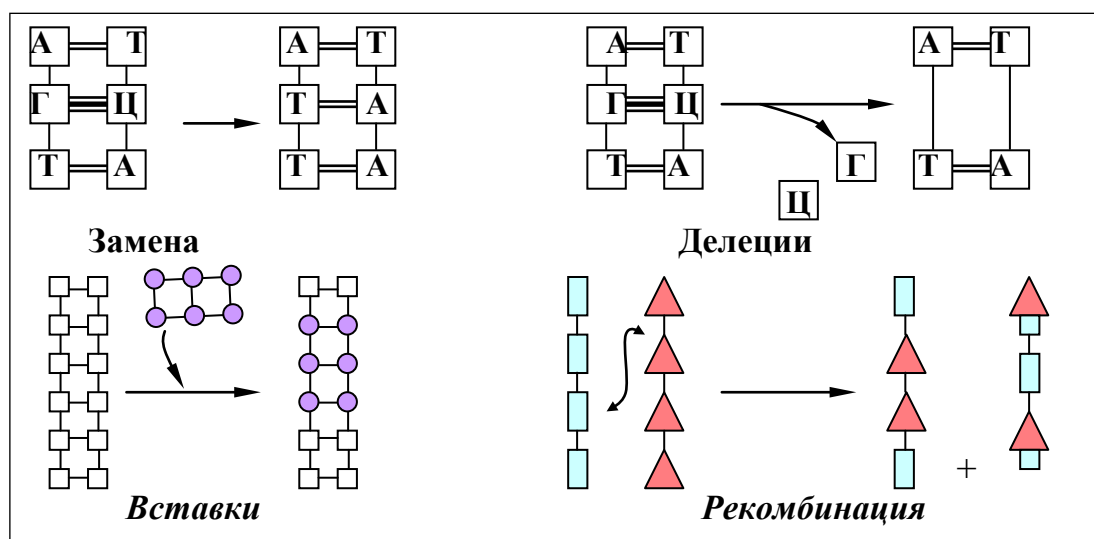
МУТАЦИИ И ИХ РОЛЬ В ОНТОГЕНЕЗЕ. КАНЦЕРОГЕНЕЗ

Мутации и мутагены

Нерепарированные изменения последовательности нуклеотидов в молекуле ДНК называют мутациями.

ДНК выполняет 2 очень важные и, на первый взгляд, взаимоисключающие функции. Это хранение генетической информации и адаптация к окружающей среде. Первая требует высокой степени консерватизма, а вторая – обеспечивается изменением генетической информации. Однако если смотреть с позиции выживания вида, эти функции не противоречат, а взаимно дополняют друг друга. Шансы вида на долговременное существование могут возрасти вследствие изменений в его генетической конституции (появление новых положительных признаков), а выживание каждой конкретной особи данного вида требует сохранения генетической информации (поскольку большинство изменений генома вредны). Поддержание постоянства генетического материала обеспечивается высокоэффективными механизмами *репарации* ДНК. Если эти механизмы не срабатывают, то изменения генетического аппарата закрепляются и называются *мутацией*. Все мутации условно могут быть разделены на точечные и распространенные. Первые затрагивают незначительные фрагменты генома, вторые имеют более значительную протяженность. Наиболее распространенные мутации

сводятся к *замене* пар оснований (замена одного пиримидина на другой называется *транзицией*, а замена пурина на пиримидин или наоборот называется *трансверсией*), *делециям* (выпадение одного или нескольких нуклеотидов) и *вставкам* (появление новых, не свойственных ранее данному участку ДНК, одного или нескольких нуклеотидов). Последние 2 типа мутаций также называют *мутациями со сдвигом рамки считывания*. Сдвиг рамки считывания обусловлен тем, что будет нарушен порядок считывания информации и, следовательно, изменен код считываемого белка. Неотъемлемой частью мутаций является *рекомбинация*. С ее помощью части генома или даже целые гены могут перемещаться с одного участка молекулы ДНК на другой, образуя новые комбинации генов и давая начало новым белкам, обладающими совершенно новыми функциями.



Частота мутаций не высока – примерно одна случайная замена пары нуклеотидов из нескольких тысяч за 2 000000 лет. И даже при столь не высокой скорости мутирования в популяции из 10000 особей, каждая возможная нуклеотидная замена будет испробована около 50 раз. Если какая-либо из замен несет в себе преимущества, то она будет закреплена генетически в ходе естественного отбора. Однако, «точечная» замена нуклеотидов не столь эффективна в эволюционном плане. Значительная нагрузка, в этом отношении, приходится на генетическую рекомбинацию.

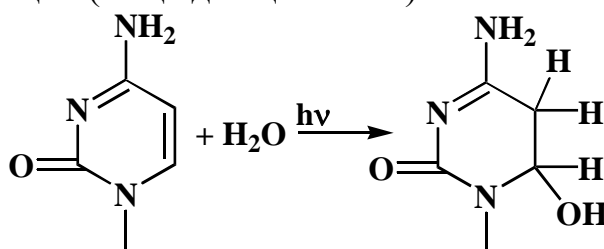
Спонтанные мутации встречаются не часто, однако их количество может в значительной степени увеличиться под воздействием различных мутагенных факторов. Все мутагенные факторы условно можно разделить на 3 группы.

1. Химические.
2. Физические.
3. Биологические.

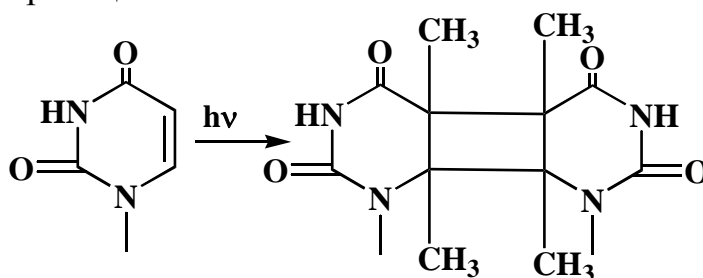
Химические. К наиболее сильным химическим мутагенам относятся *алкилирующие агенты* (вещества способные вводить различные углеводородные радикалы в молекулы органических соединений). Они способны избирательно взаимодействовать с атомом азота в 7-ом положении гуаниновых остатков. Алкилирование гуанина приводит к возникновению ошибок при спаривании комплементарных азотистых оснований. Наиболее мощные представители алкилирующих агентов это иприт и его аналоги. Еще одна часто встречающаяся группа алкилирующих агентов это нитрозамины. Нитрозамины могут образовываться при взаимодействии любого вторичного амина с азотистой кислотой. Такая реакция может протекать и в желудке. Образующиеся при этом нитрозамины могут всасываться и оказывать токсичное действие на различные ткани. Нитрозамины являются также сильными канцерогенными веществами. По этой причине употребление пищи, богатой нитратами, представляет значительную опасность.

Физические. К этой группе мутагенов относятся высокоэнергетические излучения (ультрафиолетовое, рентгеновское). Наиболее часто встречаются 2 типа реакций повреждения ДНК с участием пиримидинов (пурины примерно в 10 раз менее чувствительны к облучению, чем пиримидины).

1. Фотогидратация (чаще для цитозина).



2. Фотодимеризация тимина.



Ежегодно промышленность выпускает более 500 новых химических веществ, некоторые из них применяются в качестве лекарственных препаратов, и могут обладать мутагенной активностью. Многие мутагенные и канцерогенные вещества в обычных условиях могут не проявлять патологической активности. Однако в живых организмах они могут подвергаться химической модификации (чаще гидроксилирование в ходе микросомального окисления) и превращаться в химические мутагены. Процесс получил название *летальный синтез*. Учитыв-

вая, что человек все больше исключает механизмы естественного отбора, данная проблема становится все более актуальной.

Биологические. К данной группе относятся микроорганизмы, способные вызывать мутации. Реализация мутагенного действия может быть осуществлена через химические вещества, продуцируемые этими микроорганизмами (афлатоксины – канцерогены, продуцируемые *Aspergillus flavus*), либо через введение фрагментов своего генетического аппарата в геном хозяина (ряд ретровирусов).

Рак

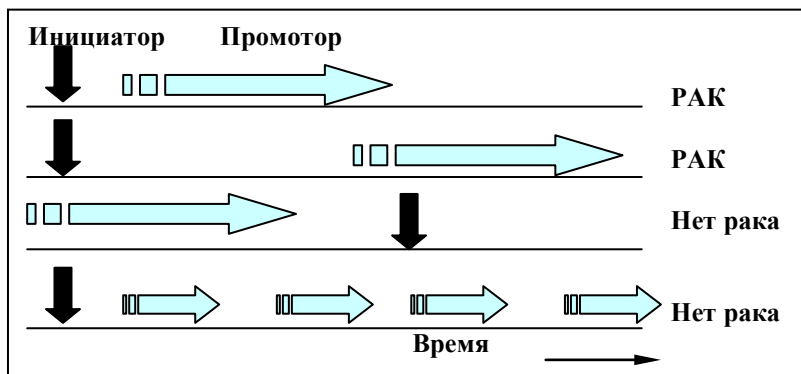
Большинство раковых опухолей начинается с изменений последовательности нуклеотидов в клеточной ДНК. Однако единичной мутации в одной или нескольких клетках может быть недостаточно для развития опухоли. Иногда опухоль может развиваться без нарушений структуры ДНК как следствие наследуемых особенностей регуляции экспрессии генов. В целом, каждый конкретный случай рака нельзя целиком свести к какой-то одной причине. Рак, как правило, является результатом случайного совпадения в одной клетке нескольких независимых событий. Чаще всего возникновение опухоли наблюдается как эффект накопления (кумуляции). Поэтому развитие рака, как правило, является длительным процессом. Скорость развития рака зависит от 4 основных показателей:

1. Скорости мутирования или частоты возникновения мутаций.
2. Численности популяции мутировавших клеток.
3. Скорости размножения (среднее число поколений потомства в единицу времени).
4. Избирательного преимущества мутантной клетки, которое оценивается по числу выживших потомков, произведенных за единицу времени, к такому же показателю для немутантной клетки. Избирательное преимущество зависит от природы мутации и от условий окружающей среды. Существенное влияние на него оказывают особенности генетического аппарата, регулирующего экспрессию генов.

1. Химический канцерогенез

Одной из наиболее распространенных причин опухолевого роста, в настоящее время, является химическое воздействие на клетку. Канцерогенными могут оказываться различные вещества. Некоторые из них действуют на клетки-мишени в своем неизменном виде, другие требуют преобразования в более активную форму (чаще всего гидроксилирование ферментом цитохром-Р-450-оксидазой в ходе микросомального окисления). В настоящее время известно большое количество

канцерогенов с различными свойствами, однако, единственное свойство которое их объединяет – это способность вызывать мутации. Опухолевый рост могут вызывать не только химические факторы, способные вызывать мутации. В ряде случаев опухоль развивается и без изменения последовательности нуклеотидов. Так, например, у мышей рак кожи можно вызвать, втирая в кожные покровы химический канцероген (мутаген) бензпирен. Одно-кратный контакт с канцерогеном не вызывает опухолевой трансформации, однако



вызывает скрытые повреждения генома. В результате повторное взаимодействие с веществом другой природы может привести к развитию опухоли. Причем это второе вещество не вносит изменений в структуру генома. О канцерогене, в данном случае говорят, как об *опухолевом инициаторе*. А вещества, сами по себе не являющиеся канцерогенами, но вызывающие опухолевый рост после воздействия инициатора называют *опухолевыми промоторами*. Из опухолевых промоторов наиболее изучены форболовые эфиры. Они способны искусственно стимулировать активность протеинкиназы С и, тем самым, через фосфатидилинозитольный механизм, вероятно, искусственно стимулировать деление клеток (или задерживать клетки в состоянии продолжающегося деления). Отдельно от инициатора промотор не может стимулировать опухолевый рост. В местах воздействия инициатора начинается рост доброкачественных новообразований – *папиллом*. Чем больше исходная доза инициатора, тем больше количество папиллом. Промотор может активировать работу генов контролирующей пролиферативную активность и, тем самым, активировать рост злокачественной опухоли.

2. Онкогены. Протоонкогены и механизм их превращения в онкогены. Онкогенные вирусы

Животные клетки требуют гораздо более сложных условий для своего роста и деления, чем клетки простейших. Если клетки позвоночных животных выращивать в стандартной искусственной культуральной среде, полностью лишенной кровяной сыворотки, то они, в большинстве случаев перестанут расти и остановят свое деление. Исследования показали, что незаменимыми компонентами сыворотки являются высокоспецифичные белки. Различным клеткам необходимы

различные белки. Некоторые из таких белков непосредственно участвуют в стимуляции клеточного деления. Их называют *факторами роста*. В дополнение к факторам роста существуют факторы, тормозящие пролиферативную активность, однако, они менее изучены. Существует ряд факторов осуществляющих регуляцию межклеточных взаимодействий – *цитокины*. Все эти вещества ряд исследователей рассматривают как «микроэндокринную систему», которая осуществляет регуляцию жизнедеятельности клеток. Все эти регуляторные белки кодируются определенными генами.



При любой форме рака нарушаются процессы нормальной регуляции роста и пролиферации клеток. Некоторые элементы механизма, регулирующего клеточное деление, по-видимому, одинаковы во многих типах клеток. Пролиферация клеток может регулироваться либо через механизмы, заставляющие клетку начинать очередной цикл деления, или через механизмы, регулирующие вступление клетки на путь окончательной дифференцировки. И в первом и во втором случаях, нормальные гены, регулирующие пролиферацию, можно разделить на

2 группы. Продукты первых стимулируют пролиферацию, а продукты вторых – ее подавляют. Соответственно существует 2 типа мутаций. Первые приводят к увеличению активности «стимулирующего» гена. Такой измененный ген получил название *онкогена*, а его нормальный аллель называют *протоонкогеном*. Мутации второго типа приводят к инактивации «инактивирующего» гена. Такой ген называют также *опухолевым супрессорным геном*. Существует достаточно большое количество механизмов превращения протоонкогена в онкоген или инактивации супрессорного гена. Ген может измениться в результате точечной мутации, хромосомной транслокации или вставки подвижного генетического элемента, такого как ДНК ретровируса. Если указанные изменения произойдут в участках, кодирующих регуляторный белок, это может привести к продукции белка-регулятора пролиферации с аномально высокой активностью или белка-репрессора со сниженной или отсутствующей активностью. В случае, когда изменения произойдут в прилежащих регуляторных участках, может осуществляться гиперэкспрессия гена и, соответственно, аномально высокая продукция нормального регуляторного белка. В ряде случаев аномальная репликация хромосом может привести к *амплификации* (увеличение количества копий) гена, кодирующего регуляторные белки. Это может также привести к гиперпродукции регуляторного белка. Роль протоонкогенов в настоящее время интенсивно изучается. Продукты многих генов взаимодействуют между собой как компоненты сложной регуляторной сети. Одни протоонкогены кодируют факторы роста, другие – их рецепторы, а также некоторые протеинкиназы, третьи – G-белки семейства *ras* или ядерные регуляторные белки. Например, мутации гена, кодирующего тромбоцитарный фактор роста (*c-sis*), приводят к его гиперэкспрессии, в результате клетки получают возможность постоянно стимулировать свой рост, усиление экспрессии гена *c-myc* (кодируемый им белок участвует в подготовке ядра к делению) способствует переходу клетки к неограниченному делению.

Кроме мутаций генов контроля пролиферации, к развитию опухолевого процесса может привести внедрение чужеродной ДНК, которая вводится в клетку вирусом и, через свои продукты, вмешивается в процесс контроля клеточного деления. Вирусы, способные вызывать опухолевый рост, получили название *онкогенных вирусов*. Ранее, во второй лекции, мы рассматривали механизм действия ретровирусов. Внедренный в ДНК клетки-хозяина ген вируса может действовать как онкоген, вызывая опухолевую трансформацию. Однако, онкоген вирусного происхождения принципиально отличается от онкогенов самой клетки, – у него нет гомолога в геноме нормальной клетки. Большинство ДНК-содержащих ретровирусов относительно безвредны для клетки-хозяина. Зараженная клетка постоянно выделяет новые вирус-

ные частицы и не вызывает опухолевой трансформации клетки. Однако иногда может происходить случайный захват ретровирусом регуляторного клеточного гена, его испорченной копии или части этого гена. Эти гены не используются самим вирусом, но могут кардинально изменять судьбу клетки-хозяина, приводя к ее опухолевой трансформации. Протоонкоген, включенный в состав ретровируса, может трансформироваться в онкоген двумя путями.

1. В результате изменения последовательности или фрагментации гена (в итоге синтезируется белок с аномальной активностью).

2. В результате попадания протоонкогена под контроль регуляторных систем самого вируса, что приводит к избыточному синтезу его продукта и созданию неподходящих условий для его функционирования.

Еще один механизм может обеспечить опухолевую трансформацию клетки. ДНК копии вирусной РНК могут встраиваться рядом с протоонкогенами или даже внутри их. Это может вызвать аномальную активацию нарушенного встраиванием гена. Такой механизм получил название *вставочного (инсерционного) мутагенеза*.

Полиморфизм белков

Как уже было сказано выше, мутации, с точки зрения эволюции, скорее полезны, чем вредны. При эффективно работающем механизме естественного отбора мутации позволяют приобретать новые полезные для выживания вида свойства, усложняют живую систему, позволяя ей наиболее адекватно приспособиться к условиям окружающей среды. Исключение естественного отбора ведет к накоплению негативных признаков в генетическом аппарате живых организмов. Анализ ДНК позволяет утверждать, что многие белки, в эволюционном плане, происходят из одного гена, который в ходе эволюции дал ряд новых генов, кодирующих белки с новыми функциями. В результате возникли множественные формы одного и того же белка, предназначенного для выполнения одной и той же функции с некоторыми отличиями для различных клеток и тканей. Например, у млекопитающих почти каждый ген представлен в нескольких вариантах: разные гены актина в различных типах сократительных клеток, разные гены родопсина для восприятия различных цветов, различные гены коллагена для различных типов соединительной ткани. В качестве иллюстрации рассмотрим семейство белков глобинов (гемоглобин). Ряд генов, кодирующих белки семейства глобинов, локализуются в различных местах, однако имеют единого эволюционного предшественника. Самая простая молекула, переносящая кислород, обнаружена у насекомых, морских червей и примитивных рыб. Молекула гемоглобина высших позвоночных

устроена более сложно. По-видимому, около 500 миллионов лет назад, в ходе эволюции высших рыб произошла серия мутаций и удвоений соответствующего гена. В результате образовались 2 незначительно отличающихся между собой гена. Они кодировали цепи α - и β -глобинов. У современного человека молекула гемоглобина состоит из двух α - и двух β -цепей. Такая структура более эффективна, чем структура, состоящая из одной цепи. Она позволяет переносить большее количество кислорода (за счет кооперативного эффекта). Гемоглобин, состоящий из двух α - и двух β -цепей ($\alpha_2\beta_2$) в наибольшем количестве встречается у взрослого человека и поэтому называется гемоглобин А (Adult – взрослый).

Существует еще одна разновидность взрослого гемоглобина – гемоглобин-А₂. Он состоит из двух α - и двух δ -цепей ($\alpha_2\delta_2$). В организме взрослого человека он представлен в небольшом количестве и поэтому получил название минорного гемоглобина.

В ходе дальнейшей эволюции мутации подвергся ген, кодирующий β -цепь. Образовавшаяся новая цепь получила название γ -цепи. Гемоглобин, состоящий из двух α -цепей и двух γ -цепей ($\alpha_2\gamma_2$), имеет большее сродство к кислороду, чем обычный гемоглобин А. Этот тип гемоглобина преобладает у плода во внутриутробном периоде развития, он получил название гемоглобин F (fetal-плодный). Большее сродство к кислороду позволяет ему переносить кислород из крови матери (низкое парциальное давление кислорода) к тканям плода.

Замена отрицательно заряженной глутаминовой кислоты в 6-ом положении β -цепи на гидрофобную аминокислоту валин привела к образованию гемоглобина-S (α_2S_2). У такого гемоглобина на поверхности β -субъединицы образуются так называемые «липкие концы». На поверхности дезоксигенированного гемоглобина существует участок, комплементарный «липким концам» β -субъединицы. Этот участок прочно связывается с «липкими концами», в результате молекула гемоглобина полимеризуется и выпадает в осадок и деформирует эритроцит. Эритроцит приобретает серповидную форму и быстро лизируется.

Вообще известно несколько сотен мутантных форм гемоглобина. Патологические состояния, при которых мутация вызывает изменение биологической функции гемоглобина, называют *гемоглобинопатиями*. Другая аномалия гемоглобина, связанная с понижением скорости синтеза его цепей получила название *таласемии*. В зависимости от того, синтез какой цепи нарушен, различают α - и β -таласемии.

Наряду с множественными формами гемоглобина существуют множественные формы и многих других белков.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – фермент, который обратимо катализирует реакцию преобразования пирувата в лактат. В организме человека представлен пятью формами. Каждая форма состоит из четырех

субъединиц двух типов – Н (heart – сердце, преимущественно встречается в кардиомиоцитах) и М (muscle – мышца, преимущественно в поперечно-полосатой мускулатуре). ЛДГ₁ – НННН, ЛДГ₂ – НННМ, ЛДГ₃ – ННММ, ЛДГ₄ – НМММ, ЛДГ₅ – ММММ. Каждая из форм этого фермента имеет свою органную локализацию и приспособлена к работе именно в клетках этого органа. ЛДГ₁ ингибируется избытком пирувата и кислорода и представлена в органах, работающих, преимущественно, в аэробных условиях (сердце). В этих органах пируват окисляется до углекислого газа и воды и поэтому, нет необходимости преобразования его в лактат. ЛДГ₄ и ЛДГ₅ локализуются в поперечно-полосатой мускулатуре, активируются избытком пирувата. Эта особенность позволяет восстанавливать пируват до лактата при увеличении мышечной активности.

Еще одним примером множественных форм ферментов можно назвать гексокиназу. Гексокиназа мозга обладает малой константой Михаэлиса, что позволяет фосфорилировать глюкозу даже при низких ее концентрациях. Эта особенность делает энергетику мозга несколько менее зависимой от концентрации глюкозы. Глюкокиназа печени имеет большую константу Михаэлиса и проявляет свою максимальную активность при высоких концентрациях глюкозы (внутриклеточная концентрация глюкозы в печени высока).

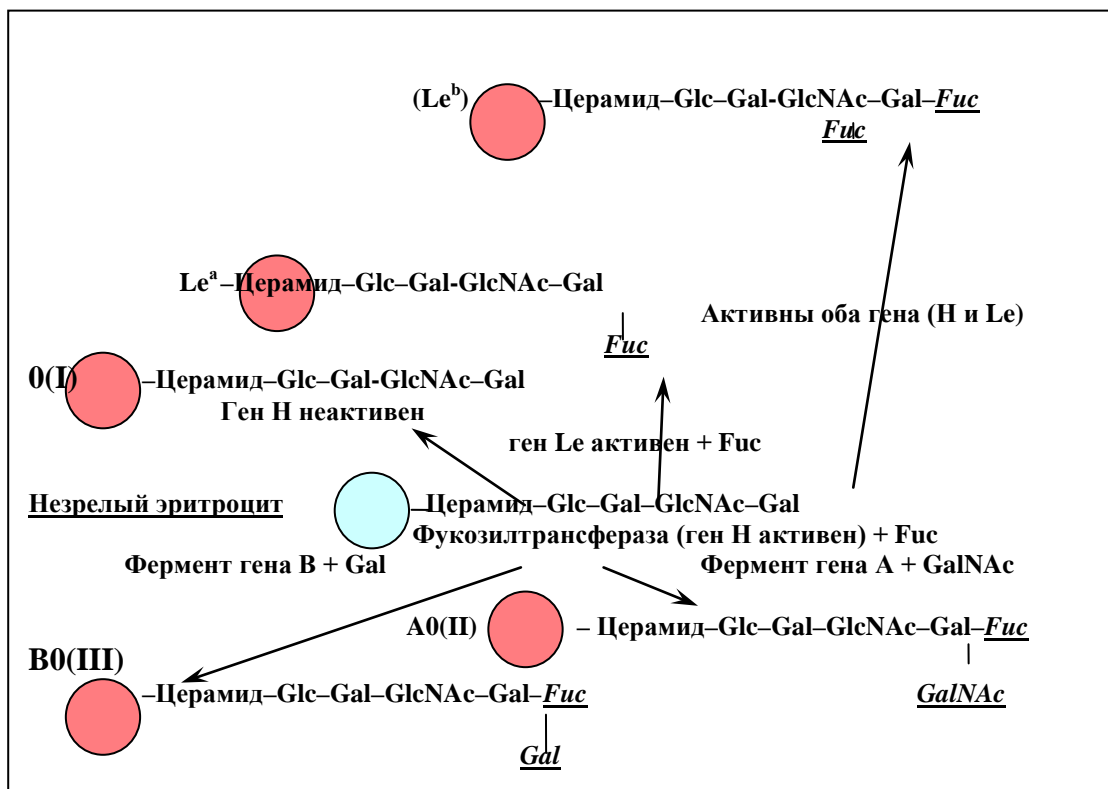
Таким образом, по мере усложнения организмов увеличивается количество белков, имеющих более тонкую специализацию в рамках одной и той же функции.

1. Группоспецифические вещества крови

Группоспецифическими веществами крови называют серологически различающиеся антигенные детерминанты поверхности эритроцитов.

Высокая генетическая изменчивость хорошо иллюстрируется на примере групп крови человека. Группы крови, по системе АВО, впервые были описаны Ландштейнером в 1900 году. Все люди были разделены на 4 группы: А, В, АВ и О. При смешивании крови людей одной и той же группы, клетки крови не склеиваются (не агглютинируют). Смешивание крови людей различных групп приводит к агглютинации эритроцитов. Явление агглютинации обусловлено присутствием на клеточной поверхности эритроцитов в составе гликопротеинов (белка гликофорина) или гликолипидов специфических антигенов, построенных из разветвленных олигосахаридов. В случае гликолипидов детерминантные группировки присоединены к повторяющемуся фрагменту N-ацетилгалактозамин – галактоза (β -D-GlcNAc-(1→3)-D-Gal).

У созревающих эритроцитов олигосахаридная цепь не завершена, ее завершение происходит по мере созревания эритроцита. Для это-



го фермент *гликозилтрансфераза* присоединяет дополнительные моносахариды. Синтез гликозилтрансферазы кодируется тремя *аллелями* (разные формы одного и того же гена). Фермент, характерный для группы А присоединяет к олигосахариду N-ацетилгалактозу, а В – галактозу. Люди с группой крови АВ(IV) гетерозиготны и поэтому имеют антигены обоих видов. Для людей группы О(I) характерно отсутствие конечного моносахарида. Это обусловлено тем, что аллельный ген О кодирует синтез белка, не имеющего ферментативной активности, и, следовательно, присоединения моносахарида не произойдет. Ген **Н** – кодирует синтез фермента *фукозилтрансферазы*, который присоединяет L-фукозу к галактозе. Люди с инактивированным геном **Н** либо имеют **I** группу крови, либо содержат еще один активный ген **Le** – кодирующий *трансферазу*.

Этот фермент присоединяет фукозу к N-ацетилглюкозамину. Такие люди имеют группу крови Le^a. Если одновременно будут активны гены Н и Le – то у них будет группа крови Le^b.

Ряд людей имеют еще один активный ген – **Se** (secretion – секреция). У таких людей гликопротеиды, несущие антигены группы крови, будут секретироваться в слюну.

До недавнего времени людей группы I(0) относили к универсальным донорам, поскольку сыворотки крови других групп не содержат антител к эритроцитам этой группы. Однако, в настоящее время

при переливании крови предпочтение отдается только одногруппной крови, поскольку известны свыше 30 групп крови.

Лекция 33

ЛЕКЦИЯ ВВЕДЕНИЕ В ВИТАМИНОЛОГИЮ

Витамины, общая характеристика, функции

Витамины – это низкомолекулярные органические соединения, незаменимые компоненты пищи, присутствующие в ней в чрезвычайно малых количествах и обеспечивающие нормальное протекание биохимических и физиологических процессов. Это достигается участием витаминов в регуляции обмена веществ. Витамины являются либо кофакторами ферментов (водорастворимые витамины и витамин К), либо выполняют функции прогормонов и гормонов (жирорастворимые витамины). Особенностью витаминов является то, что они не используются для пластических и энергетических нужд организма. Витамины – это необходимый фактор питания для человека и ряда живых организмов, потому что не синтезируются, либо синтезируются в недостаточном количестве данным организмом. Нормальная микрофлора кишечника синтезирует витамины: биотин, В₂, РР, В₆, В₁₂, К₂, пантотеновую, парааминобензойную и фолиевую кислоты.

История развития витаминологии

Ко второй половине XIX века были накоплены знания о том, что пищевая ценность продуктов питания определяется не только содержанием в них белков, жиров, углеводов, минеральных солей и воды.

Считалось общепризнанным, что если в пищу человека входят в определенной пропорции все эти питательные вещества, то она полностью отвечает биологическим потребностям организма. Известные физиологи того времени (Петтенкофер, Фойт и Рубнер) поддерживали это мнение. Однако практика далеко не всегда подтверждала правильность укоренившихся представлений о биологической полноценности пищи.

Практический опыт врачей и клинические наблюдения издавна указывали на существование ряда специфических заболеваний, непосредственно связанных с дефектами питания. Об этом свидетельствовал также многовековой практический опыт участников длительных путешествий. Настоящим бичом для мореплавателей долгое время бы-

ла цинга; от нее погибало моряков больше, чем в сражениях или от кораблекрушений. Так, из 160 участников известной экспедиции Васко де Гама, прокладывавшей морской путь в Индию, 100 человек погибли от цинги. История морских и сухопутных путешествий давала ряд поучительных примеров, указывавших на то, что возникновение цинги может быть предотвращено, а цинготные больные могут быть излечены, если в их пищу вводить лимонный сок или отвар хвои. Таким образом, практический опыт ясно указывал на то, что цинга и некоторые другие болезни связаны с дефектами питания. Для предупреждения таких заболеваний необходимо вводить в организм какие-то дополнительные вещества.

Экспериментальное обоснование и научно-теоретическое обобщение этого многовекового практического опыта впервые стали возможны благодаря исследованиям русского ученого Николая Ивановича Лунина, изучавшего в лаборатории Г. А. Бунге роль минеральных веществ в питании.

Н. И. Лунин проводил свои опыты на мышах, содержащихся на искусственно приготовленной диете. Она состояла из смеси очищенного казеина (белок молока), жира молока, молочного сахара, минеральных веществ и воды. Несмотря на то, что были все необходимые составные части молока, мыши, находившиеся на такой диете, не росли, теряли в весе, переставали поедать корм и, наконец, погибали. В то же время контрольная группа мышей, получавшая натуральное молоко, развивалась совершенно нормально. На основании этих работ Н. И. Лунин в 1880 г. пришел к следующему заключению: «...если, как вышеупомянутые опыты учат, невозможно обеспечить жизнь белками, жирами, сахаром, солями и водой, то из этого следует, что в молоке, помимо казеина, жира, молочного сахара и солей, содержатся еще другие вещества, незаменимые для питания. Представляет большой интерес исследовать эти вещества и изучить их значение для питания». Это было важное научное открытие, опровергавшее установленные положения в науке о питании. Результаты работ Н. И. Лунина стали оспариваться; их пытались объяснить, например, тем, что искусственно приготовленная диета, которой он в своих опытах кормил животных, была невкусной. В 1890 г. К. А. Сосин повторил опыты Н. И. Лунина с иным вариантом искусственной диеты и полностью подтвердил выводы Н. И. Лунина. Однако и после этого безупречный вывод не сразу получил всеобщее признание.

Блестящим подтверждением правильности вывода Н. И. Лунина стало установление причины болезни бери-бери, которая была особенно широко распространена в Японии и Индонезии среди населения, питавшегося, главным образом, полированным рисом. Врач Эйкман, работавший в тюремном госпитале на острове Ява, в 1896 году

подметил, что куры, содержащиеся во дворе госпиталя и питавшиеся обычным полированным рисом, страдали заболеванием, напоминающим бери-бери. После перевода кур на питание неочищенным рисом, болезнь проходила. Наблюдения Эйкмана, проведенные на заключенных в тюрьмах Явы, также показали, что среди людей, питавшихся очищенным рисом, бери-бери заболел в среднем один человек из 40, тогда как в группе людей, питавшихся неочищенным рисом, заболел лишь один человек из 10000.

Таким образом, стало ясно, что в оболочке риса (рисовых отрубях) содержится какое-то неизвестное вещество, предотвращающее заболевание бери-бери. В 1911 году польский ученый Казимир Функ выделил это вещество в кристаллическом виде (оказавшееся, как потом выяснилось, смесью витаминов); оно было довольно устойчивым по отношению к кислотам и выдерживало, например, кипячение с 20%-ным раствором серной кислоты. В щелочных растворах активное начало, напротив, очень быстро разрушалось. По своим химическим свойствам это вещество принадлежало к органическим соединениям и содержало аминогруппу. Функ пришел к заключению, что бери-бери является заболеванием, вызываемым отсутствием каких-то особых веществ в пище.

Несмотря на то, что эти особые вещества присутствуют в пище, как подчеркнул еще Н.И. Лунин, в малых количествах, они являются жизненно необходимыми. Так как первое открытое вещество этой группы жизненно необходимых соединений содержало аминогруппу и обладало некоторыми свойствами аминов, Функ (1912) предложил назвать весь этот класс веществ витаминами (лат. *vita*-жизнь, *vitamin*-амин жизни). Впоследствии, однако, оказалось, что многие вещества этого класса не содержат аминогруппы. Но термин «витамины» настолько прочно вошел в обиход, что менять его не стали.

После выделения из пищевых продуктов вещества, предохраняющего от заболевания бери-бери, был открыт ряд других витаминов. Большое значение в развитии учения о витаминах имели работы Гопкинса, Степпа, Мак-Коллума, Мелэнби, Ю.М. Островского.

Классификация витаминов

К 70-м годам XX века было открыто более двадцати веществ, обладающих витаминной активностью. Необходимо было их классифицировать. Поэтому в 1974 году была принята временная классификация витаминов:

1. Жирорастворимые витамины

А (антиксерофтальмический)

D (антирахитический)

E (антистерильный)

K (антигеморрагический)

2. Водорастворимые витамины

Витамин B₁ (антиневритный)

Витамин B₂ (витамин роста)

Витамин PP (антипеллагрический)

Витамин B₆ (антидерматитный)

Пантотеновая кислота (антидерматитный)

Фолиевая кислота (антианемический, фактор роста)

Витамин B₁₂ (антианемический)

Витамин H (антисеборейный)

Витамин C (антискорбутный)

Витамин P (витамин проницаемости)

3. Витаминоподобные вещества

Холин

Инозит

Оротовая кислота

Пангамовая кислота

Карнитин

Липоевая кислота

ПАБК

Витамин U

Витамин F

Каждая из этих групп содержит большое количество различных витаминов, которые обычно обозначают буквами латинского алфавита (по предложению Мак-Коллума в 1913 году). В приводимой классификации витаминов в скобках указаны наиболее характерные биологические свойства данного витамина (его способность предотвращать развитие того или иного заболевания). Обычно названию заболевания предшествует приставка «анти», указывающая на то, что данный витамин предупреждает или устраняет это заболевание.

Патологические состояния, возникающие при нарушении обмена витаминов

Болезни, которые возникают вследствие отсутствия в пище тех или иных витаминов, стали называть авитаминозами. Однако типичные по своей клинической картине авитаминозы в настоящее время

встречаются довольно редко. Чаще приходится иметь дело с относительным недостатком какого-либо витамина; такое заболевание называется гиповитаминозом.

Чрезмерное введение в организм некоторых витаминов может вызвать заболевание, называемое гипервитаминозом (характерно для жирорастворимых витаминов).

В зависимости от причин, вызывающих витаминную недостаточность, различают ее экзогенную и эндогенную формы. Наиболее распространена экзогенная витаминная недостаточность, обусловленная:

- 1) низким содержанием витаминов в пищевых продуктах;
- 2) разрушением витаминов вследствие их длительного и неправильного хранения и нерациональной кулинарной обработки пищи;
- 3) однообразным и несбалансированным питанием;
- 4) дисбактериозом вследствие длительного приема антибиотиков;
- 5) действие антивитаминов;
- б) анорексия.

Реже встречается эндогенная витаминная недостаточность. Ее причины следующие:

1. Нерациональная химиотерапия.
2. Нарушение всасывания витаминов в желудочно-кишечном тракте (заболевания желудка, кишечника, поражение гепатобилиарной системы, конкурентные всасывания витаминов и других компонентов пищи).
3. Недостаточное образование активных метаболитов витаминов при заболеваниях печени и почек.
4. Нарушение нормального метаболизма витаминов и образование их биологически активных форм (наследственные и приобретенные заболевания).
5. Повышенная потребность в витаминах (интенсивный рост, беременность, лактация, интенсивная физическая нагрузка).
6. Усиленный распад витаминов (лихорадочные состояния).

Антивитамины – соединения, которые:

1) являются структурными аналогами витаминов. Антивитамины этой группы замещают коферменты, производные витаминов, но не способны выполнять их функции в ферментативных реакциях. Например, 4'-окситиамин – антивитамины тиамин (витамина В₁);

2) разрушают или инактивируют витамины. Например, фермент тиаминазы, присутствующий в тканях пресноводных рыб, разрушает витамин В₁ на две неактивные части. Или, например, белок сырых яиц авидин связывает биотин (витамин Н) с образованием нерастворимого комплекса, который не всасывается в пищеварительном тракте.

Использование витаминов как лекарственных препаратов

Раскрытие причин авитаминозов и механизма действия многих витаминов обосновало использование витаминов как лекарственных препаратов.

По лечебно-профилактическому действию можно дать следующую групповую характеристику некоторым витаминам.

1. Витамины В₁, В₂, В₃, В₅, А и С регулируют функциональное состояние центральной нервной системы, обмен веществ и трофику тканей, поэтому их используют как препараты, повышающие общую реактивность организма.

2. Витамины С, Р и К обеспечивают нормальную проницаемость и устойчивость кровеносных сосудов, повышают свертываемость крови, поэтому их используют как препараты, оказывающие антигеморрагическое действие.

3. Витамины В₁₂, В_с и С нормализуют и стимулируют кроветворение, поэтому их используют как антианемические препараты.

4. Витамины С и А повышают устойчивость организма к инфекциям путем стимуляции выработки антител и противовоспалительных веществ, усиления защитных свойств эпителия, а также благодаря их антиоксидантному действию.

5. Витамины А, В₂ и С усиливают остроту зрения, расширяют поле цветного зрения, поэтому их используют как препараты, регулирующие зрение.

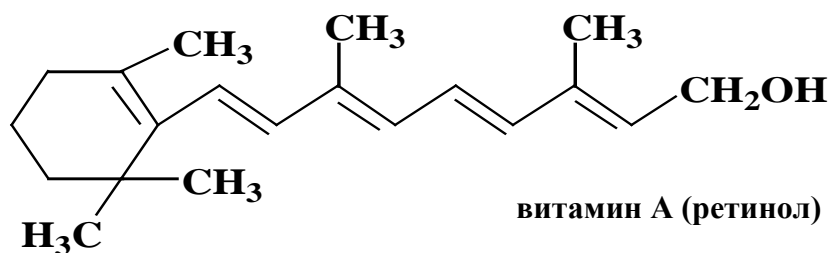
Лекция 34

ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

Особенности жирорастворимых витаминов

- 1) Всасываются из пищеварительного тракта и транспортируются в крови аналогично пищевым липидам.
- 2) Способны депонироваться в организме.
- 3) Способны вызывать гипervитаминозы.
- 4) Являются структурными компонентами мембран.
- 5) Не характерна коферментная функция (кроме витамина К).
- 6) Растворяются в полярных растворителях.

Витамин А
(ретинол, антиксерофтальмический)



Витамин А – это циклический, ненасыщенный, одноатомный спирт, состоящий из кольца β – иона и двух изопреновых остатков. Относится к ретиноидам, группа которых включает:

1. Ретинол (A_1) и 3 – дегидроретинол (A_2).
2. Ретиналь.
3. Ретиновую кислоту.

Ретинол химически активен благодаря наличию двойных связей и спиртовой группы. Легко окисляется по спиртовому гидроксилу в альдегидную форму (ретиналь) и ретиновую кислоту. В продуктах питания животного происхождения и при депонировании в организме витамин А находится в виде сложных эфиров (чаще с пальмитиновой кислотой). В продуктах растительного происхождения содержатся α -, β -, γ -каротины (провитамины А). Наиболее биологически активны β -каротины, способные при гидролизе давать 2 молекулы ретиналя.

Витамин А поступает с пищей животного происхождения в виде эфиров ретинола, с растительной пищей поступают каротины. Желчные кислоты эмульгируют липиды пищи, а также каротины и эфиры ретинола. В двенадцатипёрстной кишке происходит расщепление эфиров ретинола на ретинол и жирную кислоту с участием гидролазы поджелудочной железы. Затем гидрофобные продукты переваривания пищевых липидов, каротины и ретинол включаются в мицеллы, в составе которых поступают в энтероциты. В энтероцитах с помощью фермента β -каротин-15, 15'-диоксигеназы происходит гидролиз каротинов до ретиналя, который восстанавливается в ретинол с участием НАД-зависимых дегидрогеназ. Однако основное количество каротинов превращается в ретинол в печени. Ретинол образует эфиры с пальмитиновой жирной кислотой и транспортируется в составе хиломикронов в печень. Купферовские клетки печени депонируют эфиры ретинола, причём его запаса у взрослого может быть достаточно на 2-3 года. Ретинолэстераза печени высвобождает ретинол из его эфиров, который переносится транстретином (ретинолсвязывающий белок плазмы) к периферическим тканям. В клетках этих тканей ретинол связывается с клеточным ретинолсвязывающим белком.

В организме каждый ретиноид играет свою роль. Так, ретинол обеспечивает рост, дифференцировку тканей, нормальную функцию репродуктивного тракта; ретиноевая кислота нужна для дифференцировки эпителия, регуляции активности рецепторов для кальцитриола; ретиналь – важен для нормального функционирования сетчатой оболочки глаза.

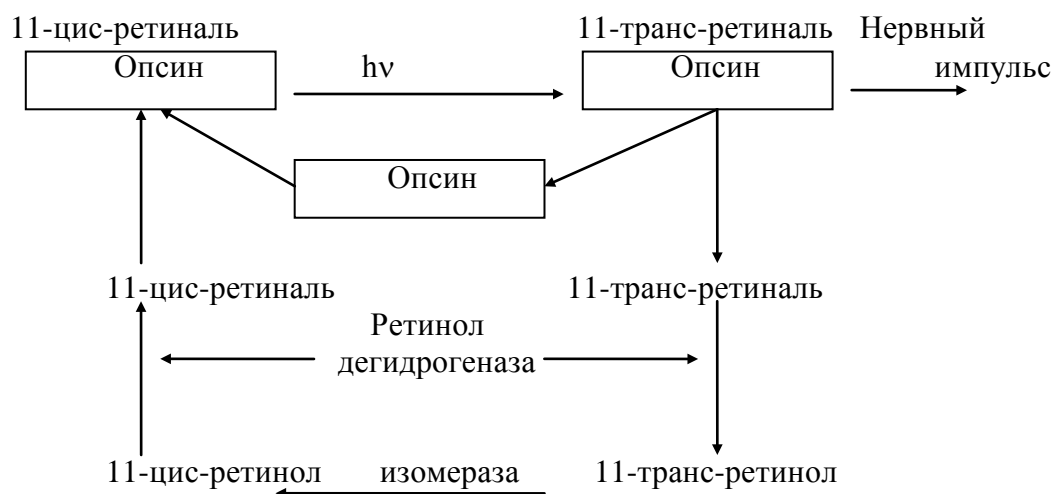
Биохимические функции.

Витамин А:

1) Регулирует рост и дифференцировку клеток эмбриона и молодого организма, а также деление и дифференцировку быстро пролиферирующих тканей, в первую очередь, эпителиальных, хряща и костной ткани. Он контролирует синтез белков цитоскелета, реакции распада и синтеза гликопротеинов. Недостаток витамина А приводит к нарушению синтеза гликопротеинов (точнее, реакций гликозилирования, т. е. присоединения углеводного компонента к белку), что проявляется потерей защитных свойств слизистых оболочек.

2) Участвует в фотохимическом акте зрения.

В сетчатке глаза имеются специализированные фоторецепторные клетки двух типов – палочки и колбочки. Наибольшей светочувствительностью обладают палочки, колбочки обеспечивают цветное зрение. Наружные сегменты палочек содержат уплощенные замкнутые мембранные пузырьки – диски, уложенные в стопку. Диски богаты белком опсином. Опсин способен связываться с 11-цис-ретиналем, образуя пигмент пурпурно-красного цвета родопсин. Механизм образования зрительного сигнала достаточно хорошо изучен.



При поглощении кванта света палочками сетчатки 11-цис-связанный ретиноль изомеризуется в 11-транс-ретиноль. Это изменяет конформацию родопсина и блокирует вход Na^+ в палочки, что вызыва-

ет деполаризацию мембраны и возникновение электрического импульса, который передается в зрительный анализатор. Комплекс транс-ретиноль-опсин диссоциирует. В темноте транс-ретиноль восстанавливается ретинолдегидрогеназой в транс-ретинол. Часть транс-ретиноля окисляется в ретиноевую кислоту и не может участвовать в восполнении 11-цис-ретиноля. Транс-ретинол изомеризуется в цис-ретинол. Восполнение потери витамина А на этом этапе может происходить за счет поступления его из запасов печени. Цис-ретинол окисляется в 11-цис-ретиноль, который соединяется с опсином, образуя родопсин. Таким образом, система светоощущения готова к восприятию следующего кванта света. Отсутствие регенерации родопсина приводит к нарушению сумеречного зрения (гемералопия).

3) Участвует в антиоксидантной защите организма. Благодаря наличию сопряженных двойных связей в молекуле ретинол способен взаимодействовать со свободными радикалами, что позволяет считать его эффективным антиоксидантом. Кроме того, ретинол усиливает антиоксидантное действие витамина Е. Вместе с токоферолом и витамином С активизирует включение Se в состав глутатион-пероксидазы. Витамин А способствует поддержанию SH-групп в восстановленном состоянии (SH-группам многообразного класса соединений также присуща антиоксидантная функция). В частности, препятствуя окислению SH-содержащих белков и образованию в них поперечных S-S-сшивок в составе кератина, ретинол тем самым уменьшает степень кератинизации эпителия (усиление кератинизации кожи приводит к развитию дерматита и раннему старению кожи).

4) Стимулирует реакции клеточного иммунитета, в частности, увеличивает активность Т-киллеров, фагоцитоз и секрецию иммуноглобулинов А.

5) является антиканцерогеном.

Гипо -и авитаминоз

И у человека, и животных наблюдается нарушение темновой адаптации. При этом возникают:

1) Гемералопия (куриная слепота) – нарушение зрения в сумерках; хотя больные днем видят нормально;

2) Ксерофтальмия (сухость конъюнктивы и роговой оболочки глаза).

Ксерофтальмия связана с гиперкератозом эпителия слезных протоков, закупоркой их, высыханием конъюнктивы и роговой оболочки глаза. Усиление процессов кератинизации при гиповитаминозе А связано с тем, что витамин А принимает участие в окислительно-восстановительных процессах и, следовательно, при его дефиците эти

процессы угнетаются. Возникает кислородная недостаточность. В условиях гипоксии изменяется трофика тканей, усиливается процесс кератинизации. Так, вследствие кератинизации слезного канала глазное яблоко не омывается слезой, обладающей бактерицидным действием. Это ведет к сухости роговой оболочки, а под действием микрофлоры – к ее размягчению, изъязвлению (кератомалации).

3) Торможение роста, потеря в массе тела и снижение устойчивости к инфекциям.

4) Усиление процессов кератинизации (переход цилиндрического эпителия в плоский в коже и слизистых оболочках). Сухость кожи и слизистых оболочек, кератинизация эпителия, способствующая проникновению в организм болезнетворных микробов, ведет к возникновению дерматитов, пиелитов и циститов, бронхитов и катаров дыхательных путей.

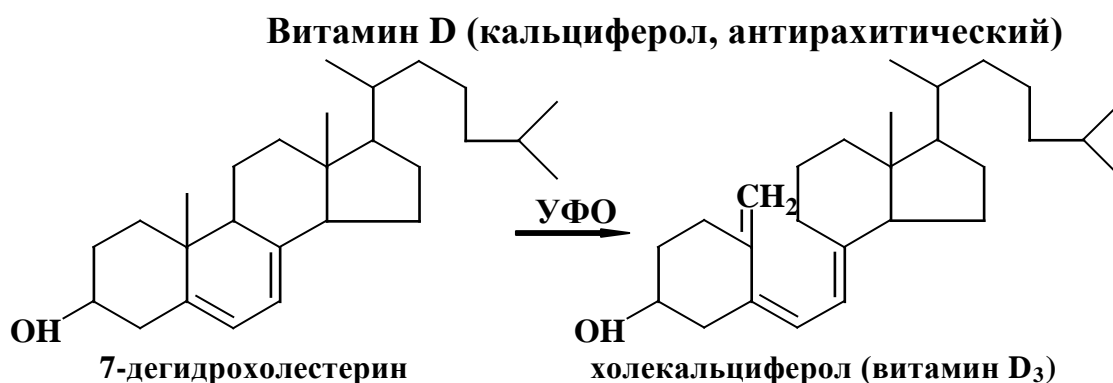
Гипервитаминоз

Интоксикация витамином А может быть как острой, так и хронической. Острые интоксикации описаны у детей и у взрослых при необоснованном введении им однократно очень больших доз витамина А (более 300 тыс. МЕ). Интоксикация проявляется головной болью, раздражительностью, тошнотой, болями в животе, диплопией, отеком соска зрительного нерва, судорогами, у детей – выпячиванием родничка, рвотой. Хроническая интоксикация обычно развивается после длительного, в течение нескольких лет, приема больших доз (100-300 тыс. МЕ в день). В хронических случаях первыми симптомами являются сухость кожи и выпадение волос, головная боль, слабость. Позже присоединяются суставные боли, гиперостоз, развивается гепатоспленомегалия.

Источники и суточная потребность

Витамин А обнаружен только в продуктах животного происхождения (рыбий жир, молоко, сливочное масло, сливки, творог, сыр, яичный желток, печень). Однако в организме человека (в кишечной стенке и печени) витамин А может образовываться из каротинов, которые широко распространены в растительных продуктах. Наибольшей активностью обладает β -каротин. Считается, что 1 мг β -каротина по эффективности соответствует 0,17 мг витамина А. Много содержится каротинов в моркови, красном перце, рябине, томатах, шиповнике, облепихе, арбузах.

Суточная потребность витамина А составляет 1,5-2,5 мг (5000-7000 МЕ).



В настоящее время обнаружено 7 естественных веществ с витаминной D-активностью (секостероиды). Важнейшими из них являются витамин D₂ (эргокальциферол) и D₃ (холекальциферол).

Витамин D₂ – продукт ультрафиолетового облучения эргостерина (стерина растительного происхождения). Высоким содержанием эргостерина отличаются дрожжи, хлопковое масло, грибы.

Витамин D₃ синтезируется из холестерина в два этапа. На первом этапе под действием специфической дегидрогеназы происходит образование 7-дегидрохолестерина, при этом возникает двойная связь между 7 и 8 углеродными атомами. 7-дегидрохолестерин входит в состав липидов кожи человека. На втором этапе происходит разрыв кольца В с образованием ещё одной двойной связи. Этот этап образования холекальциферола является фотохимической реакцией. В коже под действием ультрафиолетовых лучей (длина волны равна 290-315 нм) на 1см² за сутки образуется 1-2 МЕ витамина D₃.

Всасывание витамина D, поступившего с пищей, происходит в дистальном отделе тонкой кишки. Причем его биоусвоение существенно зависит от поступления желчи и жира в кишечник. В среднем оно составляет 60-90%.

Витамин D₃ в организме подвергается биотрансформации. В печени под влиянием фермента 25-гидроксилазы образуется 25-гидроксихолекальциферол (кальцидиол). Это основная транспортная форма витамина D. Далее с помощью кальциферолсвязывающего белка он транспортируется к почкам. В проксимальных канальцах почек под влиянием фермента 1-альфа-гидроксилазы синтезируется 1,25-дигидроксихолекальциферол (кальцитриол), который в 1000 раз активнее кальцидиола. Это активная форма витамина D. Активность 1-альфа-гидроксилазы повышается при низкой концентрации кальция и фосфатов в сыворотке крови, действии паратгормона.

Экскреция витамина D осуществляется с желчью в кишечник, из которого он частично всасывается (энтерогепатическая циркуляция).

Биохимические функции

Кальцитриол действует подобно стероидным гормонам. Проникая в клетки-мишени, он связывается с цитоплазматическим рецептором. Комплекс кальцитриол-рецептор мигрирует в ядро, где экспрессирует гены, инициируя синтез специфических кальций-связывающих белков.

В **кишечнике** кальцитриол повышает всасывание кальция, стимулируя синтез кальций-связывающего белка. Одновременно ускоряется и всасывание фосфора.

В **костях** кальцитриол способствует минерализации (главным образом непрямым путем), поддерживая концентрации кальция и фосфата во внеклеточной жидкости за счет стимуляции резорбции «старой» костной ткани.

В **почках** кальцитриол приводит к увеличению реабсорбции ионов кальция и фосфатов.

Кальцитриол принимает участие в регуляции роста и дифференцировке клеток костного мозга.

Гипо - и авитаминоз

Дефицит кальциферола в организме приводит к развитию рахита. Начальные проявления рахита: ребенок становится раздражительным, часто плачет, усиливается потоотделение, наблюдается облысение затылка. Характерными признаками рахита служат изменения в скелете и трубчатых костях. У ребенка долго не зарастают роднички, наблюдается размягчение плоских костей черепа (краниотабес). Серьезные нарушения возникают в грудной клетке: размягчаются ребра, грудина выступает вперед, на местах соединения ребер с реберными хрящами появляются рахитические четки. Грудная клетка деформируется («куриная грудь»). Наблюдаются утолщения эпифизов костей предплечий (рахитические «браслеты»), утолщения на фалангах пальцев («нити жемчуга»), искривление ног и позвоночника. Вследствие мышечной гипотонии увеличивается живот.

Патогенез рахита. При дефиците кальциферола нарушаются процессы всасывания кальция и фосфора в тонком кишечнике, реабсорбции их в канальцах почек, изменяется соотношение кальция и фосфатов в крови. Возникшая в начале заболевания гипокальциемия способствует повышению функции паращитовидных желез. Вследствие гиперсекреции паратгормона происходит активация остеокластов: процессы резорбции в костной ткани начинают преобладать над процессами синтеза. Нарушаются синтез белковой основы кости и отложение в ней минеральных солей. Вследствие выхода кальция и фос-

фатов из костной ткани возникают гиперкальциемия и гипофосфатемия (действие паратгормона направлено на выведение фосфора через почки из организма).

Гипервитаминоз

При поступлении в организм больших доз витамина D у детей могут наблюдаться токсические эффекты в виде жажды, воспаления глаз, зуда кожи, рвоты, диареи, полиурии. Гипервитаминоз D способствует отложению кальция в стенках кровеносных сосудов печени, легких, почек и желудка.

Выделяют 3 степени гипервитаминоза D:

1. Легкая степень (без токсикоза): анорексия, потливость, раздражительность, нарушение сна, задержка нарастания массы тела.

2. Средняя степень (с умеренным токсикозом): анорексия, периодически возникающая рвота, падение массы тела, в крови – гиперкальциемия, гиперцитремия, гипофосфатемия, гипомагниемия.

3. Тяжелая степень (с выраженным токсикозом): упорная рвота, значительная потеря массы тела, резкие сдвиги биохимических показателей, присоединение осложнений (пневмония, пиелонефрит, миокардит, панкреатит и пр.).

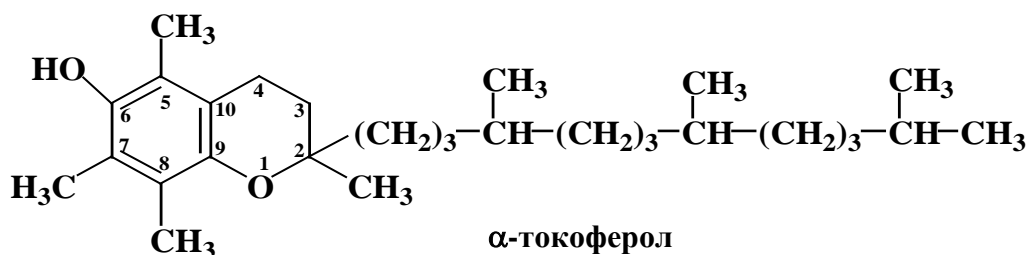
Источники и суточная потребность

В растительных продуктах витамина D практически нет. Больше всего витамина D содержится в продуктах животного происхождения: рыбьем жире, печени трески, сельди атлантической, яйцах, молоке, сливочном масле.

Потребность в витамине D взрослых людей удовлетворяется за счет образования его в коже под влиянием ультрафиолетовых лучей и поступления его с пищей. Суточная потребность для взрослого – 5 мкг или 200 МЕ. Витамин в первую очередь необходим детям (10 мкг или 400 МЕ/сут детям до 7 лет), так как он играет важную роль в формировании костного скелета.

Основными показателями обеспеченности кальциферолом служат содержание в сыворотке кальция (в норме 0,1 г/л), фосфора (в норме 0,05 г/л), кальциферола (в норме 60-200 МЕ/100 мл), а также повышение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови.

Витамин Е (токоферол, антистерильный)

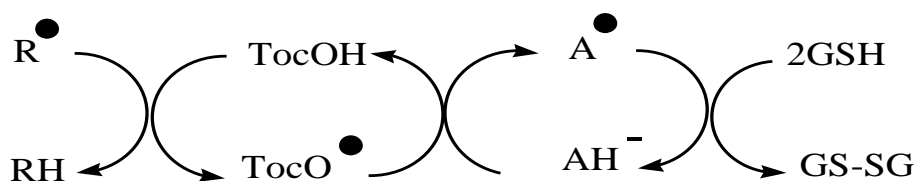


Токоферол – в переводе с греческого означает «несу потомство». Витаминной активностью обладают 8 токоферолов, самым эффективным из них является альфа-токоферол. Витамин Е в виде эфиров с уксусной или янтарной кислотами поступает с пищей. После их гидролиза в кишечнике он усваивается. Всасывание из средней части тонкой кишки происходит в составе мицелл при наличии желчи. В составе хиломикронов витамин Е транспортируется в печень. В печени он связывается с токоферолсвязывающим белком. Затем витамин Е покидает печень в составе ЛПОНП и достигает внепечёночных тканей с ЛПНП. Наибольшие его количества обнаруживают в жировой ткани, печени и мышцах. Экскреция происходит в основном с желчью в кишечник, при этом часть его вновь всасывается, участвуя в энтерогепатической циркуляции.

Биохимические функции

1) Витамин Е, являясь структурным компонентом клеточных мембран, защищает их от окислительного повреждения. Располагаясь в липидном бислое мембран он препятствует контакту кислорода с ненасыщенными липидами мембран. Это способствует защите биологических мембран от их перекисной деструкции. Кроме того, антиоксидантные свойства токоферола обусловлены способностью подвижного гидроксила хроманового ядра его молекулы непосредственно взаимодействовать со свободными радикалами, как кислорода, так и свободными радикалами ненасыщенных жирных кислот. Мембраностабилизирующее действие витамина Е проявляется и в его свойстве предохранять от окисления SH-группы мембранных белков. Витамин Е защищает от окисления двойные связи в молекулах каротина и витамина А. Витамин Е (совместно с витамином С) способствует включению селена в состав активного центра глутатионпероксидазы, тем самым он активизирует ферментативную антиоксидантную защиту (глутатионпероксидаза обезвреживает гидропероксиды липидов).

Кооперативное взаимодействие витамина Е, витамина С и глутатиона



- R^\bullet - свободный радикал;
 $TocOH$ - токоферол;
 $TocO^\bullet$ - токоферил - радикал;
 AH^- - аскорбат;
 A^\bullet - аскорбил - радикал;
 GSH - восстановленный глутатион;
 $GS-SG$ - окисленный глутатион.

2) Витамин Е контролирует биосинтез убихинона – компонента дыхательной цепи митохондрий. Токоферол участвует в синтезе гема, микросомных цитохромов и других гемсодержащих белков.

3) Витамин Е обладает способностью угнетать активность фосфолипазы A_2 лизосом, разрушающей фосфолипиды мембран. Повреждение мембран лизосом приводит к выходу в цитозоль протеолитических ферментов, которые повреждают клетку.

4) Витамин Е является эффективным иммуномодулятором, способствующим укреплению иммунозащитных сил организма.

Гиповитаминоз

У животных, лишенных витамина Е, обнаружены дегенеративные изменения скелетных мышц, миокарда, нервных клеток и поражение паренхимы печени. Дефицит витамина Е у самок крыс вызывает бесплодие, у самцов развивается атрофия половых желез, приводящая к полной или частичной стерильности.

Причинами развития дефицита витамина Е у людей являются:

1) Заболевания, приводящие к нарушению всасывания витамина Е в кишечнике (заболевание печени, поджелудочной железы).

2) Заболевания, приводящие к нарушению транспорта витамина Е в крови в составе липопротеинов (α - β - липопротеинемия).

Клиническими симптомами дефицита витамина Е у людей являются:

1) Развитие своеобразного неврологического синдрома, который характеризуется атаксией, арефлексией, потерей проприоцептивной и вибрационной чувствительности.

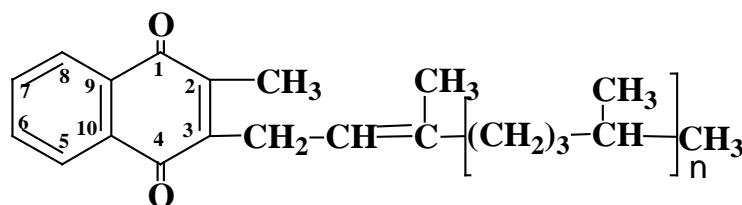
2) Крайне низким содержанием витамина Е в сыворотке крови. С дефицитом витамина Е могут быть связаны также гемолитическая желтуха новорожденных, у женщин – склонность к выкидышам.

Источники и суточная потребность

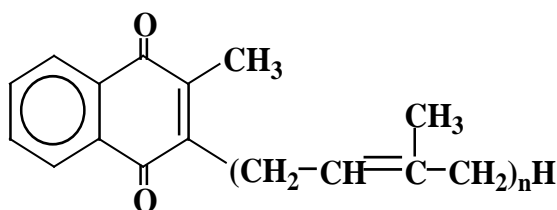
Токоферолы содержатся, в основном, в растительных продуктах. Наиболее богаты ими нерафинированные растительные масла: соевое, хлопковое, подсолнечное, арахисовое, кукурузное, облепиховое. Незначительные количества токоферолов содержатся в мясе, жире, яйцах, молоке, говяжьей печени. Суточная потребность 20-30 мг/сут.

Для оценки обеспеченности организма витамином Е определяют содержание токоферола в сыворотке крови (в норме 0,006-0,008 г/л). Ценным тестом является также изучение устойчивости эритроцитов к гемолизу.

Витамин К (нафтохиноны, антигеморрагический)



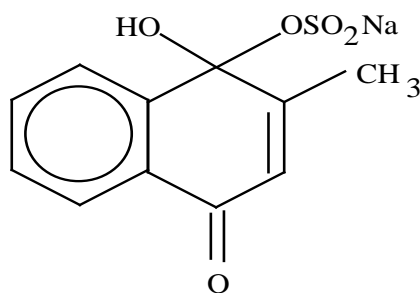
витамин К₁ (филлохинон)



Витамин К₂ (менахинон)

Природный витамин К существует в двух формах: витамин К₁ (филлохинон) – растительного происхождения и К₂ (менахинон) – животного происхождения.

В качестве медикаментозного средства используют синтетический аналог витамина К – викасол, который в отличие от естественных витаминов К является водорастворимым соединением (синтезировал К. Палладин).



Викасол

Абсорбция витамина К в кишечнике происходит при участии желчи. Всасывание снижается при хронической диарее или недостаточном поступлении желчи в кишечник. Викасол, водорастворимый аналог витамина К, всасывается в желудочно-кишечном тракте и в отсутствие желчи.

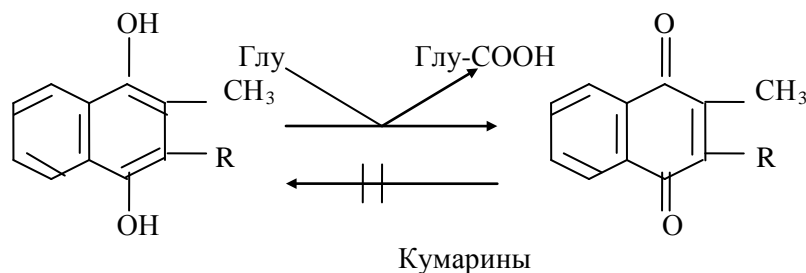
Биохимические функции

1. Витамин К является коферментом γ -глутаматкарбоксилазы, карбоксилирующей глутаминовую кислоту с образованием γ -карбоксиглутаминовой кислоты. Эта кислота является Ca^{++} -связывающей аминокислотой, которая необходима для функционирования факторов свертывающей системы крови: II – протромбина, VII – проконвертина, IX – фактора Кристмаса, X – фактора Стюарта-Прауэра.

2. Витамин К может участвовать в транспорте электронов в дыхательных цепях и окислительном фосфорилировании.

Цикл витамина К происходит в печени и представляет собой путь регенерации витамина К. В этом цикле хиноновая форма витамина К, как продукт реакции карбоксилирования остатков глутаминовой кислоты, восстанавливается в гидрохиноновую форму при участии дитиол-зависимой редуктазы. Ингибиторами этого фермента являются кумарины, использующиеся в клинической практике в качестве не прямых антикоагулянтов. Нарушение регенерации витамина К приводит к его недостатку и снижению свертываемости крови.

Цикл витамина К.



Гипо - и авитаминоз

Гипо- и авитаминоз К проявляются кровоточивостью, обусловленной нарушением синтеза факторов свертывания. Возможными причинами гиповитаминоза К у взрослых могут быть: 1) неадекватное питание в сочетании с дисбактериозом в результате длительной антибактериальной терапии; 2) заболевания, связанные с нарушением всасывания жиров (продолжительная диарея, дизентерия, заболевания поджелудочной железы, обширные резекции кишечника); 3) заболевания, связанные с развитием обтурационной желтухи и сниженным поступлением желчи в кишечник (желчнокаменная болезнь, новообразования, желчевыводящих путей, сужение желчного протока, фистулы желчного пузыря); 4) заболевания паренхимы печени с нарушением белковосинтетической функции печени (паренхиматозная желтуха, острая и хроническая печеночная недостаточность); 5) гипопротромбинемия может развиваться как следствие передозировки непрямых антикоагулянтов (конкурентные антагонисты витамина К), а также салицилатов.

У новорожденных запасы витамина К невелики. Кроме того, кишечник новорожденного еще полностью не заселен микрофлорой, синтезирующей витамин К. Возможно, поэтому в первые 6-7 дней жизни синтез факторов свертывания крови снижен. Показано, что у 1% новорожденных отмечается тенденция к кровоточивости. К группе риска могут быть отнесены дети до 5 месяцев жизни, находящиеся на искусственном вскармливании, если заменители молока содержат недостаточное количество витамина К.

Источники и суточная потребность

Основной источник витамина К₂ – микрофлора кишечника. Витамин К₁ широко распространен в растительном мире. Особенно богаты им зеленые листья шпината, крапивы, капусты.

Суточная потребность в витамине К взрослых людей точно не установлена, ориентировочно она составляет 100 мкг.

Основным критерием оценки адекватного статуса витамина К у взрослых людей является поддержание концентрации протромбина в плазме на уровне 80-120 мкг/мл (1,2-1,8 мкмоль/мл).

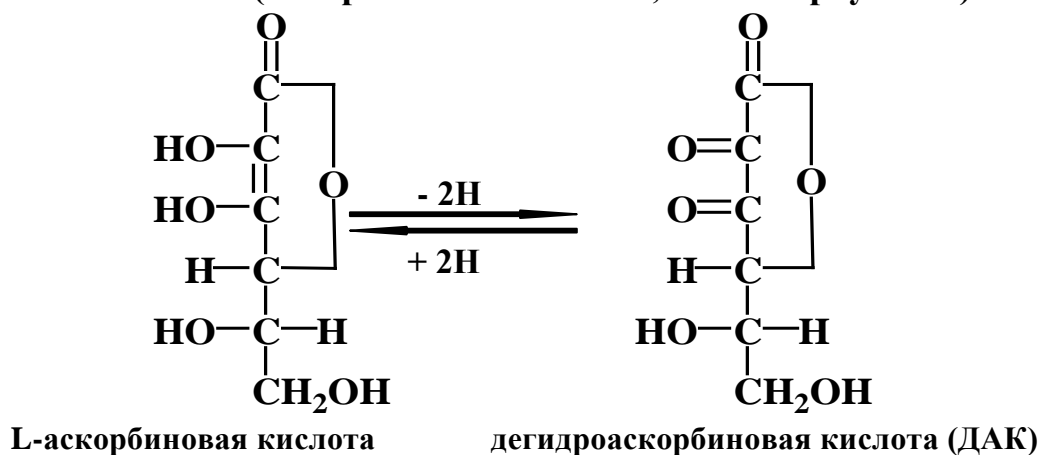
Лекция 35

ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

Особенности водорастворимых витаминов:

1. Растворимы в воде.
2. Характерна коферментная функция (кроме витаминов С и Р).
3. Не депонируются.
4. Не вызывают гипервитаминозов.

Витамин С (аскорбиновая кислота, антискорбутный)



Химическая природа аскорбиновой кислоты была выяснена после выделения ее в кристаллической форме из ряда животных и растительных продуктов. Большое значение в этих исследованиях имели работы А. Сент-Дьердьи и Хэворта. Строение витамина С было окончательно установлено синтезом его из L-ксилозы. Витамин С получил название L-аскорбиновой кислоты. Аскорбиновая кислота является ненасыщенным соединением и не содержит свободной карбоксильной группы. Кислый характер этого соединения обусловлен наличием двух гидроксильных групп у второго и третьего углеродного атома, способных к диссоциации с отщеплением протонов. Витаминные свойства обусловлены наличием лактонного кольца, после его раскрытия витаминные свойства исчезают.

L-Аскорбиновая кислота представляет собой кристаллическое соединение, легко растворимое в воде с образованием кислых растворов. Особенностью этого соединения является его способность к обратимому окислению (дегидрированию) с образованием дегидроаскорбиновой кислоты. Таким образом, L-аскорбиновая кислота и ее дегидроформа образуют окислительно-восстановительную систему, которая может как отдавать, так и принимать электроны и протоны. Антискорбутным действием обладают L-аскорбиновая кислота, дегидроаскор-

биновая кислота и аскорбиген (запасная растительная форма). В присутствии широко распространенного в растительных тканях фермента-аскорбиноксидазы, или аскорбиназы, аскорбиновая кислота окисляется кислородом воздуха с образованием дегидроаскорбиновой кислоты.

Аскорбиновая кислота (особенно ее дегидроформа), является весьма неустойчивым соединением. Превращение в дикетогулоновую кислоту, не обладающую витаминной активностью, является необратимым процессом, который заканчивается обычно окислительным распадом. Наиболее быстро витамин С разрушается в присутствии окислителей в нейтральной или щелочной среде при нагревании. Поэтому при различных видах кулинарной обработки пищи и при изготовлении овощных и фруктовых консервов часть витамина С обычно теряется. Особенно быстро витамин С разрушается в присутствии солей тяжелых металлов (железо, медь).

Биохимические функции

Витамин С играет важную роль во внеклеточной и внутриклеточной **антиоксидантной** защите. Антиоксидантная функция аскорбиновой кислоты обусловлена ее способностью легко отдавать два атома водорода, которые используются в реакциях обезвреживания свободных радикалов. Выраженный антиоксидантный эффект аскорбиновой кислоты проявляется только при совместном введении с токоферолом, так как именно витамин Е способен эффективно устранять свободные радикалы жирных кислот и их перекиси, образующиеся в реакциях ПОЛ. Таким образом, аскорбиновая кислота стабилизирует витамин Е, который легко разрушается, а витамин Е усиливает антиоксидантное действие витамина С. Помимо токоферола синергистом антиоксидантного действия аскорбата является витамин А.

Важную роль играет витамин С в реакциях **восстановления**.

1) Витамин С участвует во всасывании железа из кишечника и высвобождении железа из связи его с транспортным белком крови – трансферрином, облегчая поступление этого металла в ткани.

2) Аскорбиновая кислота необходима для образования активных форм фолиевой кислоты.

3) Защищает железо гемоглобина и оксигемоглобина от окисления.

4) Поддерживает железо цитохромов P₄₅₀ в восстановленном состоянии.

5) Аскорбиновая кислота может включаться в работу дыхательной цепи митохондрий, являясь донором электронов для цитохрома С.

Очень важную роль играет аскорбат в реакциях **гидроксилирования**.

1) Гидроксилирование пролина и лизина при синтезе коллагена, осуществляемое пролин-гидроксилазой с участием витамина С. ОН-группы гидроксипролина участвуют в стабилизации структуры, формируя водородные связи между цепями триплетной спирали зрелого коллагена. Остатки гидроксилизина в коллагене служат для образования участков связывания с полисахаридами.

2) Гидроксилирование триптофана в 5-гидрокситриптофан (при синтезе серотонина).

3) Реакции гидроксилирования при биосинтезе гормонов корковой и мозговой части надпочечников.

4) Гидроксилирование пара-гидроксифенилпирувата в гомогентизиновую кислоту.

5) Гидроксилирование бутиробетаина при синтезе карнитина.

6) Витамин С активно участвует в обезвреживании ксенобиотиков (чужеродных для организма соединений), осуществляемом оксигеназной системой цитохромов P₄₅₀ микросом.

Витамин С является **антиканцерогеном** не только потому, что обладает антиоксидантным действием, но также в силу способности ингибировать синтез нитрозаминов (эти мощные канцерогены образуются в кислой среде желудка из нитритов и аминосоединений пищи).

Гипо- и авитаминоз

К числу наиболее известных с давних времен заболеваний, возникающих на почве дефектов в питании, относится цинга, или скорбут («язвенный рот»), или худосочная болезнь. В середине века в Европе цинга была одной из страшных болезней, принимая иногда характер эпидемий. Наибольшее число жертв цинга уносила в зимнее и весеннее время года, когда население было лишено возможности получать в достаточном количестве свежие овощи и фрукты.

Окончательно вопрос о причинах возникновения и способах лечения цинги был разрешен экспериментально лишь в 1907-1912 гг. в опытах на морских свинках. Оказалось, что морские свинки, подобно людям, подвержены заболеванию цингой, которая развивается на почве недостатков в питании. Стало очевидным, что цинга возникает при отсутствии в пище особого фактора. Этот фактор, предохраняющий от цинги, получил название витамина С (антицинготного или антискорбутного витамина).

Одно из первых описаний цинги дал путешественник Джеквиз Карти, исследовавший бассейн реки Святого Лоуренса в 1536 году: «Одни из нас потеряли все силы и не могли встать на ноги.... Кожа других стала пятнистой, с синяками на лодыжках, коленях, бедрах, ру-

ках и шее. Из рта их исходило зловоние, их десны так сгнили, что вся плоть исчезла, обнажив корни зубов, которые также почти все выпали”.

Гиповитаминоз С проявляется быстрой утомляемостью, кровоточивостью десен, снижением устойчивости организма к инфекциям. При далеко зашедшем гиповитаминозе С может развиваться цинга, если содержание витамина С в организме меньше 300 мг (в норме 1,5 гр). Для клинической картины цинги характерно опухание десен, расшатывание и выпадение зубов, отечность и болезненность суставов. Возникают кровоизлияния в мышцах, коже, суставах, трофические язвы ног. Появляется сердечная недостаточность.

Патогенез цинги может быть представлен следующими механизмами:

1) Нарушением окислительно-восстановительных процессов в пентозном цикле. Это объясняется тем, что аскорбиновая кислота и ее дегидроформа образуют окислительно-восстановительную систему. В пентозном цикле аскорбиновая кислота служит переносчиком водорода. Она легко окисляется, отдавая два атома водорода. Образующаяся дегидроаскорбиновая кислота легко восстанавливается за счет окисления других соединений.

2) Гипофункцией надпочечников. Известно, что аскорбиновая кислота необходима для синтеза гормонов надпочечников. Понижение ее содержания в данной железе свидетельствует о низкой функциональной способности надпочечников.

3) Падением активности ряда ферментов, в частности гексокиназы. Это приводит к задержке всасывания углеводов из кишечника, нарушению запасания гликогена в печени, что может вести вначале к гипергликемии, а затем и к гипогликемии. В печени накапливаются нейтральные липиды (развивается жировая инфильтрация печени).

4) Торможением синтеза белков и усилением их распада. Это вызывает следующие явления: а) возникновение дистрофических изменений в организме, слабость сердечной мышцы; б) торможение активности остеобластов, в результате задерживается образование белковой костной матрицы и, следовательно, нарушаются процессы окостенения; в) уменьшение выработки антител и как следствие этого – снижение устойчивости организма к инфекциям; г) нарушение образования коллагена из проколлагена, что ведет к снижению эластичности сосудистой стенки, увеличению их проницаемости, кровотечениям и отекам, заживление ран ухудшается.

Источники и суточная потребность

Большинство животных, за исключением морских свинок и при-

матов, не нуждается в получении витамина С извне, так как аскорбиновая кислота синтезируется у них в печени. Человек не обладает способностью к синтезу витамина С и должен обязательно получать его с пищей.

Основными источниками витамина С являются растения. Особенно много аскорбиновой кислоты в шиповнике, перце, хрене, ягодах рябины, черной смородины, земляники, клубники, цитрусовых, капусте (как свежей, так и квашенной), шпинате. Картофель, хотя и содержит значительно меньше витамина С, чем вышеперечисленные продукты, но, принимая во внимание значение его в нашем питании, следует признать наряду с капустой основным источником снабжения витамином С. Важнейшими источниками витамина С непищевых характера является шиповник, хвоя (сосны, ели и лиственницы) и листья черной смородины.

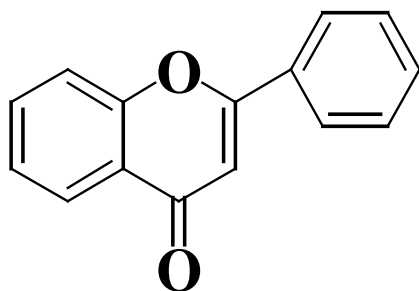
Суточная потребность взрослого человека в витамине С составляет 70-120 мг.

По мнению Л. Поллинга, большинство простудных заболеваний может быть предотвращено или существенно ослаблено диетой, без использования каких-либо лекарств. В качестве такого диетического вещества может быть использована аскорбиновая кислота. Для этой цели он рекомендовал от 0,25 до 10 г аскорбиновой кислоты в сутки. Оптимальная доза – 1,0 г (по 250 мг 4 раза в день во время приема пищи). При контакте с больным, утомлении или охлаждении дозу необходимо несколько увеличить. При начавшемся простудном заболевании суточная доза первые четыре дня составляет 4 г, следующие 3-4 дня – 3 г, затем в течение 6-8 дней доза снижается до 2 и 1 г.

Согласно гипотезе Л. Поллинга, эффективность протекторного действия аскорбиновой кислоты при вирусных инфекциях обусловлена повышением синтеза и активности интерферона с антиоксидантным действием, а также тем, что аскорбиновая кислота является физиологическим ингибитором гиалуронидазы. По расчетам Л. Поллинга, каждый человек должен потреблять в год 0,5 кг аскорбиновой кислоты (чуть менее 1,5 г в сутки). В настоящее время высказаны опасения, что при длительном применении в больших дозах аскорбиновая кислота может оказывать угнетающее влияние на инсулярный аппарат поджелудочной железы и повреждать гломерулярный аппарат почек, вызывая тем самым гипертоническую реакцию.

Показателями обеспеченности организма аскорбиновой кислотой являются определение ее ренальной экскреции (в норме 20-30 мг в сутки), содержание в плазме крови (в норме 0,007-0,012 г/л) и лейкоцитах (в норме 0,2-0,3 г/л), а также тесты на проницаемость сосудов (проба Нестерова и др.).

Витамин Р (витамин проницаемости)



углеродный скелет рутина

Имеется целая группа природных соединений (биофлавоноиды), обладающих свойствами витамина Р. Эта группа включает в себя более 600 соединений. Основные представители биофлавоноидов: 1) рутин из листьев гречихи; 2) катехин из листьев чайного дерева; 3) гесперидин (цитрин) из кожуры цитрусовых.

Биохимические функции

Витамин Р предназначен для лучшего всасывания и эффективного действия витамина С. Предохраняет аскорбиновую кислоту от окисления, а также способствует восстановлению ДАК. Витамин Р обладает высокой проникающей способностью и поэтому укрепляет капилляры и регулирует их проницаемость. Активно помогает витамину С в формировании и функционировании соединительной ткани. Витамину Р присуще антиоксидантное и гиполипидемическое действие (снижает скорость окисления ЛПОНП), уменьшает агрегацию тромбоцитов.

Гиповитаминоз

При недостатке витамина Р повышается хрупкость капилляров и даже при легких ударах на теле появляются синяки. Наблюдаются боли в ногах и утомляемость при ходьбе.

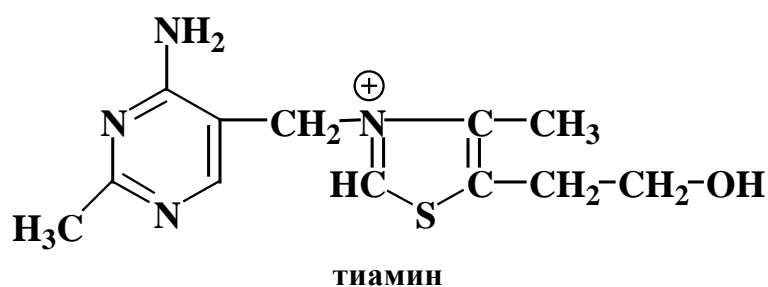
Источники и суточная потребность

Витамин Р содержится в черной смородине, перце, гречке, капусте, салате, помидорах, винограде, цитрусовых, шиповнике.

Суточная потребность взрослого человека – 25-50 мг.

Эффективность витамина Р повышается при совместном приеме с витамином С.

Витамин В₁ (тиамин, антиневритный)



В химической структуре витамина В₁ содержатся два кольца – пиримидиновое и тиазоловое, соединенные метиленовой связью. Тиамин хорошо растворим в воде, водные растворы его в кислой среде выдерживают нагревание до высоких температур. В нейтральной и щелочной среде витамин В₁ быстро разрушается при нагревании.

Витамин В₁, содержащийся в продуктах, активно всасывается в тонком кишечнике. При нарушении структуры и функции слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта (воспалительный процесс) всасывание существенно снижается.

Главным образом в печени тиамин подвергается фосфорилированию. При этом образуются моно-, ди- и трифосфаты. Главное значение для организма имеет тиаминдифосфат (тиаминпирофосфат – ТПФ), образующийся только при достаточном снабжении органов и тканей кислородом.

Элиминация фосфорилированного тиамин осуществляется путем деградации в тканях, преимущественно в печени. Экскреция образовавшихся метаболитов тиамин (их более 10) и витамина В₁ в неизменном виде происходит с мочой.

Биохимические функции

Витамин В₁ в форме ТПФ (коферментная форма) является составной частью ферментов, катализирующих реакции окислительного декарбоксилирования кетокислот.

1. Реакции окислительного декарбоксилирования

1.1. Окислительное декарбоксилирование ПВК катализирует пируватдегидрогеназа (коферментом является ТПФ).

Окислительное декарбоксилирование пирувата является одной из ключевых реакций в обмене углеводов. В результате этой реакции ацетил-КоА, образовавшийся из пирувиноградной кислоты, включается в главный метаболический путь клетки – цикл Кребса, где окисля-

ется до углекислоты и воды с выделением энергии. Таким образом, благодаря реакции окислительного декарбоксилирования пирувата создаются условия для полного окисления углеводов и утилизации всей заключенной в них энергии. Кроме того, образующийся ацетил-КоА служит источником для синтеза многих соединений: жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов, кетонных тел.

1.2. Окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата катализирует α -кетоглутаратдегидрогеназа. Этот фермент является составной частью цикла Кребса. Строение и механизм действия α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса схожи с пируватдегидрогеназным, т. е. ТПФ также катализирует начальный этап превращения кетокислоты. Таким образом, от степени обеспеченности клетки ТПФ зависит бесперебойная работа ЦТК.

1.3. ТПФ принимает участие в окислительном декарбоксилировании кетокислот с разветвленным углеродным скелетом (продукты дезаминирования валина, изолейцина и лейцина). Эти реакции играют важную роль в процессе утилизации аминокислот и, следовательно, белков клеткой.

2. Участвует в транскетолазных реакциях пентозофосфатного пути

ТПФ – кофермент транскетолазы. Транскетолаза – фермент пентозофосфатного пути окисления углеводов. Физиологическая роль этого пути заключается в том, что он является основным поставщиком НАДФН₂ и рибозо-5-фосфата.

3. Витамин В₁ принимает участие в синтезе ацетилхолина

Катализируя в пируватдегидрогеназной реакции образование ацетил-КоА – субстрата ацетилирования холина. Кроме того, тиамин, ингибируя холинэстеразу, препятствует разрушению ацетилхолина.

Гипо- и авитаминоз

Тиамин абсолютно необходим для обмена углеводов. При недостаточности этого витамина в организме нарушается дальнейшее окисление пировиноградной кислоты и развивается пищевая полиневрит. Эта болезнь в недалеком прошлом была известна под названием бери-бери («ножные оковы»). Она встречается, главным образом, в странах, где население питается почти исключительно полированным рисом (Юго-Восточная Азия), когда в организм поступает меньше 0,4 мг/сутки витамина В₁. Бери-бери проявляется следующими симпто-

мами: 1) со стороны нервной системы – полиневрит; 2) со стороны сердечно-сосудистой системы – кардиомегалия, нарушение сердечного ритма, сердечно-сосудистая недостаточность; 3) со стороны пищеварительной системы – угнетения перистальтики кишечника и секреции НСІ в желудке.

Дефицит витамина В₁ имеет место у больных, страдающих хроническим алкоголизмом, что проявляется: 1) энцефалопатией Гайе-Вернике (двигательное возбуждение, бред, галлюцинации, нистагм, атаксия, апатия, дезориентация в пространстве, спутанность сознания, нарушение сердечного ритма и функции печени); 2) Корсаковским психозом (ретроградная амнезия, конфабуляции – ложные воспоминания, неспособность усваивать информацию, болтливость, полиневрит). Однако наиболее частой причиной развития недостаточности тиамин является нарушение его всасывания в кишечнике при хронических заболеваниях (энтериты, энтероколиты).

Для авитаминоза В₁ характерно поражение нервной системы (развитие параличей, потеря памяти на недавние события, склонность к галлюцинациям, расстройство походки). Гистологически отмечается дегенерация нервных волокон, миелиновой оболочки периферических нервов и задних столбов спинного мозга. Также наблюдаются нарушения функции эндокринных желез, сердца, пищеварительного аппарата, потеря аппетита, падение массы тела.

Патогенез бери-бери

В основе патогенеза бери-бери лежат ферментативные нарушения. Витамин В₁ в виде тиаминдифосфата входит в состав ряда ферментов (см. выше). При дефиците тиамин возникает недостаточность пируватдегидрогеназы, α -кетоглутаратдегидрогеназы, транскетолазы.

Вследствие недостаточности пируватдегидрогеназы при дефиците витамина В₁ происходит накопление молочной и пировиноградной кислот в тканях и крови. Отмечается сдвиг рН в кислую сторону (ацидоз). Молочная и пировиноградная кислоты раздражают болевые рецепторы нервных окончаний, следствием этого является возникновение болевой реакции. Накопившаяся пировиноградная кислота не в состоянии подвергнуться окислительному превращению, поэтому углеводы не превращаются в липиды, стероиды, ацетилхолин. Нарушение синтеза стероидов может послужить причиной эндокринных расстройств. Снижение синтеза ацетилхолина приводит к нарушению передачи нервного импульса (преобладает симпатическая иннервация), угнетается перистальтика кишечника, секреторная функция желудка. Недостаточность α -кетоглутарат-дегидрогеназы приводит к наруше-

нию работы ЦТК.

При бери-бери снижается активность транскетолазы пентозофосфатного пути, что приводит к нарушению биосинтеза нуклеиновых кислот и белков. Белковый баланс становится отрицательным, происходит потеря массы тела, истощение организма.

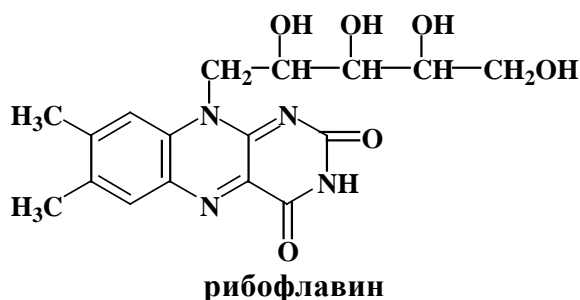
Источники и суточная потребность

Витамин В₁ содержится преимущественно в продуктах растительного происхождения: в злаках, крупах (овес, гречиха, пшено), в муке грубого помола (при тонком помоле наиболее богатые витамином В₁ части зерна удаляются с отрубями, поэтому в высших сортах муки и хлеба содержание витамина В₁ резко снижено), бобовых, фундуке, грецких орехах, дрожжах.

Суточная потребность в витамине В₁ взрослого человека составляет 2-3 мг.

Для оценки обеспеченности им организма определяют содержание тиамин, пировиноградной кислоты в моче и ТПФ в плазме крови. Однако наиболее специфичным показателем является исследование стимулирующего действия ТПФ на активность транскетолазы в эритроцитах (так называемый ТПФ-эффект).

Витамин В₂ (рибофлавин, витамин роста)



Витамин В₂ – желтое кристаллическое вещество, хорошо растворимое в воде, разрушающееся при облучении ультрафиолетовыми лучами с образованием биологически неактивных соединений (люмифлавин в щелочной среде и люмихром в нейтральной или кислой). Он относится к группе естественных пигментов, известных под названием флавинов.

Витамин В₂ представляет собой метилированное производное изоаллоксазина, к которому в положении 9 присоединен спирт рибитол; поэтому витамин В₂ часто называют рибофлавином.

Наличие активных двойных связей в циклической структуре рибофлавина обуславливает некоторые химические реакции, лежащие в

основе его биологического действия. Присоединяя водород по месту двойных связей, окрашенный рибофлавин легко превращается в бесцветное лейкосоединение. Последнее, отдавая при соответствующих условиях водород, снова переходит в рибофлавин, приобретая окраску. Эти свойства обеспечивают возможность участия витамина В₂ в окислительно-восстановительных процессах.

Распределение витамина В₂ в организме происходит неравномерно; наибольшие его количества обнаруживают в миокарде, печени, почках, затем в мозге и других органах. Элиминация в основном осуществляется почками в неизменном виде. При избыточном введении витамина в организм его экскреция возрастает, и моча окрашивается в интенсивно желтый цвет.

Биохимические функции

Витамин В₂ имеет следующие коферментные формы – ФАД и ФМН. Роль этих коферментов заключается в следующем:

1. ФАД и ФМН входят в состав оксидаз простых окислительных систем, переносящих электроны и протоны от окисляемого субстрата непосредственно на кислород (оксидазы D- и L-аминокислот, ксантиноксидаза, моно- и диаминооксидазы).

2. ФМН и ФАД – промежуточные переносчики электронов и протонов в сложных окислительных системах: ФМН входит в состав НАДН-дегидрогеназы полной дыхательной цепи, а ФАД – в состав ФАД-зависимых дегидрогеназ (сукцинатдегидрогеназа и ацил-КоА-дегидрогеназа) укороченной дыхательной цепи.

3. ФАД – кофермент пируват- и α-кетоглутаратдегидрогеназного комплексов (наряду с ТПФ и другими коферментами ФАД принимает участие в окислительном декарбоксилировании соответствующих кетокислот).

4. ФАД – участник реакций окисления жирных кислот в митохондриях (он является коферментом ацил-КоА-дегидрогеназы).

5. ФМН-зависимая пиридоксин-фосфатоксидаза катализирует превращение пиридоксин-5-фосфата в пиридоксальфосфат.

Гиповитаминоз

Недостаток витамина В₂ проявляется в виде трещин и корочек уголков рта (угловой стоматит), язык становится сухим, ярко-красным, может развиваться дерматит, появляется повышенная утомляемость глаз, жжение, светобоязнь, конъюнктивит, катаракта, остановка роста, дрожание голоса.

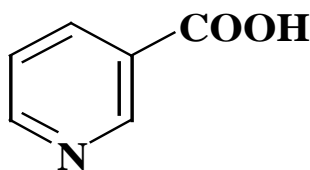
Источники и суточная потребность

Витамин В₂ содержится в продуктах животного происхождения: печень, молоко, яйца, дрожжи. А также в зернобобовых, шиповнике, абрикосах, капусте, помидорах. Может синтезироваться кишечной микрофлорой.

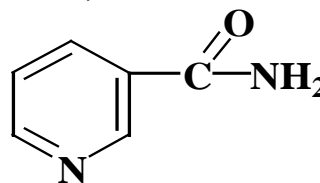
Суточная потребность в витамине В₂ взрослого человека – 2-4 мг.

Для оценки обеспеченности организма рибофлавином используют определение его содержания в суточной моче (норма 300-1000 мкг), эритроцитах (норма 200 мкг/л), сыворотке крови (норма 25-30 мкг/л), лейкоцитах (норма 2000-2500 мкг/л). Важно также определение коэффициента активности глутатион-редуктазы эритроцитов при добавлении *in vitro* ее кофермента ФАД (в норме 1,2; при недостаточности возрастает до 1,3 и более).

Витамин РР (никотиновая кислота, антипеллагрический)



никотиновая кислота



никотинамид

Антипеллагрическим витамином является никотиновая кислота и ее амид. Никотиновая кислота была известна химикам еще с 1867 года, но только 70 лет спустя, было установлено, что это относительно простое и хорошо изученное вещество является витамином. Никотиновая кислота может синтезироваться печенью и эритроцитами из триптофана при участии витаминов В₂ и В₆.

Витамин РР, поступающий с пищей, хорошо всасывается в нижней части желудка и верхнем отделе двенадцатиперстной кишки. Биотрансформация осуществляется в печени. Элиминация никотиновой кислоты происходит с мочой в неизменном виде.

Биохимические функции

В организме витамин РР в виде никотинамида включается в состав коферментов – НАД и НАДФ. Поэтому его значение определяется ролью этих коферментов:

1. НАД – кофермент дегидрогеназ полной дыхательной цепи митохондрий (протоны и электроны от окисляемых субстратов второго и третьего рода переносятся на ФМН – зависимую дегидрогеназу).

2. НАДФ – компонент микросомального окисления, выполняющего функцию обезвреживания ксенобиотиков, участия в восстановительных биосинтезах (синтез жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов, желчных кислот, витамина D и некоторых других соединений).

Никотинамидные коферменты входят в состав важнейших ферментов:

- 1) обмен аминокислот (глутаматдегидрогеназа);
- 2) β -окисления жирных кислот (β -гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа);
- 3) ЦТК (изоцитратдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, дигидролипоилдегидрогеназа - третий фермент α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса);
- 4) анаэробного гликолиза (дегидрогеназа-3-фосфо-глицеринового альдегида);
- 5) окислительное декарбоксилирование пирувата (дигидролипоилдегидрогеназа - третий фермент пируватдегидрогеназного комплекса);
- 6) пентозофосфатный путь (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа).

Гиповитаминоз

При дефиците витамина PP возникает пеллагра (от итал. – шершавая кожа). Для этой болезни характерна следующая триада: 1) дерматит (пеллагроидные изменения кожи); 2) поражение пищеварительного тракта (диарея); 3) нарушения психики (деменция). Основными причинами пеллагры являются:

1) Алиментарная недостаточность витамина PP. У людей пеллагра чаще встречается при однообразном питании кукурузой, полированным рисом, вареным горохом, сухарями и другими продуктами с низким содержанием триптофана.

2) Нарушение синтеза никотиновой кислоты в организме человека. Возникновение эндогенного PP-гиповитаминоза обычно связывают с рядом факторов: а) дефицитом пиридоксальфосфата, при этом нарушается обмен триптофана и тормозится синтез никотиновой кислоты; б) отсутствием субстратов фермента, который катализирует синтез никотиновой кислоты.

Болезнь Хартнупа – наследственное заболевание, связанное с нарушением всасывания и проникновения в ткани триптофана. В результате возникает недостаток данной аминокислоты в организме и нарушается образование из нее никотиновой кислоты.

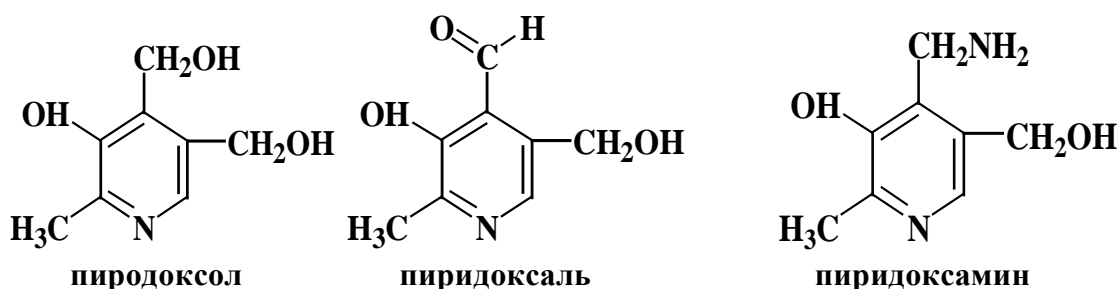
Источники и суточная потребность

Витамин РР довольно широко распространен в природе, благодаря чему пеллагра при нормальном питании встречается редко. Большое количество витамина РР находится в рисовых отрубях, где содержание его доходит почти до 100 мг%. В дрожжах и пшеничных отрубях, в печени рогатого скота и свиней также содержится довольно значительное количество этого витамина.

Суточная потребность взрослого человека составляет 15-25 мг.

Для оценки обеспеченности организма ниацином необходимо принимать во внимание уровень ниациновых эквивалентов (ниациновый коэффициент соответствует 1 мг ниацина или 60 мг триптофана). Потребность взрослого человека в ниацине составляет 1,57 ниацинового эквивалента/1000 кДж (6,6 ниацинового эквивалента/1000 ккал) в сутки.

Витамин В₆ (пиридоксин, антидерматитный)



Группа витамина В₆ состоит из 3 взаимопревращающихся друг в друга в печени веществ: пиридоксина, пиридоксаля и пиридоксамина. Вещества группы витамина В₆ по своей химической природе являются производными пиридина. Одно из них – пиридоксол (2-метил-3-окси-4,5-диоксиметилпиридин) – белое кристаллическое вещество, хорошо растворимое в воде и спирте. Пиридоксол устойчив по отношению к кислотам, но легко разрушается под влиянием света.

Пиридоксин и пиридоксальфосфат, поступающие с пищей, хорошо всасываются в тонком кишечнике, проникают во все ткани. В печени происходит взаимопревращение трех веществ: пиридоксин – пиридоксаль – пиридоксамин. Последние два подвергаются фосфорилированию. Самым активным веществом является пиридоксаль-5-фосфат. В дальнейшем все 3 вещества превращаются в пиридоксовую кислоту, которая выводится с мочой.

Биохимические функции

Витамин В₆ абсолютно необходим для обмена аминокислот. Ко-

ферментные формы витамина В₆ входят в состав следующих ферментов:

1) **Аминотрансфераз аминокислот**, катализирующих обратимый перенос NH₂-группы от аминокислоты на α-кетокислоту, при этом образуются новые α-кетокислота и заменимая аминокислота.

2) **Декарбоксилаз аминокислот**, отщепляющих карбоксильную группу аминокислот, что приводит к образованию биогенных аминов (гистамина, серотонина, ГАМК и других).

3) **Гистаминазы, разрушающей гистамин.**

4) **Синтазы аминолевулиновой кислоты**, участвующей в биосинтезе гема гемоглобина и других гемсодержащих белков.

5) **Кинурениназы и кинуренинаминотрансферазы**, обеспечивающих синтез витамина РР из триптофана.

6) **Витамин В₆ стабилизирует гликогенфосфоорилазу** (главный регулируемый фермент, осуществляющий распад гликогена).

Гиповитаминоз

Недостаточность витамина В₆ подробно изучено на крысах, у которых обнаруживались следующие симптомы:

1) Акродиния (специфический дерматит с преимущественным поражением кожи лап, хвоста, носа и ушей).

2) Астения (мышечная слабость).

3) Атаксия (шаткая походка).

Недостаточность пиридоксина у людей сопровождается нарушениями со стороны центральной нервной системы (раздражительность, сонливость, полиневриты), кожных покровов (себорейный дерматит) и слизистых оболочек (ангулярный стоматит, конъюнктивит, хейлоз, глоссит). В ряде случаев, особенно у детей, недостаточность пиридоксина приводит к развитию микроцитарной гипохромной анемии.

Гиповитаминоз, связанный с недостаточностью пиридоксина, редко встречается, поскольку этот витамин присутствует в избыточном количестве в пищевых продуктах. Однако признаки его недостаточности отмечают у больных, принимающих лекарственные препараты, в отношении которых известно, что они являются антагонистами пиридоксина (изониазид, пеницилламин, циклосерин, дезоксипиридоксин). Состояния недостаточности пиридоксина, обусловленные этими лекарственными препаратами, являются обратимыми и снимаются с помощью введения витамина В₆.

Состояние недостаточности пиридоксина возникает у женщин, принимающих противозачаточные препараты. Причиной этого являются эстрогены, а не прогестерон. Более низкий по сравнению с нормой уровень пиридоксина у этих женщин вызывает сонливость, сла-

бость, умственную заторможенность. Причинами развития недостаточности пиридоксина могут быть хронические заболевания желудочно-кишечного тракта, а также наследственные дефекты в функционировании пиридоксинзависимых ферментов (гомоцистинурия, цистатионинурия, наследственная ксантурурия).

Преобразование триптофана в никотиновую кислоту осуществляется с помощью пиридоксальфосфата в процессе трансаминирования. Поэтому гиповитаминоз В₆ может привести к нарушению синтеза никотиновой кислоты и, следовательно, к возникновению пеллагры.

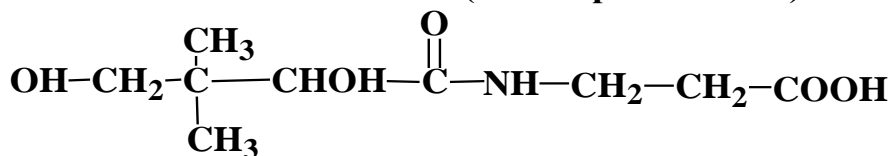
Источники и суточная потребность

Особенно много витамина В₆ содержится в зерновых ростках, грецких орехах, фундуке, картофеле, мясных продуктах, рыбе, яйцах, бобовых.

Суточная потребность в витамине В₆ взрослого человека равна 2-3 мг. Витамин В₆ может синтезироваться микрофлорой кишечника.

Показателями его обеспеченности являются содержание 4-пиридоксидовой кислоты в суточной моче (норма 3-5 мг), содержание пиридоксина в цельной крови (норма 100 мкг/л) и сыворотке (норма 70 мкг/л).

Пантотеновая кислота (антидерматитный)



пантотеновая кислота

Пантотеновая кислота (в переводе с греч. «присутствую везде») состоит из: α,γ-дигидрокси, β,β-диметилмасляной кислоты (пантотеновая кислота) и β-аланина, связанных пептидной связью. Это вязкая светло-желтая жидкость. Пантотеновая кислота малоустойчива и легко гидролизуется по месту пептидной связи под действием слабых кислот и щелочей.

Поступая с пищей, пантотеновая кислота хорошо всасывается в пищеварительном тракте и через кровь проникает в ткани, создавая наибольшие концентрации в печени, надпочечниках, сердце и почках. Биотрансформации не подвергается. Пантотеновая кислота выводится в неизменном виде почками (70%) и печенью (30%).

Биохимические функции

Значение пантотеновой кислоты определяется исключительно

важной ролью ее коферментных форм в ключевых реакциях метаболизма (работа, примерно, 80 ферментов зависят от пантотеновой кислоты), а также способностью производных витамина, таких как S-сульфопантетеин, поддерживать рост бифидобактерий – важного компонента биоценоза кишечника.

1) 4-фосфопантетеин входит в состав АПБ (ацилпереносящего белка) пальмитатсинтазного комплекса.

2) Дефосфо-КоА (это КоА без остатка фосфорной кислоты в 3 положении рибозы) является коферментом цитратлиазы и N-ацетилтрансферазы.

3) КоА-SH – главный кофермент клетки, с участием которого протекают многочисленные реакции метаболизма:

– Окислительное декарбоксилирование кетокислот: пировиноградной с образованием ацетил-КоА; α -кетоглутаровой с образованием сукцинил-КоА (необходим для синтеза гема гемоглобина и простетической группы цитохромов). КоА-SH входит в состав дигидролипоилацетилтрансферазы (второго фермента пируватдегидрогеназного и α -кетоглутаратдегидрогеназного комплексов).

– Активация ацетата с образованием ацетил-КоА, являющегося субстратом для синтеза жирных кислот, холестерина и стероидных гормонов, кетонных тел, ацетилхолина, ацетилглюкозаминов, субстратом цикла Кребса. Также ацетил-КоА участвует в реакциях обезвреживания (ацетилирование биогенных аминов и ксенобиотиков).

– Активация жирных кислот с образованием ацил-КоА, который используется в синтезе триацилглицеринов, глицерофосфолипидов и β -окислении жирных кислот.

Гиповитаминоз

Возникает вследствие нарушения всасывания пантотеновой кислоты в кишечнике при чрезмерном разрушении ее протеолитическими ферментами. У человека дефицит пантотеновой кислоты выявляется своеобразным синдромом «жжения в стопах», апатией, парестезией в руках, нарушением секреторной функции желудка. При дефиците пантотеновой кислоты происходит активация катаболизма белков, жиров и углеводов. Вследствие снижения анаболических процессов возникают трофические расстройства. Авитаминоз не встречается в связи с широким распространением пантотеновой кислоты в продуктах питания.

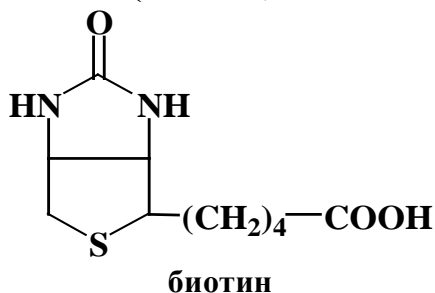
Источники и суточная потребность

Особенно богаты пантотеновой кислотой печень, почки, мясо,

рыба, яйца, бобовые, грибы (шампиньоны, белые), свежие овощи, спаржа, цветная капуста, молочные продукты.

Суточная потребность пантотеновой кислоты для взрослого человека составляет 10-12 мг. Часть потребности удовлетворяется за счет ее синтеза кишечной микрофлорой.

Витамин Н (биотин, антисеборейный)



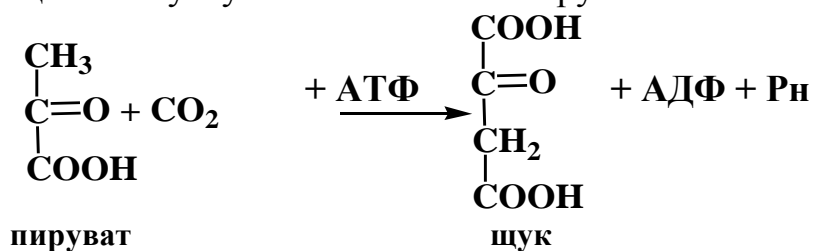
Биотин – в переводе с греческого «жизнь». Витамин Н больше известен как антисеборейный фактор. Молекула биотина состоит из имидазольного и тиофенового колец, составляющих гетероцикл. Боковая цепь представлена валериановой кислотой. Биотин в ферментах всегда прочно присоединен к апоферменту путем образования амидной связи с ε-аминогруппой лизина.

Биохимические функции

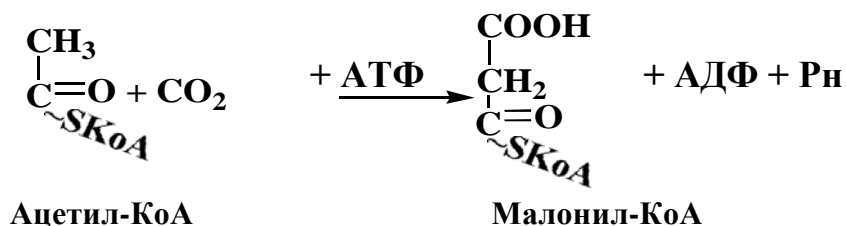
Все биотинсодержащие ферменты катализируют два типа реакций: 1) реакции карбоксилирования, сопряженные с расщеплением АТФ. В ходе реакции за счет энергии АТФ образуется карбоксибиотин. Активная карбоксильная группа затем переносится на субстрат реакции; 2) реакции транскарбоксилирования, протекающие без распада АТФ, при которых карбоксилирование одного соединения осуществляется при одновременно протекающем декарбоксилировании другого соединения.

Примеры биотинзависимых ферментов

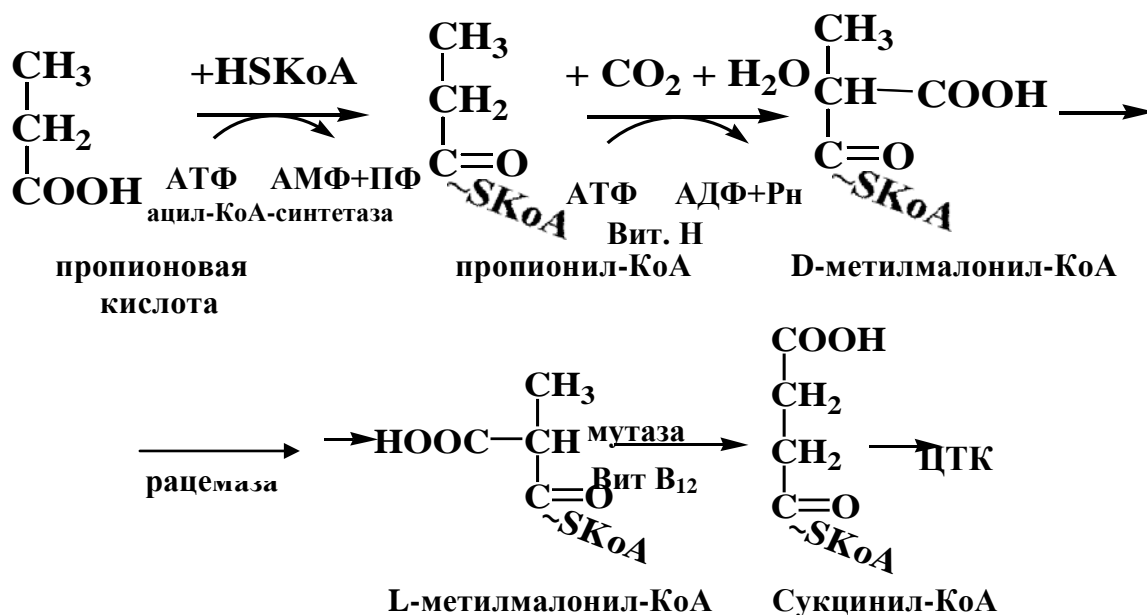
1. Пируваткарбоксилаза является важным митохондриальным ферментом первой обходной реакции глюконеогенеза, катализирующим образование щавелевоуксусной кислоты из пирувата.



2. Ацетил-КоА-карбоксилаза – фермент, катализирующий образование малонил-КоА в реакциях биосинтеза жирных кислот.



3. Пропионил-КоА-карбоксилаза – фермент, участвующий в окислении короткоцепочечных жирных кислот и жирных кислот с нечетным числом атомов углерода.



4. β-метилкротоноил-КоА- карбоксилаза – фермент, участвующий в реакциях окислительного распада лейцина.

5. Метилмалонил-ЩУК-транскарбоксилаза – фермент, катализирующий реакцию транскарбоксилирования (обратимое превращение пирувата и оксалацетата).



Гиповитаминоз

Причины гиповитаминоза витамина Н: 1) длительная антибактериальная терапия; 2) наследственный дефект фермента (синтаза холокарбоксилазы), катализирующего присоединение биотина к апоферменту карбоксилаз.

Проявления гиповитаминоза у человека: себорея, дерматит, облысение, параличи. Дефицит биотина может возникнуть вследствие

приема с пищей большого количества сырых яиц. Это объясняется тем, что в сыром яйце имеется белок авидин, который прочно связывает биотин пищи, и этот комплекс не всасывается в пищеварительном тракте.

Источники и суточная потребность

Больше всего биотина в орехах, фруктах, пивных дрожжах, в говяжьей печени, в почках, желтках яиц, молоке.

Витамин Н может синтезироваться микрофлорой кишечника.

Суточная потребность для взрослого человека 150-300 мкг в сутки.

Витамин В₉ (фолиевая кислота, антианемический, фактор роста)



Витамин В₉ (фолиевая кислота – от лат. *folium* – «лист») состоит из следующих компонентов: птеридина, пара-аминобензойной кислоты (ПАБК) и L-глутаминовой кислоты. Кислота получила название фолиевой, так как содержится в листьях зеленых растений. В растениях большая часть фолиевой кислоты находится в форме конъюгатов с глутаминовой кислотой. При длительном кипячении фолаты практически полностью разрушаются.

Фолиевая кислота, содержащаяся в пище, а также синтезируемая микрофлорой, усваивается только после отщепления «лишних» остатков глутамата под влиянием кишечной конъюгазы. Активность этого фермента существенно снижена у больных спру, у алкоголиков, а также у людей, принимающих противосудорожные препараты, оральные контрацептивы. Известно, что фолиевая кислота всасывается в виде простых гидролизатов, а не в конъюгированной форме. Подобно витамину В₁₂, физиологические дозы (1 мг) фолиевой кислоты абсорбируются путем активного транспорта, а большие дозы путем диффузии. Всасывание фолатов из пищи происходит не полностью. Заболевания кишечника могут вести к нарушению всасывания конъюгированных форм фолиевой кислоты.

Витамин В₉ попадает в кровь уже через 30 мин после его приема

внутри и очень быстро уходит в разные ткани, но преимущественно в печень и ликвор. Общее количество фолатов в организме колеблется от 5 до 10 мг, из них почти 1/3 находится в печени, главным образом в форме метилтетрагидрофолиевой кислоты. Этих запасов организму хватает на 1-2 мес в случае прекращения поступления фолатов с пищей. Этим объясняется большая скорость развития фолиевой недостаточности по сравнению с дефицитом витамина В₁₂, запасов которого хватает на 1-2 года.

Подобно витамину В₁₂ сама по себе фолиевая кислота неактивна. Она действует как предшественник различных коферментов. Фолиевая кислота в организме (преимущественно в печени) восстанавливается до тетрагидрофолиевой кислоты (ТГФК), которая является кофактором ряда ферментов, участвующих в переносе одноуглеродных фрагментов.

Биохимические функции

Коферментной формой фолиевой кислоты является ТГФК, необходимая для переноса одноуглеродных фрагментов: метильной (–СН₃), метиленовой (–СН₂–), метенильной (–СН=), формильной (–СНО) и формиминогруппы (СН=NH). Присоединение этих групп происходит к пятому или десятому атому азота ТГФК.

Важнейшими реакциями с переносом одноуглеродных фрагментов, осуществляемого ТГФК, являются:

- 1) N⁵,N¹⁰-метенил-ТГФК и N¹⁰-формил-ТГФК служат донорами 8 и 2 атома пуринового скелета.
- 2) N⁵,N¹⁰-метилен-ТГФК необходима для синтеза дТМФ.
- 3) N⁵-метил-ТГФК участвует в синтезе метионина.
- 4) ТГФК играет важную роль в метаболизме серина, глицина, метионина, глутамата, гистидина, холина, бетаина.

Гиповитаминоз

При недостатке фолиевой кислоты развивается мегалобластическая анемия. Основные причины мегалобластической анемии: снижение всасываемости фолатов в кишечнике при стеаторее, органическом поражении тощей кишки, а также резекции тонкого кишечника. Некоторые лекарственные препараты, такие как фенобарбитал, дифенин и гексамидин, также нарушают всасывание фолатов. Редко встречается наследственная неспособность к всасыванию фолатов. Кроме того, длительное лечение метотрексатом, хлоридином, триметопримом может вести к дефициту фолатов, они блокируют превращение фолиевой кислоты в ТГФК. Длительная термическая обработка пищи приводит к

разрушению фолатов. К дефициту фолиевой кислоты может привести возросшая потребность в ней, например, при беременности (в III триместре). Дефицит витамина у беременных способствует преждевременным родам с последующим физическим и умственным отставанием развития ребенка. Возрастание потребности в фолиевой кислоте наблюдается при некоторых заболеваниях, таких как лейкемия, гемолитическая анемия, хронические инфекции, карциноматоз. Недостаточность фолиевой кислоты приводит к нарушению синтеза пуриновых нуклеотидов и д-ТМФ. Следствием этого является нарушение клеточного цикла быстро пролиферирующих клеток (гемопоэтических и эпителиальных). Предшественники эритроцитов реже делятся и дольше пребывают в интерфазе, синтезируя гемоглобин. Мегалобласты и мегалоциты имеют повышенный цветовой показатель (богаты гемоглобином), но пониженный срок жизни. Нестабильная ДНК формирует структуры типа колец Кабо и телец Жолли. Нарушение миелиопоэза ведет к лейкопении и тромбоцитопении. Устойчивость мегалоцитов к гемолизу понижена, что ведет к гипербилирубинемии.

Нарушается пролиферация эпителия, что проявляется хейлозом, глосситом (сухой красной «лакированный язык»), эзофагитом, конъюнктивитом, атрофическим или эрозивным гастритом, энтеритом. Происходит задержка роста, ухудшается заживление ран, развивается иммунодефицит.

Метаболизм фолиевой кислоты тесно связан с метаболизмом кобаламинов. Клинические проявления дефицита этих витаминов схожи, за исключением того, что неврологические нарушения характерны для дефицита витамина В₁₂. Изменения периферической крови и костного мозга также сходны, лишь некоторые специальные тесты и уровень этих витаминов в крови помогают поставить точный диагноз.

Источники и суточная потребность

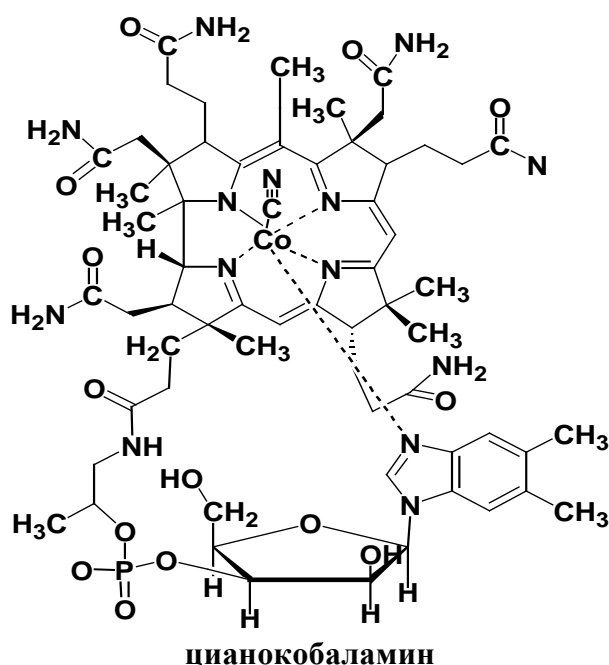
Основным источником фолатов в питании являются зерновые, мука грубого помола, салат, ранняя капуста, зеленый горошек, свежие грибы, дрожжи.

Потребность взрослого человека в витамине В₉ около 200 мкг/сут, беременных и кормящих женщин – 400-600 мкг; детей первого года жизни – 40-60 мкг. Нормальная микрофлора кишечника может синтезировать фолиевую кислоту самостоятельно.

При нормальной обеспеченности фолатом ежедневно с калом выводится около 200 мкг, с мочой – 5-40 мкг фолиевой кислоты.

Витамин В₁₂ (кобаламин, антианемический)

Это единственный металлосодержащий витамин (содержит кобальт). Витамин В₁₂ состоит из планарной структуры, сложенной из четырех пиррольных колец с атомом кобальта в центре, трех пирролиновых и одного пирролидинового. Эта система колец называется коррин. Перпендикулярно плоскости коррина расположен нуклеотид, содержащий 5,6-диметил-бензимидазол, α-D-рибозу и остаток фосфорной кислоты. У 13 из 19 углеродных атомов, составляющих ядро коррина, атомы водорода замещены метильными группами, ацетамидными и пропионамидными радикалами. Атом кобальта находится в трех валентном состоянии и ковалентно связан с группой CN. Вся структура получила название цианокобаламина (считают, что цианид-ион является артефактом, зависящим от способа выделения).



Всасывание витамина В₁₂ является сложным процессом, для которого необходима нормальная функция желудка. Слюнными железами и желудком секретируются кобаламин-связывающие белки, известные как «R-протеины». Они связывают кобаламины. В желудке кобаламин-связывающие белки под действием соляной кислоты отщепляются, и освобожденные кобаламины связываются с внутренним фактором Касла. Это низкомолекулярный гликопротеин, не чувствительный к протеолизу, секретируется париетальными клетками слизистой кардии и дна желудка (необходим для всасывания витамина В₁₂). Комплекс кобаламин-внутренний фактор Касла поступает в клетки слизистой подвздошной кишки. Затем витамин В₁₂ медленно поступает в кровь, а внутренний фактор Касла либо гидролизуется, либо воз-

вращается в просвет кишечника. В крови витамин В₁₂ связывается с транспортным белком (транскобаламин-2). В печени и плазме есть транскобаламин-1. Этот белок выполняет функцию резервирования в печени и крови витамина В₁₂. Кобаламин связывается с рецептором на поверхности плазматической мембраны клеток и затем поступает в клетку. В цитозоле свободный кобаламин превращается в гидроксикобаламин и метилкобаламин, а в митохондриях – в 5'-дезоксиаденозилкобаламин. Метилкобаламин и 5'-дезоксиаденозилкобаламин являются коферментными формами витамина В₁₂.

Биохимические функции

В клетках млекопитающих происходят две следующие реакции с участием коферментных форм витамина В₁₂:

1. В первой реакции участвует метилкобаламин, являющийся коферментом гомоцистеинметилтрансферазы. Фермент переносит метильную группу с 5-метил-ТГФК на гомоцистеин с образованием метионина. При уменьшении содержания в диете витамина В₁₂ синтез метионина снижается, происходит накопление 5-метил-ТГФК, который образуется при восстановлении 5,10-метилтен-ТГФК (такое явление назвали «фолатная ловушка»). Уменьшается содержание формил- и метилтенпроизводных ТГФК. Переносимые ими одноуглеродные фрагменты, необходимы для синтеза нуклеотидов. Таким образом, демонстрируется тесная взаимосвязь между витаминами – фолиевой кислотой и кобаламином.

2. Вторая реакция требует участия другой коферментной формы витамина В₁₂ – 5'-дезоксиаденозилкобаламина. Кофермент входит в состав метилмалонил-КоА-мутазы. Субстратом этой реакции является метилмалонил-КоА, образующийся при карбоксилировании пропионил-КоА. Эта реакция является весьма важной в метаболизме пропионовой кислоты, которая образуется при окислении жирных кислот с нечетным числом атомов углерода, окислительном распаде аминокислот: изолейцина, метионина и серина.

Гипо- и авитаминоз В₁₂

Еще в XIX столетии Т. Аддисон и А. Бирмер описали злокачественную анемию с увеличением диаметра незрелых красных кровяных клеток, сопровождаемую ахилическим гастритом с атрофией слизистой желудка. в XX столетии Дж. Х. Уиппл показал, что введение печени в рацион собак с мегалобластическими анемиями приводит к стимуляции кроветворения, а затем Ж.Р. Мино и У.П. Мерфи (1926) добились излечения мегалобластических состояний у человека боль-

шими количествами печени. Однако, диетотерапия печени оставалась неэффективной при анемии Аддисона-Бирмера. В связи с этим, В. Кэстл (1928) предположил, что ее развитие зависит от внешнего фактора пищи и внутреннего, выделяемого слизистой желудка. В 1948 г. Смитом, Райксом и соавт. был выделен в кристаллической форме агент, ответственный за лечебный эффект печени при мегалобластической анемии (внешний фактор Кэстла или, как часто транскрибируют Касла), чуть позже Баркер охарактеризовал его коферментную форму – кобаламин. Вещество получило название витамин В₁₂. В анион-замещенной форме цианкобаламина он стал использоваться в фармакотерапии. Но только в пятидесятых годах Д. Кроуфут-Ходжкин удалось расшифровать крайне сложную химическую структуру витамина, используя рентгеноструктурный анализ (1955). Витамин оказался кобальт-содержащим геминоподобным соединением (молекулярной массой 1356 Д).

Недостаточность кобаламинов возникает вследствие низкого содержания их в пище при вегетарианской диете и тем более - при голодании. Особое значение имеет нарушение всасывания витамина при гастритах с пониженной кислотностью (в случаях нарушения образования внутреннего фактора Касла), оперативном удалении желудка или подвздошной кишки.

Гиповитаминоз В₁₂ проявляется злокачественной мегалобластической анемией, или анемией Аддисона - Бирмера. Болезнь также называется **пернициозной анемией**. Нарушения кроветворной функции аналогичны наблюдаемым при недостатке фолиевой кислоты. Помимо этого, поражаются задние и боковые столбы спинного мозга вследствие нарушения синтеза миелина; дегенеративные изменения отмечаются также в периферической нервной системе и головном мозге. Неврологическая симптоматика сводится к парестезиям, онемению кистей и стоп, неустойчивости походки, ослаблению памяти вплоть до спутанности сознания.

Источники и суточная потребность

Витамин В₁₂ в растениях не встречается. Растения не способны синтезировать его. Основным источником служат пищевые продукты животного происхождения: говяжья печень, рыба, продукты моря, мясо, молоко, сыр.

Суточная потребность взрослого человека равна 3-5 мкг. Обычно запасов витамина В₁₂ в печени человека вполне достаточно, чтобы предохранить от развития авитаминоза в течение года. Может синтезироваться кишечной микрофлорой.

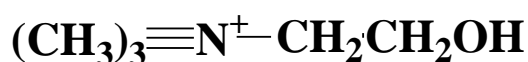
Показателями обеспеченности организма кобаламином являются

уровень его ренальной экскреции (в норме не ниже 0,02 мкг/сут) и содержание в сыворотке крови (в норме 200-1000 нг/мл). Важным показателем служит также ренальная экскреция метилмалоновой кислоты (в норме 1-4 мг/сут).

Лекция 36

ВИТАМИНОПОДОБНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Витамин В₄ (холин)



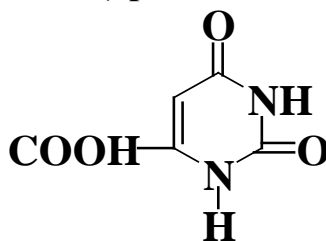
Представитель витаминов группы В. Совместно с инозитом участвует в эмульгировании жиров. Особую ценность холину придает его способность преодолевать гематоэнцефалический барьер, тем самым, обеспечивая питание и нормальное функционирование клеток головного мозга, особенно памяти. Эмульгирующая способность холина позволяет ему препятствовать отложению холестерина в интимах сосудов, облегчать выведение токсинов из печени. Является источником метильных групп. Лучшими источниками холина являются желтки яиц, мозги, сердце, печень, пивные дрожжи, завязь пшеницы, листовые овощи.

Активность холина снижается под действием тепловой обработки продуктов, алкоголя, сульфаниламидных препаратов.

Суточная потребность взрослого человека в холине 500-1000 мг.

При дефиците холина может развиваться жировая дистрофия и цирроз печени, атеросклероз и заболевания центральной нервной системы.

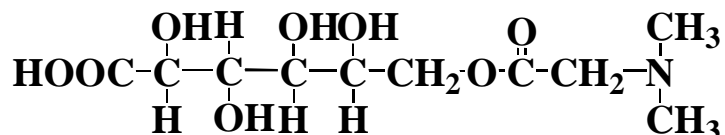
Витамин В₁₃ (оротовая кислота)



Оротовая кислота – новый витамин группы В, участвующий в метаболизме фолиевой кислоты и витамина В₁₂. Биологически активная форма оротата – оротидин-5-фосфат. Необходима для синтеза пиримидиновых нуклеотидов. Благодаря этому оротовая кислота стимулирует синтез белка. Отмечается участие витамина В₁₃ в торможении

атеросклеротического процесса. Оротовая кислота широко распространена в продуктах животного происхождения. Особенно богаты витамином В₁₃ кисломолочные продукты. Активность оротовой кислоты быстро снижается под действием солнечного света.

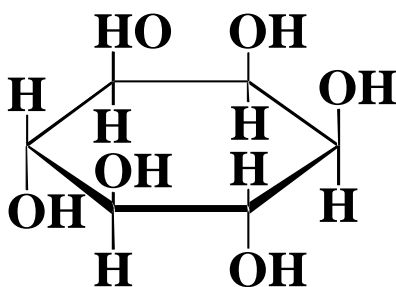
Витамин В₁₅ (пангамовая кислота)



Это физиологически активное соединение, обнаруживаемое в пивных дрожжах, тыквенных семечках, в цельном зерне и проявляющее антиоксидантное действие. Пангамовая кислота подобно метионину служит источником метильных групп. Она участвует в биосинтезе холина, креатина. Проведенные исследования позволяют рекомендовать пангамовую кислоту для использования в антиатеросклеротических целях (снижение уровня холестерина), активации иммунных процессов, профилактики цирроза печени, увеличения продолжительности жизни клеток. Особый интерес пангамовая кислота представляет в качестве средства, снижающего потребность в алкоголе и предотвращающего похмелье.

Рекомендуемая дневная норма потребления 50-150 мг.

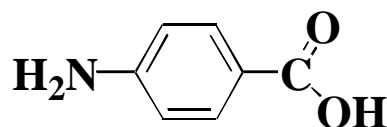
Витамин В₈ (инозит)



Это биологически активное соединение, препятствующее жировой дистрофии печени. Важность инозита в организме заключается в том, что он совместно с холином обеспечивает метаболизм лецитина. Производное витамина В₈ (инозитол-1,4,5-трифосфат) является вторичным посредником действия гормонов. При недостатке инозита в пище происходит накопление в печени нейтральных липидов, падение содержания в ней фосфолипидов. Однако липотропное действие инозита меньше чем холина. Наиболее богаты инозитом печень, говяжьи мозги, сердце, печень, пивные дрожжи, дыня, изюм, арахис, завязь пшеницы,

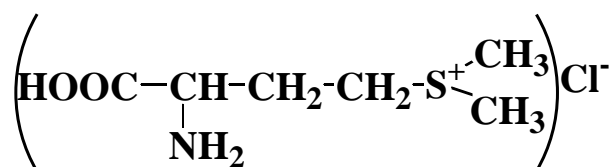
капуста. Активность инозита снижается под действием кофе, алкоголя, сульфаниламидных препаратов и тепловой обработки пищи. Суточная потребность в инозите для взрослого человека составляет 250-500 мг.

Парааминобензойная кислота (ПАБК)



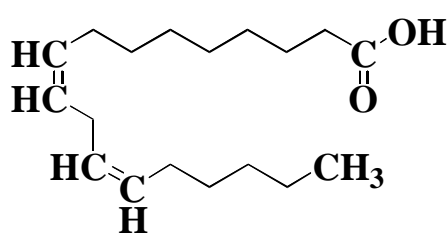
ПАБК широко представлена в продуктах питания, наиболее богаты: печень, почки, пивные дрожжи, яйца, завязи пшеницы, рис, отруби. Участвует в образовании фолиевой кислоты. В этом состоит ее основная биологическая роль. Установлена способность ПАБК в сочетании с пантотеновой кислотой восстанавливать естественный цвет седых волос путем активации синтеза меланина (повышает активность тирозиназы). ПАБК используется как средство, обладающее способностью защищать кожу от солнечных ожогов, уменьшать боль при ожогах, тормозить образование морщин. Рекомендуемые дозы приема 30-100 мг в сутки.

Витамин U (S-метилметионин)

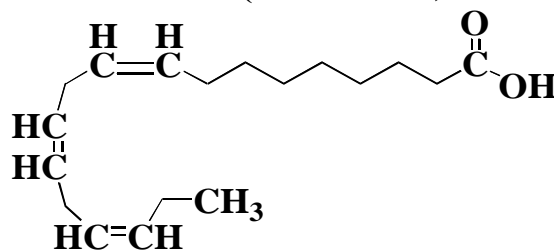


Витамин U содержится в сырых овощах, особенно много его в капусте. Активное начало капустного сока обладает способностью задерживать развитие экспериментальной язвы желудка, поэтому его назвали антиязвенным фактором или витамином U. Это метилированное производное метионина. Витамин U является активным донором метильных групп и поэтому способствует синтезу холина, креатина и других соединений, содержащих метильную группу.

Эссенциальные жирные кислоты (витамин F)



линолевая кислота



линоленовая кислота

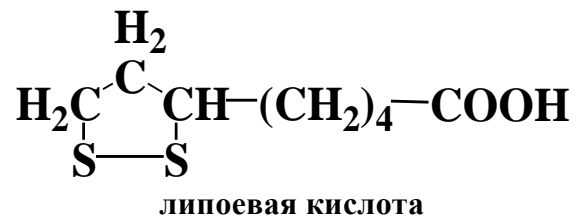
Витамин F представляет собой сумму ненасыщенных жирных кислот, которые не могут быть синтезированы в тканях организма, но необходимы для нормальной жизнедеятельности. Однако не все полиеновые жирные кислоты обладают свойствами витамина F. Витамин F необходим для нормального роста и регенерации кожного эпителия, а также для синтеза таких важных регуляторов как простагландины. В тканях организма они используются для образования важнейших липидов, входящих в биологические мембраны и обладающих регуляторной активностью (образование простагландинов, которые регулируют обмен веществ). Витамин F поддерживает запасы витамина A и способствует выполнению им биохимических функций. Для сохранения биологической активности незаменимых полиеновых жирных кислот требуется токоферол, препятствующий их перекисному окислению. Линолевая и линоленовая кислоты, входя в состав глицерофосфолипидов мембран, обеспечивают текучесть мембран. Источником витамина F являются растительные масла. Суточная потребность в нем взрослого человека составляет 5-10 г.

Витамин Вt (карнитин)



Карнитин распространенное в продуктах питания вещество, особенно много его в мясных продуктах. Карнитин является истинным витамином для мучного червя, но не для млекопитающих (синтезируется из γ -бутиробетина). Биосинтез карнитина происходит в основном в печени. В печени с участием γ -бутиробетин-гидроксилазы происходит гидроксирование γ -бутиробетина с образованием карнитина. Для протекания этой реакции необходима аскорбиновая кислота. Биологически активным является L-карнитин. Карнитин участвует в β -окислении жирных кислот (обеспечивает перенос жирной кислоты из цитоплазмы в митохондрии). Имеются данные, что карнитин стимулирует внешнесекреторную функцию поджелудочной железы, оказывает положительный эффект на сперматогенез и подвижность сперматозоидов. Описаны случаи карнитиновой недостаточности, которые проявляются в виде поражения скелетных мышц. У таких людей наблюдается выраженное снижение содержания карнитина в мышцах. Клинически проявляется мышечной слабостью, дистрофией. Назначение больших количеств карнитина облегчает течение этого заболевания. Дефицит лизина в пище ухудшает обеспеченность организма карнитином. Примерная суточная потребность карнитина для человека составляет 500 мг.

Витамин N (липоевая кислота)



Липоевая кислота в тканях, связывается ковалентно с NH₂-группой лизина активного центра апоферментов «липоевых» ферментов. К ним относятся вторые ферменты мультиферментных комплексов окислительного декарбоксилирования пирувата и α-кетоглутарата. Липоевой кислоте присуще антиоксидантное действие. Недостаточность липоевой кислоты у человека не описана. Липоевая кислота поступает с пищей. Наиболее богаты дрожжи, мясные продукты, молоко. Суточная потребность составляет приблизительно 1-2 мг.

Лекция 37

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГОРМОНОВ И МЕХАНИЗМОВ ИХ ДЕЙСТВИЯ

1. Нейроэндокринная система

Для межклеточной коммуникации многоклеточный организм использует две на первый взгляд различные системы. Уже сто лет тому назад было признано, что нервная система – это структурно-фиксированная сеть нервных клеток, предназначенная для быстрого реагирования. Другая, эндокринная система, была описана как действующая более медленно и использующая мобильные химические сигналы, которые действуют на расстоянии от места их образования. С открытием нейротрансмиттеров и познанием того, что сигнальные молекулы могут действовать локально, на прилежащие клетки или даже на самих себя, стало очевидно, что жесткое различие между нервной и эндокринной системами не соответствует действительности, и что во многих случаях они действуют в интегрирующей манере как *единая нейроэндокринная система*. Если в нервной системе происходит интеграция поступающей информации, исходящей от внутренних органов и окружающего мира, и принятие решения, то реализация принятого решения, достижение оптимального конечного результата в значительной степени осуществляется через нейроэндокринную систему.

Первый уровень нейроэндокринной системы составляют внегипоталамические структуры центральной нервной системы, включая кору и подкорковые образования головного мозга, где происходит интеграция поступающей информации, исходящей от внутренних органов и окружающего мира. Вторым уровнем является гипоталамус, играющий центральную роль в нейроэндокринной системе. В клетках гипоталамуса происходит переключение нервных (электрических) сигналов на химические (гормональные). Вырабатываемые в нейронах гипоталамуса нейрогормоны регулируют биосинтез и секрецию тропных гормонов гипофиза. Третий уровень нейроэндокринной системы занимает гипофиз. Посредством тропных гормонов он управляет периферическими эндокринными железами. Четвертым уровнем являются периферические эндокринные железы. Секретируемые ими гормоны воздействуют на территориально разобщенные органы-мишени, синхронизируют ритм их работы и интегрируют специфическую ответную реакцию. Пятым уровнем, на котором базируется вся пирамида нейроэндокринной системы, и где реализуются гормональные эффекты, являются органы-мишени, клетки которых имеют специфические рецепторы к гормонам.

Иерархия нейроэндокринной системы



1.1. Определение и общая характеристика гормонов

Гормоны – это вещества, которые вырабатываются специализированными эндокринными клетками, высвобождаются непосредственно

ственно в кровь и переносятся к тканям и клеткам-мишеням, где вызывают характерные биологические эффекты. Понятие «гормон» (от греч. *hormao* – побуждаю, привожу в действие) было предложено Э.Г. Старлингом в 1905 году. Он образно назвал гормоны *вестниками* (*мессенджерами*). На клеточном уровне это означает, что гормон приносит к клетке весть о необходимости изменения ее метаболизма. *Гормоны оказывают специфическое действие на метаболизм клетки тремя путями*: 1) воздействуя на скорость синтеза ферментов и других белков; 2) изменяя активность ферментов, а, следовательно, и скорость ферментативного катализа; 3) изменяя проницаемость клеточных мембран.

Помимо гормонов, секретирующихся в кровь и действующих на удаленные органы и ткани, существуют еще биологические активные вещества, похожие по своим свойствам на гормоны. Эти биологические активные вещества принято называть *гормоноподобными веществами* (*гормоноидами*) или *местными гормонами*. К ним относятся биогенные амины (гистамин), кинины, эйкозаноиды, интерлейкины, ростовые факторы, эндотелины.

Главные, но не абсолютные, отличительные признаки истинных гормонов от гормоноподобных веществ:

1) источником образования истинных гормонов являются специализированные эндокринные клетки или органы, в которых *все биохимические процессы направлены на синтез и секрецию гормонов*, в то время как источником гормоноидов могут быть различные клетки;

2) *дистантное и системное* действие истинных гормонов, в отличие от локального (местного) действия гормоноидов.

В общем, различают 3 пути воздействия химических регуляторов на клетки и ткани:

1. Эндокринный путь, при котором регулятор с током крови переносится к *отдаленным* клеткам-мишеням, где вызывает биологический эффект.

2. Паракринный путь, при котором регулятор воздействует на *прилегающие* (соседние) клетки данной ткани.

3. Аутокринный путь, при котором регулятор действует на *синтезирующие его клетки*.

1.2. Биосинтез гормонов

Гормоны белково-пептидной природы образуются, как правило, по схеме препрогормон – прогормон – гормон:

а) при трансляции специфической и-РНК образуется препрогормон, имеющий на N-конце так называемую сигнальную последовательность длиной 20-25 аминокислотных остатков. Сигнальная последовательность

довательность (сигнальный пептид) необходима для транспорта синтезируемой полипептидной цепи внутрь цистерн эндоплазматического ретикулума [Замечание: все экспортные белки для их дальнейшей секреции должны попасть в цистерны эндоплазматического ретикулума];

б) в цистернах эндоплазматического ретикулума происходит удаление сигнального пептида специальными протеазами. Образуется прогормон (например, проинсулин, прокальцитонин, пропаратгормон), а иногда – сразу гормон (например, гормон роста, пролактин);

в) в комплексе Гольджи происходит дальнейший протеолиз прогормонов с образованием активных гормонов. Некоторые гормоны там же подвергаются дополнительной модификации, например, гликозилированию (тиреотропин, гонадотропины).

Один прогормон может быть источником либо одного гормона, либо, что наблюдается гораздо реже, сразу нескольких. Например, проопиомеланокортин аденогипофиза служит предшественником АКТГ, β -липотропина, меланоцитстимулирующего гормона и эндорфинов.

Стероидные гормоны синтезируются по другому пути. Исходным сырьем для их синтеза служит холестерин. Превращение холестерина в стероидные гормоны состоит в укорочении алифатической боковой цепи, гидроксिलировании и дегидрировании стероидного ядра.

При биосинтезе катехоламинов аминокислота тирозин подвергается гидроксिलированию и декарбоксилированию и, дополнительно, при синтезе адреналина, метилированию.

1.3. Транспорт гормонов

Липофильные молекулы стероидных и тиреоидных гормонов транспортируются по крови специальными транспортными белками. В то же время гидрофильные молекулы гормонов белково-пептидной природы не имеют *специальных* транспортных белков и транспортируются кровью преимущественно в свободном виде. Обращает на себя внимание, что гормоны, транспортируемые специализированными транспортными белками, имеют гораздо больший период полужизни (часы и дни), нежели гормоны, транспортируемые в свободном виде (минуты).

1.4. Периферическая конверсия гормонов

Некоторые гормоны в периферических тканях превращаются в более активные соединения, например, тестостерон в некоторых тканях превращается в более активный дигидротестостерон. Около 80% цирку-

лирующего тироксина превращается в клетках-мишенях в трийодтиронин.

1.5. Хранение и запасы гормонов

Тиреоглобулин щитовидной железы содержит двухнедельный запас тиреоидных гормонов. В-клетки поджелудочной железы имеют инсулина не более чем на 5 дней. Другие пептидные гормоны запасаются еще в меньших количествах. Практически не запасаются стероидные гормоны.

1.6. Инактивация гормонов

Гормоны инактивируются как в клетках-мишенях, после их проникновения внутрь клетки, так и в клетках органов, которые могут и не являться мишенями для данного гормона, главным образом в печени и почках. Основной путь инактивации пептидных гормонов – протеолиз неспецифическими протеазами. Стероидные гормоны подвергаются в печени реакциям восстановления с последующим образованием гидрофильных конъюгатов с глюкуроновой кислотой, экскретируемых в желчь и мочу. Катехоламины инактивируются специальными ферментами (моноаминоксидазой и катехол-орто-метилтрансферазой) тканей-мишеней и печени с образованием неактивных метаболитов, выделяющихся с мочой. Инактивация тиреоидных гормонов происходит посредством дейодирования, дезаминирования, а также путем образования конъюгатов с глюкуроновой кислотой.

1.7. Схема нейроэндокринных взаимосвязей

Поток информации о состоянии внешней и внутренней среды организма поступает в центральную нервную систему (ЦНС), где перерабатывается, а в ответ посылаются регуляторные сигналы к периферическим органам и тканям. При этом регуляторные сигналы могут быть двух видов – электрические в виде нервных импульсов или химические в виде гормонов. Нервные импульсы, поступающие от различных отделов головного мозга, влияют на секрецию клетками гипоталамуса рилизинг-гормонов, которые регулируют выделение тропных гормонов гипофиза. Тропные гормоны влияют на секрецию гормонов периферическими эндокринными железами. Такой путь регуляции функции периферических эндокринных желез называется *трансгипофизарным*.

Существует и *парагипофизарный путь* регуляции функции периферических эндокринных желез, при котором нервные импульсы

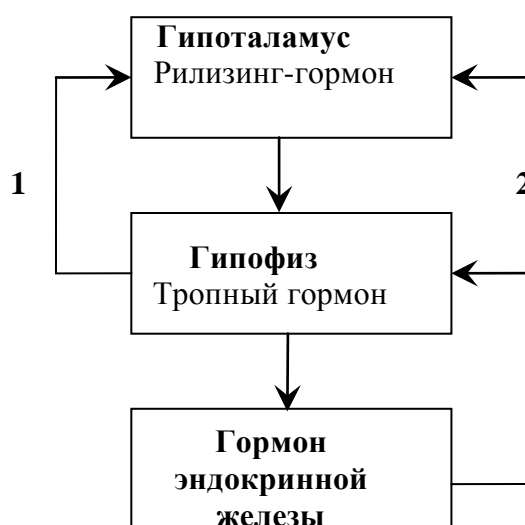
прямо регулируют секрецию гормонов эндокринными железами в кровь. Например, адреналин секретируется мозговым слоем надпочечников в ответ на стрессорные стимулы. При этом функционирует парасимпатический путь регуляции: ЦНС – n. splanchnicus – мозговой слой надпочечников – секреция адреналина в кровь.

1.8. Механизмы саморегуляции

Поддержание физиологического уровня гормонов в крови обеспечивается механизмами саморегуляции. Важнейшую роль в регуляции гормональной секреции играет механизм *обратной отрицательной связи*, заключающийся в том, что при избыточном содержании гормона в крови тормозится секреция его физиологических стимуляторов.

Различают *короткую петлю* обратной связи, когда тропные гормоны гипофиза ингибируют секрецию рилизинг-гормонов гипоталамуса, и *длинную петлю* обратной связи, когда гормоны периферических эндокринных желез ингибируют секрецию рилизинг-гормонов гипоталамуса и тропных гормонов гипофиза.

Регуляция по типу обратной отрицательной связи



1 – короткая петля; 2 – длинная петля

Частным проявлением механизма обратной отрицательной связи является *метаболично-гормональная* обратная связь, то есть регуляция выделения гормона посредством метаболитов, концентрация которых в крови меняется при действии гормона на ткань-мишень. Например, гипергликемия вызывает высвобождение из островков поджелудочной железы инсулина, который усиливает утилизацию глюкозы тканями. В результате уровень глюкозы возвращается к норме, что в

свою очередь снижает секрецию инсулина.

Регуляция уровня гормонов может осуществляться и по механизму *положительной обратной связи*. Так, эстрогены способствуют выбросу лютеинизирующего гормона, в результате чего происходит овуляция.

Выделение многих гормонов часто подчиняется суточным (циркадным) ритмам и может быть связано с некоторыми физиологическими состояниями (например, беременность, лактация, адаптация к новым условиям среды).

1.9. Клетки и ткани-мишени

Мишенью гормона может быть одна или несколько тканей. *Ткань-мишень – это ткань, в которой гормон вызывает специфическую биологическую реакцию*. Клетки-мишени определяются по их способности селективно связывать гормон специфическими рецепторами, находящимися на поверхности либо внутри клетки.

1.10. Рецепторы гормонов

Рецепторы (от лат. *receptor* - тот, кто принимает) гормонов по их локализации в клетке можно разделить на два вида: 1) поверхностные (мембранные) и 2) внутриклеточные.

Все рецепторы гормонов имеют, по меньшей мере, два функциональных домена (области): 1) домен распознавания, который связывает гормон, и 2) домен, который генерирует сигнал сопряжения между связыванием гормона и изменением клеточной функции.

Количество рецепторов и средство их к гормонам являются регулируемыми параметрами. Лучше изучены в этом отношении поверхностные рецепторы. В клетках, подвергшихся действию какого-либо гормона достаточно длительное время, исчезает биологический ответ. Такая потеря чувствительности – *десентизация* – опосредуется двумя механизмами. Первый механизм включает утрату рецепторов плазматической мембраной. Эта *понижающая регуляция* (down-regulation) осуществляется путем эндоцитоза (или, как говорят, путем интернализации) комплекса гормон-рецептор. Внутри клетки гормон разрушается в лизосомах, а рецептор либо разрушается, либо возвращается на поверхность клетки. Процесс интернализации характерен для гормонов белково-пептидной природы и доказан для инсулина, тиреотропина, тиреолиберина, гонадолиберина, хорионического гонадотропина, фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов. Второй механизм десентизации – *это ковалентная модификация рецептора путем фосфорилирования его цитозольного домена*. Фосфорилирован-

ный рецептор не способен активировать G-белок, и, следовательно, аденилатциклазу. Этот процесс быстрый и, в отличие от более медленного первого, не сопровождается изменением числа рецепторов на поверхности клетки и характерен для тропных гормонов гипофиза и катехоламинов.

1.11. Классификация гормонов

Гормоны можно классифицировать по разным признакам (по месту выработки, по химическому строению, по механизму действия, по биологической функции). Наиболее часто используется классификация гормонов по их химическому строению.

По *химическому строению* гормоны подразделяются на:

1) Белково-пептидные (гормоны гипоталамуса, гипофиза, поджелудочной и паращитовидной желез, кальцитонин щитовидной железы).

2) Производные аминокислот (адреналин и йодтиронины – производные тирозина; мелатонин – производное триптофана).

3) Стероидные (половые гормоны, кортикостероиды).

По *механизму действия* гормоны классифицируются на две большие группы: 1) **проникающие** в клетку – гормоны, которые действуют через внутриклеточные рецепторы и 2) **непроникающие** в клетку – гормоны, которые действуют через поверхностные рецепторы.

Классификация гормонов по механизму действия

Гормоны, действующие через внутриклеточные рецепторы	Гормоны, действующие через поверхностные рецепторы			
Стероид-тиреоидный механизм	Аденилатциклазный механизм	Гуанилатциклазный механизм	Ca ²⁺ / фосфатидилинозитоловый механизм	Киназный механизм

К первой группе гормонов относятся стероидные и тиреоидные гормоны.

Гормоны второй группы, к которым относятся катехоламины и гормоны белково-пептидной природы, действуют не прямо, а посредством вторичных посредников (мессенджеров). Термин *вторичный посредник* указывает на то, что он находится между первичным химическим сигналом (гормоном) и биологическим ответом клетки. Другими словами, если представить себе, что гормон это “посланник” (англ. messenger) из эндокринных клеток, то внутриклеточные медиаторы

гормонального действия могут быть названы вторичными посланниками или посредниками (англ. second messenger).

По количеству основных вторичных посредников и механизмам их образования гормоны, связывающиеся с поверхностными рецепторами, подразделяются на четыре подгруппы:

а) действующие по аденилатциклазному механизму (вторичный посредник цАМФ) – α_2 и β -адренергические катехоламины, АКТГ, вазопрессин, глюкагон, кальцитонин, паратгормон, ангиотензин-II, тиреотропин, кортиколиберин, фолликулостимулирующий гормон;

б) действующие по гуанилатциклазному механизму (вторичный посредник цГМФ) – атриальные натрий-уретические факторы;

в) действующие по Ca^{2+} /фосфатидилинозитоловому механизму (вторичный посредник Ca^{2+} и/или фосфатидилинозитолы) – α_1 -адренергические катехоламины, окситоцин, вазопрессин, ангиотензин-II, гастрин, тиреолиберин, гонадолиберин и соматолиберин;

г) действующие по киназному механизму (вторичный посредник – киназный каскад) – инсулин, гормон роста и пролактин.

Следует подчеркнуть, что разделение гормонов по указанным механизмам действия несколько условно, так как между этими механизмами действия гормонов существует взаимосвязь. Кроме того, один и тот же гормон может действовать разными механизмами, например, при связывании вазопрессина с V_2 -рецепторами почек активируется аденилатциклазный механизм, а при связывании с V_1 -рецепторами сосудов запускается Ca^{2+} /фосфатидилинозитоловый механизм.

По биологическим функциям основные гормоны можно разделить следующим образом:

1) гормоны, регулирующие функции периферических эндокринных желез – рилизинг-гормоны гипоталамуса и тропные гормоны гипофиза;

2) гормоны, регулирующие обмен белков, жиров и углеводов – инсулин, глюкагон, катехоламины, глюкокортикоиды;

3) гормоны, регулирующие рост, развитие и дифференцировку тканей и органов – тиреоидные гормоны, гормон роста, половые гормоны, инсулин;

4) гормоны, регулирующие водно-солевой и минеральный обмен – минералокортикоиды, предсердные натрий-уретические факторы, антидиуретический гормон, паратгормон, кальцитонин, кальцитриол.

1.12. Механизмы действия гормонов

Имеется несколько основных механизмов, посредством которых гормоны вызывают биологический эффект внутри клетки. В первом механизме гормоны действуют через внутриклеточные рецепторы, ло-

кализированные в цитозоле или ядре. Это характерно для небольших, липофильных молекул стероидных и тиреоидных гормонов. Рецепторы стероидных и тиреоидных гормонов имеют сходное строение и отнесены к суперсемейству рецепторов стероид-тиреоидных гормонов. Эти рецепторы представлены одной полипептидной цепью, в которой выделяют три функционально разные области: 1) регуляторный домен; 2) ДНК-связывающий домен; 3) гормонсвязывающий домен.

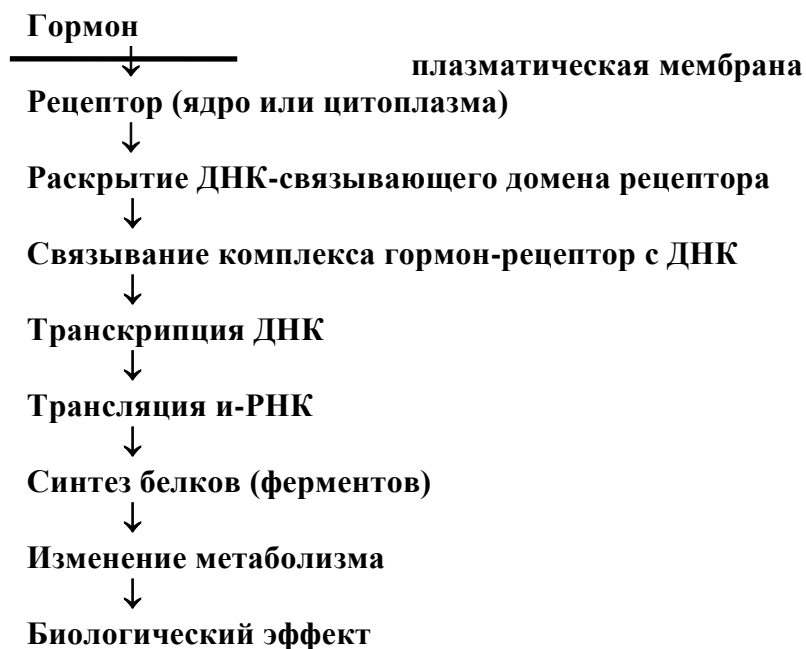
Механизм действия стероид-тиреоидных гормонов:

1. Стероидные или тиреоидные гормоны диффундируют через клеточную мембрану и связываются или с цитозольным (глюко- и минералокортикоидные гормоны) или с ядерным рецептором (половые и тиреоидные). Это вызывает в рецепторе конформационные изменения, ведущие к раскрытию ДНК-связывающего домена.

2. В ядре комплекс гормон-рецептор (посредством ДНК-связывающего домена рецептора) взаимодействует с особым гормон-чувствительным элементом ДНК. В результате начинается процесс транскрипции, имеющий результатом образование и-РНК.

3. и-РНК подвергается трансляции в цитозоле с образованием специфических белков, которые ответственны за биологические эффекты гормона.

Механизм действия стероид-тиреоидных гормонов



В основе механизма действия гормонов, связывающихся с поверхностными рецепторами, лежит образование вторичных посредников. Это характерно для больших, водорастворимых молекул гормонов белково-пептидной природы. Различают два главных класса поверх-

ностных рецепторов, непосредственно связанных с действием гормонов. Они отличаются по механизму передачи сигнала внутрь клетки.

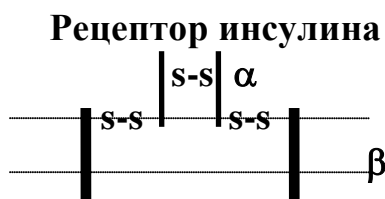
А. Рецепторы с ферментативной активностью (1-ТМС-рецепторы).

Данный класс рецепторов обычно пересекает мембрану один раз, в связи с чем иногда их обозначают как 1-ТМС-рецепторы, то есть рецепторы с одним трансмембранным сегментом. Эти трансмембранные рецепторы представлены двумя видами:

1) Рецепторы, которые имеют присущую им внутреннюю (собственную) ферментативную активность. В большинстве случаев ферментативная активность – это тирозин-специфическая протеинкиназа, реже – гуанилатциклаза.

2) Рецепторы тесно связанные с цитозольными протеинкиназами (тирозинкиназами или серин-треонинкиназами).

Примером каталитического рецептора первого вида может служить рецептор инсулина – гликопротеин, состоящий из четырех субъединиц (2 α и 2 β), которые удерживаются между собой дисульфидными связями. β -субъединица пересекает мембрану, а α -субъединица выступает снаружи клетки и обеспечивает связывание гормона.



Цитозольный домен каждой β -субъединицы обладает *тирозинкиназной активностью*, то есть катализирует фосфорилирование тирозиновых остатков специфических цитозольных белков, обозначенных как IRS – субстраты инсулинового рецептора (**I**nsulin **R**eceptor **S**ubstrate). Фосфорилированные IRS способствуют изменению активности других протеинкиназ, которые в свою очередь фосфорилируют специфические белки-ферменты (в том числе и протеинкиназы). Таким образом, развивается целый *киназный каскад*, что в конечном итоге ведет к развитию биологических эффектов инсулина. *Действие инсулина – яркий пример киназного механизма действия гормонов.*

Примером каталитических рецепторов второго вида является рецептор гормона роста. Этот рецептор представлен одной полипептидной цепью, один раз пересекающей цитоплазматическую мембрану. Цитозольный домен рецептора тесно связан со специфической цитозольной тирозинкиназой JAK-2 (janus kinase-2). Гормон-рецепторное взаимодействие ведет к димеризации рецепторов и активации этого фермента. JAK-2 фосфорилирует тирозиновые остатки самого рецептора и к ним присоединяются STAT-белки (**S**ignal **T**ransduction and

Activators Transcription – сигналы трансдукции и активаторы транскрипции). JAK-киназа фосфорилирует эти белки. Фосфорилированные STAT-белки перемещаются в ядро, где связываются со специфическими участками ДНК и активируют транскрипцию. Усиление синтеза специфических белков (ферментов) лежит в основе изменения метаболизма клеток-мишеней и биологического эффекта гормона.

Б. Рецепторы, сопряженные с G-белками (7ТМС-рецепторы).

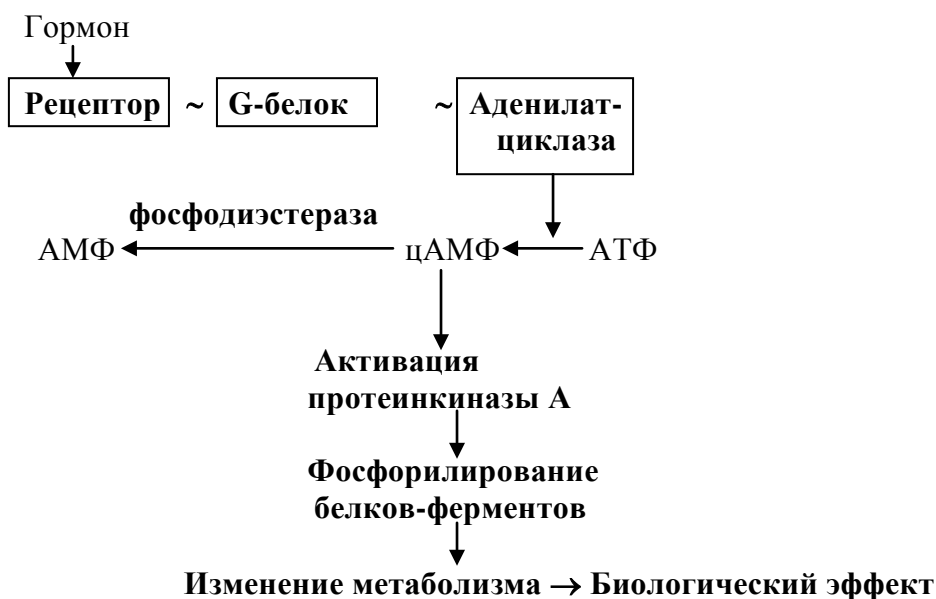
Эти рецепторы связаны с двумя наиболее известными механизмами образования вторичных посредников – аденилатциклазным и Ca^{2+} /фосфатидилинозитоловым.

1.13. Аденилатциклазный механизм

1. *Поверхностные рецепторы.* Гормон связывается с рецептором на поверхности клеточной мембраны.

Ткани имеют несколько типов поверхностных белковых рецепторов, каждый из которых может быть связан с ферментом аденилатциклаза (например, α_2 и β -адренорецепторы катехоламинов, V_2 -рецепторы вазопрессина). Эти рецепторы имеют однотипное строение и представлены одной полипептидной цепью размером от 400 до 1000 аминокислотных остатков, которая семь раз пересекает мембрану. Учитывая последнюю особенность строения, эти рецепторы иногда обозначают как 7-ТМС-рецепторы, то есть рецепторы, имеющие семь трансмембранных сегментов. Внеклеточный гормоносвязывающий домен рецептора взаимодействует с гормоном, а внутриклеточный домен взаимодействует со специфическими мембранными G-белками.

Аденилатциклазный механизм



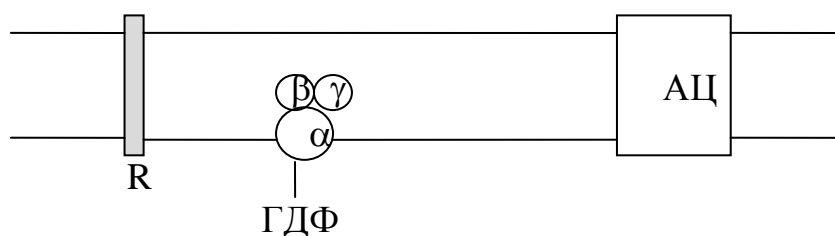
2. ГТФ-зависимые регуляторные белки (G-белки).

G-белки – это тримерные структуры, содержащие α , β и γ - субъединицы, кодируемые разными генами. Различия в структуре и функции G-белков обусловлены в основном гетерогенностью α -субъединицы.

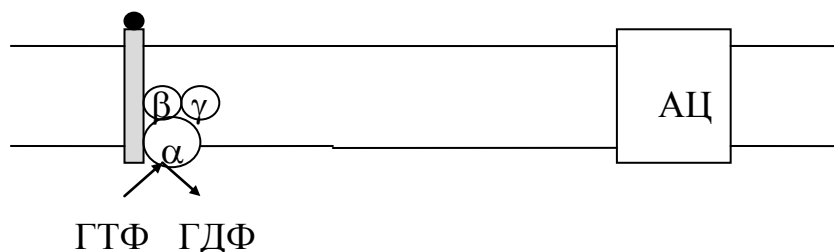
Основываясь на гомологии первичной структуры α -субъединиц G-белки были классифицированы на 4 больших класса: G_s , G_i , G_q и G_{12} . Каждый класс содержит разные α -субъединицы. G-белки, обозначенные так из-за способности связывать молекулы ГТФ или ГДФ, являются связующим звеном между рецептором и аденилатциклазой.

Активация аденилатциклазы

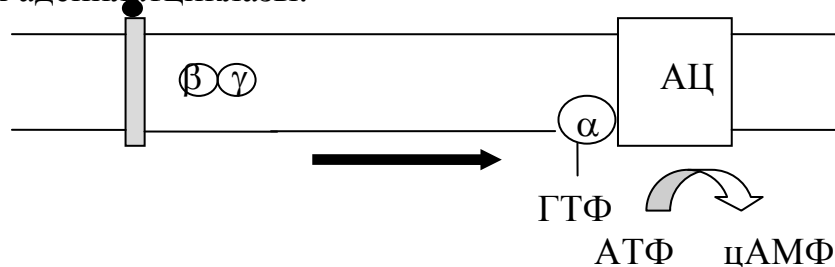
А. Исходное состояние.



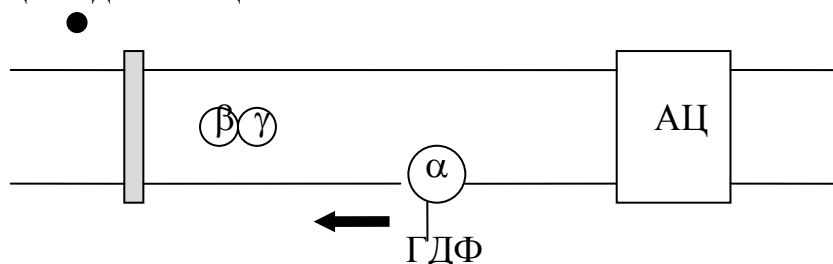
Б. Связывание G-белка с активированным рецептором.



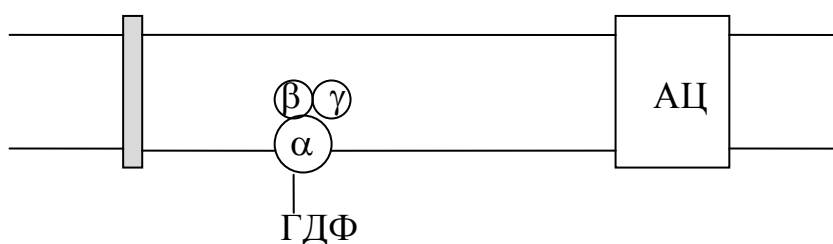
В. Активация аденилатциклазы.



Г. Деактивация аденилатциклазы.



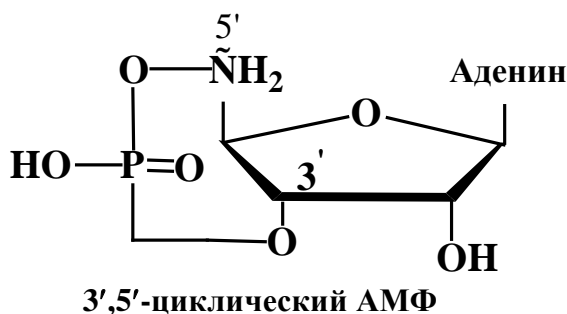
Д. Исходное состояние.



В неактивной форме α -субъединица G-белков связана с молекулой ГДФ. Связывание гормона с рецептором вызывает обмен молекулы ГДФ на ГТФ, после чего тримерный G-белок диссоциирует на α -субъединицу и $\beta\gamma$ -димер. ГТФ-связанная форма α -субъединицы движется от рецептора к аденилатциклазе, которая активируется или ингибируется, что зависит от типа G-белка: G_s – активирует аденилатциклазу, а G_i – ингибирует ее.

Действие комплекса α -субъединица-ГТФ на аденилатциклазу короткое, так как молекула ГТФ быстро гидролизуется до ГДФ за счет внутренней ГТФ-азной активности α -субъединицы; затем α -субъединица и $\beta\gamma$ -димер реассоциируются в исходное состояние и G-белок вновь готов к активации.

3. Фермент аденилатциклаза. Этот мембрановстроенный фермент превращает АТФ во вторичный посредник – циклический 3',5'-АМФ, или цАМФ. Одна молекула аденилатциклазы может синтезировать несколько сотен молекул цАМФ, то есть на данном этапе происходит усиление, или амплификация (от лат. amplification - усиление, расширение), входного сигнала.

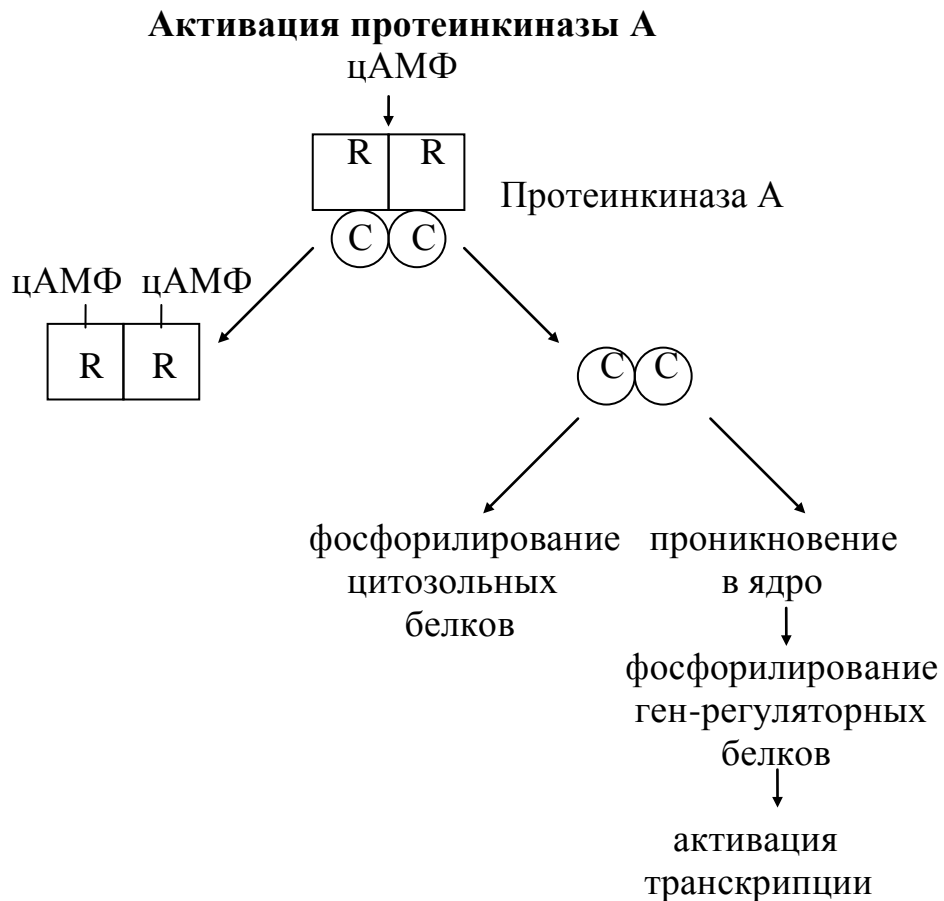


4. Протеинкиназы. Следующий этап аденилатциклазной системы – это активация цАМФ-зависимых протеинкиназ (протеинкиназ А). цАМФ активирует эти тетрамерные белки посредством связывания с двумя регуляторными субъединицами, что сопровождается высвобождением двух каталитических субъединиц.

Эти каталитические субъединицы катализируют фосфорилирование специфических, как цитозольных, так и ядерных белков (в том числе и ферментов), изменяя их активность. Фосфорилированные

ядерные ген-регуляторные белки связываются с промоторной областью ДНК, что ведет к активации транскрипции специфических генов и синтезу новых молекул белков (ферментов). Изменение активности белков (ферментов) и повышение синтеза специфических белков (ферментов) приводит к изменению клеточного метаболизма, что и лежит в основе биологического ответа клетки на воздействие гормона.

Какой ключевой фермент метаболизма будет фосфорилирован зависит от начального информационного сигнала. Например, фосфорилирование протеинкиназой А фермента киназы фосфоорилазы в скелетных мышцах, приводящее к усилению распада гликогена, происходит при связывании адреналина с β_2 -адренорецепторами этих клеток. Одновременно протеинкиназа А фосфорилирует также гликогенсинтазу, вызывая ингибирование этого фермента.



На этом этапе также происходит усиление входного сигнала, так как одна молекула протеинкиназы может фосфорилировать несколько молекул специфических белков.

Снятие гормонального сигнала

5. *Дефосфорилирование белков.* Фосфатные группы могут быть удалены из белков специальными ферментами – протеин-фосфатазами.

6. *Гидролиз цАМФ.* цАМФ быстро гидролизуется до 5'-АМФ ферментом фосфодиэстеразой. 5'-АМФ не является внутриклеточной сигнальной молекулой. [Замечание: фосфодиэстераза ингибируется производными метилксантинов – теофиллином и кофеином, что лежит в основе фармакологического действия этих лекарственных препаратов].

Таким образом, эффект гормона, обусловленный повышением уровня цАМФ, быстро прекращается, если рецептор освобождается от гормона.

1.14. Холерный токсин и аденилатциклазный механизм

Холера – особо опасное инфекционное заболевание, которое характеризуется неукротимой диареей и быстрым (в течение нескольких часов) развитием угрожающей жизни дегидратации.

Слизистая оболочка кишечника, в дополнение к способности всасывать переваренные компоненты пищи, секретирует электролиты и воду в просвет кишечника. Секреция происходит в криптах, а процессы всасывания в ворсинках слизистой оболочки кишечника. Хлорид-ион – первичный ион секреции. Он движется через специальные каналы, активность которых регулируется концентрацией цАМФ. Ион натрия пассивно следует за ионом хлора. Вода перемещается, чтобы поддержать изоосмолярность.

Холерный токсин вызывает диарею посредством резкой стимуляции аденилатциклазы клеток крипт слизистой оболочки кишечника. Это ведет к накоплению цАМФ, что активирует секреторные хлорид-каналы. Секреция кишечного сока увеличивается в 10 раз, что приводит к развитию диареи с последующей дегидратацией организма.

В настоящее время расшифрован молекулярный механизм активации аденилатциклазы холерным токсином. Холерный токсин – белок (ММ 87 кДа) сложного строения – проникает в клетку через взаимодействие с мембранным ганглиозидом G_{M1}. Попав в клетку, токсин катализирует АДФ-рибозилирование ГТФ-связывающего белка (G-белка) в результате чего белок стабилизируется в виде комплекса с ГТФ. Другими словами, G-белок теряет ГТФ-азную активность. Это приводит к постоянной активации аденилатциклазы (эффект “постоянно нажатой кнопки звонка”).

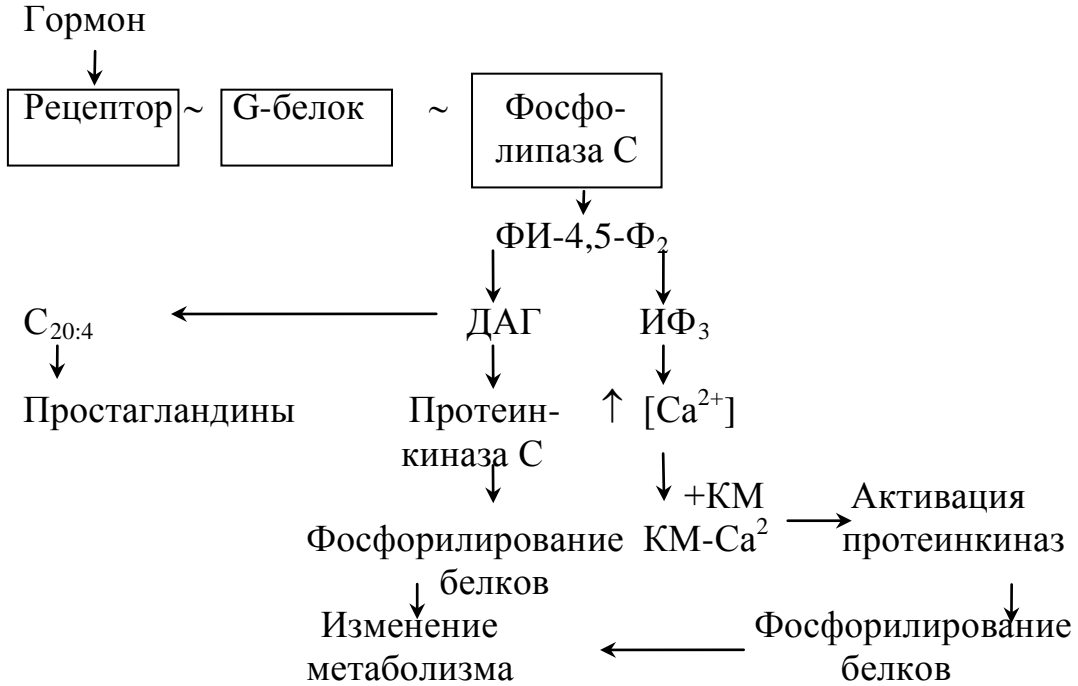
Реакция, катализируемая холерным токсином

G-белок + НАД⁺ → G-белок-рибоза-Ⓟ-Ⓟ-рибоза-аденин + никотинамид

1.15. Ca^{2+} /фосфатидилинозитоловый механизм

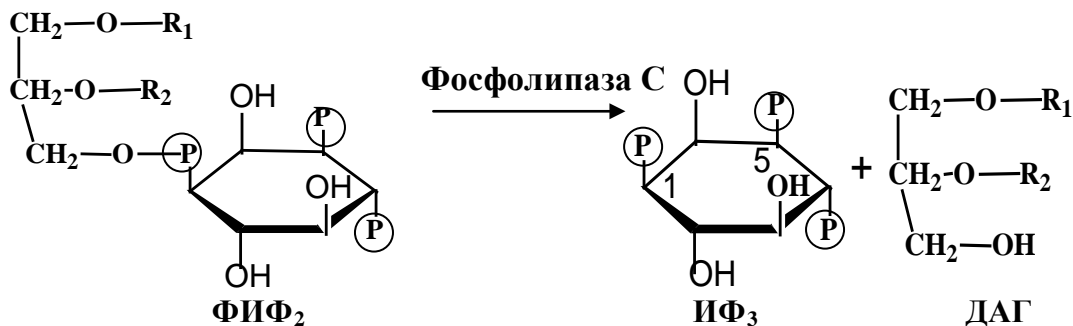
Многие рецепторы реагируют на гормоны через активацию мембраносвязанной фосфолипазы С. Связующим звеном между рецептором и фосфолипазой С служат G_q -белки.

Ca^{2+} /фосфатидилинозитоловая система



Активированная фосфолипаза С расщепляет мембраносвязанный фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат (ФИФ₂), высвобождая два фрагмента – инозитол-1,4,5-трифосфат (ИФ₃) и диацилглицерол (ДАГ). Эти молекулы являются вторичными посредниками.

Образование инозитолтрифосфата и диацилглицерола



1. *Инозитол-1,4,5-трифосфат.* Это производное инозитола связывается с рецепторами на эндоплазматическом ретикулуме, вызывая быстрое высвобождение Ca^{2+} из внутриклеточных депо в цитозоль. Ионы Ca^{2+} связываются с белком кальмодулином; образованный ком-

плекс Ca^{2+} /кальмодулин вызывает широкий круг биологических эффектов. Инозитолтрифосфат – короткоживущий химический сигнал, так как быстро дефосфорилируется до инозитол-1-фосфата и иноzitола. Инозитол вновь используется для ресинтеза фосфатидинозитол-4,5-бисфосфата.

2. *Диацилглицерол*. Этот второй продукт активирует мембрано-связанную протеинкиназу С – фермент, который фосфорилирует различные белки-мишени. Диацилглицерол содержит во втором положении остаток арахидоновой кислоты. Высвобождающаяся под действием фосфолипазы A_2 свободная арахидоновая кислота является исходным материалом для синтеза биологически активных соединений – простагландинов.

3. *Кальмодулин и Ca^{2+}* .

а. *Ионы кальция* присутствуют в клетке в концентрации 10^{-7} М, и многие внутриклеточные процессы реагируют на изменение концентрации Ca^{2+} от 10^{-7} до 10^{-6} М. Это ярко контрастирует с концентрацией внеклеточного Ca^{2+} , которая в 10.000 раз выше, и составляет примерно $2,5 \times 10^{-3}$ М.

б. *Кальмодулин* (КМ). Почти все внутриклеточные эффекты Ca^{2+} опосредованы семейством кальций-связывающих белков, в котором насчитывается около 100 представителей. Кальмодулин – наиболее распространенный из этих белков и присутствует во всех клетках.

в. *Комплекс Ca^{2+} -кальмодулин и ферменты*. При увеличении концентрации ионов кальция в цитозоле до 10^{-6} М происходит связывание четырех молекул ионов кальция с кальмодулином. Это вызывает конформационные изменения, которые позволяют Ca^{2+} -КМ-комплексу связать и активировать молекулы белков, чаще ферментов, которые неактивны в отсутствие Ca^{2+} -КМ-комплекса. Перечень Ca^{2+} -КМ-регулируемых ферментов обширен и включает различные кальмодулин-зависимые киназы, аденилатциклазу, фосфодиэстеразу, фосфолипазу A_2 и др.

1.16. цГМФ и гуанилатциклазный механизм

По многим аспектам цГМФ сигнальная система аналогична цАМФ-пути, описанному выше. Во-первых, в некоторых тканях цГМФ синтезируется из ГТФ посредством мембраносвязанной гуанилатциклазы. Эта реакция аналогична образованию цАМФ при активации аденилатциклазы. Во-вторых, цГМФ может активировать цГМФ-зависимую протеинкиназу (протеинкиназу G). Действие цГМФ обрывается фосфодиэстеразой, гидролизующей цГМФ до неактивного ГМФ. Однако имеются и принципиальные различия: 1) *мембраносвязанная гуанилатциклаза отличается от аденилатциклазы тем, что*

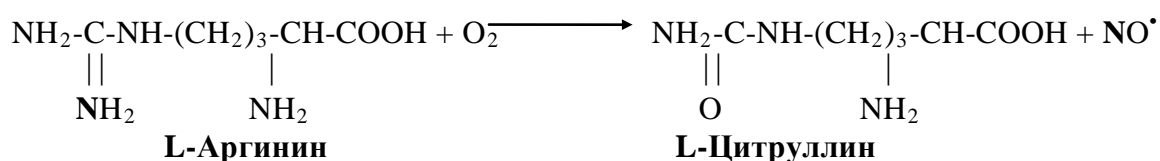
этот фермент является интегральной частью рецептора и, следовательно, структурно сходен с тирозин-специфической протеинкиназой; 2) многие ткани содержат и цитозольную форму гуанилатциклазы, которая не сопряжена с мембранным рецептором; 3) в противоположность цАМФ, который воздействует на широкий круг процессов, цГМФ действует как узкоспециализированный мессенджер, вовлеченный в процессы расслабления гладких мышц, агрегации тромбоцитов и систему фоторецепции.

1.17. Монооксид азота – специализированная сигнальная система

Открытие монооксида азота (NO) как биологического регулятора стало началом развития нового направления в регуляции клеточных функций. Первоначально открытый в начале 80-х годов Furchgott и Zawadzki эндотелий-высвобождаемый фактор релаксации, определяющий уровень тонического напряжения гладких мышц сосудов, был затем идентифицирован как оксид азота. Позже установлено, что монооксид азота действует как нейромедиатор в головном мозге, предотвращает агрегацию тромбоцитов и играет важную роль в функции макрофагов. Монооксид азота представляет собой газ, который может существовать в виде относительно стабильного, нейтрально заряженного радикала (NO[•]) с липофильными свойствами. В клетках монооксид азота имеет очень короткий период полужизни. Он существует 6-10 секунд, затем превращается в нитриты и нитраты.

1. Синтез монооксида азота. NO синтезируется из аргинина при участии НАДФН и O₂.

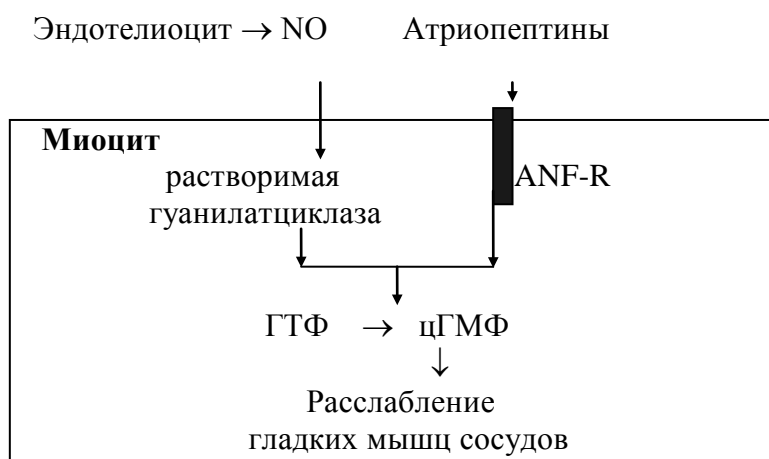
Синтез монооксида азота



Продуктом реакции, кроме монооксида азота, является цитруллин. Реакция катализируется ферментом NO-синтазой. Имеется две изоформы этого фермента. Конститутивная – Ca²⁺-кальмодулин-зависимая форма NO-синтазы найдена в эндотелии, нервной ткани и тромбоцитах. Индуцибельная – Ca²⁺-независимая форма может быть экспрессирована в гепатоцитах, макрофагах и нейтрофилах. Специфическим индуктором синтеза фермента является интерлейкин-1.

2. *Сосудорасширяющее действие монооксида азота.* Монооксид азота синтезируется в эндотелиальных клетках, диффундирует к гладким мышцам сосудов, где активирует *цитозольную гуанилатциклазу*.

Сосудорасширяющее действие монооксида азота и атриопептинов.



ANF-R – рецептор атриопептинов, обладающий собственной гуанилатциклазной активностью.

В результате увеличивается концентрация цГМФ, что вызывает расслабление гладких мышц сосудов. Отметим, что нитраты (нитроглицерин и нитропруссид) метаболизируются с образованием NO, который и обуславливает их сосудорасширяющее действие.

3. *Роль монооксида азота в бактерицидной активности макрофагов.* В норме в макрофагах активность NO-синтазы низка, но синтез фермента заметно стимулируют бактериальные липополисахариды и γ -интерферон, высвобождаемый в ответ на инфекцию. Активированные макрофаги образуют активную форму кислорода – супероксид анион, который комбинируется с монооксидом азота и образует бактерицидное соединение – пероксинитрит (ONOO^-).

4. *Роль монооксида азота в патологии.* Чрезмерное образование в клетках монооксида азота и других активных форм азота (ONOO^- и NO_2) получило название “нитрозилирующего стресса”, конечным итогом которого может быть некроз/апоптоз клетки. Чрезмерное накопление NO в организме играет ведущую роль в развитии ряда патологических процессов: нарушении тонуса и повреждении сосудов, шока, сахарного диабета и его осложнений, воспалительных и аутоиммунных заболеваний.

1.18. Монооксид углерода (СО) – другой эндогенный фактор активации цитозольной гуанилатциклазы

Монооксид углерода (угарный газ) может образовываться в организме из двух источников:

- 1) распад гема при участии гемоксигеназы (гем → биливердин);
- 2) НАДФН-зависимое ферментативное перекисное окисление мембранных фосфолипидов.

Активация цитозольной формы гуанилатциклазы монооксидом углерода *in vitro* и на изолированных клетках имеет сходные с NO эффекты, то есть ингибирование агрегации тромбоцитов и расслабление гладких мышц сосудов. Также как и NO, монооксид углерода выполняет функции нейромедиатора в ЦНС.

Лекция 38

ГОРМОНЫ ГИПОФИЗА И ГИПОТАЛАМУСА.

Гипоталамо-гипофизарные гормоны

Историческая справка.

1887 г. - Минковский высказал предположение о влиянии гипофиза на рост.

1912 г. - Кушинг постулировал существование гормона роста.

1944 г. - Li и Evans получили животный соматотропин в кристаллическом виде.

1957 г. - Salmon и Daughaday обнаружили фактор сульфатации, который позднее назвали соматомедином.

1970 г. - Li установил аминокислотную последовательность человеческого соматотропина и синтезировал его.

1979 г. - Goedel et al. синтезировали соматотропин методом генной инженерии.

1982 г. - Guillemin et al., Rivier et al., Esch et al. выделили соматолиберин.

Начало 30-х годов Aschheim и Zondek привели доказательства гонадотропной функции передней доли гипофиза.

1932 г. - Hohlweg и Junkmann доказали зависимость гонадотропной функции гипофиза от гипоталамуса.

Начало 80-х гг. - Schally и Guillemin показали, что гонадолиберин является декапептидом и расшифровали его структуру.

1942 г. - Li, Sauer выделили АКГГ.

1961 г.-Kappeler, Schwyzer синтезировали АКТГ¹⁻²⁴.

1965 г. - Odell, Wilson и Paul привели радиоиммунологические доказательства тиреотропина человека.

1966 г.- Schwyzer, Liber синтезировали полный АКТГ.

1966-1970 г.г. - Schally и Guillemin открыли и синтезировали тиреолиберин.

1981 г.-установление структуры и синтез кортиколиберина.

1895 г. - Oliver и Schäfer сообщают о способности экстракта из гипофиза повышать АД.

1935 г. - Stehle, Fraser получили первый высокоактивный препарат вазопрессина.

1953-54 гг. - Du Vigneaud выделил окситоцин и вазопрессин в чистом виде.

Конец 50-х гг. - осуществлен синтез человеческого аргинин-вазопрессина.

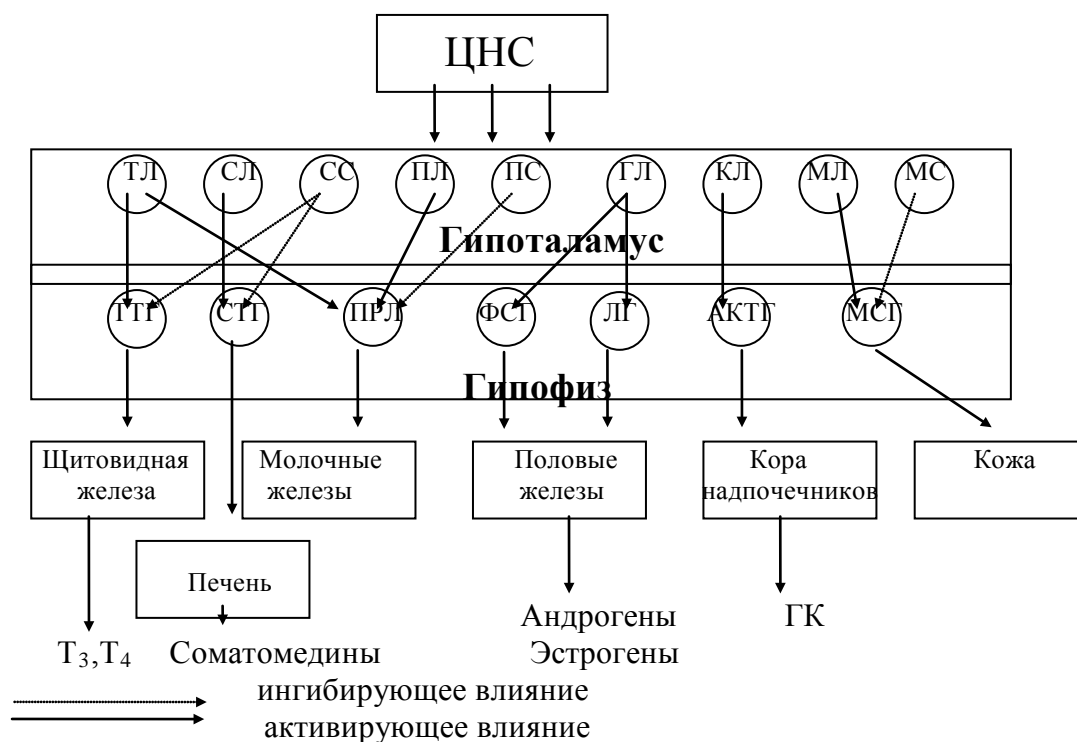
60-е гг. - получение многочисленных синтетических аналогов вазопрессина и окситоцина, которые вытеснили природные из арсенала лекарственных средств.

Регуляция синтеза и секреции тропных гормонов гипофиза осуществляется путем влияния гипоталамических нейрогормонов, поступающих в гипофиз через портальную систему сосудов. Классификация гипоталамических нейрогормонов основана на их способности стимулировать (либерины) или ингибировать (статины) высвобождение соответствующего гормона гипофиза. К первой группе относятся кортиколиберин – гормон, высвобождающий АКТГ; тиреолиберин – гормон, высвобождающий тиреотропный гормон; соматолиберин – гормон, высвобождающий соматотропный гормон; гонадолиберин – гормон, высвобождающий фолликулостимулирующий и лютеинизирующий гормоны; пролактолиберин – гормон, высвобождающий пролактин; меланолиберин – гормон, высвобождающий меланоцитстимулирующий гормон. Ко второй группе относятся соматостатин – гормон, ингибирующий выделение соматотропина; пролактостатин – гормон, ингибирующий выделение пролактина; меланостатин – гормон, ингибирующий выделение меланоцитстимулирующего гормона. К гипоталамическим гормонам можно отнести также антидиуретический гормон (вазопрессин) и окситоцин, синтезирующиеся в ядрах гипоталамуса и транспортируемые затем в заднюю долю гипофиза. Все гипоталамические гормоны, за исключением пролактостатина, – это вещества пептидной природы. Установлено точное строение пяти гипоталамических нейрогормонов: тиреолиберина, гонадолиберина, соматостатина, кортиколиберина и соматолиберина. Эти гормоны состоят соответственно из 3, 10, 14, 41 и 44 аминокислотных остатков. Точное строение остальных гипоталамических гормонов полностью не установлено.

Гипоталамический фактор, ингибирующий синтез пролактина (пролактостатин), идентифицирован как дофамин.

Гипофизарные гормоны представляют собой группу белково-пептидных гормонов. В передней доле гипофиза вырабатываются аденокортикотропный гормон (АКТГ), тиреотропный гормон (ТТГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), пролактин (ПРЛ) и соматотропный гормон (СТГ) или гормон роста. В промежуточной доле гипофиза синтезируется меланоцитстимулирующий гормон (МСГ), а в задней доле накапливаются антидиуретический гормон (АДГ) и окситоцин.

Схема активирующих и ингибирующих влияний в нейроэндокринной системе



ТЛ - тиреолиберин; СЛ - соматолиберин; СС - соматостатин; ГЛ - гонадолиберин; КЛ - кортиколиберин; МЛ - меланолиберин; МС - меланостатин; ГК - глюкокортикоиды; ПЛ - пролактолиберин; ПС - пролактостатин; ПРЛ - пролактин.

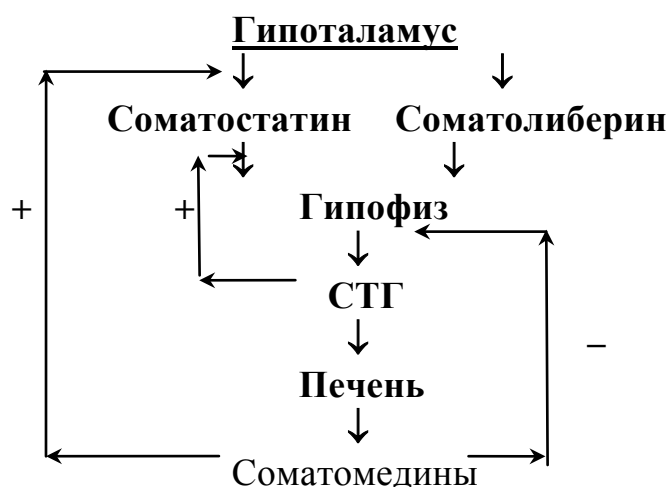
Гипоталамо-гипофизарные гормоны очень быстро исчезают из крови, так как не имеют специфических белков-переносчиков. Период их полураспада составляет несколько минут. Инактивация (распад) этих гормонов происходит в печени под действием специфических пептидаз.

Соматотропный гормон (гормон роста) наиболее важный гормон для достижения нормального роста. СТГ вырабатывается в перед-

ней доле гипофиза и представляет собой белок, состоящий из 191 аминокислотного остатка. Характерна видовая специфичность гормона, то есть СТГ животного происхождения неактивен у человека.

Секреция гормона роста возрастает во сне («кто не спит, тот не растет»), при физических упражнениях, стрессе и гипогликемии, а также стимулируется соматолиберином гипоталамуса. Соматостатин и соматомедины ингибируют секрецию гормона. Гормон роста также ингибирует свою секрецию через стимуляцию высвобождения соматостатина из гипоталамуса.

Регуляция секреции гормона роста



Действие гормона роста.

1. Прямое действие гормона роста:

а) вызывает гипергликемию, активируя глюконеогенез в печени и снижая утилизацию глюкозы внепеченочными тканями (диабетогенный эффект);

б) активирует липолиз в жировой ткани;

в) стимулирует синтез белков в мышцах;

г) в печени вызывает образование соматомединов С и А (инсулиноподобных факторов роста I и II, соответственно), которые обуславливают некоторые биологические эффекты гормона.

2. Действие гормона роста через соматомедины (непрямое действие).

Соматомедины: а) повышают синтез белков в хондроцитах и увеличивают рост тела в длину;

б) стимулируют синтез белков в мышцах и большинстве внутренних органов, что приводит к увеличению их размеров.

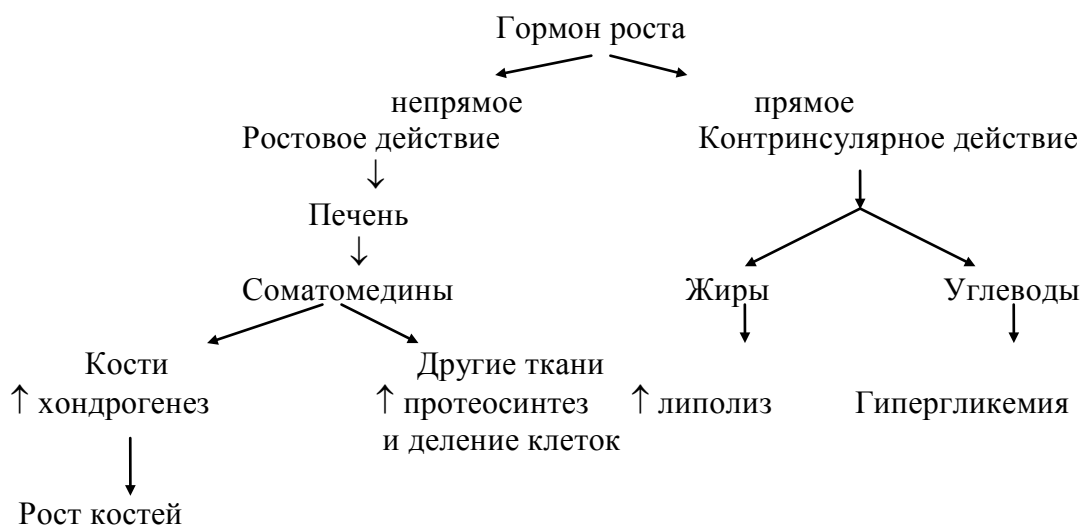
Инсулиноподобные факторы роста (ИФР) I и II – это белки, содержащие, соответственно, 70 и 67 аминокислотных остатков. В то время как гормон роста обладает прямым антиинсулиновым действи-

ем, многие эффекты ИФР-I (а именно с ним связаны основные ростовые эффекты гормона роста), подобны инсулину. Это не вызывает удивление, учитывая, что ИФР-I по аминокислотному составу гомологичен проинсулину.

ИФР-I через связывание со специфическими рецепторами увеличивает транспорт глюкозы в клетки, скорость гликолиза и синтеза гликогена в мышечной ткани. В противоположность прямому действию гормона роста ИФР-I стимулирует липогенез и ингибирует липолиз в жировой ткани.

ИФР-II действует только внутриутробно и на первом году жизни, сохраняя влияние в последующем онтогенезе лишь в отношении роста зубов.

Биологические эффекты гормона роста.



Краткое и емкое резюме действия гормона роста было дано А.Гайтоном (1989), который указал на то, что “система СТГ-соматомедины стимулирует рост всего, что может расти”.

Недостаток гормона роста в организме приводит к задержке роста скелета, органов и тканей (гипофизарная карликовость). Рост больных не превышает 130 см, телосложение – пропорциональное, умственное развитие нормальное.

Интересным вариантом карликовости является очень редко встречающийся синдром Ларона, при котором имеется генетически обусловленная нечувствительность клеток к гормону роста. Это связано с наследственным дефектом рецепторов к гормону роста, что делает невозможным синтез ИФР-I.

Избыток гормона роста в детском возрасте приводит к развитию гигантизма (рост более 200 см), а у взрослых к развитию акромегалии (греч. akros-крайний, отдаленный и megas-большой). У больных

акромегалией отмечается увеличение надбровных дуг, скуловых костей, верхней и нижней челюстей, носа, ушных раковин, языка, кистей и стоп.

Тиреотропный гормон, лютеинизирующий гормон и фолликулостимулирующий гормоны являются членами одного семейства гликопротеинов, каждый из которых имеет α и β -субъединицы. В то время как их α -субъединицы идентичны, β -субъединицы ответственны за уникальную активность каждого гормона. ТТГ – основной регулятор развития и функционирования щитовидной железы, процессов синтеза и секреции тиреоидных гормонов. Избыточная секреция ТТГ приводит к развитию вторичного гипертиреоза, а недостаток ТТГ – вторичного гипотиреоза.

ФСГ способствует созреванию фолликулов в яичниках и стимулирует сперматогенез. ЛГ вызывает у женских особей разрыв фолликула с образованием желтого тела и стимулирует секрецию эстрогенов и прогестерона. У мужских особей ЛГ стимулирует секрецию тестостерона. Избыток ФСГ и ЛГ обуславливает преждевременное половое созревание, а недостаток – вторичную гипофункцию половых желез и бесплодие.

Вообще, изолированное повышение или понижение секреции какого-либо гормона гипофиза явление довольно редкое. Более часто встречается сочетанный избыток либо недостаток этих гормонов, что получило название гиперпитуитаризм (от лат. *gl.pituitaria*-гипофиз) или гипопитуитаризм, соответственно.

АКТГ, меланоцитстимулирующий гормон, β -липотропин и β -эндорфин происходят из одного белкового предшественника проопиомеланокортина.

Проопиомеланокортин - предшественник нескольких гормонов



АКТГ – полипептид, состоящий из 39 аминокислотных остатков (ММ 4500), который синтезируется в передней доле гипофиза. Физиологический эффект полностью обеспечивается отрезком с 1 по 24 аминокислотные остатки. АКТГ стимулирует синтез стероидов в коре надпочечников, усиливая превращение холестерина в прегненолон. Стимулами секреции АКТГ являются кортиколиберин, стресс, сниже-

ние в сыворотке крови уровня кортизола. Ингибируют высвобождение АКТГ – кортизол и опиоиды, а также синтетические глюкокортикоиды, например, преднизолон. Секреция АКТГ идет неравномерно: с максимумом в ранние утренние часы и минимумом в середине ночи (суточный ритм). Этот ритм повторяет секреция кортизола корой надпочечников. Период полужизни АКТГ в плазме крови не превышает 15 минут. Ключевым моментом в действии гормона является активация аденилатциклазного механизма. АКТГ обладает незначительной меланоцитстимулирующей активностью, активизирует липолиз в жировой ткани, оказывает трофическое действие на кору надпочечников. Присущая АКТГ меланоцитстимулирующая активность при выраженном избытке гормона является причиной развития гиперпигментации кожи. Избыток секреции АКТГ приводит к развитию болезни Иценко-Кушинга, а недостаток его секреции – к вторичной недостаточности коры надпочечников.

В промежуточной доле гипофиза синтезируются альфа- и бета-меланоцитстимулирующие гормоны. Они стимулируют биосинтез кожного пигмента меланина у млекопитающих. Физиологическое значение меланоцитстимулирующих гормонов у человека окончательно не выяснено.

β-липотропин содержит 93 аминокислотных остатка в виде одной полипептидной цепи. Главная его функция заключается в том, что он является предшественником природных опиатов эндорфинов. Кроме того, *β-липотропин* обладает липолитической активностью, однако этот эффект намного менее выражен, чем у других липолитических гормонов.

Эндорфины (эндогенные морфины) – группа пептидов, которые в ЦНС выполняют роль нейромедиаторов. Эндорфины присутствуют в сенсорных нейронах, воспринимающих чувство боли, и в нейронах, регулирующих эмоции. Они связываются с опиоидными рецепторами и обладают мощной анальгетической активностью.

Пролактин (от лат. pro - для, lactus-молоко) или лактотропный гормон – образуется в передней доле гипофиза и состоит из 198 аминокислотных остатков. Секреция пролактина ингибируется пролактостатином гипоталамуса. Известными физиологическими стимулами секреции пролактина являются сон, физическая нагрузка, стресс, гипогликемия, раздражение сосков молочных желез, половой акт и эстрогены.

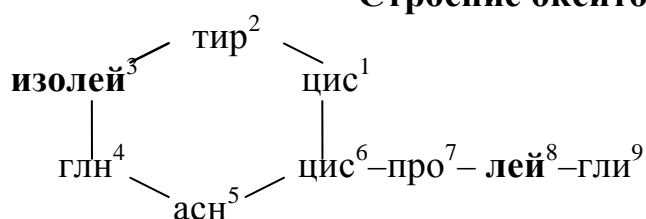
Пролактин участвует в развитии молочных желез, инициации и поддержании лактации. Секреция пролактина при грудном вскармливании ингибирует функции яичников, что объясняет отсутствие овуляции и infertility в этот период.

Лактация. Лактоза синтезируется из глюкозы и галактозы при участии фермента лактозо-синтазы. Этот фермент состоит из двух белковых субъединиц А и В. Субъединица А представляет собой фермент галактозилтрансферазу, который имеется в некоторых тканях и служит для синтеза N-ацетиллактозамина – компонента структурных гликопротеинов. Субъединица В присутствует только в лактирующей молочной железе и представляет собой α -лактальбумин. До и во время беременности молочная железа синтезирует N-ацетиллактозамин. Во время беременности высокий уровень прогестерона ингибирует синтез белка В. После родов уровень прогестерона резко падает, повышается уровень пролактина, который стимулирует синтез белка В. В результате этот регуляторный белок В соединяется с белком А в единый ферментативный комплекс и вместо N-ацетиллактозамина образуется лактоза.

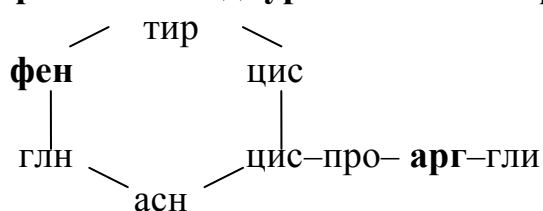
Пролактин активно влияет на гормональную и сперматогенную функции семенников. В физиологических условиях пролактин стимулирует синтез тестостерона. Однако длительно существующая гиперпролактинемия, например, при пролактиноме, нарушает образование тестостерона в яичках. Главными симптомами гиперпролактинемии у женщин являются аменорея и галакторея, а у мужчин – импотенция.

Окситоцин и антидиуретический гормон синтезируются в гипоталамических ядрах, пакуются в секреторные гранулы с белком нейрофизином и по аксонам нервных клеток доставляются в заднюю долю гипофиза. По строению оба гормона являются гомологичными нонапептидами, отличающимися по двум аминокислотным остаткам (в 3-ем и 8-ом положениях).

Строение окситоцина



Строение антидиуретического гормона.



Антидиуретический гормон (вазопрессин) главным образом синтезируется в супраоптическом ядре гипоталамуса. Главным стимулом

для его секреции является повышение осмолярности плазмы крови. Другими стимулами секреции антидиуретического гормона являются гиповолемия, гипотензия, боль, стресс и гипертермия. Ингибиторами выделения гормона являются снижение осмолярности плазмы крови, этанол, гипотермия. Основное биологическое действие гормона заключается в повышении реабсорбции воды в дистальных канальцах и собирательных трубочках почек путем активации мембраностроенных белковых водных каналов – аквапоринов. Активация аквапоринов реализуется через связывание с поверхностными V_2 -рецепторами с образованием цАМФ. Менее значимое действие гормона в физиологических условиях – сокращение гладкой мускулатуры сосудов кожи и мышц обусловлено активацией V_1 -рецепторов и запуском фосфатидинозитолового механизма. Вазопрессин обладает и метаболическим действием: 1) активирует распад гликогена; 2) стимулирует превращение глюкозы до ацетил-КоА; 3) активирует синтез жирных кислот. Кроме того, вазопрессин обладает мощным антикетогенным действием.

Дефицит антидиуретического гормона приводит к развитию несахарного диабета (*diabetes insipidus*), характерными признаками которого являются:

- постоянная жажда;
- обильное (до 20 л/сут) мочеиспускание;
- низкая плотность мочи (1,001-1,005);
- отсутствие в моче глюкозы.

Окситоцин первично образуется в паравентрикулярном ядре гипоталамуса. Главным стимулом секреции окситоцина в кровь из задней доли гипофиза является раздражение сосков молочных желез при кормлении грудью. Другим фактором выброса гормона в кровь является расширение шейки матки и оргазм.

Биологическое действие окситоцина заключается:

- 1) в сокращении миоэпителиальных клеток в молочных железах. При этом молоко выталкивается из альвеол в молочные ходы;
- 2) в сокращении гладкой мускулатуры матки.

Второе свойство окситоцина нашло широкое применение в гинекологии и акушерстве, где он используется при:

- аборте в ходу;
- вызывании родов;
- слабости родовой деятельности;
- атоническом маточном кровотечении в послеродовом периоде.

Лекция 39

ГОРМОНЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Регуляция обмена белков, жиров и углеводов в первую очередь контролируется действием гормонов, включая инсулин, глюкагон, адреналин и кортизол. Изменения уровней этих гормонов позволяет организму запастись энергией, когда пища присутствует в достаточных количествах, или делать доступными для использования энергетические запасы во время “кризов выживания”, таких как голодание, тяжелые повреждения, или реакция “борьбы или бегства”. Учитывая распределение энергетических ресурсов (табл.1), не удивительно, что именно печень, скелетные мышцы и жировая ткань в первую очередь являются объектами воздействия вышеперечисленных гормонов.

Таблица 1. Распределение энергетических запасов в организме взрослого человека.

Источник энергии	Преимущественная локализация	Количество (кг)	Количество энергии (ккал)
углеводы (гликоген)	печень, скелетные мышцы	0,4	1600
мобилизуемые белки	печень, скелетные мышцы	6	24000
жиры	жировая ткань	12	110000

Конечными (интегральными) показателями влияния указанных гормонов на обмен углеводов, жиров и белков является их влияние на уровни глюкозы, свободных жирных кислот (СЖК) и аминокислот (АК) в плазме крови (табл. 2).

Таблица 2. Влияние гормонов на концентрацию важнейших метаболитов в плазме крови.

Гормон	Глюкоза	СЖК	АК
Инсулин	↓	↓	↓
Глюкагон	↑	↑	↓
Кортизол	↑	↑	↑
Адреналин	↑	↑	↓

Инсулин

Историческая справка

1869 г. - Лангерганс описал инсулярные клетки поджелудочной железы.

1889 г.- Минковский и Меринг отмечают, что у экспериментальных животных после удаления панкреас развивается сахарный диабет.

1921 г. - Бантинг и Бест открыли инсулин.
1921-1955 гг. - Получение препаратов инсулина короткого и длительного действия.
1967 г.- Открытие проинсулина.
1972 г.- Получение и внедрение высокоочищенных препаратов инсулина.
1974 г.- Начало аппаратной инсулинотерапии искусственной “В-клеткой” или переносными инсулиновыми насосами.
1977 г.- Установлена структура гена инсулина.
1978 г.- Экспрессия гена инсулина в бактерии.
1981 г. - Имплантация дозирующих инсулин аппаратов.
1982 г.- Человеческий “генный” инсулин поступает в продажу.
Конец 90-х гг. - Имплантация В-клеток в организм больного сахарным диабетом.

Введение

Инсулин (от лат. *insula* - островок) - полипептидный гормон, образуемый бета (В)-клетками островков Лангерганса поджелудочной железы.

В поджелудочной железе имеется 1-2 миллиона островков Лангерганса, которые составляют примерно 1% от массы железы. В составе одного островка насчитывается до 200 клеток четырех типов: А - 25%, вырабатывают глюкагон; В - 70%, вырабатывают инсулин; D - менее 5 %, вырабатывают соматостатин; F - менее 1 %, вырабатывают панкреатический полипептид.

Инсулин – это наиболее важный гормон, координирующий запасание энергии тканями. Основной его биологический эффект – анаболический, то есть способствующий синтезу гликогена, триацилглицеролов и белков. С другой стороны, инсулин – единственный гормон, который оказывает гипогликемическое действие.

1. Строение инсулина

Молекула инсулина (51 аминокислотный остаток, М.м. 5807 Да) состоит из двух полипептидных цепей, обозначаемых А и В (21 и 30 аминокислот, соответственно). Цепи связаны между собой двумя дисульфидными мостиками. Бычий инсулин отличается от человеческого по трем аминокислотным остаткам, в то время как свиной – только по одному (*ала* вместо *тре* на С-конце В-цепи). Эти замены практически не влияют на биологическую активность гормона, что позволяет использовать эти инсулины в качестве лекарственных средств.

2. Синтез и секреция инсулина

А. Разработан химический синтез инсулина из аминокислот, но он длится около 8 дней.

Б. Более совершенным является синтез человеческого инсулина посредством технологии рекомбинантной ДНК.

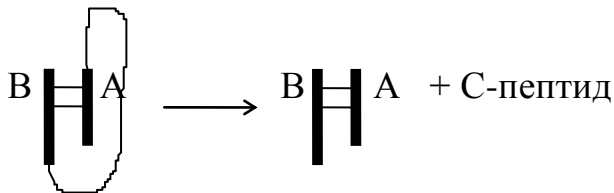
Этот способ получения инсулина стал классикой биотехнологии: ген инсулина из 11 хромосомы клеток человека вшивают в ДНК определенных микроорганизмов. Эти микроорганизмы синтезируют и выделяют в среду человеческий инсулин.

В. Биосинтез инсулина.

Синтез полипептида иницируется на рибосомах с образованием N-концевого “сигнального” пептида длиной в 23 аминокислотных остатка, который проникает через мембрану эндоплазматического ретикула (ЭПР).

2. Дальнейшее удлинение направляет полипептидную цепь внутрь цистерн ЭПР, имея конечным результатом образование *препроинсулина* (109 аминокислотных остатков).

3. “Сигнальный” пептид отщепляется специфическими протеазами и образующийся *проинсулин* (86 АК) транспортируется из ЭПР в аппарат Гольджи. Там под действием двух специфических пептидаз от него отщепляется *связующий пептид* (31 АК), или С-пептид (от англ. connection- связь). В итоге образуется двухцепочечная молекула инсулина.



4. Инсулин и С-пептид хранятся в секреторных гранулах, образуемых из мембран аппарата Гольджи.

Депонирование инсулина в β-клетках поджелудочной железы происходит с образованием гексамеров и других кристаллических форм, для образования которых необходим *цинк*.

5. Секреторные гранулы высвобождаются в кровеносное русло путем экзоцитоза.

В секреторных гранулах инсулин и С-пептид находятся в эквимольных количествах и высвобождаются в кровь одновременно. Определение уровня С-пептида в плазме крови используется для контроля за функцией бета-клеток и продукции ими инсулина.

Весь процесс биосинтеза занимает около 1 часа. Скорость синтеза у взрослого человека составляет 40-50 Ед/сут. Общие запасы инсулина оцениваются в 200-250 ЕД.

Подводя итог, отметим, что *биосинтез инсулина включает два неактивных предшественника, препроинсулин и проинсулин, которые последовательно укорачиваются, чтобы образовать активный гормон.*

Секреция инсулина стимулируется повышением уровня глюкозы выше порогового уровня 5,55 мМ/л.

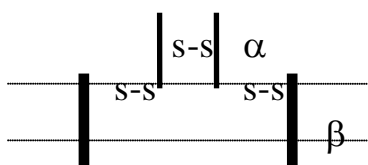
Секреция инсулина ингибируется при голодании и/или стрессе. Этот эффект первично обусловлен ингибирующим действием адреналина.

3. Механизм действия

Инсулин связывается со специфическим рецептором, обнаруженным на поверхности *большинства клеток* млекопитающих.

Рецептор инсулина – это гликопротеин, состоящий из четырех субъединиц (2 α и 2 β), которые удерживаются между собой дисульфидными связями. β -субъединица пересекает мембрану, а α -субъединица выступает снаружи клетки и обеспечивает связывание гормона. Цитозольный домен каждой β -субъединицы обладает *тирозинкиназной активностью*, то есть катализирует фосфорилирование тирозиновых остатков белков.

Рецептор инсулина



Связывание инсулина с α -субъединицами рецептора индуцирует конформационные изменения, которые передаются к β -субъединицам, вызывая быстрое *аутофосфорилирование* тирозинового остатка каждой β -субъединицы. Это повышает способность тирозинкиназной активности рецептора фосфорилировать другие белки, обозначенные как IRS – субстраты инсулинового рецептора (**I**nsulin **R**eceptor **S**ubstrate). Фосфорилированные IRS способствуют изменению активности других киназ (развивается целый киназный каскад), которые в свою очередь фосфорилируют специфические белки (ферменты), что и ведет к развитию метаболических эффектов инсулина.

Среди посредников действия инсулина в клетке лучше всего охарактеризованы белки IRS-1 и IRS-2.

IRS-2 активирует ряд протеинкиназ и липидкиназ, что приводит к развитию **метаболических эффектов** инсулина посредством влияния: а) на количество мембранных глюкозных транспортеров (GLUT-4) и инсулиновых рецепторов; б) на активность ряда ключевых ферментов обмена жиров, белков и углеводов через их фосфорилирование или дефосфорилирование; в) на транскрипцию некоторых генов ферментов обмена углеводов и жиров.

IRS-1 через многоступенчатую активацию MAP (mitogen-activated protein)-киназы и последующую активацию фактора транскрипции elk-1 стимулирует транскрипцию генов, необходимых для роста и деления клеток. Другими словами, активация IRS-1 приводит к развитию **ростовых эффектов** инсулина (синтез ДНК, РНК, рост и размножение клеток).

Каскадная активация MAP-киназы:

- а) IRS-1 активирует гуаниннуклеотид-связывающий белок Ras;
- б) Ras-белок активирует фермент Raf-1 (серин-треониновая протеинкиназа);
- в) Raf-1 активирует (через фосфорилирование) киназу MAP-киназы, а она в свою очередь через фосфорилирование активирует MAP-киназу;
- г) активная MAP-киназа продолжает каскадное фосфорилирование, вовлекая в него ядерные факторы транскрипции (белки, необходимые для роста и деления клетки).

Быстрые метаболические эффекты инсулина определяются циклом “фосфорилирование-дефосфорилирование” белков и ферментов.

В одном случае инсулин снижает концентрацию внутриклеточного ц-АМФ, активируя фосфодиэстеразу (фермент, разрушающий ц-АМФ) или ингибируя (через внутриклеточный посредник) активность мембранной аденилатциклазы. Это ведет к уменьшению активности ц-АМФ-зависимой протеинкиназы, что, например, позволяет ферменту гликогенсинтазе оставаться в активной форме, в то же время фермент киназа фосфорилазы, отвечающий за распад гликогена, ингибируется.

В другом случае, действие инсулина не зависит от концентрации ц-АМФ и связано с активированием фосфатаз. Это, например, повышает активность гликогенсинтазы.

3.1. Мембранные эффекты инсулина

В клетки глюкоза поступает путем облегченной диффузии, связанной с наличием в мембранах клеток особых белков-переносчиков, называемых глюкозными транспортерами и обозначаемыми как GLUT 1– GLUT 5. Переносчик GLUT 4 обуславливает вход глюкозы в скелетные мышцы, миокард и жировую ткань. Транспорт глюкозы в эти

ткани резко повышается в присутствии инсулина. Данный эффект связан с перемещением GLUT-4 из внутриклеточных везикул на поверхность клеток, а значит с увеличением числа функционирующих переносчиков глюкозы. Эти ткани относятся к абсолютно *инсулинозависимым*.

В некоторые ткани и клетки, включая нервную ткань, эритроциты, эндотелий сосудов, хрусталик и сетчатку глаза, эпителий кишечника и почечные канальцы, транспорт глюкозы не зависит от концентрации инсулина. Это связано с тем, что на поверхности их клеток находятся глюкозные транспортеры, активность которых не зависит от концентрации инсулина. Эти ткани относятся к *инсулинонезависимым*.

Следует подчеркнуть, что речь идет лишь о независимости транспорта глюкозы в эти клетки от концентрации инсулина.

Печень представляет собой важное исключение из этой схемы. Инсулин не стимулирует облегченную диффузию глюкозы в гепатоциты, но усиливает её приток косвенным путем, повышая количество глюкокиназы – фермента, превращающего глюкозу в глюкозо-6-фосфат. В результате фосфорилирования концентрация свободной глюкозы поддерживается на низком уровне, что способствует поступлению глюкозы в клетки путём простой диффузии по градиенту концентрации.

3.2. Регуляция рецепторов инсулина

Связывание инсулина обуславливает проникновение комплекса инсулин-рецептор в клетку путем эндоцитоза. Внутри клетки инсулин распадается в лизосомах, а рецептор либо разрушается, либо возвращается на поверхность клетки. Высокий уровень инсулина способствует деградации рецепторов, таким образом, уменьшая число рецепторов на поверхности клетки. [Замечание: предполагается, что некоторые эффекты инсулина опосредованы взаимодействием гормон-рецепторного комплекса, проникшего внутрь клетки, с регуляторными элементами генома].

4. Метаболические эффекты инсулина

Метаболические эффекты инсулина наиболее выражены в печени, скелетных мышцах и жировой ткани.

4.1. Влияние на обмен углеводов

Инсулин:

- 1) ингибирует глюконеогенез в печени, повышая уровень внут-

рикеточного регулятора фруктозо-2,6-бисфосфата. [Замечание: наиболее важные эффекты данного внутриклеточного регулятора обмена углеводов – активация фосфофруктокиназы-1 и ингибирование фруктозо-1,6-бисфосфатазы]. Кроме того, инсулин ингибирует глюкозо-6-фосфатазу и синтез фосфоенолпируваткарбокскиназы (ключевые ферменты глюконеогенеза);

2) уменьшает распад гликогена (инактивируя киназу фосфорилазы) и повышает его синтез (активируя гликогенсинтазу);

3) интенсифицирует реакции гликолиза (без образования лактата!), повышая активность и количество ключевых ферментов – глюко- и гексокиназы, фосфофруктокиназы и пируваткиназы;

4) повышает активность ферментов пентозофосфатного пути – одного из основных генераторов молекул НАДФН, необходимых для синтеза жирных кислот;

5) в мышечной и жировой ткани инсулин усиливает поступление глюкозы в клетки (через увеличение числа GLUT-4).

Результирующее действие перечисленных выше эффектов инсулина сводится к снижению содержания глюкозы в плазме крови.

4.2. Влияние инсулина на обмен липидов

1. Жировая ткань реагирует на введение инсулина заметным снижением высвобождения в кровь жирных кислот. Это достигается снижением распада триацилглицеролов (липолиза) посредством ингибирования гормон-чувствительной триглицеридлипазы.

2. Инсулин активирует синтез жирных кислот и триацилглицеролов (липогенез). Это обеспечивается: а) повышением транспорта глюкозы в адипоциты и ее метаболизма с образованием глицерол-3-фосфата, необходимого для синтеза триацилглицеролов; б) активацией ключевого фермента синтеза жирных кислот – ацетил-КоА-карбоксилазы и стимуляцией синтеза пальмитатсинтазного комплекса; в) повышением активности ферментов пентозофосфатного пути утилизации глюкозы – одного из основных генераторов молекул НАДФН, необходимых для синтеза жирных кислот;

3. В печени инсулин ингибирует синтез кетоновых тел.

4.3. Влияние инсулина на обмен белков и размножение клеток

Инсулин стимулирует поступление аминокислот во многие ткани и органы, включая мышцы, печень, кости и лимфоциты. Он также стимулирует синтез белков и уменьшает их распад, оказывая, таким образом, протеанаболический эффект.

Инсулин стимулирует пролиферацию ряда клеток *in vitro* и участвует в регуляции роста *in vivo*.

Основные метаболические эффекты инсулина

Ткань	Метаболический эффект
Печень	↑ гликогеногенез ↓ гликогенолиз ↑ гликолиз ↓ глюконеогенез ↓ кетогенез ↑ протеосинтез
Мышцы	↑ поступление глюкозы ↑ гликогеногенез ↓ гликогенолиз ↑ протеосинтез
Жировая ткань	↑ поступление глюкозы ↓ липолиз ↑ липогенез ↑ гликолиз ↑ пентозофосфатный путь
Кровь	гипогликемия

4.4. Инактивация инсулина

Инсулин не имеет специфического белка-переносчика в плазме крови, поэтому период его полужизни не превышает 5 минут. Инактивация инсулина происходит в основном в печени и почках. В инактивации инсулина участвуют две ферментные системы. Первая система – это *глутатион-инсулин-трансгидрогеназа*. Этот фермент восстанавливает дисульфидные мостики, в результате чего гормон распадается на 2 полипептидные цепи (А и В). Вторая – это *специфическая инсулин-протеиназа (инсулиназа)*, разрушающая инсулин до аминокислот, обнаруживается во многих тканях, но в наибольшей концентрации в печени и почках.

5. Сахарный диабет

Сахарный диабет (*diabetes mellitus*) – одна из главных проблем здоровья населения. Сахарный диабет – это одна из главных причин ранней почечной недостаточности, атеросклероза, слепоты и нетравматических ампутаций конечностей.

Сахарный диабет – это заболевание, которое характеризуется повышенным уровнем глюкозы натощак, вызванным относительным или абсолютным дефицитом инсулина. Различают два типа сахарного

диабета – инсулин-зависимый (тип I) и инсулин-независимый (тип II). Деление основано на потребности больных в экзогенном инсулине.

Сахарный диабет первого типа

Пациенты с инсулин-зависимым сахарным диабетом составляют 10-20% от всех больных сахарным диабетом. Заболевание характеризуется абсолютным дефицитом инсулина, причиной чего является массивное аутоиммунное повреждение β -клеток. Эта деструкция β -клеток происходит при участии стимулов окружающей среды (таких как вирусная инфекция) и генетических детерминант, которые позволяют принимать свои β -клетки за чужие.

Симптомы сахарного диабета появляются, когда 80-90% β -клеток разрушены. Для метаболического контроля больным требуются инъекции инсулина.

Ведущими клиническими симптомами сахарного диабета первого типа являются: полиурия (из-за осмотического действия глюкозы), полидипсия (как следствие потери жидкости) и полифагия (как следствие потери калорий из-за неиспользования глюкозы тканями). Эти три симптома сочетаются с потерей массы тела (вследствие липолиза и катаболизма белков) и слабостью (развитие гипоэнергетического состояния). Диагноз подтверждается обнаружением уровня глюкозы в капиллярной крови натощак более 6,1 ммоль/л.

Ведущими метаболическими изменениями при сахарном диабете первого типа являются гипергликемия, глюкозурия, кетоацидоз и кетонурия. Это маркеры нелеченного сахарного диабета.

Гипергликемия вызвана увеличением печеночной продукции глюкозы в сочетании с уменьшением ее периферической утилизации.

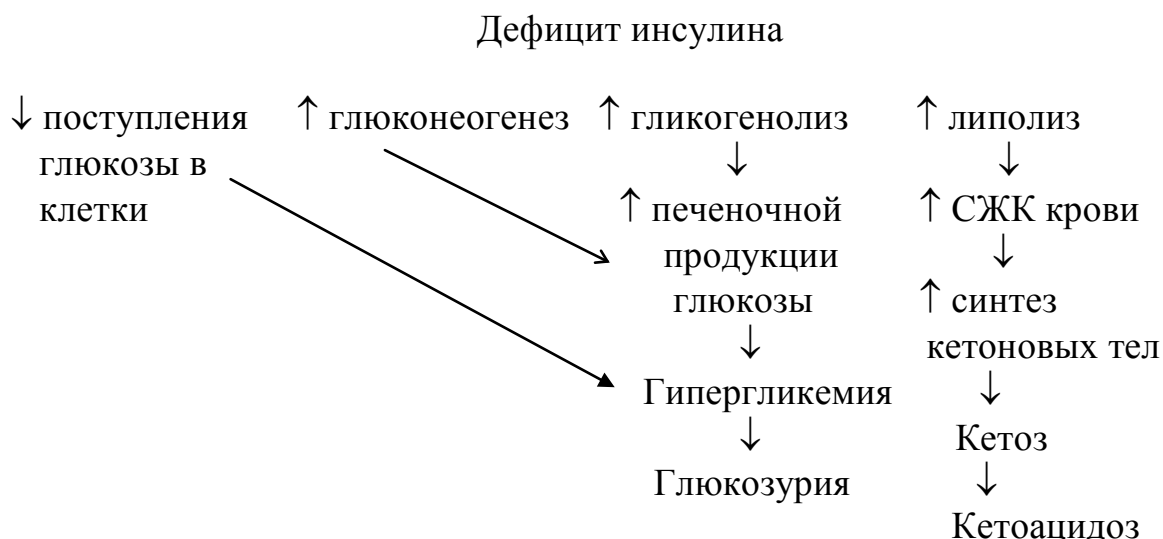
При гликемии более 8,8 ммоль/л (так называемый почечный порог) глюкоза не успевает реабсорбироваться почечными канальцами из первичной мочи и обнаруживается качественными реакциями в моче – глюкозурия. Больные диабетом могут терять до 100 граммов глюкозы ежедневно. Присутствие в моче глюкозы оказывает большое влияние на относительную плотность мочи. При массивной глюкозурии относительная плотность мочи может быть равна 1040-1050.

Кетоз (накопление кетоновых тел в крови) – это результат усиления мобилизации жирных кислот из жировой ткани. Кетоз развивается по следующей схеме: \uparrow липолиза \rightarrow \uparrow СЖК крови \rightarrow \uparrow поступления СЖК в печень \rightarrow \uparrow β -окисления \rightarrow \uparrow ацетил-КоА \rightarrow относительный дефицит ЦУК, необходимой для окисления ацетил-КоА в ЦТК \rightarrow \uparrow синтеза кетоновых тел \rightarrow кетоз. Чрезмерное накопление кетоновых тел (ацетоуксусная и 3-гидроксимасляная кислота) ведет к снижению рН крови, то есть к кетоацидозу. Избыток кетоновых тел выводится с

мочой – *кетонурия*, что обнаруживается качественной реакцией с нитропруссидом натрия.

Свободные жирные кислоты активно захватываются печенью, где окисляются до ацетил-КоА. Для окисления больших количеств образующегося ацетил-КоА требуется много оксалацетата (ЩУК). Дополнительные количества ЩУК в норме могут образовываться, так называемым *анаплеротическим (пополняющим) путем* ($\text{ПВК} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{ЩУК}$). При сахарном диабете количество пирувата ограничено вследствие недостатка глюкозы и замедления реакций окисления глюкозы. В результате избыток ацетил-КоА направляется на синтез кетоновых тел.

Развитие симптомов сахарного диабета



Сахарный диабет второго типа – наиболее частая форма заболевания (80%). У больных сахарным диабетом этого типа имеются функционирующие β -клетки и, как правило, не требуются инъекции инсулина. В развитие заболевания не вовлекаются вирусы и аутоантитела. Метаболические изменения выражены гораздо меньше по сравнению с диабетом типа I. Полагают, что в основе болезни лежит комбинация двух факторов: а) дисфункция β -клеток, то есть β -клетки не могут секретировать достаточное количество инсулина; б) инсулинорезистентность, то есть клетки тканей-мишеней не могут адекватно изменять свой метаболизм в присутствии инсулина.

Более 80% больных сахарным диабетом типа II страдают ожирением. Это существенно, так как инсулинорезистентность отчасти обусловлена ожирением.

Для лечения используются: 1) нормализация массы тела; 2) диета с ограничением углеводов; 3) гипогликемические препараты (производные сульфонилмочевины).

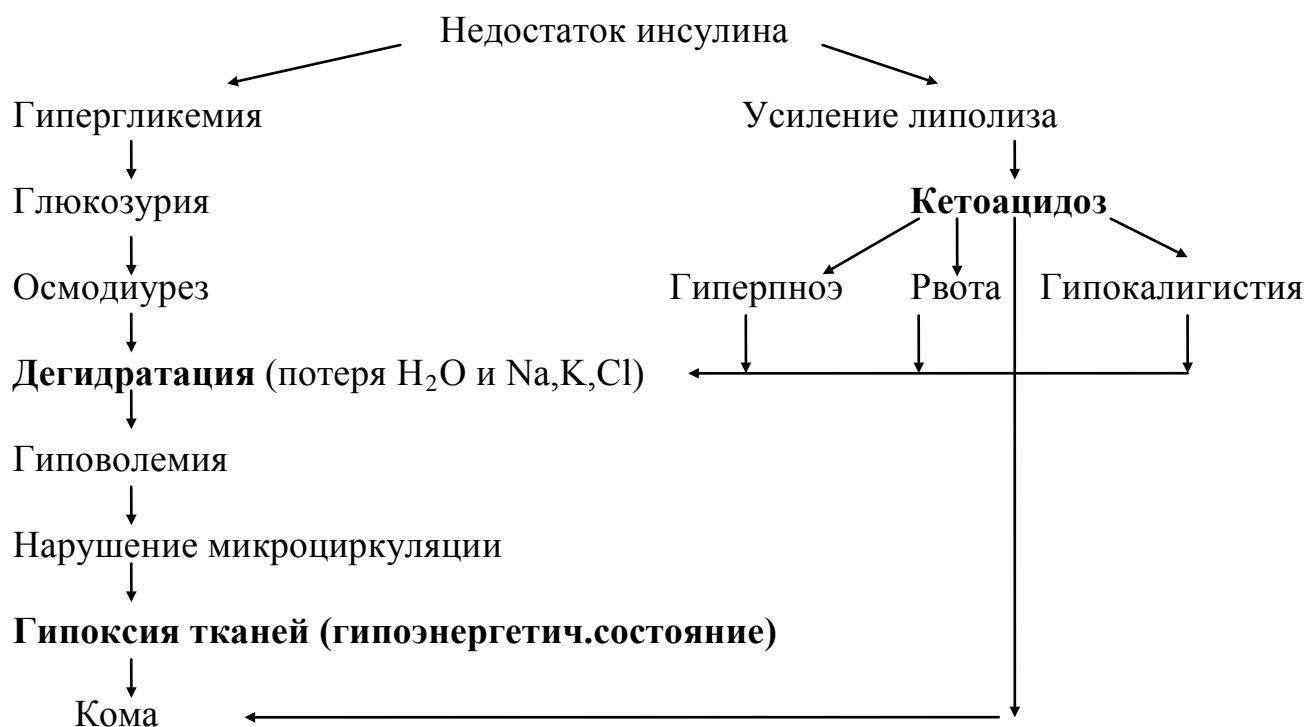
5.1. Биохимические причины развития осложнений сахарного диабета

Сахарный диабет – это одна из главных причин ранней почечной недостаточности, атеросклероза, слепоты и нетравматических ампутаций конечностей.

Наиболее грозным и быстро развивающимся осложнением сахарного диабета является *диабетическая (сахарная) кома*.

Кома (гр. кома-глубокий сон) – тяжелая и финальная стадия многих заболеваний, травм, отравлений. Кома характеризуется утратой сознания, угнетением (вплоть до отсутствия) рефлексов на внешние раздражители и нарушением жизненно важных функций организма. В основе диабетической комы лежит развитие кетоацидоза, дегидратации и гипоэнергетического состояния.

Упрощенная схема развития диабетической комы



Наиболее частые осложнения сахарного диабета – это поражения почек (диабетическая нефропатия), сетчатки (диабетическая ретинопатия), хрусталика глаза (диабетическая катаракта), нервов (диабетическая нейропатия), сосудов (диабетические макро- и микроангиопатии).

Эти осложнения развиваются медленно, обычно в течение 5-10 лет. Их причиной является хроническая гипергликемия.

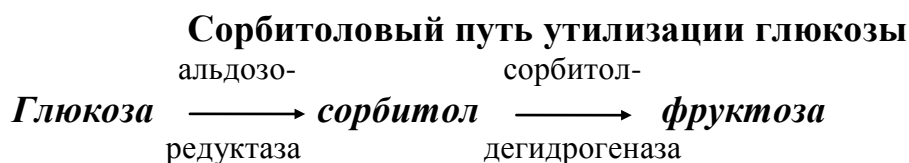
Известны несколько механизмов повреждающего действия хронической гипергликемии. Одним из механизмов является *неферментативное гликозилирование (гликирование) белков*. Остатки глюкозы присоединяются к свободным аминокетильным группам белков, чаще всего к аминокетильной группе лизина. При нормальной концентрации глюкозы скорость гликирования невелика, а поскольку белки постоянно обновляются, гликированные белки не накапливаются. При сахарном диабете вследствие хронической гипергликемии скорость гликирования увеличивается. Например, у здоровых людей фракция гликированного гемоглобина - HbA_{1c} - составляет 5-6%, а у больных диабетом – в 2-3 раза больше.

Среднее время пребывания эритроцита в сосудистом русле составляет от 8 до 16 недель, поэтому определение в крови гликированного гемоглобина является интегральным показателем уровня глюкозы на протяжении этого времени и используется для диагностики сахарного диабета и для контроля за его течением.

В реакцию гликирования вступают многие белки крови (альбумин, иммуноглобулины, липопротеины), белки цитоплазматических мембран клеток (белки миелиновой оболочки), белки внеклеточного матрикса (коллаген). Гликирование изменяет физико-химические свойства белков и нарушает их функции, например, в случае гемоглобина ухудшает отдачу кислорода тканям.

Другой механизм повреждающего действия высоких концентраций глюкозы связан с *ферментативным гликированием*. При высокой концентрации глюкозы в клетках увеличивается скорость синтеза гликопротеинов и протеогликанов, в том числе входящих в состав базальных мембран эндотелиальных и эпителиальных клеток.

Еще один механизм неблагоприятного влияния гипергликемии на метаболизм связан с наличием в некоторых клетках *сорбитолового (полиолового) пути* превращения глюкозы, в котором образуется шестиатомный спирт сорбитол. Сорбитол при участии сорбитолдегидрогеназы дегидрируется по второму углеродному атому и превращается во фруктозу. Сорбитолдегидрогеназа является скоростью-лимитирующим ферментом данного пути утилизации глюкозы.



В норме по сорбитоловому пути обменивается до 1% внутрикле-

точной глюкозы, а в условиях сахарного диабета - до 10%. Сорбитоловый путь функционирует в клетках артериальных стенок, клетках Шванна периферических нервов, в эритроцитах, в хрусталике и сетчатке глаза, в семенниках, яичниках и печени. Однако в клетках артериальных стенок, клетках Шванна, в эритроцитах, в хрусталике и сетчатке глаза активность фермента сорбитолдегидрогеназы *крайне низкая*. Это обуславливает накопление сорбитола при хронической гипергликемии именно в этих клетках. Сорбитол плохо проникает через клеточные мембраны, его накопление приводит к осмотическому набуханию клеток и нарушению их функций (вследствие нарушения работы ионных каналов).

Для поражения *почек* при диабете характерно утолщение базальной мембраны и окклюзия (закупорка) капилляров в клубочках. В результате нарушается процесс фильтрации в почечных клубочках и развивается почечная недостаточность.

В *сетчатке глаза* отмечается утолщение базальной мембраны и повышение проницаемости капилляров; обусловленные ими отек сетчатки и кровоизлияния являются причиной слепоты у больных диабетом.

Хрусталик построен из белков кристаллинов, которые обмениваются крайне медленно. Поэтому при диабете с годами все большая часть кристаллинов оказывается гликированной. Такие кристаллины образуют многомолекулярные агрегаты, рассеивающие свет, и, следовательно, изменяющие прозрачность хрусталика – возникает его помутнение или катаракта. Кроме того, набухание хрусталика, вызванное накоплением сорбитола, разрушает упорядоченную укладку кристаллинов, что тоже приводит к его помутнению.

Поражение нервов проявляется нарушениями проводимости аксона вследствие уменьшения толщины миелиновой оболочки. При этом возникают ощущения онемения в разных частях тела и нарушение осязания. В развитии этих симптомов основная роль принадлежит повышению концентрации сорбитола в шванновских клетках, а также изменениям капилляров, подобным тем, которые происходят в сетчатке глаза и почечных клубочках.

Возникновению всех осложнений способствует *нарушение снабжения тканей кислородом*, вызванное тем, что гликирование гемоглобина повышает его сродство к кислороду. Тем самым замедляется отдача кислорода тканям. Кроме того, увеличивается вязкость и свертываемость крови, что служит причиной частого развития *тромбозов* у больных сахарным диабетом. Одной из причин этого осложнения является гликирование антитромбина III (основного компонента противосвертывающей системы крови), что снижает его активность на 50%.

Гликирование апопротеинов липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) имеет отношение к *ускоренному развитию атеросклероза*. Гликированный апопротеин В этих липопротеинов активизирует нерегулируемый, нерцепторный захват ЛПНП клетками сосудистой стенки, что способствует формированию атеросклеротической бляшки.

Гликирование ряда белков меняет их антигенные свойства, что стимулирует образование так называемых циркулирующих иммунных комплексов, обладающих повреждающим действием на эндотелий сосудов.

Гиперлиппротеинемия (увеличение содержание липопротеинов в крови), как фактор риска раннего развития атеросклероза, встречается в 30-40% больных сахарным диабетом. Чаще всего у больных сахарным диабетом в плазме крови, взятой натощак, повышается уровень триацилглицеролов, несколько реже отмечается и увеличение уровня холестерина. Патогенетическими биохимическими факторами, приводящими к развитию “диабетической липемии”, являются: 1) снижение активности липопротеинлипазы плазмы крови; 2) повышение синтеза ЛПОНП в печени и секреции их кровью. Следует отметить, что повышенный уровень инсулина в плазме крови больных сахарным диабетом II типа, особенно на фоне ожирения, вызывает повышенный синтез и секрецию ЛПОНП печенью, в то же время у больных с недостаточностью инсулина (сахарный диабет I типа) в первую очередь нарушается процесс “очистения” плазмы крови от триацилглицеролов вследствие низкой активности липопротеинлипазы.

Глюкагон

Историческая справка

1923 г. - Murlin назвал глюкагоном вещество, которое повышало уровень глюкозы в крови путем распада гликогена в печени.

1953 г. - Stan et al. получил глюкагон из поджелудочной железы в кристаллическом виде.

1956 г. - Brower выявил структуру глюкагона.

1961 г.- Unger et al. - выделили из кишечника энтероглюкагон.

1967 г. - Wunch осуществил синтез глюкагона.

Глюкагон (от греч. glykys - сладкий + гон - указывает на связь с рождением) – гормон альфа (А)-клеток островков Лангерганса. Это пептид, состоящий из 29 аминокислотных остатков с ММ 3500 Да.

Синтезируется в виде проглюкагона (ММ 9000 Да).

Регуляция секреции. Секреция глюкагона:

а) ингибируется – повышенным уровнем глюкозы;

б) стимулируется – низким уровнем глюкозы, аминокислотами и адреналином. Поэтому концентрация глюкагона возрастает после при-

ема пищи, богатой белками, и при голодании.

Транспорт. Глюкагон в плазме крови не имеет специального транспортного белка. Период его полужизни составляет 5-10 минут.

Механизм действия. Глюкагон действует по аденилатциклазному механизму, связываясь с рецепторами на поверхности тканевых мишеней (печень, жировая ткань и миокард).

Метаболические эффекты. Активация аденилатциклазы и повышение концентрации цАМФ обуславливает усиление распада гликогена в печени. *В отличие от адреналина глюкагон не влияет на гликогенолиз в скелетных мышцах.* Высокий уровень цАМФ обуславливает активацию транскрипции гена фосфоенолпируваткарбоксикиназы – ключевого фермента глюконеогенеза. Кроме того, накопление цАМФ приводит к активации фруктозо-1,6-бисфосфатазы – второго ключевого фермента глюконеогенеза.

В печени гормон угнетает синтез белков и облегчает их катаболизм. Высвобождающиеся аминокислоты используются в реакциях глюконеогенеза.

Таким образом, центральный эффект глюкагона – гипергликемия – обеспечивается двумя механизмами:

1. Быстрый – распад гликогена,
2. Медленный – стимуляция глюконеогенеза.

Глюкагон – *мощный липолитический агент* за счет активации гормоночувствительной липазы жировой ткани. Высвобождающиеся жирные кислоты используются как источник энергии для скелетных мышц и миокарда.

Глюкагон является также мощным *стимулятором синтеза кетоновых тел* в печени.

Соматостатин

Соматостатин – циклический тетрадекапептид, синтезируемый в D-клетках поджелудочной железы, желудка и двенадцатиперстной кишки. Сначала соматостатин был обнаружен в гипоталамусе, как гормон, подавляющий секрецию гормона роста. Биологическая роль *панкреатического соматостатина* заключается в подавлении секреции (посредством паракринного действия) инсулина, глюкагона, гастрина и секретина. Кроме того, он понижает всасывание сахаров и уменьшает кровоток в внутренних органах.

Лекция 40

ГОРМОНЫ МОЗГОВОГО СЛОЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ

Историческая справка

1805 г. - Cuvier дифференцировал кору и мозговой слой надпочечников.

1895 г. - Szymonowicz, Cybilski, Olliver, Schäfer открыли в экстракте надпочечников вещества, повышающие артериальное давление.

1901 г. - Takamine et al. выделили в кристаллическом виде адреналин.

1919 г. - Berger, Dale синтезировали норадреналин.

1945 г. - Holtz, Gredner, Kronberg доказали, что норадреналин является вторым симпатическим гормоном.

1948 г. - Ahlquist дифференцировал α - и β -рецепторы.

1949 г. - Bülbring установил, что адреналин и норадреналин образуются в хромафинной ткани.

1951 г. - Euler доказал, что норадреналин является медиатором симпатической нервной системы.

1957 г. - Armstrong установил, что ванилилминдальная кислота – продукт метаболизма катехоламинов.

1967 г. - Lands разделил β -рецепторы на β_1 и β_2 .

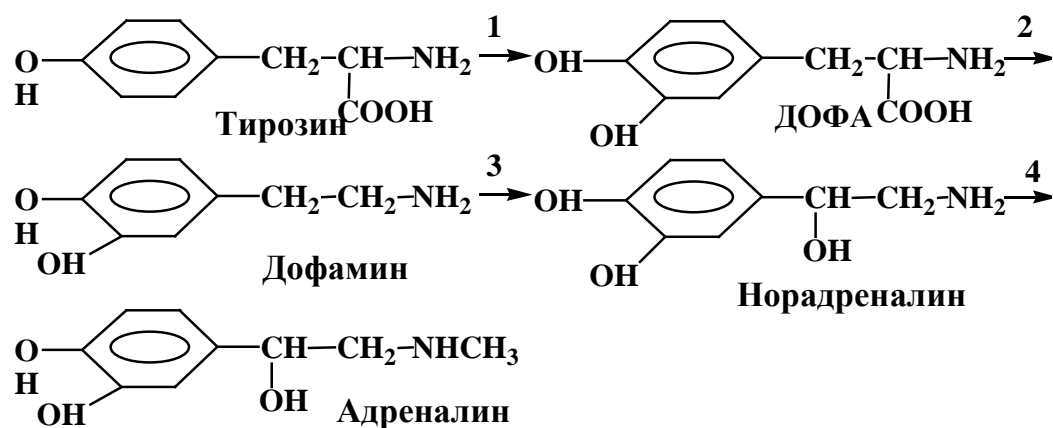
1974 г. - Langer разделил α -рецепторы на α_1 и α_2 .

Хромафинные (феохромные) клетки мозгового слоя надпочечников синтезируют катехоламины, то есть соединения, содержащие катехоловое (3,4-дигидроксибензольное) ядро и аминогруппу в боковой цепи. *К ним относятся адреналин (эпинефрин), норадреналин (норэпинефрин) и дофамин.*

Синтез и секреция

Последовательность синтеза катехоламинов довольно проста и включает в себя 4 ферментативные реакции: 1) гидроксирования кольца; 2) декарбоксилирования; 3) гидроксирования боковой цепи и 4) N-метилирования.

Биосинтез катехоламинов



1. тирозингидроксилаза; 2. декарбоксилаза ароматических аминокислот; 3. дофамингидроксилаза; 4. метилтрансфераза.

Ферменты реакций синтеза катехоламинов:

1. Тирозингидроксилаза (кофермент – тетрагидробиоптеридин);
 2. Декарбоксилаза ароматических аминокислот (кофермент витамин В₆);
 3. Дофамингидроксилаза (для реакции в качестве кофактора необходима аскорбиновая кислота);
 4. N-метилтрансфераза (донором метильных групп является S-аденозилметионин). Синтез этого фермента активируется глюкокортикоидами.

Катехоламины подавляют свой собственный синтез по принципу обратной отрицательной связи, ингибируя активность тирозингидроксилазы.

Конечные продукты превращения тирозина в тканях различны: в мозговом слое надпочечников процесс протекает в основном до адреналина, в окончаниях симпатических нервов – до норадреналина, в некоторых нейронах ЦНС синтез завершается образованием дофамина. На долю адреналина приходится 80% всех катехоламинов мозгового слоя надпочечников.

Адреналин секретруется мозговым слоем надпочечников в ответ на гипогликемию и стрессорные стимулы (страх, сильное волнение, кровотечение и др.). При этом функционирует парагипофизарный путь регуляции секреции гормона в кровь: ЦНС – n. splanchnicus – мозговой слой надпочечников.

Транспорт

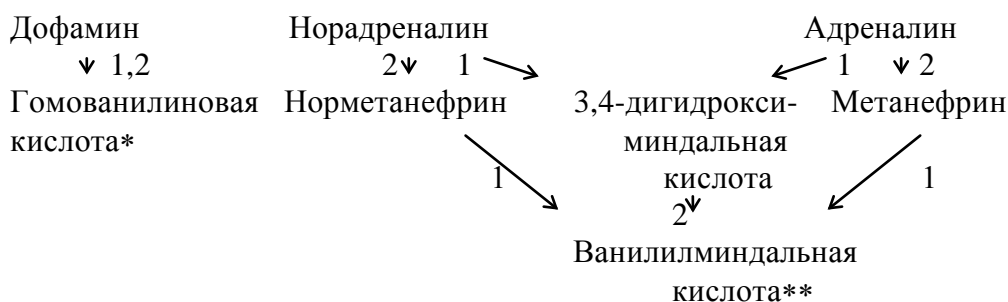
В плазме крови катехоламины циркулируют в слабоассоциированном с альбумином виде и только 5-10% в свободном виде. Период их полужизни крайне мал – 10-30 сек. Концентрация адреналина в плазме крови 0,2-0,5 нмоль/л, норадреналина – 0,6-1,8 нмоль/л. Более высокая концентрация норадреналина обусловлена поступлением его в

кровь из симпатических нервных окончаний, где он выполняет функцию нейромедиатора.

Инактивация

Большая часть катехоламинов (около 90%) инактивируется путем активного обратного захвата в депо-гранулы (нейрональная инактивация). Остальные 10% подвергаются инактивации в эффекторных клетках и в печени под действием ферментов – моноаминоксидазы (МАО, катализирует реакцию дезаминирования) и катехол-О-метилтрансферазы (КОМТ, катализирует реакцию метилирования по 3-ОН-группе) – с образованием множества неактивных продуктов, удаляемых с мочой. Основным продуктом инактивации является 3-метокси-4-гидроксиминдальная кислота, называемая также *ванилилминдальной кислотой*. По ее содержанию в моче судят о секреции адреналина в кровь.

Схема инактивации катехоламинов



1. МАО; 2. КОМТ; * - 3-метокси-4-гидроксифенилуксусная кислота; ** - 3-метокси-4-гидроксиминдальная кислота.

Ванилилминдальная кислота (3-метокси-4-гидроксиминдальная кислота)

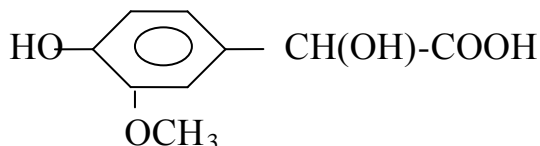


Таблица 1. Физиологические концентрации катехоламинов и их метаболитов (по Х. Шамбах, 1988 г.)

Катехоламин	Плазма крови	Моча
Адреналин	0,2-0,5 нмоль/л	0,03-0,11 мкмоль/сут
Норадреналин	0,6-1,8 нмоль/л	0,13-0,3 мкмоль/сут
Дофамин	0,3-0,8 нмоль/л	1-1,5 мкмоль/сут

Метанефрин		0,25-0,7 мкмоль/сут
Норметанефрин		0,63-0,87 мкмоль/сут
Ванилилминдальная кислота		15-35 мкмоль/сут
Гомованилиновая кислота		30-60 мкмоль/сут

Механизм действия

Катехоламины действуют через 2 класса адренорецепторов – α и β . Каждый из них в свою очередь подразделяется на подклассы: α_1 и α_2 ; β_1 , β_2 и β_3 . Адреналин связывается и активирует как α -адренорецепторы, так и β -адренорецепторы. Норадреналин в физиологических концентрациях связывается главным образом с α -адренорецепторами.

Катехоламины, которые связываются с β -адренорецепторами активируют аденилатциклазу, в то время как связывание их с α_2 -рецепторами ингибирует аденилатциклазу. Связывание с α_1 -адренорецепторами активирует фосфолипазу С и запускает Ca^{2+} /фосфатидилинозитоловый механизм.

В ЦНС, почках и мезентериальных сосудах имеются дофаминовые рецепторы, ответственные за вазодилатацию.

Биологическая реакция каждого органа зависит от типа присутствующих на его клетках адренорецепторов. Например, в сердце и жировой ткани присутствуют в основном β_1 -адренорецепторы, в бронхах, печени, скелетных мышцах - β_2 -рецепторы.

Преимущественная локализация адренорецепторов

α_1 -адренорецепторы	α_2 -адренорецепторы	β_1 -адренорецепторы	β_2 -адренорецепторы	β_3 -адренорецепторы
сосуды, печень, потовые железы, сфинктеры ЖКТ	сосуды, ЦНС, панкреас, тромбоциты	сердце, жировая ткань	печень, скелетные мышцы, сосуды, бронхи, органы ЖКТ	бурая жировая ткань

Биологические эффекты

5.1. Метаболические эффекты.

Главным местом метаболического действия катехоламинов являются печень, мышечная и жировая ткани. Главными метаболическими эффектами, опосредуемыми различными адренорецепторами являются:

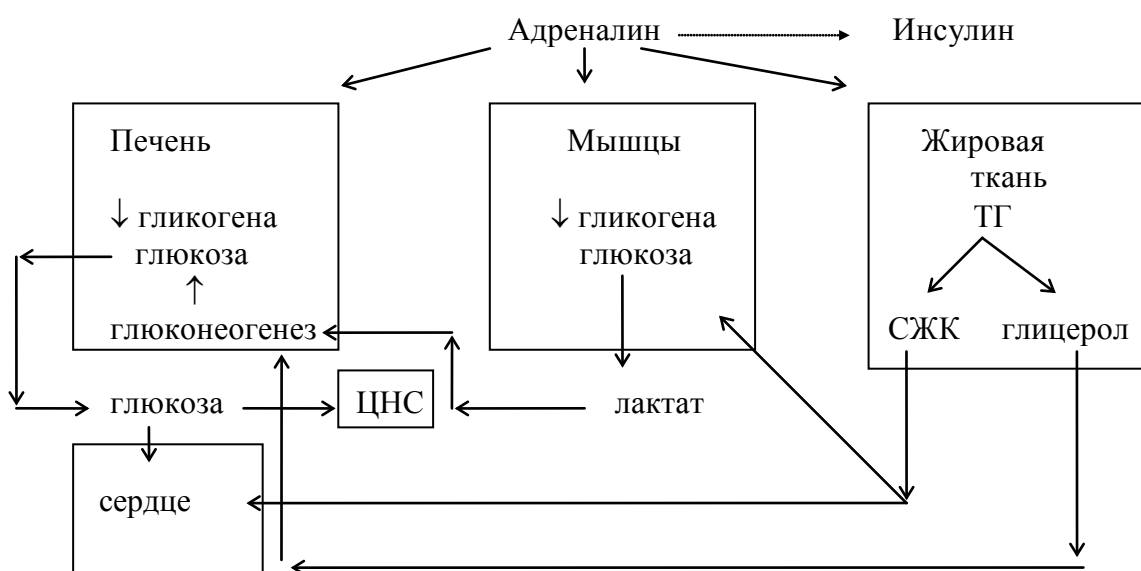
1. Стимуляция распада гликогена до глюкозы (гликогенолиза) в печени (посредством активации α_1 и β_2 -адренорецепторов) и мышцах

(через β_2 -рецепторы). В быстросокращающихся скелетных мышцах глюкоза метаболизируется до лактата. В тоже время глюкоза, образуемая в печени, поступает в кровоток. Это приводит к повышению уровня глюкозы и лактата в плазме крови.

2. Активация глюконеогенеза (через β_2 -рецепторы) из лактата и глицерола.

3. Стимуляция липолиза в жировой ткани (посредством β_1 -рецепторов). Жирные кислоты используются мышцами в качестве источника энергии, и, кроме того, активируют глюконеогенез. В печени возможно усиление синтеза кетоновых тел. Высвобождающийся при липолизе глицерол захватывается главным образом печенью, где используется в реакциях глюконеогенеза.

Схема метаболического действия адреналина.



4. Активация β_3 -адренорецепторов в бурой жировой ткани способствует факультативному термогенезу в ответ на действие холода.

5. Стимуляция синтеза холестерина через активацию ключевого фермента 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктазу.

6. Снижение протеолиза в скелетных мышцах (β_2 -рецепторы).

7. Ингибирование секреции инсулина (через α_2 -рецепторы). Это снижает утилизацию глюкозы скелетными мышцами и жировой тканью, сберегая ее для ЦНС.

5.2. Физиологические эффекты:

1. Повышение потребления кислорода на 30%.

2. Сужение сосудов кожи и желудочно-кишечного тракта (α -рецепторы).

3. Повышение силы (инотропный эффект) и частоты (хронотропный эффект) сердечных сокращений (β_1 -рецепторы).

Увеличение силы сердечных сокращений при действии адреналина объясняется усилением притока Ca^{2+} в кардиомиоциты: адреналин $\rightarrow \beta_1$ -рецептор \rightarrow активация аденилатциклазы $\rightarrow \uparrow$ цАМФ \rightarrow активация протеинкиназы А \rightarrow фосфорилирование Ca^{2+} -каналов L-типа $\rightarrow \uparrow$ потока Ca^{2+} в кардиомиоцит.

При очень высокой концентрации адреналина в крови повышается опасность развития аритмий и развития стенокардии.

4. Повышение системного артериального давления (α -рецепторы сосудов и β_1 -рецепторы сердца).

5. Расширение сосудов скелетных мышц и коронарных артерий (β_2 -рецепторы).

6. Расслабление гладких мышц бронхов, ЖКТ, мочевого пузыря (β_2 -рецепторы), но сокращение сфинктеров ЖКТ и мочевого пузыря (α_1 -рецепторы).

7. Расширение зрачка (α_1 -рецепторы)

8. Усиление потоотделения (α_1 -рецепторы).

9. Увеличение секреции гастрина слизистой оболочкой желудка (β_2 -рецепторы).

10. Усиление агрегации тромбоцитов (α_2 -рецепторы).

11. Реакция ЦНС - страх, тревога, бодрость (α_2 -рецепторы)

Все перечисленные реакции, в первую очередь, направлены на повышение способности организма расходовать энергию во время стресса (реакции борьбы или бегства). Обращает на себя внимание факт перераспределения источников энергии в пользу органов, непосредственно участвующих в данной реакции (мозг, мышцы и сердечно-легочная система). Это происходит за счет органов, менее необходимых и более поздно включающихся в ответ (кожа и желудочно-кишечный тракт).

Лекция 41

ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫЕ ГОРМОНЫ

Историческая справка

1927 г. - Hartman et al., Rogoff, Stewart введением экстракта надпочечников продлили жизнь экспериментальным адреналэктомизированным животным.

1930 г. - Hartman et al., Rontree et al. провели успешное лечение болезни Аддисона экстрактом надпочечников.

1936г. - Kendall, Reichstein, Wintersteiner выделили кортизон.

1937 г.- Reichstein выделил гидрокортизон из надпочечников.

1946 г. - Sarett синтезировал кортизон.

1948 г. - Hench et al. получили впечатляющие результаты лечения кортизоном больных ревматоидным артритом.

1950 г. - Hench, Kendall, Reichstein вручена Нобелевская премия за исследования и клиническое применение кортизона.

1953 г. - Simpson et al., Neher, Euw, Reichstein выделили альдостерон из надпочечников.

1954 г. - Simpson et al., Neher, Euw, Reichstein расшифровали структуру альдостерона. Mach et al. применили альдостерон для лечения болезни Аддисона.

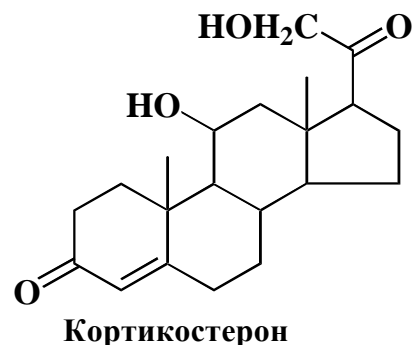
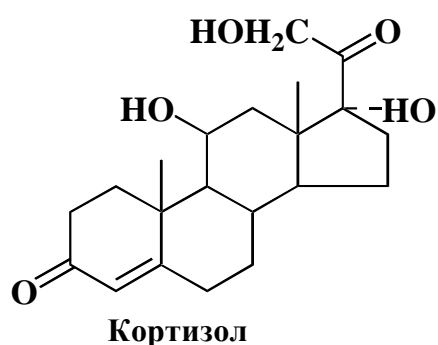
1955 г. - Herzog et al. синтезировали преднизон и преднизолон.

Надпочечники (epinephros, glandula adrenalis) являются необходимой для жизни парной эндокринной железой. Человек не в состоянии прожить после адреналэктомии более 6-7 суток.

Морфологически надпочечники состоят из двух структур: внутреннего мозгового вещества и внешнего коркового слоя. В свою очередь кора надпочечников состоит из трех четко различимых зон. Субкапсулярная область называется клубочковой зоной; в ней образуется главный минералокортикоид – альдостерон. Затем идут пучковая зона и сетчатая зоны, в которых вырабатываются глюкокортикоиды и андрогены.

В коре надпочечников синтезируются десятки различных стероидов, но лишь немногие из них обладают биологической активностью. Они и составляют три класса гормонов: глюкокортикоиды, минералокортикоиды и андрогены.

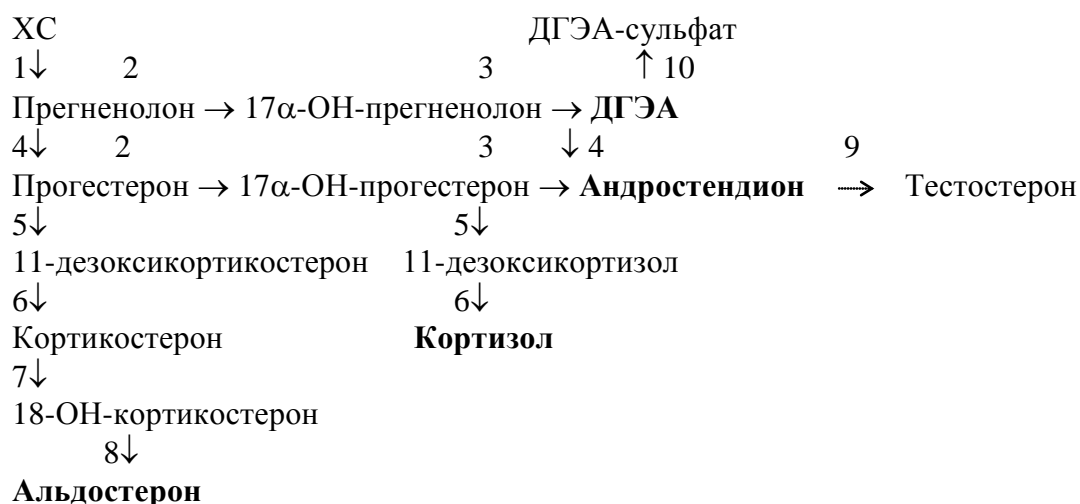
Глюкокортикоиды (от глюко(за) + лат. cortex-кора) – это C_{21} -стероиды, наиболее важный метаболический эффект которых – стимуляция глюконеогенеза. Основными глюкокортикоидами являются кортизол (гидрокортизон) и кортикостерон, причем у человека преобладает кортизол, а, например, у грызунов – кортикостерон.



Биосинтез стероидных гормонов надпочечников

Стероидные гормоны надпочечников образуются из холестерина, который главным образом поступает из крови в виде эфиров в составе липопротеинов (ЛПНП и ЛПВП), но также синтезируется в самих клетках из ацетил-КоА.

Схема биосинтеза стероидных гормонов в коре надпочечников



1-ХС-десмолаза; 2-17α-гидроксилаза; 3-C₁₇₋₂₀-лиаза; 4-3β-гидроксистероид-дегидрогеназа, Δ⁵-изомераза; 5-21-гидроксилаза; 6-11β-гидроксилаза; 7-18-гидрокси-лаза; 8-18-гидроксистероид-дегидрогеназа; 9-17β-гидроксистероид-дегидрогеназа; 10-сульфотрансфераза.

Жирным шрифтом выделены основные продукты синтеза, секретируемые в кровь.

Начальный и скорость-лимитирующий этап в биосинтезе стероидов – превращение холестерина в прегненолон – находится под влиянием адренокортикотропного гормона (АКТГ). Эта реакция протекает в митохондриях и катализируется ферментом холестерин-десмолазой. На определенных этапах процесса биосинтеза стероидных гормонов участвуют С₁₁-, С₁₇-, С₂₁-гидроксилазы, С₃-, С₁₇-, С₁₈-дегидрогеназы, Δ⁵-изомераза и С₁₇₋₂₀-лиаза. Примечательно то, что синтез надпочечниковых андрогенов происходит без участия С₂₁- и С₁₁-гидроксилаз.

Транспорт глюкокортикоидов

Основное количество кортизола в плазме крови связано со специальным транспортным белком транскортином. *Транскортин* – аль-

фа-1-глобулин, вырабатываемый в печени, связывает также и кортикостерон, однако с более низким сродством, чем кортизол. Лишь 5-10% кортизола присутствует в крови в свободном виде и является биологически активным.

Регуляция синтеза и секреции глюкокортикоидов

Секреция глюкокортикоидов зависит от *адренокортикотропного гормона* (АКТГ, кортикотропин), выделение которого в свою очередь регулируется кортиколиберином. АКТГ повышает синтез (через повышение активности ХС-десмолазы) и секрецию глюкокортикоидов и надпочечниковых андрогенов, почти не влияя на секрецию альдостерона. АКТГ также стимулирует рост коры надпочечников (трофический эффект), повышая синтез белка и РНК.

В 1943 году Пинкус отметил существование *суточного (циркадного) ритма секреции кортизола* с минимумом поздним вечером (23-24 часа) и максимумом ранним утром (6-8 часов). На секрецию кортизола влияют также физические и эмоциональные стрессы, состояние тревоги, страха и боль.

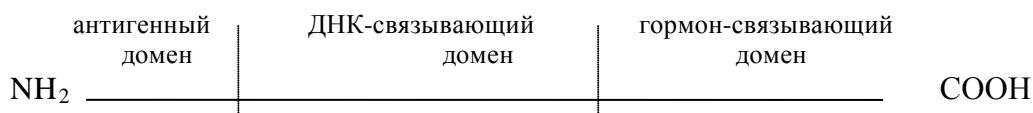
Существование обратной связи в регуляции секреции, а также циркадного ритма секреции кортизола имеет большое клиническое значение. У больных длительное время леченных высокими дозами (как правило, более 10 мг синтетического аналога кортизола – преднизолона) глюкокортикоидов происходит ингибирование эндогенной продукции собственных глюкокортикоидов. Происходит атрофия коры надпочечников и после резкой отмены гормональных препаратов пациенты не в состоянии реагировать на АКТГ. Более того, при длительном приеме глюкокортикоидов нарушается гипофизарная секреция АКТГ. Подобное ингибирование длится несколько недель после прекращения лечения глюкокортикоидами. Следовательно, *при внезапном прекращении лечения глюкокортикоидами у больных длительно их получавших имеется высокая вероятность возникновения синдрома отмены в виде острой надпочечниковой недостаточности* (адреналовый криз), особенно в условиях дополнительных стрессовых факторов (инфекция, травма, операция и др.).

Механизм действия глюкокортикоидов

По механизму действия стероидные гормоны принадлежат к группе гормонов, проникающих в клетку. Начальный этап их действия – это взаимодействие со специфическими цитозольными рецепторами. Этот шаг необходим для проникновения в ядро клетки и связывания с ДНК.

Глюкокортикоидный рецептор – белок, состоящий из 777 аминокислотных остатков. В его N-концевой части содержится антигенный (регуляторный) домен. В C-концевой области содержится гормон-связывающий домен, а ближе к середине молекулы расположен ДНК-связывающий домен.

Структура глюкокортикоидного рецептора.

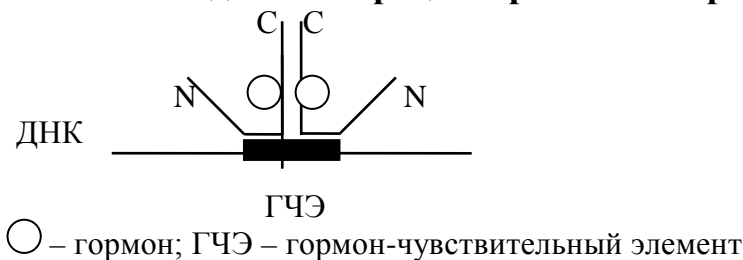


ДНК-связывающий домен рецептора состоит из 66-68 аминокислотных остатков с девятью цистеиновыми остатками в фиксированных позициях. Этот домен незаменим для активации транскрипции. Связывание гормона с гормон-связывающим доменом рецептора вызывает конформационные изменения, которые позволяют связыванию с гормон-чувствительным элементом ДНК в области гена-мишени. Важная часть конформационной структуры рецептора представлена так называемыми *цинковыми пальцами*. Эти цинковые пальцы имеют пальцеподобную форму в результате взаимодействия ионов цинка с остатками цистеина. Эти цинковые пальцы, как полагают, взаимодействуют со сходными комплементарными (очевидно по форме) участками ДНК в области гормон-чувствительного элемента.

Регуляторный домен рецептора имеет несколько мест фосфорилирования и вовлечен в активацию комплекса гормон-рецептор. Таким образом, он также влияет на транскрипцию генов.

В отсутствие гормона рецепторы связываются через гормон-связывающий домен с другим белком, известным как белок теплового шока 90 (heat shock protein, hsp 90). Связывание гормона с рецептором высвобождает hsp 90 и способствует взаимодействию с другим гормон-рецепторным комплексом с образованием гомодимера. Образовавшийся гомодимер связывается с *гормон-чувствительным элементом* ДНК и активирует транскрипцию соответствующих генов.

Взаимодействие рецептора глюкокортикоидов с ДНК.



Биологические эффекты глюкокортикоидных гормонов

Блестящая оценка роли глюкокортикоидов в максимально сжатом виде была дана в 1994 году G. Chrousos:

“Глюкокортикоиды играют важную роль в физиологии человека, и почти каждая ткань человеческого тела находится под их воздействием. Глюкокортикоиды являются решающими молекулами для целостности функций ЦНС, поддержания кардиоваскулярного и метаболического гомеостаза. Увеличение секреции глюкокортикоидов во время стресса имеет кардинальное значение в изменении функций ЦНС, в предохранении систем воспалительного и иммунного ответа от сверхреагирования, а также в регулировании потребления энергии, то есть всех перемен, которые повышают шансы на выживание”.

1. Влияние на обмен веществ

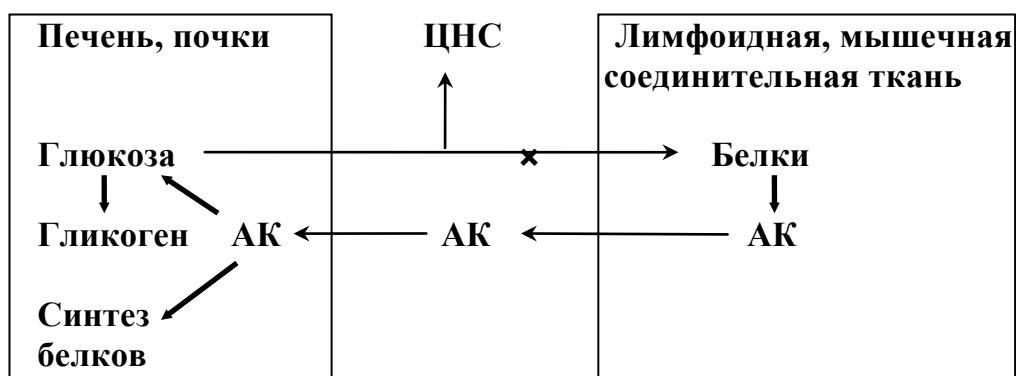
I. Обмен углеводов.

Само название «глюкокортикоиды» отражает их влияние на обмен углеводов.

А. Глюкокортикоиды усиливают глюконеогенез в печени путем: 1) повышения активности и количества ключевого фермента глюконеогенеза – фосфоенолпируват-карбоксикиназы; 2) стимуляции высвобождения аминокислот – субстратов глюконеогенеза – из периферических (мышечной, лимфоидной, соединительной) тканей, усиливая катаболизм их белков.

В. Глюкокортикоиды повышают запасы гликогена в печени, активируя гликогенсинтазу, и в этом отношении их действие сходно с инсулином. Тем самым глюкокортикоиды препятствуют опустошению запасов гликогена при действии адреналина, который выбрасывается в кровь при стрессе первым.

Схема метаболического действия глюкокортикоидов



АК – аминокислоты

С. Глюкокортикоиды тормозят потребление и использование глюкозы во внепеченочных тканях (скелетных мышцах и жировой

ткани).

Конечным результатом влияния глюкокортикоидов на обмен углеводов является повышение уровня глюкозы в плазме крови – гипергликемический эффект.

II. Обмен липидов.

1. *Общим итогом влияния глюкокортикоидов на обмен липидов является повышение уровня свободных жирных кислот в плазме крови и сопряженное усиление синтеза кетоновых тел с возможным развитием кетоза, особенно в условиях инсулиновой недостаточности. Это обусловлено перmissiveм действием глюкокортикоидов на липолитическое действие адреналина и гормона роста.*

2. Глюкокортикоиды повышают секрецию липопротеинов очень низкой плотности из печени в кровь.

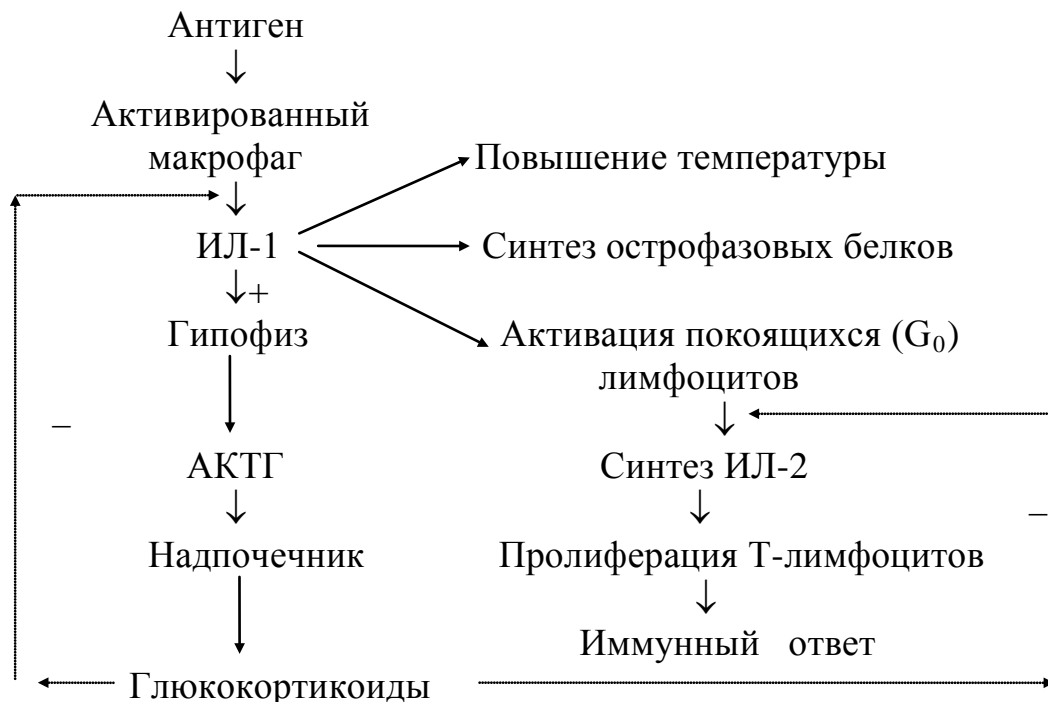
III. Обмен белков и нуклеиновых кислот.

В целом, глюкокортикоиды оказывают *анаболическое действие* на обмен белков и нуклеиновых кислот в печени и *катаболическое* – в мышечной, лимфоидной, жировой и костной тканях.

2. Другие биологические эффекты глюкокортикоидов

I. *Иммунодепрессивное действие* отмечается при *высоких* концентрациях глюкокортикоидов, наблюдаемых при остром стрессе, при лечении аутоиммунных заболеваний, при подавлении реакции отторжения.

Схема взаимодействия иммунной и нейроэндокринной систем



Это выражается в гибели лимфоцитов и инволюции лимфоидной ткани, торможении пролиферации лимфоцитов в ответ на антигены. Кроме того, уменьшается выработка антител В-лимфоцитами.

Хорошо изучена цепочка сетевых взаимодействий между иммунной и нейроэндокринной системой. Примером является увеличение синтеза глюкокортикоидов под действием интерлейкина-1 (ИЛ-1), вырабатываемого макрофагами в ходе иммунного ответа на внедрение антигена. Глюкокортикоиды, в свою очередь, подавляют иммунный ответ по принципу обратной связи, воздействуя на ряд процессов, в том числе и на продукцию интерлейкина-1 и интерлейкина-2. *Тем самым глюкокортикоиды предохраняют системы воспалительного и иммунного ответа от сверхреагирования, которое может привести к гибели организма!*

II. Противовоспалительный эффект. Накапливаясь в клетках, глюкокортикоиды оказывают универсальное противовоспалительное действие, непосредственно и опосредованно контролируя около 100 генов, вовлеченных в процесс воспаления. Именно за счет наличия этого эффекта глюкокортикоиды являются одними из самых мощных противовоспалительных лекарственных средств в клинической практике.

Основной противовоспалительный эффект глюкокортикоидов связан с ингибированием синтеза белков, участвующих в развитии воспалительной реакции (цитокины, например, интерлейкин-1 и фактор некроза опухолей, молекулы клеточной адгезии-ICAM, VCAM). Механизм (Albert Baldwin, Michael Karin, 1995): глюкокортикоиды ингибируют ядерный фактор каппа – белковый фактор транскрипции, управляющий экспрессией генов, кодирующих эти провоспалительные белки.

К другим противовоспалительным эффектам глюкокортикоидов относятся:

- не прямое ингибирование фосфолипазы A_2 через повышение синтеза прямого ингибитора – белка *липокортин*. Тем самым глюкокортикоиды препятствуют высвобождению арахидоновой кислоты – субстрата для синтеза эйкозаноидов (медиаторов воспаления);
- торможение активности гиалуронидазы и коллагеназы;
- торможение накопления лейкоцитов в участках воспаления;
- ингибирование пролиферации фибробластов в участках воспаления и торможением продукции ими коллагена и фибронектина.

Однако сочетание указанных эффектов *в условиях длительного избытка глюкокортикоидов* ведет к плохому заживлению ран, снижению “лейкоцитарного воспалительного вала” и повышенной чувствительности к инфекции.

III. Противоаллергическое действие глюкокортикоидов.

Аллергия (от греч. allos-иной, ergon-действие) – это специфическая повышенная вторичная иммунная реакция на аллерген, которая сопровождается повреждением тканей. По механизму развития аллергические реакции делятся на два типа: 1) гиперчувствительность немедленного типа и 2) гиперчувствительность замедленного типа. Оба типа аллергических реакций – результат иммунного аллергического воспаления. При воспалении на иммунной (аллергической) основе четко проявляется несоответствие между малой дозой антигена и бурной общей и местной тканевой реакцией. Такая местная тканевая реакция носит название гиперэргической, а само воспаление называется гиперэргическим, так как оно непосредственно связано с реакциями гиперчувствительности. Поэтому неудивительно, что эффекты, лежащие в основе иммунодепрессивного и противовоспалительного действия глюкокортикоидов во многом определяют их мощное антиаллергическое действие.

IV. Перmissive роль глюкокортикоидов.

Перmissive (разрешающее, позволяющее) действие гормонов выражается в том, что сам гормон не вызывает физиологического эффекта, но создает условия для реакции клеток, органа, ткани на действие какого-либо другого гормона. Так глюкокортикоиды сами не влияют на ни тонус сосудов, ни на гликогенолиз. Однако они создают условия, при которых подпороговые концентрации адреналина повышают артериальное давление и вызывают гипергликемию. Усиление липолитического действия адреналина и гормона роста также является примером перmissive действия глюкокортикоидов.

V. Глюкокортикоиды – гормоны стресса. Глюкокортикоиды непосредственно участвуют в физиологическом ответе на острый стресс, связанный с операцией, травмой или инфекцией. В этих условиях секреция кортизола возрастает в несколько раз (до 10) и если подобный ответ ослаблен, шансы на выживание значительно снижаются.

VI. Другие биологические эффекты глюкокортикоидов:

- 1) деминерализующий эффект на костную ткань;
- 2) повышение секреции желудочного сока;
- 3) стимуляция эритроцитопоэза и тромбоцитопоэза;
- 4) возбуждающее действие на ЦНС.

Биологические эффекты глюкокортикоидов и клинические эффекты их избытка таблице 1.

Таблица 1. Основные действия глюкокортикоидов и клинические эффекты их избытка.

Действие	Клинические эффекты избытка
Метаболическое Ингибирование захвата глюкозы внепеченочными тканями	Гипергликемия

Стимуляция глюконеогенеза Тканеспецифичная стимуляция липолиза и липогенеза	Перераспределение жира: отложение в области лица, шеи, туловища, “худые ноги” Гиперлипидемия (IV тип)
Костно-мышечная система Ингибирование образования костей Повышение резорбции костей Мышечная слабость Истончение мышц	Остеопороз Миопатия
Кожа и соединительная ткань Ингибирование активности фибробластов	Плохое заживление ран, истончение кожи, мраморный рисунок кожи, появление стрий
Иммунологическое и противовоспалительное действие Множественные эффекты	Чувствительность к инфекции Подавление реакции отторжения
Водно-солевой обмен Повышение диуреза Потеря K^+ Задержка Na^+	Полиурия Гипокалиемия
Гематологические Усиление тромбоцитоза и эритропоэза Повышение количества нейтрофилов Снижение числа эозинофилов и лимфоцитов	Полицитемия
ЦНС Преобладание возбуждения в подкорковых областях	Эйфория, позднее депрессия Бессоница
ЖКТ Повышение секреции соляной кислоты и пепсина Снижение синтеза мукопротеинов	Возможно возникновение язвы желудка
Сердечно-сосудистая система Повышение сердечного выброса и тонуса сосудов	Гипертензия

Синтетические аналоги глюкокортикоидов

Успешное применение Hench и соавторами кортизона в 1948 году для лечения ревматоидного артрита привело к необходимости разработки аналогов природных глюкокортикоидов, которые при увеличении противовоспалительной активности имели бы меньшее число побочных действий, обусловленных в основном их минералокортико-

идными эффектами (задержка натрия, гипертензия). Существующие синтетические аналоги глюкокортикоидов происходят от природного глюкокортикоида – кортизола. Введение двойной связи между C₁ и C₂ привело к синтезу *преднизолона* (1-дегидрокортизол), который примерно в 4 раза эффективнее кортизола. Существенным шагом для повышения активности явилось внедрение в молекулу галогенной группы – фтора или хлора при C₉. Наиболее широкое распространение получил *дексаметазон* (9α-фтор-16α-метил-1-дегидрокортизол), противовоспалительная активность которого в 30 раз выше таковой кортизола, а минералокортикоидная – практически равна нулю.

Гиперфункция коры надпочечников

1. Избыток глюкокортикоидов

Состояние, связанное с избытком глюкокортикоидов вследствие опухолевого поражения (аденома) надпочечника, называют *синдромом Иценко-Кушинга*. В случае, когда причиной избытка глюкокортикоидов является повышение секреции АКТГ гипофизом (как правило, вследствие наличия опухоли), используется термин *болезнь Иценко-Кушинга*.

Как синдром, так и болезнь Иценко-Кушинга имеют сходную клиническую картину.

Основные симптомы:

– Перераспределение жировых отложений – увеличение их на лице (лунообразное лицо), шее (“климактерический или буйволиный горбик”), животе и уменьшение – на ягодицах, бедрах, руках. В результате вес больных редко превышает 100 кг.

– Атрофия кожи (вследствие снижения синтеза коллагена) и ее мраморный вид из-за просвечивания сосудов. Развитие на коже специфических красновато-фиолетовых полос растяжения (стрии).

– Артериальная гипертензия (из-за задержки ионов натрия и воды и перmissive действия на тонус сосудов через адреналин).

– Атрофия мышц конечностей (вследствие повышения катаболизма мышечных белков).

– Гипергликемия вплоть до развития “стероидного” диабета.

– Остеопороз (из-за нарушения синтеза белковой матрицы и деминерализации костей).

– Гирсутизм у женщин (следствие избытка надпочечниковых андрогенов).

Гипофункция коры надпочечников

1. Острая надпочечниковая недостаточность (адреналовый криз, аддисоновый криз)

Причина: декомпенсация больных хронической надпочечниковой недостаточностью, синдром “отмены”.

Основные проявления:

- Тяжелая артериальная гипотензия.
- Выраженные водно-электролитные расстройства – потеря ионов натрия и хлора с мочой; гиперкалиемия; потеря воды – дегидратация.
- Гипогликемия.

2. Хроническая надпочечниковая недостаточность (болезнь Аддисона)

Причина: аутоиммунные процессы (80%) и туберкулез надпочечников.

При хронической надпочечниковой недостаточности резко снижается выработка корой надпочечников всех трех классов гормонов: глюкокортикоидов, минералокортикоидов и андрогенов.

Основные симптомы болезни:

- Стойкая артериальная гипотензия (потеря минералокортикоидной активности).
- Гипогликемия (следствие снижения глюконеогенеза).
- Похудание (уменьшение образования надпочечниковых андрогенов, обладающих протеоанаболическим действием).
- Гиперпигментация кожи (обусловлена повышенным уровнем АКТГ).
- Ахлоргидрия – резкое снижение секреции соляной кислоты в желудке.
- Астенизация (выраженная общая слабость, вялость) связана с нарушением всех видов обмена – электролитного, углеводного, белкового.

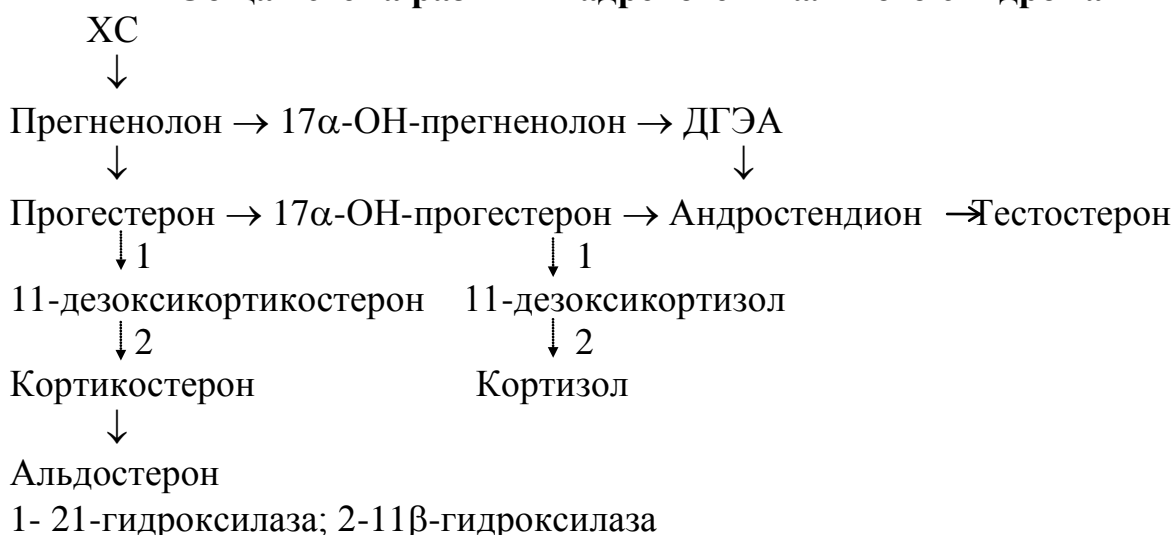
Адреногенитальный синдром

Адреногенитальный синдром (надпочечно-половой синдром, врожденная вирилизующая гиперплазия коры надпочечников) – наследственное заболевание, вызванное нарушением биосинтеза гормонов в коре надпочечников. Тип наследования – аутосомно-рецессивный.

Типичной блокадой, обуславливающей развитие аденогенитального синдрома более чем в 90% случаев, является недостаточность C_{21} -гидроксилазы (полная или неполная). Это приводит к снижению образования кортизола, вследствие чего компенсаторно усиливается секреция АКТГ и развивается гиперплазия надпочечников.

Накопление прогестерона и 17α -ОН-прогестерона сопровождается компенсаторным увеличением синтеза андрогенов. Это ведет к вирилизации (от лат. *virilis*-мужской) детского организма. У мальчиков наблюдается преждевременное половое развитие. У девочек отмечается развитие женского псевдогермафродитизма (увеличение клитора, недоразвитие влагалища, матки, молочных желез, оволосение по мужскому типу, отсутствие менструаций). Эта простая, или вирильная, форма заболевания связана с неполным блоком 21-гидроксилазы.

Общая схема развития аденогенитального синдрома



→ - повышение синтеза
 →→ - понижение синтеза

При полном блоке фермента происходит также резкое снижение синтеза альдостерона, в результате чего развивается сольтеряющий синдром. Повышенная потеря солей приводит к дегидратации и гипотонии.

При недостатке другого фермента биосинтеза стероидных гормонов коры надпочечников – 11β-гидроксилазы – наряду с нарушением синтеза кортизола и альдостерона происходит избыточное образование минералокортикоида 11-дезоксикортикостерона. Избыток дезоксикортикостерона вызывает артериальную гипертензию. Клиническими проявлениями данного синдрома является вирилизация на фоне артериальной гипертензии.

Лекция 42

ГОРМОНЫ ПОЛОВЫХ ЖЕЛЕЗ

Половые железы (гонады) – органы, продуцирующие «репродуктивные» клетки и половые гормоны. Эти две функции тесно взаимосвязаны, так как для развития репродуктивных клеток требуется высокая концентрация половых гормонов. В яичниках образуются яйцеклетки и стероидные гормоны – эстрогены и прогестерон, а в семенниках (яичках) – сперматозоиды и тестостерон.

Мужские половые гормоны (андрогены) Историческая справка

1849 г. - Berthold доказал, что последствия кастрации у петуха исчезают при реимплантации удаленных яичек. Эта дата считается началом научной эндокринологии.

1889 г. - Brown-Sequard провел на себе опыты по омолаживанию (действием экстракта семенников быка).

1931 г. - Butenand выделил в чистом виде первое вещество с андрогенным действием - андростерон.

1935 г. - David, Laqueur, Ružička установили структуру тестостерона и осуществили его синтез. Kochakian доказал анаболический эффект тестостерона.

1968 г. - Bruchovsky, Wilson обнаружили периферическую конверсию тестостерона в дигидротестостерон.

1. Синтез, секреция и метаболизм

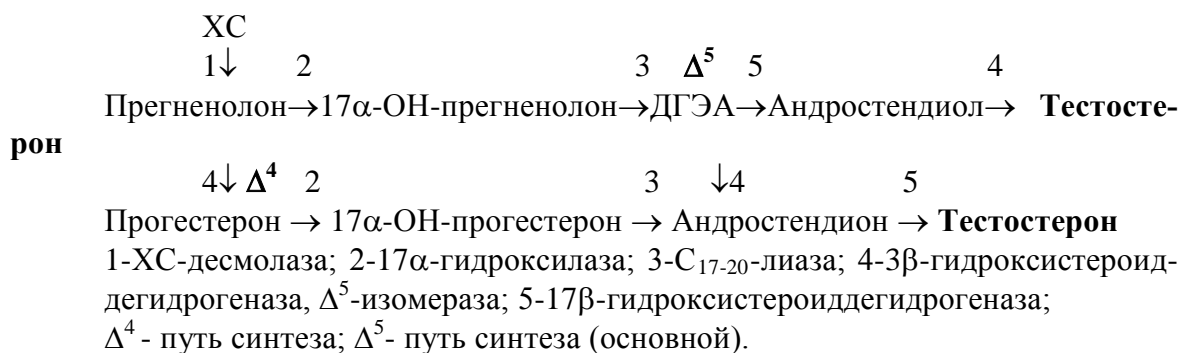
Андрогены (от греч. andros – мужской) – группа C₁₉-стероидов (включая тестостерон, дигидротестостерон, андростендион, андростендиол и дегидроэпиандростерон), которые синтезируются главным образом в семенниках, надпочечниках и яичниках.

В продукции андрогенов у мужчин семенникам принадлежит основная роль. Достаточно отметить, что только 5% главного андрогена – тестостерона – образуется вне их. В коре надпочечников вырабатываются в основном слабые андрогены – дегидроэпиандростерон и андростендион.

Андрогены семенников синтезируются в клетках Лейдига. Синтез их существенно не отличается от процесса, протекающего в коре надпочечников. Ключевым этапом также является превращение холестерина в прегненолон под действием ХС-десмолазы. Дальнейшее превращение прегненолона может происходить прогестероновым (Δ^4) пу-

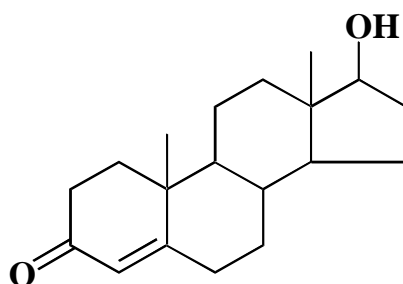
тем через 17-гидроксипрогестерон и андростендион, или дегидроэпиандростероновым (Δ^5) путем, в ходе которого прегненолон превращается в 17-гидроксипрегненолон и далее дегидроэпиандростерон и тестостерон. В семенниках у человека, по-видимому, преобладает Δ^5 -путь.

Этапы синтеза андрогенов в семенниках



Семенники взрослого мужчины синтезируют за сутки 5-12 мг тестостерона, а также слабые андрогены – дегидроэпиандростерон, андростендион и андростендиол.

Тестостерон



Скорость образования тестостерона у женщин 0,2-0,3 мг/сутки. 50% тестостерона у них образуется в результате периферической конверсии андростендиона в жировой ткани и печени, по 25% – приходится на кору надпочечников и яичники. В свою очередь андростендион поровну образуется надпочечниками и яичниками.

Семенники секретируют тестостерон эпизодически. Циркадный ритм секреции обеспечивает максимальное его содержание в плазме крови ранним утром (примерно в 7 часов) и минимальное после полудня (примерно в 13 часов).

Тестостерон присутствует в крови в основном в виде комплекса с секс-гормонсвязывающим глобулином.

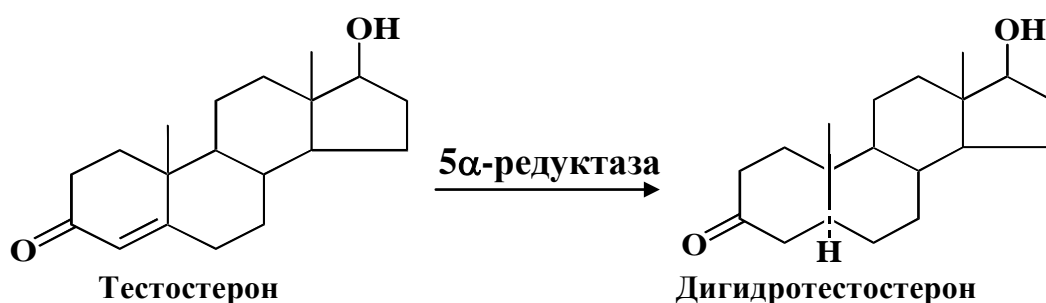
Метаболические превращения тестостерона осуществляются двумя путями. Первый путь метаболизма тестостерона протекает глав-

ным образом в тканях-мишенях и ведет к образованию более активного андрогена – дигидротестостерона, а также главного эстрогена – 17β-эстрадиола.

Наиболее важный метаболит тестостерона – дигидротестостерон – представляет собой наиболее активную форму гормона и обнаруживается во многих тканях, включая семенные пузырьки, предстательную железу, наружные половые органы, аденогипофиз, печень, почки и кожу. В этих тканях и органах имеется НАДФН-зависимый фермент – 5α-редуктаза, катализирующий превращение тестостерона в дигидротестостерон. За сутки образуется приблизительно 400 мкг дигидротестостерона (из них 50-100 мкг в семенниках).

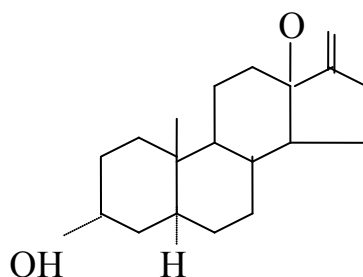
Дигидротестостерон далее восстанавливается 3α-кеторедуктазой в относительно неактивный 3α-андростандиол – главный метаболит дигидротестостерона. Количество 3α-андростандиола может быть измерено в плазме крови и отражает уровень тканевой активности по превращению тестостерона в дигидротестостерон.

Тестостерон и его превращение в дигидротестостерон



Второй путь – путь инактивации – включает себя окисление 17-гидроксигруппы в 17-кетогруппу, восстановление Δ⁴-двойной связи и 3-кетогруппы в кольцо А стероидного ядра. В результате этого пути, функционирующего во многих тканях, в том числе и в печени, образуются 17-кетостероиды, как правило, лишённые активности или обладающие более слабой активностью, чем исходное соединение. *Главные 17-кетостероидные метаболиты тестостерона – это андростерон и его стереоизомеры – эпиандростерон и этиохоланолон.*

Андростерон



После конъюгации в печени с глюкуроновой или серной кислотой эти конечные метаболиты выделяются с мочой.

Определение суммарного содержания 17-кетостероидов в моче отражает андрогенную активность сыворотки крови, как у мужчин, так и у женщин.

2. Регуляция стероидогенеза

Функция семенников регулируется лютеинизирующим гормоном (ЛГ) и фолликулостимулирующим гормоном (ФСГ). ЛГ стимулирует синтез тестостерона клетками Лейдига. ФСГ взаимодействует с клетками Сертоли и способствует синтезу андрогенсвязывающего белка. Этот белок связывает тестостерон и транспортирует его к месту сперматогенеза.

3. Механизм действия

Свободный тестостерон проникает в клетки через плазматическую мембрану и связывается там со специфическим внутриклеточным рецептором. В цитоплазме некоторых клеток-мишеней, где имеется фермент 5α -редуктаза, тестостерон превращается в дигидротестостерон. Сродство рецепторов к дигидротестостерону превышает таковое к тестостерону. В ядре клетки комплекс гормон-рецептор активирует специфические гены, белковые продукты которых опосредуют многие биологические эффекты гормона.

4. Физиологические эффекты

Андрогены, главным образом тестостерон и дигидротестостерон, участвуют в:

- 1) Половой дифференцировке.
- 2) Сперматогенезе.
- 3) Развитию вторичных половых признаков.
- 4) Анаболических процессах.
- 5) Формировании полового поведения.

Физиологические эффекты андрогенов

Период жизни	Действие
Пренатальный	Дифференция соматического пола (трансформация вольфовых протоков в семенные пузырьки и семявыносящие протоки; формирование наружных половых органов из мочеполювого синуса), формирование психосексуальной направленности и характера секреции гонадотропинов.

Пубертантный (от лат. <i>pubertas</i> – половое созревание)	Индукция: роста и секреции добавочных половых желез (простаты, семенных пузырьков, придатков яичка), роста пениса и мошонки, сперматогенеза, пубертантного скачка роста и закрытия эпифизарных зон (вместе с гормоном роста), формирование вторичных половых признаков (мужские пропорции тела и мышц, рост гортани и ломка голоса, вторичное оволосение) и мужской психики.
Половая зрелость	Либи́до, половая потенция, сперматогенез и вторичные половые признаки; протеоанаболический эффект (особенно в мышечной и костной тканях); незначительный гипергликемический эффект; стимуляция липолиза; ренотропный эффект (увеличение размеров, веса, кровоснабжения почек); активация эритропоэза (повышение синтеза эритропоэтина в почках).

5. Анаболические стероиды

Терапевтическому использованию мощного протеоанаболического эффекта тестостерона препятствует его андрогенное действие, особенно проявляющееся у детей и женщин. Изменение структуры молекулы тестостерона (введение заместителей в C₁₆₋₁₇, отсутствие СН₃ при C₁₉ или модификация кольца А в стероидном ядре) привело к появлению препаратов с усиленной протеоанаболической активностью при ограниченной андрогенной. Такие соединения получили название *анаболические стероиды*.

Наиболее характерным свойством анаболических стероидов является их способность стимулировать синтез белка в организме. Они оказывают положительное влияние на азотистый обмен и способствуют фиксации кальция в костях.

6. Надпочечниковые андрогены

Основными андрогенами, вырабатываемыми корой надпочечников в довольно значительных количествах (10-20 мг/сут), являются *дегидроэпиандростерон (ДГЭА)* и *андростендион*. Оба – слабые андрогены (активность дегидроэпиандростерона и андростендиона в 25-50 раз и 6-10 раз соответственно меньше активности тестостерона) и осуществляют свои эффекты (особенно андростендион) через превращение в тестостерон во внепеченочных тканях.

Дегидроэпиандростерон и андростендион

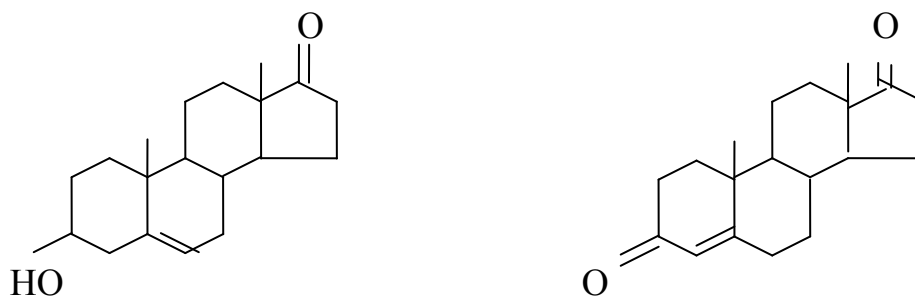
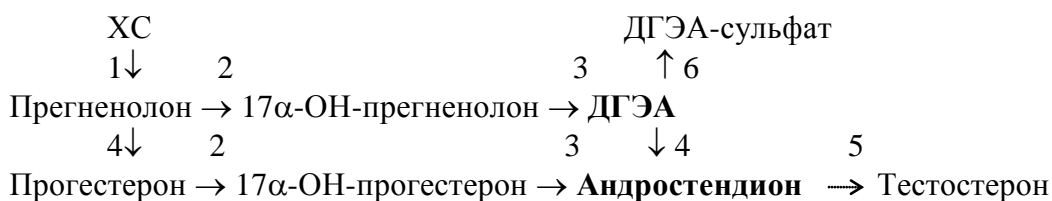


Схема биосинтеза андрогенов коре надпочечников



1-ХС-десмолаза; 2-17α-гидроксилаза; 3-С₁₇₋₂₀-лиаза; 4-3β-гидроксистероид-дегидрогеназа, Δ⁵-изомераза; 5-17β-гидроксистероид-дегидрогеназа; 6-сульфотрансфераза.

Жирным шрифтом выделены основные секретируемые в кровь продукты.

Большая часть дегидроэпиандростерона, вырабатываемого корой надпочечников, быстро модифицируется посредством присоединения сульфата, причем половина ДГЭА сульфатируется в надпочечниках, а половина – в печени. Сульфатированный ДГЭА биологически неактивен. Другая часть ДГЭА превращается в *более активный андростендион*. Небольшое количество андростендиона образуется в надпочечниках из 17α-гидроксипрогестерона. Восстановление андростендиона по С₁₇ приводит к образованию тестостерона.

Количество тестостерона, образуемого в надпочечниках у мужчин, крайне мало и не играет существенной роли на фоне его общей продукции. В тоже время у женщин тестостерон надпочечникового происхождения составляет 25% от его общей продукции.

АКТГ повышает синтез (через активацию холестеролэстеразы и ХС-десмолазы) и секрецию надпочечниковых андрогенов. Однако надпочечниковые андрогены не влияют на секрецию АКТГ по принципу обратной связи, как глюкокортикоиды.

Надпочечниковые андрогены (кроме тестостерона) в крови связываются преимущественно с альбумином (на 85-88%), причем довольно слабо.

Выводятся из организма надпочечниковые андрогены с мочой в виде 17-кетостероидов.

У взрослых мужчин надпочечниковые андрогены даже после их периферической конверсии в тестостерон обуславливают лишь малую часть общей андрогенной активности.

В отличие от мужчин, у женщин надпочечниковые андрогены обуславливают примерно половину андрогенной активности сыворотки крови, остальное приходится на яичники.

Адреналовая дисфункция, например при синдроме Иценко-Кушинга, может вести к существенному увеличению общей андрогенной активности с развитием гирсутизма (увеличение роста волос по мужскому типу), акне (угри), а в тяжелых случаях вирилизации (маскулинизации).

7. Дефицит и избыток тестостерона

Снижение уровня тестостерона называют *гипогонадизмом*, или евнухоидизмом (от греч. eunochus-страж ложа). Первичный гипогонадизм обусловлен процессами, которые непосредственно влияют на семенники и вызывают их недостаточность. В основе вторичного гипогонадизма лежит нарушение секреции гонадотропинов.

Общим признаком всех форм гипогонадизма является исчезновение вторичных половых признаков, прежде всего оволосения, снижение либидо (от лат. libido-половое влечение) и половой потенции (от лат. potentia-сила).

Избыток тестостерона, обусловленный опухолями гипофиза или семенников, вызывает преждевременное половое развитие у мальчиков.

Женские половые гормоны

Историческая справка

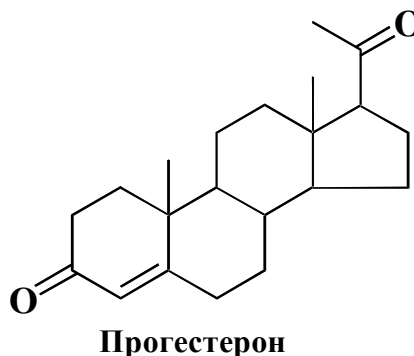
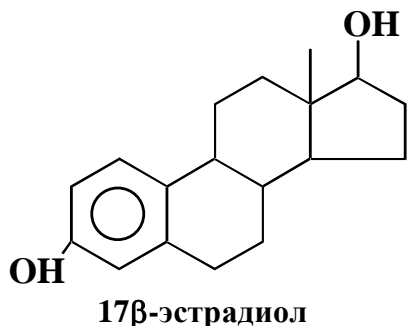
1903 г. - Fraenkel установил значение желтого тела для имплантации яйцеклетки и поддержания беременности.

1929 г. - гинеколог Цондек обнаружил большие количества эстрогенов в моче жеребых кобылиц.

Начало 30-х гг. - выяснение структуры эстрогенов.

1934 г. - выяснена структура прогестерона и осуществлен его синтез.

Наиболее активные женские половые гормоны, вырабатываемые в яичниках, – 17 β -эстрадиол и прогестерон.

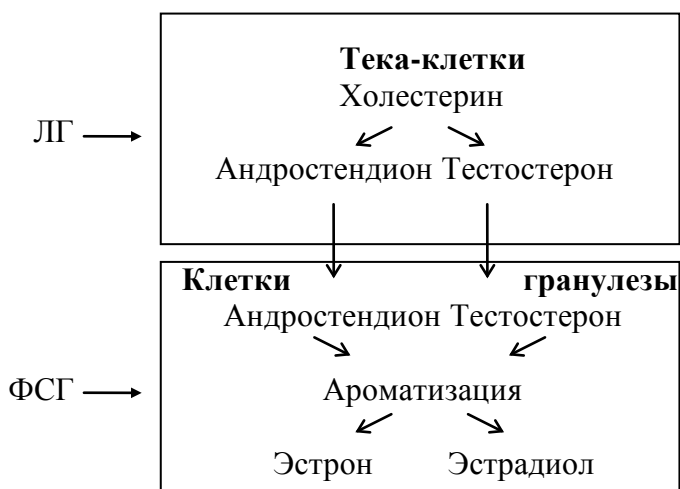


1. Синтез, секреция, механизм действия, транспорт и выделение

Синтез. Эстрогены (от греч. oistros – страсть) – семейство гормонов, синтезируемых в яичниках и других тканях. Эстрогены образуются путем ароматизации андрогенов – андростендиона и тестостерона, этапы синтеза которых в яичниках аналогичны таковым в надпочечниках и семенниках. Если субстратом фермента ароматазы служит тестостерон, образуется эстрадиол (E_2); ароматизация андростендиона приводит к образованию эстрона (E_1). В печени эстрон метаболизируется в эстриол.

Клетки внутренней теки (клетки, окружающие фолликулы) стимулируются лютеинизирующим гормоном (ЛГ) и являются источником андростендиона и тестостерона, которые диффундируют в клетки гранулезы (имеют рецепторы к фолликулостимулирующему гормону) и превращаются в эстрогены. Эта концепция кооперации между клетками получила название “теории двух клеток” (биклеточная теория).

Биклеточная теория образования эстрогенов



Прогестерон образуется в яичниках, семенниках и надпочечни-

ках. У женщин в лютеиновую фазу менструального цикла желтое тело секретирует основное количество прогестерона – 20-30 мг/сут. У мужчин секретируется в кровь около 1-5 мг прогестерона в день.

Существенная часть эстрогенов образуется путем периферической ароматизации андрогенов. Ароматазная активность обнаружена в адипоцитах жировой ткани, печени, коже, головном мозге и других тканях.

Уровень основного эстрогена – эстрадиола – в плазме крови мужчин составляет 12-34 пг/мл, у женщин в зависимости от фазы овариального цикла -24-300 пг/мл.

У мужчин три четверти эстрогенов образуется в результате периферической ароматизации тестостерона и андростендиона, остальное количество – в семенниках.

Секреция образующихся в яичниках стероидов резко меняется в различные фазы овариального цикла и зависит от скорости их образования в яичниках. Эти гормоны не накапливаются и секретируются по мере синтеза.

Транспорт. Большинство циркулирующих эстрогенов и прогестерон связаны с секс-гормонсвязывающим глобулином.

Механизм действия. В клетках-мишенях имеются специальные белки-рецепторы, которые обуславливают избирательный захват и аккумуляцию гормонов. Следствием этого процесса является образование специфического гормон-рецепторного комплекса. Достигая ядерного хроматина, он изменяет структуру последнего, уровень транскрипции и интенсивность синтеза клеточных белков.

Инактивация эстрогенов и прогестерона происходит в печени и включает реакции гидроксилирования и превращения в глюкуронидные и сульфатные конъюгаты, удаляемые с желчью и мочой. Главными экскретируемыми с мочой эстрогенами и прогестинами являются глюкурониды эстриола, эстрадиола и прегнандиола (5 β -прегнан-3 α ,20 α -диол). Около 50% метаболитов экскретируется с мочой, а другие 50% попадают с желчью в кишечник, откуда большая часть возвращается в печень по портальной системе.

2. Физиологические эффекты эстрогенов и прогестерона

Эстрогены, главным образом, поддерживают функции женской репродуктивной системы, ответственны за вторичные половые признаки и половое поведение.

Относительная эстрогенная активность основных эстрогенов распределяется следующим образом: 17 β -эстрадиол – 1; эстрон – 1/3; эстриол – 1/60.

Основные эффекты эстрогенов

Место действия	Эффект
ЦНС	Сексуальное поведение
Матка	Рост миометрия Пролиферация эндометрия Повышение сократимости
Шейка матки	Образование жидкой слизи
Влагалище	Ороговение эпителия
Молочная железа	Пролиферация протоков Рост в пубертантный период

В матке эстрогены вызывают рост миометрия, повышают ее тонус и приводят к пролиферации эндометрия. Они вызывают также рост эпителия и мышечной ткани маточных труб, повышают их сократимость. Кроме того, эстрогены увеличивают образование цервикальной слизи и понижают ее вязкость, что облегчает миграцию сперматозоидов. В молочных железах эстрогены вызывают пролиферацию молочных протоков и ответственны за их рост в пубертантный период. Важно также действие эстрогенов на центральную нервную систему, что обуславливает развитие сексуального поведения женского типа.

Действие эстрогенов вне репродуктивной сферы сводятся к следующим эффектам:

- 1) торможение резорбции костей;
- 2) стимуляция синтеза специфических белков в печени:
 - белков переносчиков гормонов: транскортина, тироксинсвязывающего глобулина и секс-гормонсвязывающего глобулина;
 - липопротеинов высокой плотности;
- 3) незначительное гипогликемическое действие вследствие повышения синтеза ферментов гликолиза и пентозофосфатного пути;
- 4) снижение активности ГМГ-КоА-редуктазы – ключевого фермента синтеза холестерина.

Механизмы антиатерогенного действия эстрогенов:

- Повышают уровень ЛПВП.
- Оказывают антипролиферативное действие на гладкомышечные клетки сосудов и ингибируют секрецию ими коллагена.
- Благоприятно влияют на функцию эндотелия, способствуя синтезу вазодилаторов - NO и простациклина и снижая содержание эндотелина-1 – мощного вазоконстриктора.

Прогестерон (от лат. pro - для, gestatio - беременность) действует в период функционирования желтого тела и вызывает следующие эффекты:

- 1) обеспечивает покой миометрию через снижение его чувствительности к окситоцину (эффект поддержания беременности);
- 2) подготавливает матку к оплодотворению и способствует имплантации оплодотворенной яйцеклетки;
- 3) обеспечивает лактацию;
- 4) снижает возбудимость гипокампа, центра сексуальной активности;
- 5) способствует повышению вязкости цервикальной слизи;
- 6) обладает антиминералокортикоидным действием, то есть снижает реабсорбцию натрия в дистальных почечных канальцах.

Прекрасную оценку прогестерону дал W. Crowley (1986): “Прогестерон – уникальный репродуктивный гормон. У небеременных женщин он главный продукт секреции желтого тела – самого любопытного эндокринного органа, который запрограммирован на свою кончину в течение двух недель до тех пор, пока он не избегает этой участи при оплодотворении яйцеклетки. Когда наступает беременность, хорионический гонадотропин способствует существованию желтого тела, которое секретирует прогестерон, требуемый для сохранения беременности в ранние сроки... Органы-мишени для прогестерона – матка, молочные железы и головной мозг. Его действия включают дифференцировку растущего эндометрия, насыщенного эстрогенами, и индукцию секреции белков; в молочных железах – дифференцировку эстроген-подготовленных молочных протоков и поддержание лактации. Влияние прогестерона на ЦНС пока мало понятно, но, кажется, он имеет различные эффекты на гипоталамо-гипофизарную ось, дыхательный центр и, возможно, на корковые функции. ... Его термогенный эффект, также центрального происхождения, ведет к повышению базальной температуры тела”.

Прогестерон и вещества с прогестероноподобной активностью (прогестины) тормозят овуляцию, если их принимать в период с пятого по двадцать пятый день менструального цикла. Это является основой для использования синтетических прогестинов в качестве пероральных контрацептивов.

3. Овариальный цикл

В норме у человека продолжительность овариального (яичникового) цикла варьирует от 25 до 35 дней, в среднем – 28 дней. Его принято подразделять на две фазы: фолликулиновую (10-14 дней) и лютеиновую (14±2 дня).

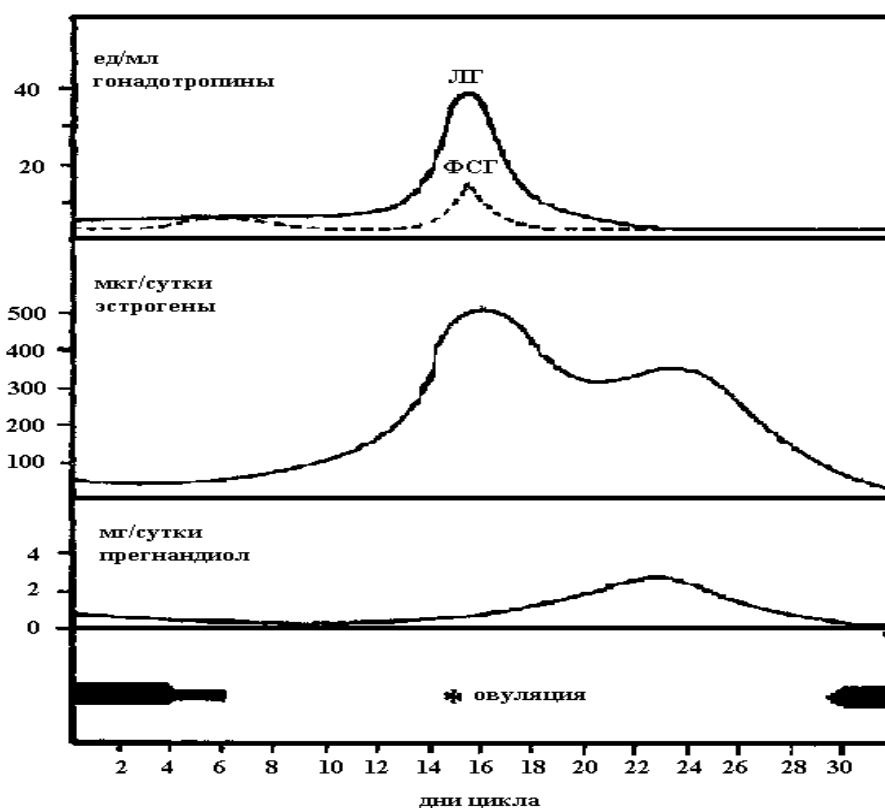
А. *Фолликулиновая (фолликулярная) фаза.* Под влиянием ФСГ начинает увеличиваться один из фолликулов. В первую неделю этой

фазы содержание эстрадиола остается низким, но затем по мере роста фолликула начинает прогрессивно повышаться.

За сутки до пика ЛГ уровень эстрадиола достигает максимума (первый пик, 13-14-е сутки цикла). По механизму положительной обратной связи осуществляется резкий выброс ЛГ, который обеспечивает овуляцию. Овуляция (выход яйцеклетки из фолликула) знаменует окончание фолликулиновой фазы, которая характеризуется высоким уровнем эстрогенов во вторую половину фазы и низким уровнем прогестерона.

Б. Лютеиновая фаза (фаза желтого тела). После высвобождения яйцеклетки из фолликула клетки гранулезы лопнувшего фолликула увеличиваются в размерах и накапливают желтый пигмент – лютеин, то есть образуют желтое тело. Желтое тело начинает вырабатывать основной гормон этой фазы – прогестерон и некоторое количество эстрадиола. Уровень эстрадиола в плазме крови растет и достигает максимума к середине (21-22-е сутки цикла) лютеиновой фазы (второй пик, примерно в 1,5-2 раза меньший по величине), а затем постепенно снижается. Секреция гонадотропинов в это время контролируется негативным влиянием эстрадиола. Это приводит к снижению уровня гонадотропинов в середине фазы до минимальных значений. Если до 23-24 дня яйцеклетка не оплодотворилась, уровень секреции прогестерона постепенно снижается, желтое тело регрессирует.

Изменения содержания гормонов в плазме крови во время овариального цикла у женщин.



Регрессия желтого тела сопровождается низким уровнем гонадотропинов, прогрессивным снижением уровней эстрадиола и прогестерона. Низкий уровень эстрогенов и прогестерона к 28 дню приводят к тому, что вновь активируется продукция гонадолиберина и ФСГ, то есть начинается повторение цикла.

Колебания продолжительности овариального цикла, как правило, обусловлены различной длительностью фолликулиновой фазы.

Овариальный цикл тесно связан с изменениями в матке. В самом конце лютеиновой фазы наблюдается отторжение слизистой матки, сопровождающееся кровотечением. Этот процесс называется менструацией, а сам цикл менструальным. Его началом принято считать первый день менструаций. Через 3-5 дней отторжение эндометрия прекращается, кровотечение останавливается и начинается регенерация новых слоев эндометрия – *пролиферативная фаза* менструального цикла. На 16-17 день пролиферация останавливается и начинается *секреторная фаза* цикла. Ее начало совпадает по времени с началом функционирования желтого тела, максимальная активность которого приходится на 21-23 день. Если оплодотворение яйцеклетки не происходит, уровень секреции прогестерона падает, желтое тело регрессирует, секреторная активность эндометрия уменьшается и на 29-й день от начала предыдущего 28-дневного цикла наступает новый цикл.

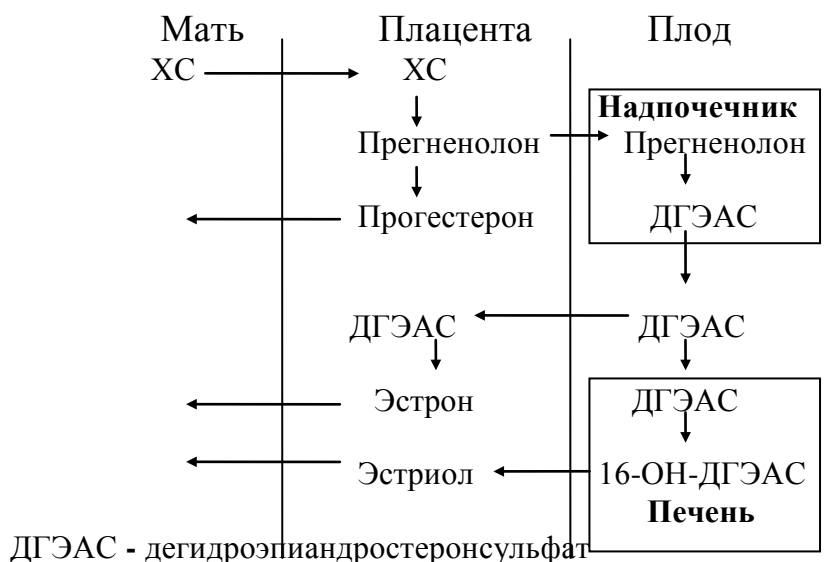
4. Беременность

Если происходит оплодотворение яйцеклетки и она имплантируется в эндометрий, быстро образующийся трофобласт начинает выделять *хорионический гонадотропин* (ХГТ), функция которого состоит в поддержании существования желтого тела до тех пор, пока плацента не начнет продуцировать прогестерон в количествах, достаточных для нормального течения беременности. ХГТ обнаруживается в крови и моче уже через несколько дней после имплантации оплодотворенной яйцеклетки, что используется для ранней диагностики беременности. Содержание гормона достигает максимума к середине первого триместра, с последующим быстрым снижением его уровня.

Плацента после 6-8 недель беременности начинает вырабатывать прогестерон, уровень которого прогрессивно повышается до родов. Эстрогены образуются фетоплацентарной системой. Надпочечники плода синтезируют дегидроэпиандростеронсульфат (ДГЭАС), который в печени плода превращается в 16-гидрокси-ДГЭАС. Оба соединения переносятся в плаценту, где десульфатируются и превращаются, соответственно, в эстрон и эстриол. Главный плацентарный эстроген – это эстриол. Эстриол и эстрон поступают в кровь матери. Взаимное допол-

нение продукции стероидных гормонов в плаценте и плоде и создает понятие *фетоплацентарной системы*.

Фетоплацентарная система



Стабильное выделение эстрогенов с мочой во время беременности – четкий индикатор хорошего состояния плода и нормального функционирования плаценты

Плацента вырабатывает *плацентарный лактоген* – гормон, называемый также хорионическим соматомаммотропином или плацентарным гормоном роста. Во время беременности он вызывает у матери положительный баланс азота, калия и кальция и понижение утилизации глюкозы.

5. Климакс

Климакс занимает 10-15 летний период, в котором постепенно понижается, а затем и прекращается функция яичников. Последняя менструация делит его на пременопаузу и менопаузу. Характерным для климакса уменьшением синтеза эстрогенов объясняется склонность к нарушениям менструального цикла в пременопаузе и развитие у многих женщин вегетососудистого комплекса нарушений (климактерический синдром) в постменопаузе.

6. Синтетические эстрогены и прогестины

Синтетические производные эстрогенов и прогестерона (прогестины) используются в контрацептивных препаратах и для заместительной терапии. Наиболее известные препараты – этинилэстрадиол и 17α-

гидроксипрогестерон. Они часто входят в состав комбинированных контрацептивных препаратов, которые предотвращают рост фолликулов и вызывают реакцию эндометрия, препятствующую имплантации оплодотворенной яйцеклетки.

7. Недостаток эстрогенов

Недостаток гормонов яичников (гипогонадизм) проявляется атрофическими изменениями половых органов, слабой выраженностью вторичных половых признаков, отсутствием месячных (аменорея).

Лекция 43

ТИРЕОИДНЫЕ ГОРМОНЫ

Историческая справка

1750 г. - Russel использовал морскую воду для лечения зоба.

1852 г. - Chatin установил зависимость между низким содержанием йода в питьевой воде и зобом, кретинизмом и недостатком йода.

1915 г. - Kendall выделил в чистом виде тироксин.

1927 г. - Harrington и Barger синтезировали тироксин.

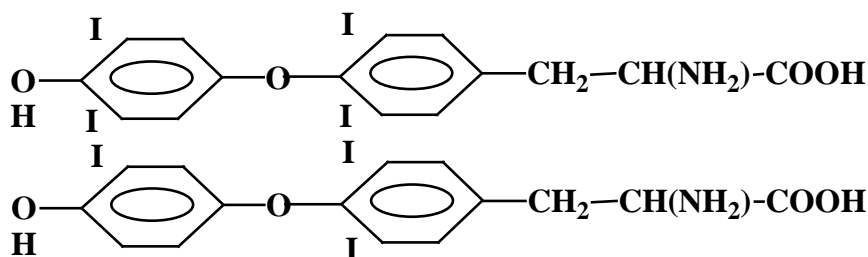
1949 г. - Chalmers et al. открыли физиологическую L-форму тироксина.

1951 г. - Gross и Pitt-Rivers, Roche et al. открыли трийодтиронин.

1970 г. - Braverman, Sterling доказали периферическую конверсию тироксина в трийодтиронин.

К тиреоидным (от греч. thyreoeides-щитоподобный) гормонам относятся продукты фолликулярных клеток (тироцитов) щитовидной железы, – йодированные тиронины: 3,5,3',5'-**тетрайодтиронин (тироксин или T₄)** и 3,5,3'-**трийодтиронин (T₃)**.

Тетрайодтиронин и трийодтиронин



Синтез и секреция

Необходимой составной частью молекулы тиреоидных гормонов является йод. Он поступает с пищей и водой в виде йодидов. **Суточная потребность в йоде – 150 мкг (1,2 мкМ).**

Синтез тиреоидных гормонов происходит в фолликулах щитовидной железы. Этапы синтеза:

1. Йодид захватывается щитовидной железой из крови с помощью мембранного **йодидного насоса**.

2. При участии тиреоидпероксидазы йодид окисляется в ион йодиния (I^+).

3. Ион йодиния атакует аминокислотные остатки тирозина в белке тиреоглобулина, который составляет основную массу коллоида фолликулов. Образуются моно- и дийодтирозины. Указанная реакция называется **органификацией йода**.

4. Моно- и дийодтирозины конденсируются и образуются три- и тетраiodтиронины.

5. Йодированные молекулы тиреоглобулина из коллоида пиноцитозом поступают в тиреоциты. Там от них в лизосомах отщепляются T_3 и T_4 , которые секретируются в кровоток.

Щитовидная железа (ЩЖ) синтезирует и секретирует в кровь преимущественно тироксин (T_4).

Регуляция секреции

Непосредственным регулятором синтеза и секреции тиреоидных гормонов является тиреотропный гормон (ТТГ). Он оказывает стимулирующее действие на все 5 этапов синтеза тиреоидных гормонов. Кроме того, ТТГ усиливает синтез тиреоглобулина и рост фолликулов щитовидной железы.

Транспорт

В плазме крови 80% T_4 связано с тироксинсвязывающим глобулином (гликопротеин, синтезируемый в печени, с М.м. 54 кДа); 15% с тироксинсвязывающим преальбумином. Остальное количество связано с альбуминами и только 0,03% гормона остаются свободными. T_3 обладает меньшим сродством к транспортным белкам и его свободная форма составляет 0,3%. Время полужизни T_3 и T_4 в плазме крови составляет 1,5 суток и 7 суток, соответственно.

Периферический метаболизм (конверсия) тироксина

Около 80% T_3 образуются в результате периферической кон-

версии T_4 и только 20% циркулирующего T_3 секретируется тироцитами. Превращение T_4 в T_3 происходит в периферических тканях при действии ферментов дейодиназ с образованием активного T_3 (3,5,3'-трийодтиронин) и неактивного реверсивного (обратного) T_3 (p T_3 , 3,3',5'-трийодтиронин). В физиологических условиях образования примерно равные количества активной и неактивной формы T_3 . При тяжелых заболеваниях и голодании преобладает образование p T_3 .

Механизм действия

По механизму действия тиреоидные гормоны относятся к гормонам, проникающим в клетку и действующим через внутриклеточные рецепторы. Рецепторы тиреоидных гормонов обнаружены практически во всех тканях и органах млекопитающих. Только гонады и лимфатическая ткань имеют мало рецепторов к тиреоидным гормонам. Рецепторы тиреоидных гормонов принадлежат к суперсемейству стероид-тиреоид-гормональных рецепторов, то есть общий план их строения и механизма действия схожи. Однако рецепторы тиреоидных гормонов отличаются от рецепторов стероидных гормонов, тем, что они все время связаны с ДНК. В отсутствие тиреоидных гормонов они ингибируют экспрессию генов, с которыми они связаны. Связывание с гормоном превращает рецептор в активатор транскрипции. Ядерные рецепторы связываются преимущественно с T_3 . Данный факт, а также существование механизма клеточной конверсии T_4 в T_3 , позволяют рассматривать T_4 как прогормон, а T_3 – как истинный гормон. Однако, и сам тироксин способен давать ряд эффектов, обладая, по-видимому, собственными рецепторами на некоторых клетках-мишенях.

Биологические эффекты

1. Рост.
 - а) достижение соответствующего возрасту роста требует присутствия в адекватных количествах тиреоидных гормонов;
 - б) тиреоидные гормоны действуют синергично с гормоном роста и соматомединами, способствуя образованию костной ткани.
2. Центральная нервная система (ЦНС).
 - а) созревание ЦНС в перинатальный период абсолютно зависит от тиреоидных гормонов;
 - б) при дефиците тиреоидных гормонов у детей нарушаются процессы миелинизации, синаптогенеза и дифференцировки нервных клеток, что обуславливает выраженное замедление умственного раз-

вития. Если больному ребенку не давать тироксин, ментальные изменения необратимы.

3. Основной обмен (лабораторный показатель, отражающий энерготраты человека, находящегося в расслабленном состоянии утром вскоре после пробуждения).

а) тиреоидные гормоны увеличивают основной обмен и потребление кислорода всеми тканями, за исключением головного мозга, лимфоузлов и половых желез;

б) увеличение теплопродукции лежит в основе регуляции тиреоидными гормонами температуры тела;

в) согласно концепции Edelman и Ismail-Beigi (1970) тиреоидные гормоны увеличивают активность и синтез Na^+/K^+ -АТФ-азы, для работы которой требуется значительное количество клеточной АТФ. Этим механизмом объясняется их способность повышать основной обмен.

4. Сердечно-сосудистая система.

– Тиреоидные гормоны повышают частоту и силу сердечных сокращений (за счет повышения синтеза β -адренорецепторов и их сродства к катехоламинам – перmissive действие тиреоидных гормонов на эффекты катехоламинов).

5. Метаболические эффекты:

а) незначительное гипергликемическое действие, обусловленное стимуляцией глюконеогенеза, мобилизацией гликогена и повышенным всасыванием глюкозы в желудочно-кишечном тракте;

б) стимуляция тканевого липолиза посредством повышения активности гормон-чувствительной липазы;

в) повышение синтеза белков, однако, *в условиях избытка* гормонов – протеокатаболическое действие;

г) повышение активности ЛПНП-рецепторов печени, участвующих в захвате ЛПНП из крови;

д) активация синтеза холестерина в печени за счет стимуляции ключевого фермента синтеза - ГМГ-КоА-редуктазы, но с одновременным усилением окисления холестерина в желчные кислоты. Итоговый результат двух последних эффектов – выраженное гипохолестеринемическое действие тиреоидных гормонов.

Гиперфункция щитовидной железы

Гипертиреоз обусловлен избыточным образованием тиреоидных гормонов. В большинстве случаев гипертиреоз связан с *диффузным токсическим зобом* (болезнь Базедова-Гревса).

В 1840 году немецкий окулист Базедов выделил триаду основных признаков этого заболевания: 1) зоб (увеличение размеров щито-

видной железы, обычно в 2-3 раза); 2) экзофтальм (пучеглазие) и 3) тахикардия.

Другие симптомы – повышение основного обмена, субфебрильная температура тела, похудание, потливость, бархатная влажная кожа, дрожание всего тела и пальцев вытянутых рук, непереносимость жары, нервозность, быстрая утомляемость. В плазме крови – повышенные уровни тиреоидных гормонов, низкий уровень ТТГ, гипохолестеринемия.

Гипофункция щитовидной железы

Недостаток тиреоидных гормонов обуславливает появление гипотиреоза. Гипотиреоз в раннем детском возрасте приводит к *кретинизму*, у взрослых – к *микседеме*.

Термин “микседема” принадлежит В. М. Орду (1878 г.) и означает лишь слизистый отек кожи и подкожной клетчатки. Это характерно для тяжелых форм гипотиреоза, когда отмечается универсальный слизистый отек (не только кожи, но и внутренних органов). Причиной его развития является избыточный синтез гликозамингликанов (гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты), что изменяет коллоидную структуру соединительной ткани. Увеличивается ее гидрофильность, что и приводит к слизистому отеку.

Кретинизм обнаруживается при рождении или развивается в первые два года жизни ребенка. Частой его причиной является внутриутробный порок развития щитовидной железы, либо наследственный блок синтеза тиреоидных гормонов.

Клинические проявления кретинизма:

1. Выраженная умственная отсталость и психомоторная задержка развития.

2. Малый рост с непропорциональным развитием туловища и конечностей (преобладание верхнего сегмента тела над нижним). Трубчатые кости короткие и широкие.

3. Седловидный нос, далеко расставленные глаза, узкие глазные щели, толстые губы, большой язык, одутловатое лицо определяют характерный внешний вид больных детей.

4. Остальные признаки такие же, как при микседеме.

Характерные признаки микседемы:

1. Снижение основного обмена, повышенная чувствительность к холоду, угнетение умственной и физической активности, брадикардия, гипотермия, малый рост, анемия, нарушения менструального цикла.

2. Одутловатое, желтовато-бледное, лишенное всякого выражения лицо; сухие, редкие волосы; толстая, грубая, сухая, холодная на

ошупь кожа; отечность под глазами, надключичной области, кистей; низкий, грубый голос, замедленная речь.

3. Низкие уровни тиреоидных гормонов и повышение ТТГ в плазме крови, выраженная гиперхолестеринемия.

Эндемический зоб (не менее 10% населения определенной местности имеют увеличенную щитовидную железу). Для его возникновения имеет решающее значение дефицит йода.

Дефицит йода → мало T_4 и T_3 → увеличение уровня ТТГ → гиперплазия ЩЖ → зоб. Функциональное состояние щитовидной железы чаще эу- или гипотиреоидное.

Для массовой профилактики эндемического зоба используется йодированная поваренная соль, содержащая 25 г йодистого калия в одной тонне соли.

Лекция 44

РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНО-МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА

В состав организма входит большое количество минеральных элементов. Одни из них (натрий, калий, кальций, фосфор, магний, хлор) содержатся в организме в большом количестве (более 0,01% от массы тела) и называются макроэлементами, другие (железо, медь, марганец, кобальт, цинк, йод, фтор и др.) – в очень малых количествах (обычно в пределах 10^{-3} - 10^{-12} %) и относятся к микроэлементам. В целом, в организме взрослого человека содержится около 3 кг минеральных солей, из которых 2,5 кг приходится на кости.

Функции минеральных веществ: 1) входят в состав тканевых структур, придавая им характерные свойства, например, прочность костной ткани обусловлена отложением в ней кальция и фосфатов; 2) создают осмотическое давление в клетках; 3) поддерживают постоянство рН в крови и тканях; 4) входят в состав ферментов, витаминов, гормонов и их рецепторов; 5) принимают участие в активации ферментных систем.

Фосфорно-кальциевый обмен

1. Кальций относится к макроэлементам. Общее его содержание в организме взрослого человека составляет 1-1,5 кг (25-32,5 М), то есть почти 2% от массы тела. 99% кальция содержится в костях в виде нерастворимого минерала – гидроксиапатита – с общей формулой $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Остальное количество кальция находится преимущественно внеклеточно.

Общая формула апатитных соединений в природе $M_{10}(RO_4)X_2$, где M_{10} -это различные металлы, включая свинец и стронций, хотя природные апатиты содержат обычно кальций и магний. Группа RO_4 представлена обычно PO_4 . Последняя радикальная группа X_2 может быть F_2 , Cl_2 , Br_2 , OH_2 или карбонатом. Наименование апатитных соединений происходит от последней радикальной группы, например, в костях позвоночных кальций и фосфор-содержащий апатит называется гидроксиапатит $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$.

Концентрация кальция в плазме крови составляет в среднем 2,5 мМ/л. 47% кальция плазмы крови находится в ионизированном состоянии, 40% связано с белками крови, 13% – с анионами кислот (фосфатом, цитратом, лактатом, бикарбонатом). Биологически активен только ионизированный кальций. Суточная потребность в кальции составляет 1 г (25 мМ), хотя истинная потребность вдвое меньше. Это связано с тем, что пищевой кальций всасывается только на 50%. Почти 80% всей потребности в кальции удовлетворяется молочными продуктами. Фекальные потери, включая неусвоенный пищевой и секретируемый с пищеварительными соками кальций, составляют в среднем 800 мг (20 мМ) в день. Еще около 200 мг (5 мМ) кальция ежедневно выделяется с мочой. Биологическая роль кальция: 1) участвует в регуляции нервной возбудимости и мышечного сокращения; 2) является активатором многих ферментов (ферментов гликогенолиза и глюконеогенеза, липаз и фосфолипаз); 3) участвует в процессе свертывания крови; 4) является вторичным посредником для многих процессов.

2. Фосфор (фосфаты) – один из шести главных (органогенных) элементов человеческого тела, к которым также относятся углерод, водород, азот, кислород и сера.

В организме человека содержится около 780 г (25 М) фосфора, который присутствует в виде неорганического фосфата и его органических соединений.

Химически фосфор может существовать в различных степенях окисления, ranging от -3 до +5 (PH_3 до P_2O_5), и может образовывать относительно стабильные химические связи с широким кругом химических элементов. С биохимической точки зрения, однако, соединения фосфора и кислорода (степень окисления +5) являются доминирующими из-за значительной термодинамической стабильности этих соединений в воде. Таким образом, фосфаты скорее чем фосфор являются центром внимания биохимии.

85% фосфора сосредоточено в костях, где он в виде аниона фосфорной кислоты входит в состав гидроксилапатита. Остальное его количество находится преимущественно внутриклеточно. Суточная потребность в фосфоре у взрослых составляет около 1 г (31 мМ). Относительно много фосфора содержится в рыбе, мясе, молоке, сыре и хлебе.

Основной путь выведения фосфора из организма – выделение с мочой. Биологическая роль фосфора (фосфатов): 1) являются структурным элементом костей; 2) входят в состав АТФ – главного энергетического вещества организма; 3) входят в состав фосфолипидов мембран, нуклеиновых кислот и нуклеотидов; 4) входят в состав сигнальных молекул (цАМФ, цГМФ, продукты распада фосфатидилинозитолов); 5) образуют фосфатную буферную систему крови и мочи; 6) служат основным фактором ковалентной регуляции активности ферментов.

3. Регуляция фосфорно-кальциевого обмена

Историческая справка

1925 г. - Collip, Hanson открыли паратгормон.

1959 г. - выделен бычий паратгормон.

1978 г. - Keutmann et al. установили структуру человеческого паратгормона.

1961 г. - Copp доказал существование в крови кальцитонина.

1964 г. - Foster установил место образования кальцитонина.

1922 г. - McCollum открыл в масле печени трески наряду с витамином А термостойкий жирорастворимый витамин Д.

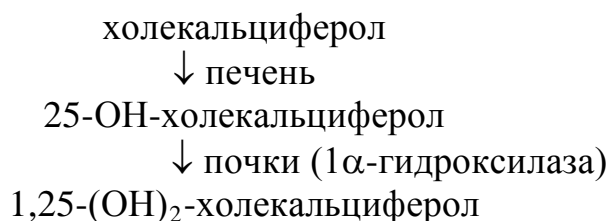
1931 г. - Askew установил структуру витамина Д.

Обмен кальция и фосфатов регулируется паратгормоном, кальцитриолом и кальцитонином.

3.1. Паратиреоидный гормон (паратгормон) синтезируется в клетках паращитовидных желез и представляет собой белок, состоящий из 84 аминокислотных остатков. Биосинтез протекает по схеме препаратгормон (115 АК) → пропаратгормон (90 АК) → паратгормон (84 АК). Сигналом для секреции паратгормона в кровь является снижение концентрации кальция в плазме крови. Органы и ткани-мишени – кости, почки. Механизм действия – аденилатциклазный. Основным эффектом в костной ткани – увеличение количества и остеолитической активности остеокластов с последующей резорбцией костей и вымыванием из них кальция. В почках паратгормон увеличивает реабсорбцию кальция с одновременным усилением фосфатурии. Кроме того, в почках он стимулирует образование кальцитриола, который повышает всасывание кальция в кишечнике. *Конечный итог действия паратгормона* – увеличение содержания в плазме крови кальция и снижение – фосфатов.

3.2. Кальцитриол синтезируется из неактивного предшественника холекальциферола (витамин Д₃) в два этапа. На первом этапе в печени происходит гидроксилирование холекальциферола с образованием 25-ОН-холекальциферола (кальцидиола). Он поступает в плазму крови и транспортируется к почкам.

Образование кальцитриола



В клетках проксимальных канальцев почек при участии 1 α -гидроксилазы происходит второе гидроксирование с выходом 1,25-дигидроксихолекальциферола, или кальцитриола. *Кальцитриол сегодня рассматривается не просто как биологически активная форма витамина Д, а как стероидный гормон, регулирующий фосфорно-кальциевый обмен.* Синтез его регулируется посредством активации или ингибирования 1 α -гидроксилазы почек. Активность этого фермента повышается при низкой концентрации фосфатов, кальция и действии паратгормона.

Кальцитриол действует через специальный цитозольный рецептор, после связывания с которым комплекс гормон-рецептор перемещается в ядро, где регулирует экспрессию генов.

Биологические эффекты кальцитриола.

1. *Главное место действия кальцитриола* – стенка тонкого кишечника, где он стимулирует синтез Са²⁺-связывающего белка, который способствует всасыванию кальция. Кальцитриол также увеличивает всасывание фосфатов системой, отличной от всасывания кальция.

2. В “старой” костной ткани кальцитриол стимулирует остеокластную резорбцию. Это обеспечивает кальцием и фосфатами внеклеточную жидкость для нормальной минерализации вновь формирующихся костей.

3. В почках кальцитриол усиливает реабсорбцию кальция и фосфатов.

Итоговым действием кальцитриола является повышение уровня кальция в плазме крови.

3.3. Кальцитонин – гормон белково-полипептидной природы (32 аминокислотных остатков), синтезируемый парафолликулярными (С-клетками) щитовидной железы. Сигнал для секреции гормона в кровь – гиперкальциемия. В костной ткани кальцитонин ингибирует активность остеокластов, что уменьшает рассасывание кости, и увеличивает поступление фосфатов. В почках гормон усиливает экскрецию фосфатов и ионов кальция. *Конечный эффект действия гормона – снижение содержания кальция в плазме крови.* Указанные эффекты кальцитонина наступают быстро и играют важную роль в краткосрочной регуляции уровня кальция крови. В тоже время кальцитонин, по-видимому, не

имеет важной роли для долгосрочной регуляции уровня кальция, так как ни кальцитониндефицитные пациенты (в результате тиреоидэктомии), ни пациенты с избытком выработки гормона (при раке щитовидной железы) не имеют существенных изменений в гомеостазе кальция.

4. Гиперфункция паращитовидных желез (гиперпаратиреозидизм)

Наиболее частая причина возникновения гиперпаратиреозидизма – опухоль паращитовидной железы. Основные проявления:

- гиперкальциемия;
- полиурия и жажда, связанные с нефротоксическим действием высоких концентраций кальция, которые уменьшают реабсорбцию воды;
- частое образование камней в почках;
- кальцификация самой почечной ткани (нефрокальциноз);
- деминерализация костей, возникновение патологических переломов, образование кист в костях вследствие высокой активности остеокластов.

5. Гипофункция паращитовидных желез (гипопаратиреозидизм)

Причины возникновения гипопаратиреозидизма – ошибочное удаление паращитовидных желез при операции на щитовидной железе или аутоиммунные процессы. Основные симптомы:

- гипокальциемия;
- повышение нейромышечной возбудимости, приводящее к развитию приступов тетании, которая проявляется судорожными сокращениями скелетных и гладких мышц. Особенно опасен для больных спазм мышц гортани, приводящий к асфиксии.

Водно-солевой обмен

Обмен натрия, калия и воды неразрывно связаны друг с другом. Поэтому их обмен выделяют в водно-солевой обмен.

1. Водный баланс организма:

Поступление	Выделение
Питье – 1200 мл	Диурез – 1400 мл
Пища – 1000 мл	Потери через кожу и легкие – 1000 мл
Метаболическая вода – 300 мл	Потери с калом – 100 мл
Итого – 2500 мл	Итого – 2500 мл

2. Водные пространства организма:

Водные сектора	Количество воды в литрах	% от массы тела
1) внутриклеточный	28	40
2) внеклеточный:	14	20
а) плазма крови	3,5	5
б) интерстициальная жидкость	10,5	15
Итого:	42	60

3. Натрий – основной катион внеклеточной жидкости. Общее содержания натрия в организме человека массой 70 кг достигает 100 г (4,4 М). 55% от общего количества натрия находится в костях, 43% – во внеклеточной жидкости, 2% – в клетках. Концентрация натрия в плазме крови составляет 135-145 мМ/л. Суточная потребность в нем составляет 4-5 г (174-217 мМ). Натрий выводится из организма преимущественно почками (90%), а также с потом и калом (10%). Биологическая роль натрия: 1) участвует в процессах возбуждения нервных и мышечных клеток; 2) поддерживает тонус гладкой мускулатуры сосудистой стенки; 3) обуславливает необходимое осмотическое давление в тканях и жидкостях организма.

Нарушения обмена натрия:

Гипонатриемия.

Относительная гипонатриемия (общее количество натрия не изменяется, а снижение концентрации связано с эффектом разбавления) наблюдается при избыточном поступлении воды per os или внутривенно.

Абсолютная гипонатриемия отмечается вследствие: 1) увеличения потерь натрия при гипофункции коры надпочечников, приеме диуретиков, рвоте, диарее, чрезмерном потоотделении; 2) уменьшения поступления натрия, что наблюдается крайне редко.

Гипернатриемия.

Относительная гипернатриемия отмечается вследствие недостаточного поступления воды; потери воды при осмотическом диурезе у больных сахарным диабетом или приеме осмодиуретиков; потери воды при гипертермии.

Абсолютная гипернатриемия наблюдается как следствие: 1) повышения поступления натрия с пищей, реже внутривенным путем; 2) снижения выведения натрия с мочой при гиперальдостеронизме.

Уровни натрия в сыворотке крови менее 120 ммоль/л и более 160 ммоль/л опасны для жизни!

4. Калий – основной внутриклеточный катион. 98% калия нахо-

дится внутри клеток, 2% – вне клеток. Общее содержания калия в организме человека достигает 140 г, или 3,6 М. Концентрация калия в плазме крови составляет 3,5-5,5 мМ/л. Суточная потребность – 3-4 г (77-103 мМ). Основной путь выведения калия из организма – выделение с мочой. Калий играет важную роль в процессах нервного и мышечного возбуждения, в поддержании тонуса скелетной мускулатуры, нормальной деятельности сердца.

Нарушения обмена калия:

Гипокалиемия отмечается при повышении потерь с мочой (гиперальдостеронизм, прием мочегонных средств) или через пищевой тракт (рвота, диарея).

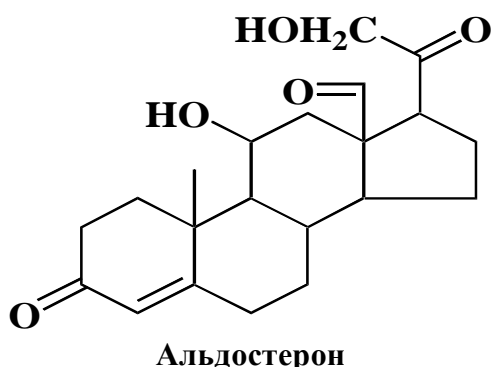
Гиперкалиемия наблюдается вследствие: 1) повышения поступления калия с пищей или внутривенным путем; 2) поступления калия из клеток при массивном распаде тканей при травмах и ожогах; 3) уменьшения потерь калия через почки при гипофункции коры надпочечников, острой и хронической почечной недостаточности.

Увеличение концентрации калия в сыворотке крови более 7 ммоль/л угрожает развитием фибрилляции желудочков. *Уровень калия 10-12 ммоль/л смертелен!*

5. Регуляция водно-солевого обмена

В регуляции водно-солевого обмена участвуют минералокортикоиды, ренин-ангиотензиновая система, вазопрессин и предсердные натрийуретические факторы.

Минералокортикоиды – С₂₁-стероиды, первичное действие которых состоит в задержке ионов Na⁺ и экскреции ионов K⁺. Самый активный в этом отношении – альдостерон.



Биосинтез минералокортикоидов

Минералокортикоиды синтезируются в клубочковой зоне коры надпочечников из холестерина.

Транспорт и выведение минералокортикоидов

Альдостерон не имеет специфического транспортного белка и связывается главным образом с альбуминами. Около 50% гормона присутствует в плазме крови в свободной форме, поэтому его метаболическая деградация протекает быстрее, чем глюкокортикоидов, и биологический период полураспада составляет 20 минут. Другой важный минералокортикоид – 11-дезоксикортикостерон – связывается и переносится по крови транскортином.

Основным местом метаболической инактивации минералокортикоидов является печень, где они восстанавливаются до тетрагидропроизводных и конъюгируются с глюкуроновой кислотой. Образовавшиеся водорастворимые конъюгаты являются биологически неактивными и выводятся из организма с мочой.

Регуляция синтеза и секреции минералокортикоидов

Основными регуляторами синтеза и секреции альдостерона служат ренин-ангиотензиновая система и калий.

Ренин-ангиотензиновая система. Функции этой системы – участие в регуляции артериального давления и электролитного обмена. Любые причины, приводящие к снижению объема циркулирующей крови (ОЦК), артериального давления (АД), концентрации Na^+ стимулируют высвобождение почками ренина. Ренин – фермент (протеаза), продуцируемый юкстагломерулярными клетками почек, воздействует в плазме крови на ангиотензиноген (α_2 -глобулин, продуцируемый печенью и состоящий из более 400 аминокислотных остатков) и отщепляет от него декапептид – ангиотензин-I. Из биологически малоактивного ангиотензина-I образуется активный ангиотензин-II. Реакцию образования ангиотензина-II катализирует фермент дипептидил-карбоксипептидаза, больше известный под названием «ангиотензин-I-превращающий фермент» (АПФ). АПФ отщепляет от молекулы ангиотензина-I два аминокислотных остатка, превращая его в октапептид – ангиотензин II.

Ангиотензин-II является самым мощным сосудосуживающим агентом (в 40-50 раз сильнее норадреналина). Кроме того, он тормозит высвобождение ренина и, связываясь с рецепторами клеток клубочковой зоны, оказывает стимулирующее действие на выработку альдостерона.

В настоящее время ангиотензин-II рассматривается в качестве тропного гормона клубочковой зоны коры надпочечников, который синтезируется из прогормона (ангиотензин-I) в кровеносном русле и действует через поверхностные ангиотензиновые рецепторы (АТР),

связанные с G-белками. АТР-1 находятся в стенках сосудов, АТР-2 – в коре надпочечников. Связывание ангиотензина-II с АТР-1 запускает Ca^{2+} -фосфатидилинозитоловый механизм, в то время как связывание с АТР-2 ингибирует аденилатциклазу.

Часть ангиотензина-II далее превращается в гептапептид – ангиотензин-III, обладающий сходным стимулирующим действием на продукцию альдостерона, но примерно вдвое меньшей прессорной активностью. У человека уровень ангиотензина-II в плазме крови в 4-5 раз выше, чем ангиотензина-III, так что именно первый оказывает основной эффект. Оба ангиотензина быстро инактивируются под действием ангиотенгиназ. [Замечание: фармакологические препараты – ингибиторы АПФ (каптоприл) и антагонисты ангиотензина-II (валсартан) занимают видное место в лечении артериальной гипертензии].

Альдостерон, способствуя реабсорбции Na^+ в дистальных канальцах почек, приводит к повышению концентрации его в плазме крови, а значит повышению осмотического давления. Последнее является главным стимулом для секреции антидиуретического гормона (АДГ). Антидиуретический гормон через увеличение реабсорбции воды в почках обуславливает повышение ОЦК.

Ренин-ангиотензин-альдостероновая система



Калий. Увеличение концентрации K^+ в плазме крови стимулирует, а снижение – тормозит синтез и секрецию альдостерона.

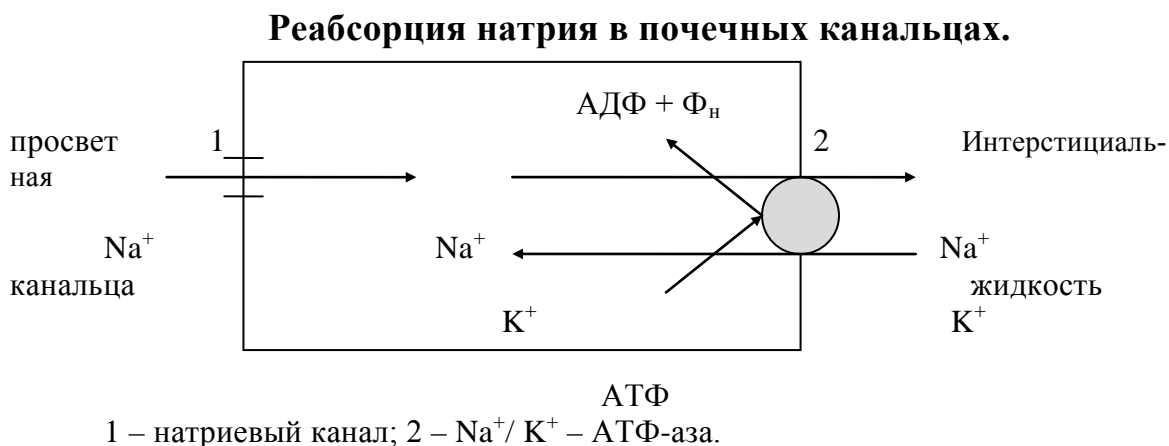
Механизм действия минералокортикоидов

По механизму действия минералокортикоидные гормоны принадлежат к группе гормонов, проникающих в клетку и взаимодействующих с внутриклеточными рецепторами.

Биологические эффекты минералокортикоидных гормонов

Минералокортикоиды:

1) стимулируют активный транспорт Na^+ в дистальных канальцах. Это обусловлено тем, что минералокортикоиды: а) увеличивают число Na^+ -каналов на апикальной стороне эпителиальных клеток; б) повышают количество и активность ряда митохондриальных ферментов, что способствует наработке молекул АТФ, необходимых для работы Na^+/K^+ -насоса на серозной стороне клеток;



2) стимулируют выделение почками ионов калия. Секреция ионов калия в мочу из клеток дистальных канальцев запускается электрохимической движущей силой, создаваемой активной реабсорбцией ионов натрия.

3) влияют на транспорт ионов натрия и калия в других эпителиальных клетках: потовых и слюнных железах, слизистой кишечника.

Основная роль в реализации минералокортикоидных эффектов принадлежит альдостерону. Минералокортикоидная активность 11-дезоксикортикостерона в 25 раз ниже, чем у альдостерона.

Избыток минералокортикоидов

Первичный альдостеронизм (синдром Конна). Причина его развития – опухоль клубочковой зоны коры надпочечников.

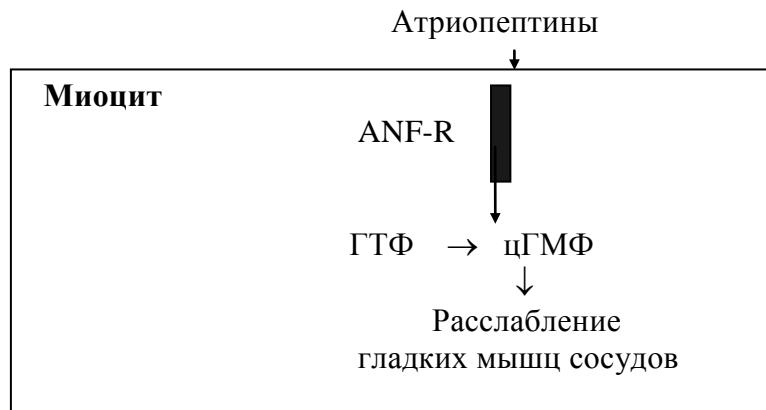
Классические проявления:

- Артериальная гипертензия.
- Гипокалиемия, проявляющаяся резкой мышечной слабостью, вплоть до транзиторной полной обездвиженности.
- Умеренная гипернатриемия без возникновения отеков (феномен «ускользания» – при достижении определенного уровня натриемии задержка натрия прекращается, то есть канальцы почек «ускользают» от действия альдостерона на задержку Na^+).
- Гипокалиемический алкалоз.
- В плазме крови увеличен уровень альдостерона и снижен по механизму обратной связи уровень ренина.

Предсердные натрийуретические факторы (атриопептины)

Секреторные кардиомиоциты предсердий, которые относят к нейроэндокринным клеткам, концентрируются в ушках предсердий и ответственны за синтез двух предсердных натрийуретических факторов – атриопептинов А и В. Секреция атриопептинов возрастает при гиперволемии, солевой нагрузке и растяжении предсердий. В механизме действия атриопептинов ключевую роль играет активация гуанилатциклазной активности мембранных ANF-рецепторов.

Механизм действия атриопептинов



ANF-R – рецептор атриопептинов, обладающий собственной гуанилатциклазной активностью.

Атриопептины оказывают сосудорасширяющий и гипотензивный эффекты, уменьшают реабсорбцию натрия в почках, ингибируют секрецию ренина и альдостерона, снижают продукцию вазопрессина.

Обмен магния

Общее содержание магния в организме человека составляет 20-28 г (0,83-1,2 М), или 0,028-0,04% от массы тела взрослого человека, что позволяет отнести его к макроэлементам. Распределение магния в организме: 60-65% – в костной ткани, в том числе в эмали и дентине зубов, 1% – внеклеточно, остальное количество – в клетках мягких тканей. Концентрация магния в плазме крови составляет 0,75-1,1 мМ/л. 65-75% магния находится в плазме крови в ионизированном состоянии, остальное количество – в комплексе с АТФ и белками крови.

Биологическая роль магния: 1) участвует в нейромышечном возбуждении в синергизме с Ca^{2+} и антагонизме с K^{+} ; 2) внутри клеток, где имеется высокое содержание Mg^{2+} , аденозинтрифосфат присутствует в основном в виде комплекса Mg-ATP^{2-} ; 2) является активатором ферментов, известно около 300 реакций, протекающих с участием

ионов магния. Достаточно привести только несколько примеров, чтобы оценить важность этого химического элемента. Ионы магния необходимы в реакциях активации жирных кислот и аминокислот, в синтезе белков, фосфорилировании глюкозы и ее производных в реакциях гликолиза. Только одни протеинкиназы – ферменты, которые катализируют перенос гамма-фосфата от магний-АТФ к белкам-субстратам, – составляют целое семейство ферментов числом более 100.

Суточная потребность в магнии составляет 350-500 мг (14,4-20,6 мМ). Источником магния является в основном растительная пища. Основное количество эндогенного магния выделяется из организма с мочой.

Лекция 45

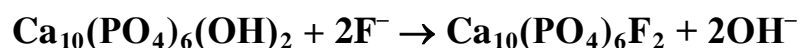
ОБМЕН МИКРОЭЛЕМЕНТОВ

Микроэлементы – это группа химических элементов, которые содержатся в организме человека и животных в очень малых (следовых) количествах, обычно в пределах 10^{-3} - 10^{-12} % от массы тела. Обмен каждого из микроэлементов включает следующие процессы: поступление с пищей, всасывание в кишечнике, транспорт кровью к тканям, утилизацию, депонирование и выделение из организма.

Обмен фтора

В организме взрослого человека содержится около 2,6 г (0,14 М) фтора. Фтор неравномерно распределен в организме. Его концентрация в зубах составляет 250-550 мг/кг, в костях – 200-500 мг/кг, а в мышцах и других мягких тканях не превышает 2-3 мг/кг. Концентрация фторид-иона в сыворотке крови колеблется на уровне нескольких мкМ/л. В зубах большая часть фтора приходится на эмаль, что связано с присутствием в ней труднорастворимого фторапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$.

Биологическая роль фтора связана главным образом с его участием в костеобразовании и процессах формирования дентина и зубной эмали. Минеральную основу зубной ткани – дентина – составляют гидроксилapatит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, хлорапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$ и фторапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$. Фторид-ион легко замещает гидроксил-ион в гидроксилapatите, образуя защитный эмалевый слой более твердого апатита:



Достаточное потребление фтора необходимо для предотвращения кариеса зубов и остеопороза. Потребность в фторе взрослого человека составляет 3 мг (0,15 мМ) в день. Основным источником (2/3 от суточной потребности) фтора является питьевая вода, содержащая обычно около 1 мг (0,05 мМ) фтора на литр. В пищевых продуктах фтора содержится мало (хлеб – 40 мкг/100г, мясо – 40 мкг/100г, молоко – 20 мкг/100г, сухое молоко – 110 мкг/100г, овощи – 20 мкг/100г, фрукты – 10 мкг/100г). Исключение составляет морская рыба (в среднем – 5 мг/кг) и грузинский чай 76 мг/100 г (при заваривании две трети фтора переходит в раствор, в результате в чашке чая может содержаться 0,1-0,2 мг фтора). В норме человек усваивает около 80% фтора, содержащегося в пище. Основным путем выделения фтора из организма является моча, с которой удаляется около 90% этого элемента. С калом теряется 7-15% фтора, включающие как неусвоенный пищевой, так и секретиремый в просвет кишечника эндогенный фтор.

Недостаток фтора в организме, например, вследствие низкого содержания (менее 0,5 мг/л) в питьевой воде ведет к развитию кариеса зубов. Избыточное содержание фтора в питьевой воде (более 2 мг/л) вызывает развитие флюороза, проявляющегося крапчатостью эмали в виде растущих беловато-желтых пятнышек. Крапчатая эмаль содержит фторидов в 16 раз больше нормы. В результате зубы становятся более хрупкими, ломкими и быстро стираются.

Фторсодержащие заменители крови. На основе эмульсий полностью фторированных углеродных соединений – фторуглеродов – созданы кровезаменители-переносчики кислорода. Они не существуют в природе, их получают путем замещения атомов водорода в молекуле углеводородов (например, декалина) на атомы фтора. Характерной особенностью фторуглеродов является то, что в них растворяется до 50% кислорода. Для сравнения надо отметить, что в воде растворяется всего около 2,5% кислорода.

Обмен железа

В организме взрослого человека содержится 3,5-4 г (63-71 мМ) железа. 65-70% железа входит в состав гемоглобина, 3-5% – в состав миоглобина, около 1% – в состав железосодержащих ферментов, около 25% железа являются резервными.

Биологическая роль железа: 1) является незаменимой составной частью гемоглобина и миоглобина; 2) входит в состав дыхательных ферментов – цитохромов, а также в состав окислительно-восстановительных ферментов – каталазы и пероксидазы. Суточная

потребность в железе составляет 10-15 мг (178-268 мкМ). Наиболее богаты железом печень, колбасы с добавлением крови, зернобобовые, гречневая крупа и пшено. В качестве других источников железа можно отметить мясо, яблоки, бананы.

Всасывание железа происходит преимущественно в двенадцатиперстной и тощей кишке. В кишечнике всасывается только 10% или около 1 мг пищевого железа. Гемовое железо всасывается быстро. Необходимым условием всасывания негемового железа, представленного солями и комплексами трехвалентного железа с белками и органическими кислотами, является перевод его в растворимую форму и восстановление до двухвалентного состояния. Аскорбиновая кислота, восстанавливающая железо и образующая с ним растворимые хелатные комплексы способствует всасыванию негемового железа.

Железо, поступившее в клетки слизистой оболочки тонкого кишечника, соединяется со специфическим белком – трансферрином, в комплексе с которым поступает в кровоток и переносится к тканям. *Трансферрин* относится к фракции бета-глобулинов. В норме концентрация трансферрина в плазме крови составляет около 2,0 г/л. Максимальное количество железа, которое может связать трансферрин, составляет в среднем 3,3 мг (60 мкмоль) на 1 литр плазмы крови и обозначается как *общая железосвязывающая способность плазмы крови*. В физиологических условиях насыщение трансферрина железом составляет 30-35%. При дефиците железа насыщение трансферрина и уровень свободного железа в плазме крови уменьшаются, а общая железосвязывающая способность плазмы крови увеличивается.

Большая часть железа, утилизируемого в организме человека, потребляется костным мозгом, где используется для биосинтеза гемоглобина вновь образуемых эритроцитов. За сутки в организме обновляется около 2×10^{11} эритроцитов, на что расходуется 20-25 мг (360-450 мкМ) железа. Это значительно превосходит количество железа, поступающего с пищей. Основная часть железа, используемого для синтеза гемоглобина, поступает из погибших эритроцитов и тканевых депо. Реутилизация железа происходит при участии системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ) печени, селезенки и костного мозга. Клетки этой системы захватывают и разрушают нежизнеспособные эритроциты, а освобожденное железо поступает в плазму. Ежедневно реутилизации подвергается 21-24 мг железа (375-429 мкМ).

Депонируется железо в организме клетками системы мононуклеарных фагоцитов печени, селезенки и костного мозга. Запасы железа составляют около 1 г. Запасается железо в виде металлопротеина *ферритина*, представляющего из себя комплекс ионов трехвалентного железа и белка апоферритина. Апоферритин способен связывать до 20% железа в водорастворимой форме. При увеличении количества запа-

сенного железа ферритин переходит в нерастворимый в воде гемосидерин, содержащий до 35% железа.

Железо выделяется из организма в основном путем слущивания эпителия слизистой оболочки кишечника и с желчью. Меньшее количество теряется с мочой и потом. Общее количество выделяемого таким образом железа у мужчин составляет около 1 мг (17,9 мкМ). У женщин репродуктивного возраста в связи с менструациями потери железа в 1,5 раза больше, чем у мужчин.

Общая схема обмена железа



Дефицит железа в организме может быть связан с кровопотерями и/или недостаточным поступлением и всасыванием в пищевом канале. В результате развивается железодефицитная анемия. Среди различных форм малокровия железодефицитная анемия составляет 70-80%.

Наследственный гемохроматоз характеризуется повышением всасывания железа в тонком кишечнике, что приводит к перегрузке железом. Избыток железа откладывается в печени, сердце, поджелудочной железе. Заболевание проявляется, как правило, у мужчин в возрасте после 40 лет. Классической триадой клинических симптомов этого заболевания является бронзовая окраска кожи, цирроз печени и сахарный диабет.

Обмен меди

В организме человека содержится в среднем 0,1 г (1,57 мМ) меди. Основное количество меди (50%) находится в мышечной и костной тканях, в то время как в печени – около 10%.

Биологическая роль меди связана с ее участием в построении ряда белков и ферментов. Так, например, медь входит в состав: а) цито-

хромоксидазы – терминального звена митохондриальной цепи переноса электронов; б) гистаминазы, катализирующей окисление гистамина; в) лизилоксидазы, участвующей в процессе синтеза коллагена; г) тирозиназы, катализирующей превращение тирозина в меланин; д) конденсирующего фермента, участвующего в образовании порфибилиногена.

Поступление меди с пищей должно составлять 2-5 мг (31-79 мкМ). Из этого количества в кишечнике усваивается всего 30-50%. Поступающая в печень по воротной вене медь включается в состав специального белка церулоплазмينا. *Церулоплазмин* – это альфа-2-глобулин плазмы крови, синтезирующийся в печени и являющийся главным медьсодержащим металлопротеином плазмы крови. В нем содержится 3% всей меди организма и 90% меди крови. Функции церулоплазмينا: 1) связывает и переносит ионы меди по крови; 2) обладает активностью ферроксидазы, окисляя двухвалентное железо в трехвалентное. Только в таком состоянии железо способно связываться с трансферрином и транспортироваться кровью к органам и тканям; 3) обладает аминоксидазной активностью и катализирует окисление биогенных аминов, например, серотонина; 4) играет роль острофазового белка в воспалительных процессах, защищает липидные мембраны от перекисного окисления.

Алиментарный дефицит меди у взрослых встречается крайне редко, так как медь широко представлена в продуктах питания, за исключением молочных. Содержание меди наиболее высоко в печени, продуктах моря, зернобобовых, гречневой и овсяной крупе, орехах.

Из общего количества утилизируемой меди 80% выводится из организма с желчью, 20% – с мочой.

Одной из наиболее известных форм патологии обмена меди является гепатоцеребральная дистрофия или болезнь Коновалова-Вильсона. Одной из причин этого наследственного заболевания является дефицит церулоплазмينا вследствие нарушения его синтеза в печени. Болезнь Коновалова-Вильсона характеризуется отложением меди в ионной форме в печени, головном мозге, коже, почках и роговой оболочке глаз, что приводит к поражению, прежде всего, центральной нервной системы и печени.

Обмен йода

В организме взрослого человека йод содержится в количестве 20-30 мг (0,16-0,26 мМ), в том числе в щитовидной железе – около 10 мг (0,08 мМ). Суточная потребность взрослого человека в йоде составляет в среднем 150 мкг (1,2 мкМ). Содержание йода в пищевых продуктах обычно невелико (в среднем 15 мкг/100 г). Однако в морской рыбе его содержится около 50 мкг/100 г, а в морских водорослях в зависимости

от вида и сроков сбора – от 50 до 70000 мкг/100 г. Питьевая вода содержит мало йода (в среднем 1 мкг/л). В пище и воде йод присутствует в виде йодидов, которые почти полностью всасываются на протяжении всего пищеварительного тракта. Из организма йод выделяется в основном с мочой.

Биологическую функцию йод выполняет как составная часть тиреоидных гормонов. Недостаток йода проявляется развитием эндемического зоба с последующим развитием гипофункции щитовидной железы. Для профилактики зоба в эндемических очагах используют йодированную поваренную соль, которая представляет собой обычную пищевую соль, смешанную с йодидом калия из расчета 25 г йодида калия на тонну соли.

Обмен цинка

У взрослого человека содержится 1,5-2 г (22,9-30,6 мМ) цинка. Он обнаружен во всех тканях и органах, однако концентрация цинка наиболее высока (в порядке уменьшения) в волосах, костях, печени, почках, скелетных мышцах, коже и простате. С пищей взрослый человек должен получать 15-25 мг (0,23-0,38 мМ), из которых при обычном рационе всасывается только 20-30%. Основные пищевые источники цинка: мясо, печень, птица, зернобобовые. Фекальные потери, включающие невсосавшийся пищевой и секретиремый в просвет кишечника эндогенный цинк, составляют около 90% выводимого из организма микроэлемента. Остальное количество цинка теряется с потом и мочой. В крови находится всего лишь 1% цинка организма. Главным транспортным белком плазмы крови, переносящим 70% цинка, является альбумин.

Биологическая роль: 1) цинк найден примерно в 200 металлоферментах, участвующих в самых различных биохимических процессах, включая обмен углеводов, жиров, белков и нуклеиновых кислот. Цинксодержащие ферменты относятся ко всем шести классам ферментов. Среди них – алкогольдегидрогеназа, карбоангидраза, супероксиддисмутаза, щелочная фосфатаза, амино- и карбоксипептидазы, РНК- и ДНК-полимеразы, аминоксил-тРНК-синтетазы; 2) рецепторы глюкокортикоидных гормонов являются цинк-содержащими белками; 3) цинк участвует в упаковке инсулина при его депонировании в бета-клетках поджелудочной железы.

Дефицит цинка у человека проявляется задержкой физического развития, гипогонадизмом, бесплодием, иммунодефицитом, характерным гиперкератотическим дерматитом, нарушением вкуса и обоняния. Описан также аутосомно-рецессивный наследственный синдром, вызванный нарушением синтеза белка-лиганда для связывания и всасы-

вания цинка – энтеропатический акродерматит, развивающийся при переходе на искусственное вскармливание, когда в организм перестает поступать материнский цинк-связывающий протеин. Болезнь характеризуется дерматитом дистальных отделов конечностей, хроническим энтеритом, асперматогенезом и неврологическими нарушениями.

Обмен кобальта

Содержание кобальта в организме взрослого человека составляет 1,5 мг (25 мкМ). В организм человека кобальт поступает в виде ионов (в основном с растительной пищей) или в составе витамина В₁₂ (с пищей животного происхождения).

Пока не имеется достоверных доказательств биологических функций кобальта в организме человека, за исключением того, что он является неотъемлемой частью молекулы витамина В₁₂.

Обмен марганца

В организме взрослого человека содержится 20 мг (0,36 мМ) марганца. Уровень металла особенно высок в мозге, почках, поджелудочной железе. Марганец необходим для роста организма, процессов остеогенеза, нормального метаболизма соединительной ткани. Он также участвует в регуляции углеводного и липидного обмена.

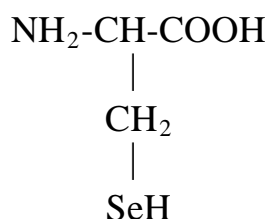
Биологическая роль марганца связана с его участием в функционировании многих ферментных систем. Из них это три металлофермента – аргиназа, катализирующая расщепление аргинина с образованием мочевины; пируваткарбоксилаза – ведущий фермент в реакциях глюконеогенеза; митохондриальная Mn-супероксиддисмутаза, катализирующая дисмутацию супероксидного радикала с образованием пероксида. Марганец выполняет также функцию активатора целого ряда ферментов, относимым к киназам, карбоксилазам, трансферазам, РНК- и ДНК-полимеравам. Например, обязательного присутствия марганца требуют галактозилтрансферазы, играющие важную роль в синтезе гликозамингликанов соединительной ткани. Существуют и такие ферментные реакции, в которых роль донора фосфатной групп выполняет комплекс Mn-АТФ²⁻.

Рекомендуемый уровень потребления марганца – 5-10 мг. Наиболее богаты марганцем – чай, свекла, морковь, печень, картофель.

Обмен селена

Содержание селена в организме человека составляет около 13 мг ($1,6 \times 10^{-4}$ М). В живой природе существуют различные соединения селена, являющиеся производными селеносодержащих аминокислот. В бактериях, грибах, клевере, пшенице найдены селенометионин и селеноцистеин. Усвоение растворимых форм селена в пищеварительном тракте происходит на 80-100%. Рекомендуемый уровень потребления селена – 0,5 мг. Из организма селен выделяется в основном с мочой.

Биологическая роль селена. Глутатионпероксидаза – первый селеносодержащий фермент, найденный в организме млекопитающих. Он предохраняет клетки от токсического действия пероксидных радикалов. В активном центре этого фермента содержится остаток необычной аминокислоты - селеноцистеина.



Взаимосвязь между селеном и витамином Е объясняется их воздействием на разные этапы образования органических перекисей. Токоферол служит антиоксидантом по отношению к ненасыщенным липидам биомембран, ингибируя цепную реакцию окисления жирных кислот перехватывая образующиеся радикалы. Селеносодержащая глутатионпероксидаза разрушает пероксид водорода и перекиси липидов, в то время как несодержащая селена глутатионпероксидаза действует только на пероксид водорода.

Уменьшение частоты возникновения спонтанных и химически индуцированных опухолей у лабораторных животных при введении селена, а также снижение его уровня в крови онкологических больных свидетельствуют о его потенциальной значимости в качестве важного компонента сбалансированного питания.

Недостаток селена рассматривается как этиологический фактор при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях. Еще в 1935 году в “селенодефицитных” провинциях Китая впервые описана болезнь Кешана. Это заболевание представляет собой эндемическую кардиомиопатию, для которой характерны аритмии, кардиомегалия, некрозы миокарда и развитие сердечной недостаточности.

В больших дозах селен токсичен, так как приводит к образованию токсичного диметилселенида - $\text{CH}_3\text{-SeH-CH}_3$. Наиболее типичными симптомами селенового токсикоза являются поражения ногтей и волос. Кроме того, наблюдаются шелушение эпидермиса, повреждения эмали зубов, артриты, анемия, нервные расстройства.

Обмен хрома

Содержание хрома в организме взрослого человека составляет лишь 6-12 мг. Хром всасывается в основном в тощей кишке и в норме усваивается не более 0,4%-0,7% от поступившего количества. В крови хром переносится трансферрином. Утилизируемый хром выводится из организма в основном с мочой и лишь небольшая его часть удаляется с желчью, потом и волосами. Невсосавшийся хром, составляющий 99% его количества в пище, выделяется с калом.

Биологическая роль хрома:

- 1) хром усиливает действие инсулина во всех метаболических процессах, регулируемых этим гормоном;
- 2) хром играет определенную роль в обмене липидов и его дефицит может приводить к развитию атеросклероза.

Потребность человека в хrome колеблется в пределах 50-200 мкг в сутки. В тоже время в общепринятой диете содержится 33-125 мкг хрома. Особенно бедны хромом высокоочищенные продукты, такие как сахар, мука тонкого помола. Содержание хрома наиболее высоко в говяжьей печени. Его уровень высок также в мясе, птице, зернобобовых, перловой крупе, муке грубого помола. Показателями обеспеченности хромом служат содержание его в волосах (в норме около 200-700 мкг/сут) и уровень потерь с мочой (5-10 мкг/сут).

При недостатке хрома в организме человека и животных обнаруживаются следующие признаки: снижение толерантности к глюкозе, повышение концентрации инсулина в крови, глюкозурия, гипергликемия натощак, повышение концентрации холестерина и триацилглицеролов в сыворотке крови, увеличение числа атеросклеротических бляшек в аорте, снижение числа сперматозоидов и их оплодотворяющей активности.

В тоже время *избыточные количества* поступающего в организм хрома, как правило, в производственных условиях, токсичны. При хронической интоксикации хромом наблюдается ингибирование тиоловых ферментов мембран, а также ферментов гликолиза, цикла Кребса и дыхательных цепей, угнетение синтеза белков и аминокислот. На уровне организма избыток хрома оказывает общетоксическое, нефротоксическое и гепатотоксическое действие.

Особенности минерального обмена в связи с аварией на ЧАЭС

26 апреля 1986 года в 1 час 23 минуты произошла авария на IV блоке Чернобыльской АЭС с разрушением активной зоны реактора и выбросом продуктов деления в окружающую среду. 70% радиоактивных осадков выпало на территорию Беларуси, и загрязненными считаются 25% территории страны.

В первые недели после аварии основной вклад в радиационную обстановку вносили короткоживущие изотопы йода-131. Изотопы йода, попадая в организм человека с пищей или ингаляционным путем, хорошо всасываются и активно накапливаются в щитовидной железе. Основное количество йода-131 выделяется через почки. Эффективный период полувыведения йода-131 из организма составляет несколько суток. Ионизирующее облучение клеток щитовидной железы, особенно у детей, приводит к повреждению тироцитов с последующим угнетением функции щитовидной железы. В отдаленные сроки наблюдается увеличение заболеваемости раком щитовидной железы.

В настоящее время радиационная обстановка обусловлена наличием долгоживущих радионуклидов: цезием-137 (период полураспада – 30 лет), стронцием-90 (период полураспада – 29 лет), и в гораздо меньшей степени плутонием-239 (период полураспада – 25000 лет).

Цезий-137 хорошо всасывается в пищеварительном тракте и ингаляционным путем, равномерно распределяясь по органам и тканям. Относительно быстро выводится почками из организма, имея эффективный период полувыведения из организма 70 суток. Равномерное распределение цезия-137 обуславливает развитие диффузной картины поражения органов и тканей с угнетением лимфопоза. В отдаленные сроки возможно развитие опухолей молочных желез, яичников, почек и желудочно-кишечного тракта.

Стронций-90 характеризуется относительно хорошей всасываемостью в пищеварительном тракте (25-50%) и низкой – через легкие (10-30%). Избирательно накапливается в костной ткани. Эффективный период полувыведения стронция-90 из организма составляет примерно 16 лет.

Плутоний-239 очень плохо всасывается в пищеварительном тракте (менее 0,1%) и относительно плохо – через легкие (20-25%). Этот радионуклид накапливается в костях, печени и селезенке. Эффективный период полувыведения из организма для плутония-239 составляет 175 лет.

При воздействии остеотропных изотопов цезия и плутония наблюдаются изменения в костной ткани и кроветворной системе. В отдаленные сроки возможно развитие лейкозов и опухолей костной ткани.

Лекция 46

БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Соединительная ткань в общей сложности составляет более 50% массы человеческого организма. Различают 3 вида соединительной ткани: собственно соединительная ткань; хрящевая соединительная ткань и костная соединительная ткань. Морфологические разновидности, в которых соединительная ткань представлена в организме животных и человека, очень многочисленны и непохожи друг на друга. К ним относятся: рыхлая соединительная ткань подкожной клетчатки и межорганных прослоек с ее разновидностями – жировой, пигментной тканями, дерма, плотные ее виды – фасции, апоневрозы, связки, сухожилия, внутриорганные соединительно-тканые прослойки, сопровождающие сосуды и нервы, стенки кровеносных и лимфатических сосудов, клапанный аппарат сердца, все ткани скелета, хрящи всех видов (суставные, реберные, межпозвоночные, гортани, ушных раковин, крыльев носа, слухового аппарата), капсулы и синовиальные оболочки суставов, дентин и пульпа зуба, роговая оболочка, склера, стекловидное тело, нейроглия, брюшина. Все это соединительная ткань.

Все эти разновидности соединительной ткани отличаются определенными особенностями строения, что обусловлено их функциями. В то же время все они, несмотря на огромные морфологические различия, построены по единым **общим принципам**:

- 1) Малое количество клеточных элементов, которые окружены межклеточным веществом.
- 2) Высокое содержание межклеточного вещества.
- 3) Наличие в межклеточном веществе своеобразных фибриллярных структур.

Функции соединительной ткани

Соединительная ткань выполняет ряд важных физиологических функций:

1. **Опорная** – плотные и прочные разновидности соединительной ткани (костная, хрящевая, ткань сухожилий, связок, фасций) образуют каркас и «поддерживают» организм.

2. **Барьерная (защитная)** – обусловлена расположением между внешней и внутренней средой организма (дерма), между кровью и клеточными элементами паренхиматозных органов, т.е. через этот барьер должны пройти и вещества, приносимые к тканям кровью, и метаболиты, транспортируемые кровью из органов. С другой стороны, клетки соединительной ткани способны к фагоцитозу, синтезу иммуноглобу-

линов, т.е. иммунологической защите.

3. **Метаболическая** – соединительная ткань богата наборами ферментов, обычными для всех тканей, и кроме этого ферментами синтеза биомолекул, входящих в волокна и межклеточное вещество. Фибробласты способны к синтезу холестерина и других липидов, а также являются главным местом метаболизма кортизола, угнетающего пролиферативную и биосинтетическую активность соединительной ткани.

4. **Депонирования** – клетки соединительной ткани могут поглощать разнообразные вещества и депонировать их. Для некоторых клеток эта функция является основной, специализированной (так, гистиоциты могут накапливать капли жира, пигменты меланина).

5. **Репаративная** – соединительная ткань на различные факторы отвечает активной пролиферацией, благодаря чему ликвидируются последствия локальных инфекционных очагов, механических травм. Молодая соединительная ткань, проходя через определенные стадии развития, превращается в рубцовую ткань, заполняющую любые дефекты других тканей. Если этот процесс качественно и количественно соответствует тяжести повреждения, размерам дефекта, это положительно, но в некоторых случаях процесс избыточного образования соединительной ткани приводит к патологическим отклонениям в пораженных органах (грубые деформирующие рубцы, пневмокониоз в легких, цирроз печени).

Клеточные элементы соединительной ткани:

- 1) фибробласты;
- 2) тучные клетки;
- 3) клетки семейства гистиоцитов (макрофаги);
- 4) плазматические клетки (плазмоциты);
- 5) клетки, проникающие из крови – лимфоциты, нейтрофильные и эозинофильные лейкоциты.

Основными клетками являются **фибробласты и тучные клетки**. В фибробластах (хондробластах в хряще, остеобластах в костной ткани) происходит синтез биомолекул межклеточного вещества и фибриллярных структур. Тучные клетки продуцируют гистамин, серотонин, гепарин. Гистамин, серотонин влияют на местное кровообращение, гистамин активизирует фагоцитоз. Угнетение функции тучных клеток снижает резистентность тканей к некротизирующим воздействиям. **Фибробласты, тучные клетки, гистиоциты (макрофаги) называют постоянными клетками. Плазматические клетки, лимфоциты, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы называют транзиторными**, так как они мигрируют в соединительную ткань из крови в ответ на специфический стимул, влияя на состав межклеточного вещества.

Межклеточное вещество. Основная масса межклеточного вещества представлена **протеогликанами**, составляющими 30% сухого

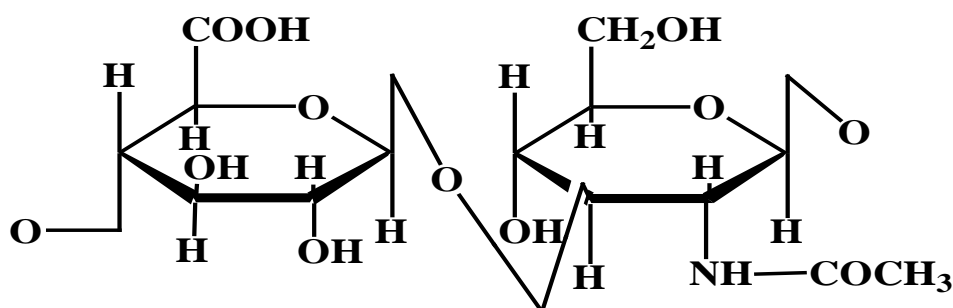
остатка соединительной ткани.

Протеогликаны – сложные белково-углеводные комплексы*, в которых белковая часть соединена с простетической группой прочными ковалентными связями. Простетическая группа представлена гликозаминогликанами – линейными неразветвленными полимерами, построенными из повторяющихся дисахаридных единиц. Все они содержат сульфатированные сахара; один в составе дисахарида – аминосахар (N-ацетилглюкозамин или галактозамин), второй – уроновая кислота (глюкуроновая или идуроновая). Синтез протеогликанов происходит внутриклеточно, а затем они покидают клетку путем экзоцитоза.

Гликозаминогликаны по строению остатков моносахаридов, типу связи между ними и локализации сульфатных групп делят на шесть основных классов:

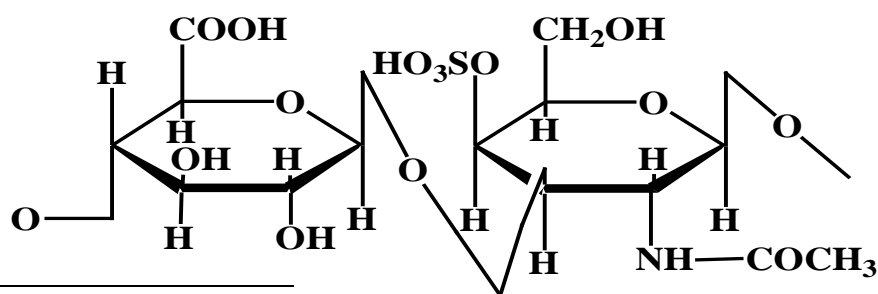
1) гиалуриновая кислота

М.м. в пределах 10^5 - 10^7 Да. Содержание белка составляет 1-2%. Играет важную роль в образовании агрегатов протеогликанов, а также часто служит для создания свободного от клеток пространства, по которому мигрируют клетки во время морфогенеза и заживления ран. Мономер построен из глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина. Внутри мономера - 1,3-бета-гликозидная связь, между мономерами - 1,4-бета-гликозидная связь. Гиалуриновая кислота может находиться и в свободном виде, и в составе сложных агрегатов. Это единственный представитель гликозаминогликанов, который не сульфатирован.



Дисахаридная единица – D-глюкуроновая кислота β -1,3-N-ацетил-
глюкозамин β -1,4-(D-глюкуроновая кислота)

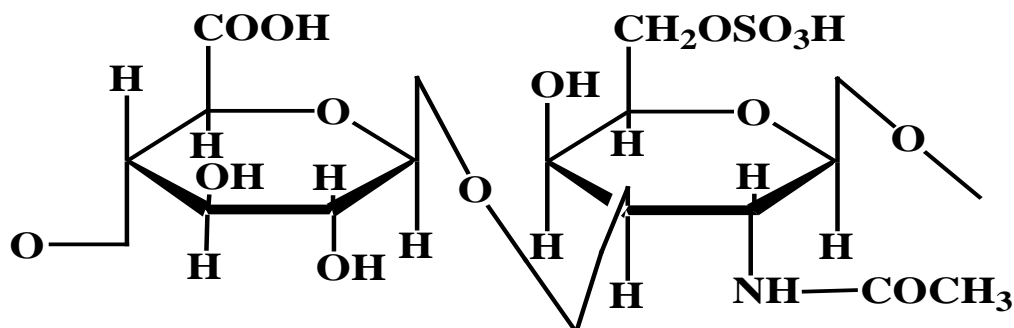
2) хондроитин-4-сульфат



* Белково-углеводные комплексы по количеству углеводов в них делятся на: протеогликаны – свыше 95% углеводов; мукопротеины – 10-15% углеводов; гликопротеины – менее 10% углеводов.

Дисахаридная единица – D-глюкуроновая кислота –β-1,3-N-ацетилгалактозамин -4-сульфат –β-1,4- (D-глюкуроновая кислота)

3) хондроитин-6-сульфат

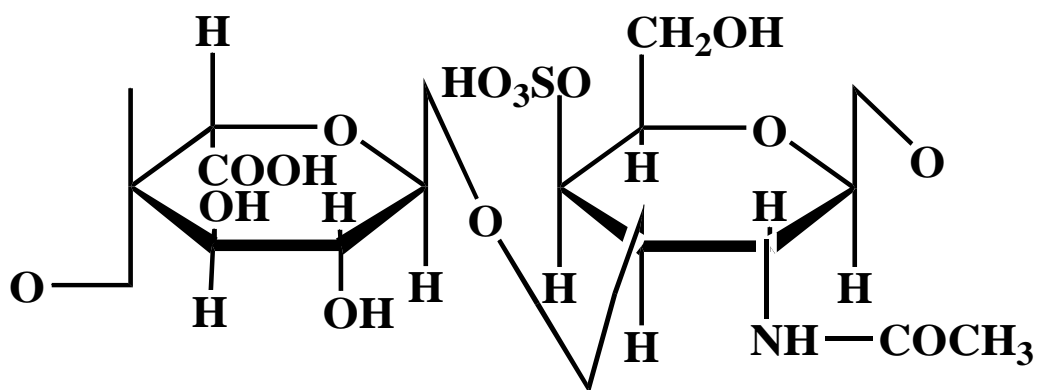


Д

исахаридная единица – D-глюкуроновая кислота – β-1,3-N-ацетилгалактозамин -6-сульфат –β-1,4-(D-глюкуроновая кислота)

Отличаются друг от друга местом расположения остатка серной кислоты. Все они содержат остаток серной кислоты. Мономер хондроитин-сульфата построен из глюкуроновой кислоты и N-ацетилгалактозаминсульфата. Встречаются в связках суставов и в ткани зуба. Являются важной составной частью основного вещества хряща, обуславливают прочность, характеризуются интенсивным обменом, связывают ионы кальция, локализуются в местах кальцификации эндохондральной кости. М.м. около 20000-50000 Да.

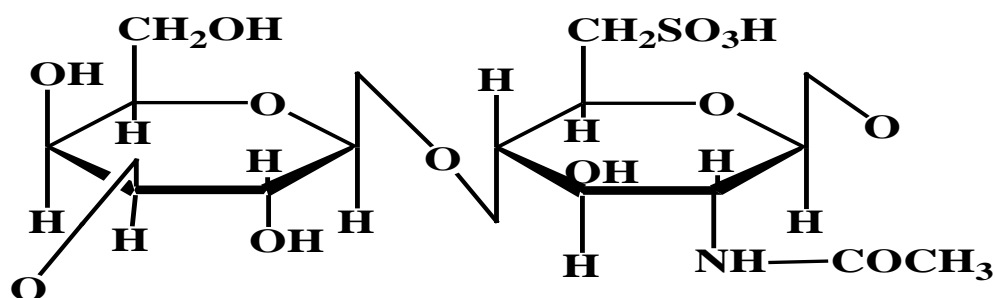
4) дерматан-сульфаты



Дисахаридная единица – L-идуронозная кислота – β-1,3-N-ацетилгалактозамин -4-сульфат –β-1,4-(L-идуронозная кислота)

Мономер построен из идуронозной кислоты и галактозамин-4-сульфата. Являются одним из структурных компонентов хрящевой ткани, кожи - дермы.

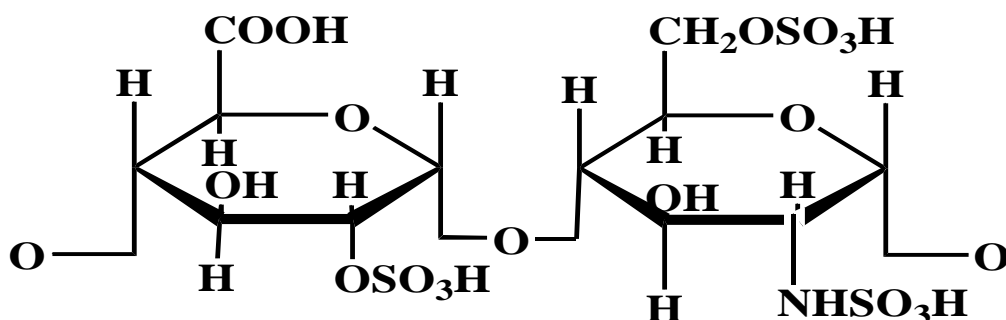
5) кератан-сульфаты



Структурная единица – D-галактоза-β-1,4-N-ацетилглюкозамин-6-сульфат – β-1,3-(D-галактоза)

Мономер кератан-сульфатов состоит из галактозы и N-ацетилглюкозамин-6-сульфата. Находятся в костной, хрящевой и других тканях. В роговице глаза располагаются между коллагеновыми волокнами и играют важную роль в обеспечении прозрачности роговицы.

б) гепарин и гепаран-сульфат



Дисахаридная единица – D-глюкуронат-2-сульфат – α-1,4-N-сульфо(ацетил)глюкозамин-6-сульфат – α-1,4-(D-глюкуронат-2-сульфат)

Гепарин продуцируется тучными клетками. Выделен также из клеток печени, легких, кожи. Является антикоагулянтом, связывается с факторами IX и XI, но главным в его действии является усиление ингибирующего действия антитромбина (III), с которым гепарин связывается в соотношении 1:1 и изменяет его конформацию, вследствие чего активируется взаимодействие с сериновыми пептидазами (увеличивается сродство антитромбина к тромбину и другим протеиназам, участвующим в свертывании крови). Кроме этого гепарин способен связываться на эндотелии капилляров с липопротеинлипазой, способствуя ее выходу в кровоток, в результате чего усиливается катаболизм хиломикронов и ЛПОНП.

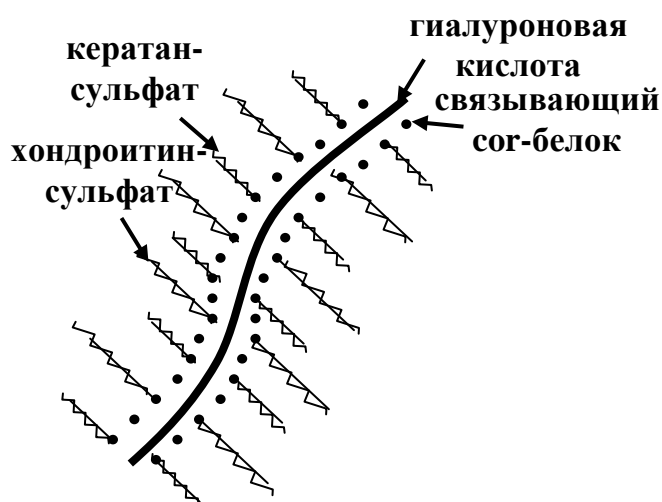
Гепарансульфат обнаруживается на поверхности многих клеток. Отличается от гепарина преобладанием мало сульфатированного глюкозамина и глюкуроновой кислоты (в то время как в гепарин кроме

глюкуроновой входит идуроновая кислота). В гепарине большая часть аминокрупп глюкозамина сульфатирована, меньшая часть – ацетилирована.

Полисахаридные цепи гликозаминогликанов – очень подвижные структуры, не способные образовывать компактные глобулы подобно белкам. Вследствие свободного расположения в пространстве и большой гидрофильности гликозаминогликаны занимают большие объемы, даже при довольно низких концентрациях образуют гели, обеспечивая тургор тканей.

Гликозаминогликаны, находясь в составе протеогликанов, соединены ковалентной связью с так называемыми «коровыми белками» (core – англ., основа, ядро), которые синтезируются большинством клеток. К нему при помощи трисахаридов присоединяются гликозаминогликаны. 1 молекула COR-белка может присоединить до 100 гликозаминогликанов. Связь между ними образуется либо через ОН-группу остатка серина, либо амидную группу аспарагина.

Протеогликаны образуют агрегаты – структуры типа бутылочной щетки. Они состоят из гиалуроновой кислоты, протеогликановых субъединиц и низкомолекулярных связывающих «коровых» белков. Стержнем агрегата является длинная нитевидная молекула гиалуроновой кислоты. К ней с помощью связывающих белков присоединяются субъединицы протеогликанов – кератансульфатов и хондроитинсульфатов, остовом которых являются полипептидные цепи.



Длина гиалуроновой кислоты – 4200 нм, одна субъединица приходится на 20-30 нм кислоты.

Цепи хондроитинсульфата длиннее (~20-30 нм), чем кератансульфата (6 нм).

Не все протеогликаны секретируются во внеклеточный матрикс. Они могут располагаться на поверхности клеток и являться частью рецепторных комплексов. Другие протеогликаны могут входить в плазматическую мембрану клетки, а их «коровый» белок является интегральным белком.

Протеогликаны в организме выполняют очень многообразные

функции:

1. Являются структурными компонентами межклеточного вещества и специфически взаимодействуют с белками коллагеном, эластином, фибронектином, ламинином и другими.
2. Являются поливалентными анионами, которые могут прочно связывать катионы K^+ и Na^+ .
3. Связывают воду и поддерживают тургор тканей.
4. Связывают, цементируют волокна и обеспечивают прочность тканей.
5. Поддерживают прозрачность роговицы.
6. Влияют на клеточную миграцию.
7. Выполняют структурную роль в склере.
8. Регулируют фильтрацию в клубочках почек, функционируя как молекулярные сита.
9. Участвуют в формировании рецепторов на поверхности клеточных мембран и межклеточных контактах.
10. Действуют как антикоагулянты.
11. Гиалуроновая кислота может служить смазочным материалом в суставах.
12. Входят в состав синаптических и других везикул клетки.

Кроме протеогликанов, основное вещество содержит **гликопротеины**. Их углеводный компонент - это олигосахарид, состоящий 10-15 мономерных единиц. Этими мономерными единицами могут быть в основном минорные моносахариды: манноза, метилпентозы рамноза и фукоза, арабиноза, ксилоза. На конце этого олигосахаридов имеет еще одно производное моносахаридов: сиаловые кислоты (ацильные производные нейраминовой кислоты). Если в крови увеличивается концентрация сиаловых кислот - значит, идет распад межклеточного матрикса. Это бывает при воспалении.

Гликопротеины делят на 2 группы: растворимые и нерастворимые. Углеводная часть гликопротеинов очень вариабельна. Важное значение имеет последовательность моносахаридов, как и последовательность аминокислот в белковой части. Из гликопротеинов наиболее изучены растворимый фибронектин и нерастворимый ламинин.

Специфические белки соединительной ткани

Коллаген – главный белок межклеточного вещества. Он составляет 25-33% общего количества белков организма человека, т.е. является самым распространенным белком.

Коллагены синтезируются соединительно-тканевыми и другими клетками и отличаются строением полипептидных цепей, кодируемых

определенными генами для каждой. Из разных тканей выделены 15 типов коллагеновых молекул – изоколлагены, входящие в состав кожи, костей, хрящевой ткани, стенок сосудов, клапанов сердца, роговицы, дентина. Они отличаются составом аминокислот и их последовательностью и, соответственно, выполняемой функцией. Одни типы изоколлагенов формируют волокна, другие – обеспечивают соединение коллагеновых волокон с молекулами межклеточного вещества, третьи – образуют сетевидные структуры и, находясь в базальных мембранах, обеспечивают связь клеточных слоев эпителия с подлежащей соединительной тканью (важно для кожи).

Таким образом, коллагены отличаются большой микрогетерогенностью.

Из них важное значение имеют следующие типы:

I.– из кожи, костей, связок – содержит менее 10 остатков гидроксисилизина на цепь, мало углеводов.

II.– из хрящевой ткани – содержит более 10 остатков гидроксисилизина на цепь и 10% углеводов.

III.– из стенок сосудов – много гидроксипролина и гидроксисилизина, мало углеводов.

IV.– из базальной мембраны – содержит много 3-гидроксипролина, более 20 остатков гидроксисилизина и мало аланина в цепи.

Строение коллагена. Молекулы коллагена представляют собой палочки длиной около 300 нм и в диаметре около 1,5 нм. Молекула состоит из трех полипептидных цепей, каждая из которых содержит примерно 1000 аминокислот. Аминокислотный состав отличается высоким содержанием глицина ~33% (каждая третья аминокислота), 21% составляет пролин, 11% – аланин. Белок отличается также наличием оксипролина и оксисилизина, низким содержанием тирозина и серосодержащих аминокислот, отсутствием триптофана. Каждая полипептидная цепь скручена в виде левой спирали, содержащей три аминокислотных остатка в витке (высота одного аминокислотного остатка 0,29 нм). Водородные связи для ее стабилизации не используются.

Три полипептидных цепи скручены в правую суперспираль, удерживаемую водородными связями между C=O и N-H-группами соседних цепей. Такая молекула называется **тропоколлагеном**. Молекулы тропоколлагена соединяются конец в конец, образуя микрофибриллу. Микрофибриллы располагаются параллельно, и образуется фибрилла. Цепи из молекул тропоколлагена уложены в фибриллах так, что начало молекул в соседних цепях смещено на четверть длины молекулы (~75 нм), что обуславливает прочность. Фибриллы укладываются параллельно, образуя коллагеновое волокно. Стабилизация фибрилл и коллагеновых волокон осуществляется поперечными ковалентными связями между соседними микрофибриллами, которые образуются

следующим образом. В части остатков лизина и гидроксилизина NH_2 -группы окисляются ферментом лизилоксидазой до альдегидных, которые взаимодействуют с остатками лизина и гидроксилизина или между собой с образованием шиффовых оснований или альдолей.

Нарушение образования таких поперечных связей вследствие отсутствия лизилоксидазы наблюдается при наследственных заболеваниях, это отражается на свойствах коллагена.

Коллаген – сложный белок, гликопротеин. М.м. 310000 Да. В коллагенах позвоночных углеводов обычно меньше 1%, и они в основном представлены Д-галактозой и Д-глюкозой.

Коллагеновые волокна – понятие морфологическое. Они представляют собой цилиндры с диаметром от 5 до 200 нм в зависимости от ткани. Расположение волокон в ткани разнообразно: в коже и сухожилиях параллельно, в заживающей ране хаотично, в роговице, стекловидном теле глаза строго ориентировано, т.к. обуславливает пропускание света.

Синтез коллагена происходит в виде высокомолекулярного предшественника проколлагена, имеющего на N- и C-концах добавочные последовательности (домены), содержащие цистеин. Домены образуют глобулярные структуры. N-концевой домен способствует укладке полипептидных цепей и образованию тройной спирали в клетке, в то же время домены тормозят образование фибрилл здесь, т.к. это было бы катастрофой для клетки. Проколлагеновые молекулы секретируются в межклеточное вещество, где происходит ферментативное отщепление доменов, при этом C-домен способствует образованию фибрилл здесь. Фибриллы объединяются в волокна. Образование волокон основано на том, что растворимость молекул коллагена почти в 1000 раз меньше, чем молекул проколлагена. Это обеспечивает их тенденцию к самоагрегации.

Уже в период трансляции на рибосомах начинается гидроксилирование пролина и лизина ферментами пролингидроксилазой и лизингидроксилазой, которое заканчивается уже после образования трехспиральной структуры. В процессе гидроксилирования важную роль играет аскорбиновая кислота. В ее отсутствие синтезируемый коллаген непрочен, т.к. нарушается его гидроксилирование. Это наблюдается при цинге. После окончания гидроксилирования вводится углеводный компонент – галактоза, глюкоза, присоединяемые O-гликозидной связью к OH-группе гидроксилизина (в дельта положении).

Особенность обмена коллагена заключается в том, что он синтезируется с относительно высокой скоростью и в то же время медленно распадается: период полураспада коллагена, выделенного из мышц – 50-60 дней, из печени и кишечника – 20-30 дней. Коллаген отличается и малой метаболической активностью, особенно инертен коллаген су-

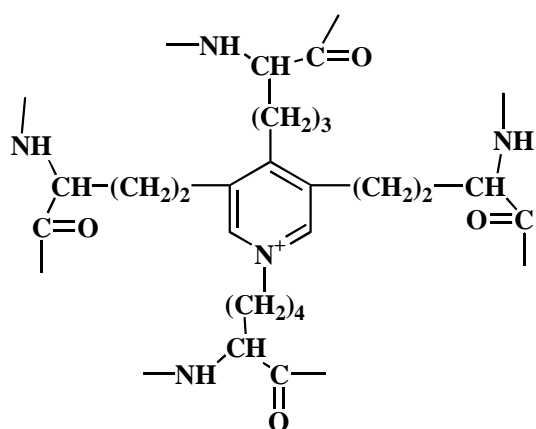
хожилий.

Медленный распад, по-видимому, обусловлен тем, что молекулы белка входят в ригидные фибриллярные структуры, в которых они труднодоступны для действия протеолитических ферментов. Это очень важно при заживлении и регенерации.

Физико-химические свойства коллагена. Коллаген нерастворим в воде, почти нерастворим в нейтральных солевых растворах, слабых кислотах и щелочах. Это связано с процессом фибриллогенеза. Фибробласты синтезируют молекулы коллагена, поступающие в экстрацеллюлярное пространство, где идет процесс полимеризации этих молекул. Свободные или непрочно связанные между собой молекулы коллагена и даже отдельные полипептидные цепи экстрагируются нейтральными солевыми растворами. Этот «молодой» коллаген содержит мало поперечных ковалентных связей и хорошо растворяется в солевых растворах, при образовании поперечных связей – «старении» уменьшается растворимость в солевых растворах. Таким образом, в соединительной ткани имеется «спектр» из различно агрегированных молекул коллагена. Если нерастворимые коллагены экстрагировать кипящей водой, они частично солубилизируются, образуя раствор желатина. При этом слабые нековалентные связи разрываются, и спирали превращаются в беспорядочные хаотические клубки, т.е. происходит денатурация коллагена. Раствор желатина (денатурированной формы коллагена) содержит тропоколлагеновые цепи и их фрагменты. При охлаждении этих растворов образуется гель.

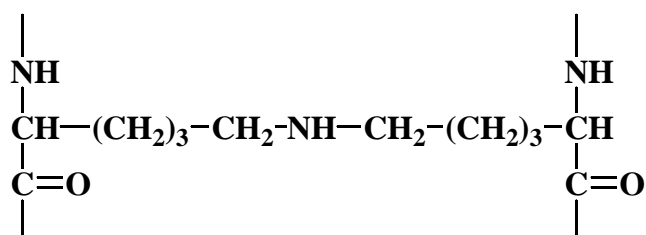
Эластин. Второй главный белок соединительной ткани, находящийся в эластических волокнах. Эластические волокна распространены в органах, где при малых нагрузках имеет место большая деформация (аорта, артериальные стенки, легкие, связки, желтая затылочная связка) с восстановлением формы после нагрузки.

Эластин – фибриллярный белок с м.м. 72000 Да. Содержит около 750 аминокислот: больше неполярных, много глицина и пролина (как и коллаген), валин, аланин, но мало гидроксипролина и гидроксизина. Не гликозилирован. Образует спираль особого типа, отличающуюся от α -спирали и спирали коллагена. Синтезируется фибробластами в виде



растворимого предшественника, который затем переходит в нерастворимую форму вследствие образования прочных поперечных сшивок (зрелый эластин).

В белке образуется и еще один вид поперечных сшивок между полипептидными цепями – лизин-норлейцин.



При ферментативном гидролизе из гидролизата выделяются особые соединения десмозин и изодесмозин. При образовании десмозина три остатка лизина окисляются до ε-альдегидов, которые взаимодействуют с четвертым. Благодаря этой структуре могут быть соединены четыре полипептидных цепи. Отсюда возникает способность эластина растягиваться в двух направлениях вдоль и поперек.

В образовании эластических волокон принимают участие большое количество белков, объединяемых в семейство эластина. Эластинный остов волокна покрыт слоем микрофибрилл (с диаметром 10 нм), состоящим из разных гликопротеинов, осуществляющих интеграцию эластиновых волокон.

Внеклеточный матрикс содержит большое число **адгезивных неколлагеновых белков**, отличающихся важной структурной особенностью. Они имеют домены, способные связываться специфически с другими макромолекулами и рецепторами на поверхности клетки. Обязательным компонентом этих доменов, обеспечивающих взаимодействие с клетками, является последовательность аминокислот арг-гли-асп. К таким внеклеточным адгезивным белкам относится фибронектин, помогающий клеткам соединяться с матриксом.

Фибронектин – высокомолекулярный гликопротеин. Это димер, состоящий из двух больших субъединиц (м.м. каждой 230000 Да). Полипептидные цепи сходны, но не идентичны. В области С-концов они соединены двумя дисульфидными связями. В каждой цепи имеются несколько глобулярных доменов, которые специфически могут связываться с другими молекулами (гепарином, коллагеном) или клетками. Поэтому фибронектин называют "молекулярным клеем". Он обычно располагается на поверхности фибробластов и участвует в адгезии всех перечисленных структур. Известно, что при опухолевых заболеваниях количество фибронектина снижается, что способствует метастазированию опухоли. К семейству фибронектина относится фибриллин.

Фибриллин – гликопротеин с м.м. 350000 Да. Является структурным компонентом микрофибрилл, участвующих в образовании эластических волокон. Найден в хрусталике, аорте, периосте. При мутации гена, кодирующего этот белок, развивается врожденное заболевание, проявляющееся поражением соединительной ткани, – синдром Марфана (поражение глаз – эктопия хрусталика, разболтанность суста-

вов, слабость средней оболочки аорты). Этот синдром описан у президента США А. Линкольна.

Внеклеточный матрикс может создавать сложные структуры – базальные мембраны, в образовании которых принимают участие несколько типов специализированных молекул: коллаген IV типа, гепарансульфат, ламинин и энтактин. **Базальная мембрана** – тонкая пластинка толщиной 40-120 нм, расположенная под слоем эпителиальных клеток и отделяющая их от подлежащей соединительной ткани. Эта пластинка окружает отдельные мышечные, жировые и шванновские клетки или разделяет два слоя клеток (в почках, легких).

Коллаген IV типа от других отличается тем, что в 26 местах в тройную спираль встроены аминокислотные последовательности неколлагенового типа. Дополнительные домены на N- и C-концах проколлагена после секреции не отщепляются, и поэтому молекула коллагена IV типа длиннее – 400 нм. Две таких молекулы соединяются C-концевыми доменами, образуя димер. Димеры соединяются N-концами по 4-5. Ассоциация димеров идет в ширину, в результате чего образуется подвижная многослойная структура, стабилизированная дисульфидными и другими ковалентными связями. Это нерастворимая сеть, к которой присоединяются другие молекулы.

В состав мембран входят также гликопротеины ламинин и энтактин.

Ламинин – белок с м.м. 8500000 Да, состоит из трех полипептидных цепей, образующих крестообразную структуру и имеющих функциональные домены для связывания с коллагеном IV типа, гепарансульфатом, поверхностью клеток.

Энтактин – также соединен с коллагеном IV типа и ламинином, т.е. образует еще дополнительную связь между коллагеном и ламинином.

Базальные мембраны выполняют разные функции. В почках базальная мембрана действует как молекулярный фильтр при образовании мочи, причем фильтрующая функция связана с гепарансульфатом. Кроме того, базальная мембрана является избирательным барьером для движущихся клеток: пропускает макрофаги и лимфоциты, но отделяет эпителий от контакта с фибробластами.

В процессе регенерации при заживлении ран (при повреждении мышц, нервов, эпителия) она создает «подмости» для мигрирующих клеток. В базальной мембране кожи коллаген IV типа образует специальные адгезивные волокна. При отсутствии этих волокон (тяжелое кожное заболевание – пузырчатка) эпидермис легко отделяется от соединительной ткани.

Старение. При старении во всех видах соединительной ткани наблюдаются следующие изменения:

- 1) уменьшение количества гиалуроновой кислоты;
- 2) уменьшение количества воды и соотношения основное вещество/волокна (имеется в виду коллаген);
- 3) замедление метаболизма гликопротеинов основного вещества;
- 4) повышение структурной стабильности коллагена в результате увеличения числа и прочности поперечных сшивок;
- 5) уменьшение растворимости эластина, замедление его метаболизма, ухудшение его эластичности;
- 6) увеличение в соединительной ткани кальция в связи с увеличением сродства к нему коллагена и эластина.

Заживление ран. В месте повреждения в результате следующих процессов происходит образование грануляционно-фиброзной ткани:

1. Повреждение тканей вызывает образование (или освобождение из разрушаемых клеток) биологически активных веществ, вызывающих расширение и повышение проницаемости капилляров.

2. Фибриноген в ране превращается в фибрин, блокирующий капилляры и лимфатические сосуды. Возникает ишемия, которая способствует некрозу.

3. Продукты некроза стимулируют накопление лейкоцитов, пролиферацию клеточных элементов соединительной ткани (т.е. воспаление).

4. Накопление фибробластов сопровождается усилением их биосинтетической активности (фаза пролиферации). Фибробласты синтезируют гликопротеины (3-4 дня), затем (с 5-6 дня) идет интенсивный синтез и фибриллогенез коллагена. Интенсивность синтеза нарастает к 12-15 дню.

5. Формирование рубцовой ткани: уменьшается количество клеточных элементов, липидов, происходит резорбция избытка коллагена, уплотнение ткани.

В итоге образуется фиброзная ткань, восполняющая образовавшийся в результате повреждения и некроза дефект.

Таким образом, следует понимать, что развивающийся в месте травмы некроз, следующее за ним воспаление и развитие грануляционно-фиброзной ткани – это единый комплекс биологических событий.

Лекция 47

БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ

Древние китайцы полагали, что печень лежит на пути попавших в организм с пищей космических элементов (воды, огня, дерева и металла), которые, будучи уже подготовлены в желудке к перевариванию, а в тонких кишках превращены в кашицу, смешанную с пищеварительными соками, поступали в нее по каналам, чтобы дальше уйти в сердце и преобразовываться там в кровь. Печень считалась обиталищем души, а желчный пузырь – мужества. Поскольку печень животных входит в арсенал лекарственных средств китайской медицины, лечили ею и от бездушия.

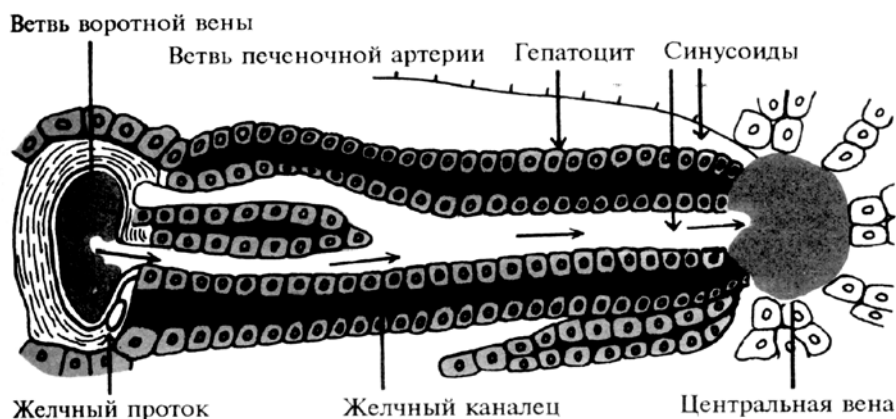
Вавилоняне считали печень главным органом тела, предсказывали судьбу и события, гадая на печени, как гадали впоследствии на кофейной гуще.

У **древних греков** возникли зачатки науки. О печени их представления как бы подытожил **Гиппократ** (VI-V века до н. э.), прекрасно знакомый с медициной Древнего Востока и сам «гениальный наблюдатель человеческих существ», по выражению И.П. Павлова. Гиппократ знал кое-что о том, как устроена печень, первым расценил желтуху и накопление жидкости в брюшной полости как симптомы ее заболевания. Позже был описан у некоторых больных желтухой кожный зуд. Греки умели пальпировать (ощупывать) печень, пытались лечить ее по принципу «подобное подобным», вводя в диету больных, страдающих печеночным недугом, сырую печень животных.

1. Функции печени, особенности метаболизма

Печень стратегически расположена на пути всего потока метаболитов из желудочно-кишечного тракта и это определяет ее функции.

Схематическое изображение печеночной дольки



Гепатоциты контактируют с синусоидами и желчными канальцами. Синусоиды – это видоизмененные капилляры, по которым циркулирует смешанная кровь: венозная из воротной вены, артериальная из печеночной артерии. Гепатоциты извлекают из крови часть веществ, подвергают их метаболическим превращениям и выделяют продукты превращений в синусоиды или желчные канальцы.

Функции печени:

1. Принимает и распределяет почти все вещества, поступающие в организм из ЖКТ.
2. Образование желчи.
3. Осуществляет биосинтез веществ, которые используются в других органах и тканях (кетонные тела, белки крови и т.д.) – биосинтез «на экспорт».
4. Обезвреживание токсических веществ метаболизма, образующихся в разных тканях, а также продуктов гниения белков в кишечнике.
5. Инактивация гормонов, витаминов.
6. Метаболизм чужеродных соединений и лекарств.
7. Участвует в выделении некоторых продуктов метаболизма с желчью в кишечник.

Особенности метаболизма в печени

Печень обеспечивает источниками энергии мозг, мышцы и другие периферические органы. Это глюкоза, кетонные тела. Сама печень в качестве источника энергии использует кетокислоты, образующиеся при распаде аминокислот. Поэтому основное назначение гликолиза в печени – это образование строительных блоков для биосинтеза жирных кислот, холестерина.

Процессы обмена веществ, происходящие исключительно или преимущественно в печени.

Углеводы: 1) превращение галактозы и фруктозы в глюкозу; 2) образование глюкозы из глюкозо-6-фосфата; 3) глюконеогенез, источниками для синтеза глюкозы являются: а) лактат и аланин, поступающие из мышц через цикл Кори и глюкозоаланиновый цикл, б) глицерин – из жировой ткани и в) глюконеогенные аминокислоты пищи.

Липиды: 1) синтез холестерина; 2) образование желчных кислот; 3) синтез ЛПОНП и ЛПВП; 4) образование кетонных тел из ацетил-КоА, образующегося при бета-окислении жирных кислот.

Азотистые соединения: 1) синтез мочевины; 2) синтез белков сыворотки крови; 3) конъюгация желчных пигментов; 4) синтез гема; 5)

обмен ароматических аминокислот; 6) обмен пуринов и пиримидинов; 7) перенос метильных групп.

2. Образование желчных пигментов

Средняя продолжительность жизни эритроцитов 120 суток. В нормальных условиях ежедневно происходит разрушение части эритроцитов и распад гемоглобина. Распад гемоглобина происходит в клетках РЭС: купферовских клетках печени, в гистиоцитах соединительной ткани любого органа. Разрушение гемоглобина происходит в следующей последовательности.

1. Разрыв метинового мостика между I и II пиррольными ядрами порфиринового кольца с одновременным окислением Fe^{2+} в Fe^{3+} . Образуется пигмент зеленого цвета – **вердоглобин** (Verdi – зеленый).

2. Удаление Fe и глобина, порфириновое кольцо разворачивается в цепь. Образуется пигмент желто-зеленого цвета – **биливердин**.

3. Восстановление биливердина и образование пигмента красно-желтого цвета – **билирубина**. Образовавшийся билирубин называют **свободным или неконъюгированным** или **непрямым**. Это токсическое вещество. Он не растворим в воде, рассмотрим в липидах, легко проходит через мембраны. В крови свободный билирубин транспортируется на альбуминах. Для определения свободного билирубина в крови необходимо предварительное осаждение альбумина спиртом. Только после этого билирубин вступает во взаимодействие с диазореактивом Эрлиха. Потому свободный билирубин по методу определения еще называют **непрямым билирубином**. Т.к. свободный билирубин связан с альбуминами, он не проникает через почечные клубочки в мочу, а также через биомембраны клеток.

При низком содержании альбумина в крови, а также при вытеснении билирубина из центров связывания на поверхности альбумина высокими концентрациями жирных кислот, лекарственных веществ (салицилаты, сульфаниламиды) увеличивается количество билирубина не связанного с альбуминами. Он может проникать в клетки мозга и повреждать их.

Вывод: свободный неконъюгированный (непрямой) билирубин – это нормальный компонент крови; в мочу не попадает.

Обезвреживание свободного билирубина происходит в печени. Здесь происходит перенос билирубина от альбумина через свободно проницаемую мембрану сосудистых синусов в гепатоциты. В гепатоцитах билирубин связывается с белком **лигандином**. Комплекс билирубин-лигандин путем активного транспорта попадает в гладкий эндоплазматический ретикулум. Здесь билирубин отщепляется от лигандина и происходит его конъюгация с глюкуроновой кислотой при уча-

стии УДФ-глюкуронилтрансферазы образуется моноглюкуронид билирубина. Он поступает к обращенной в сторону желчных канальцев поверхности гепатоцита. Здесь присоединяется второй остаток глюкуроновой кислоты, образовавшийся диглюкуронид билирубина активно секретруется в желчные канальцы.

Диглюкуронид билирубина получил название связанного или конъюгированного билирубина. Он растворим в воде, дает прямую реакцию с реактивом Эрлиха, поэтому его еще называют прямым билирубином.

Прямой (конъюгированный) билирубин – это нормальный компонент желчи и в кровь поступает в очень небольшом количестве. Прямой билирубин может проходить через почечные клубочки, но т.к. в крови в норме его очень мало, то в моче он не определяется обычными лабораторными методами.

Вместе с желчью прямой билирубин попадает в тонкий кишечник. Здесь от билирубина отщепляется глюкуроновая кислота и происходит его восстановление с образованием **мезобилиногена**. Основная масса мезобилиногена из тонкого кишечника попадает в толстый кишечник. В толстом кишечнике мезобилиноген при участии бактерий восстанавливается в стеркобилиноген. Стеркобилиноген окисляется в окрашенный стеркобилин и выделяется с калом, обеспечивая его окраску.



Часть мезобилиногена всасывается и попадает в портальную систему, где его основная масса извлекается гепатоцитами и секретируется в желчные ходы. В составе желчи мезобилиноген разрушается до **дипирролов**.

Очень незначительная часть всосавшегося мезобилиногена попадает в общий кровоток и выделяется с мочой в виде **уробилиногена**. Уробилиноген на воздухе окисляется в пигмент **уробилин**.

Распределение желчных пигментов в норме

кровь	общий билирубин	8,55-20,52 мкмоль/л
	непрямой (свободный) неконъюгированный	6,40-15,40 мкмоль/л
	прямой (связанный)	0-5,1 мкмоль
желчь	прямой (связанный)	
кал	стеркобилиноген (стеркобилин)	
моча	уробилиноген (уробилин)	следы

3. Желтуха

Желтуха – это синдром, характеризующийся желтой окраской кожи, слизистых, сыворотки крови в результате отложения и накопления желчеобразования и желчевыделения.

1. Гемолитическая (надпеченочная) желтуха. Усиленный гемолиз эритроцитов приводит к интенсивному образованию в клетках РЭС свободного непрямого билирубина. Печень не способна связать весь этот билирубин с глюкуроновой кислотой. В результате в крови и в тканях накапливается непрямой билирубин. Т.к. через печень пойдет увеличенный поток непрямого билирубина, то образуется больше и прямого билирубина. Увеличенное выделение прямого билирубина в желчь приведет к увеличению образования мезобилиногена и его производных – стеркобилиногена и уробилиногена.

Кровь:	↑общий билирубин за счет ↑свободного непрямого билирубина
Кал:	↑стеркобилиноген, темная окраска
Моча:	билирубин (-), ↑уробилиноген

2. Паренхиматозная (печеночная) желтуха. Повреждение печени приводит к нарушению функций гепатоцитов.

1) Нарушается процесс конъюгации свободного билирубина, поэтому в крови увеличивается его содержание.

2) Нарушается экскреция связанного билирубина в желчь, он частично попадает в кровь. Повышение в крови концентрации связанного билирубина приведет к появлению его в моче. Уменьшение поступления связанного билирубина в желчь приведет к меньшему образованию мезобилиногена и его производных: стеркобилиногена.

3) Однако нарушается процесс экскреции в желчь всосавшегося мезобилиногена, поэтому он поступает в общий кровоток, что увеличивает концентрацию уробилиногена в моче.

Кровь:	↑общий билирубин за счет непрямого и прямого билирубина
Кал:	↓стеркобилиноген
Моча:	билирубин (+), ↑уробилиноген

3. Обтурационная (подпеченочная) желтуха. При частичной или полной закупорке желчных протоков нарушается желчевыделение и составные части желчи попадают в кровь, т.е. в крови увеличивается содержание прямого билирубина и он появится в моче. Сдавливание клеток печени расширенными желтыми капиллярами нарушит связывание непрямого билирубина, что приведет к повышению в крови его концентрации. Уменьшение поступления желчи в кишечник, в зависимости от степени закупорки желчных протоков, приведет к уменьшению образования сезобилиногена, стеркобилиногена, уробилиногена.

Кровь:	↑общий билирубин за счет ↑↑прямого и ↑непрямого, ↑активность щелочной фосфатазы (в норме содержится в желчи), кожный зуд из-за желчных кислот
Кал:	↓↓стеркобилиноген (обесцвечен кал)
Моча:	билирубин (+), уробилиноген (-)

4. Сывороточно-биохимические синдромы при заболеваниях печени

1. Синдром нарушения целостности гепатоцита (синдром цитолиза, повышенной проницаемости):

1) Повышение активности в крови печеночноспецифичных ферментов: аланинаминотрансферазы с уменьшением коэффициента де Ритиса – АсАТ/АлАТ, альдолазы, изоформ лактатдегидрогеназы ЛДГ4 и ЛДГ5, глутаматдегидрогеназы, орнитин-карбамойлтранс-феразы, фруктозо-1-фосфатаальдолазы и др.;

2) Гипербилирубинемия (преимущественно за счет прямого билирубина);

3) Повышение в сыворотке крови содержания витамина В₁₂, железа.

2. Синдром холестаза (эксреторно-билиарный):

1) Повышение в крови активности γ -глутамилтранспептидазы;

2) Повышение в сыворотке крови активности щелочной фосфатазы;

3) Гипербилирубинемия;

4) Гиперхолестеринемия, увеличение в крови ЛПНП и снижение ЛПВП.

3. Синдром гепатоцеллюлярной недостаточности:

1) Понижение активности в крови холинэстеразы (бутирилхолинэстеразы);

2) Гипопротеинемия и диспротеинемия с понижением содержания в крови альбуминов;

3) Понижение содержания в крови протромбина и других факторов свертывания крови, нарушение коагуляции крови;

4) Гипохолестеринемия, снижение коэффициента эстерификации холестерина;

5) Гипербилирубинемия.

4. Синдром раздражения печеночного ретикулоэндотелия («воспалительный»):

1) Повышение в сыворотке крови содержания глобулинов (иногда с гиперпротеинемией);

2) Изменение белково-осадочных проб (сулемовой, тимоловой, Вельтмана, цинк-сульфатной, гепариновой и др.).

Лекция 48

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ КСЕНОБИОТИКОВ

Ксенобиотики – это вещества, чужеродные для организма. Их разделяют на три группы: 1) продукты хозяйственной деятельности человека (промышленность, сельское хозяйство, транспорт), 2) веще-

ства бытовой химии (моющие средства, вещества для борьбы с паразитами, парфюмерия), 3) большинство лекарств.

В XXI веке происходят всевозрастающее загрязнение ксенобиотиками внешней среды и увеличивающееся их поступление в организм человека. Это серьезно угрожает здоровью и даже жизни всех живых существ, включая человека, так как повреждает клетки и вызывает мутации, ведущие к злокачественным процессам или наследственным заболеваниям.

Конечно, в первую очередь надо заботиться об экологии. Но если загрязнение все же происходит, то мы не беззащитны: в каждой клетке происходят метаболизм, связывание и выведение ксенобиотиков, что в большинстве случаев приводит к снижению их токсичности. Это позволяет выживать даже на сильно загрязненных территориях, хотя, к сожалению, не исключает риска заболеваний.

1.Общая характеристика метаболизма ксенобиотиков

Метаболизм ксенобиотиков, как правило, приводит к снижению их активности – дезактивации, которую в случае токсичных веществ называют детоксикацией. Однако в некоторых (и не таких редких) случаях метаболиты ксенобиотиков становятся, наоборот, более активными (активация) и даже более токсичными (летальный синтез).

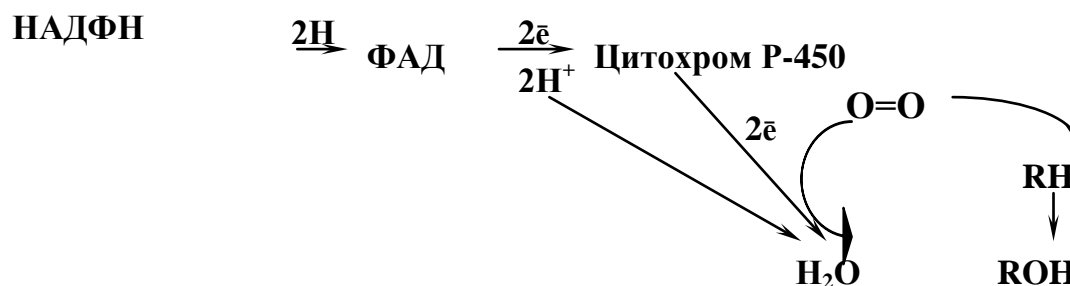
Активируются в организме и некоторые лекарства, и тогда они именуется пролекарствами, ведь истинные лекарства – это их активные метаболиты.

В метаболизме ксенобиотиков участвуют около 30 ферментов. В нем различают две фазы: 1) модификация, создающая или освобождающая функциональные группы, 2) конъюгация – присоединение к последним других групп или молекул. Наиболее часто метаболизм происходит именно в такой последовательности, но при наличии в молекуле ксенобиотика функциональных групп он может сразу же подвергнуться конъюгации. Обычно обе фазы, особенно при совместном действии, приводят к увеличению гидрофильности и снижению активности и токсичности молекулы. Третьей фазой – уже не метаболизма, а судьбы ксенобиотиков – можно считать связывание и выведение самих ксенобиотиков и их метаболитов из клетки, а затем из организма.

Первая фаза метаболизма

В этой фазе наиболее важной является локализованная в основном в мембранах эндоплазматической сети (ЭПС) система цитохрома P-450, называемая также микросомальной системой метаболизма или монооксигеназной системой. Ее основные функции – образование в

молекуле гидрофильных функциональных групп с детоксикацией десятков тысяч веществ. Важными достоинствами системы являются локализация и высокая мощность на главных путях поступления ксенобиотиков в организм – пищевом (печень и желудочно-кишечный тракт) и дыхательном (легкие). Транспорт атомов водорода и электронов в ЭПС печени при гидрокселировании субстрата (это самый частый и важный случай) происходит следующим образом:



Однако этой системе присущи и серьезные ограничения и даже недостатки: 1) слабость или отсутствие во многих жизненно важных органах (сердце, головной мозг), 2) меньшая защита организма при других путях проникновения (слизистые, раны, инъекции), 3) токсификация некоторых веществ. Так, система цитохрома Р-450 превращает хлороформ, хорошее средство для общего наркоза, в боевое отравляющее вещество фосген ($\text{CHCl}_3 \rightarrow \text{Cl}_2\text{C}=\text{O}$), что объясняет высокую токсичность хлороформа. Популярное обезболивающее и жаропонижающее лекарство парацетамол превращается в метаболит, в больших дозах повреждающий печень и почки, – нужна осторожность в применении при заболеваниях этих органов. Полициклический ароматический углеводород (ПАУ) бенз(а)пирен превращается в канцерогенный (вызывающий рак) метаболит дигидроксиэпоксид, следовательно, бенз(а)пирен только проканцероген, а истинным канцерогеном он становится после токсификации системой цитохрома Р-450.

Вторая фаза метаболизма

Основные функции этой фазы те же, что и первой: увеличение гидрофильности и снижение токсичности ксенобиотиков. Наиболее важные ферменты второй фазы относятся к классу трансфераз.

Наиболее широка и многообразна активность семейства глутатионтрансфераз, метаболизирующих тысячи ксенобиотиков. Большинство этих ферментов находится в гиалоплазме, но один из них локализован в мембранах ЭПС и митохондрий, другой – в хроматине. Основная реакция – конъюгация с восстановленным глутатионом (GSH).

Основные виды конъюгации

Фермент	Метаболит, используемый для конъюгации	Активная форма
Глутатионтрансферазы УДФ-глюкуронилтрансферазы Сульфотрансферазы	GSH Глюкуронат Сульфат	Он же УДФ-глюкуронат Аденозин-3'-фосфат-5'-фосфосульфат
Ацетилтрансферазы Метилтрансферазы	Ацетат Метил	Ацетил-КоА S-аденозилметионин

Локализованные в основном в ЭПС уридиндифосфат(УДФ)-глюкуронилтрансферазы присоединяют остаток глюкуроновой кислоты, а гиалоплазматические сульфотрансферазы – сульфат к фенолам, спиртам и аминам. Эти ферменты метаболизируют, например, анилин, фенол, морфин, левомецетин, салицилат, парацетамол, зидовудин (лекарство против СПИДа), пероральные контрацептивы (средства для предупреждения беременности).

Ацетилтрансферазы метаболизируют путем присоединения ацетила к N- (сульфаниламиды, противотуберкулезные средства изониазид и n-аминосалициловая кислота (ПАСК)) или к O- (некоторые канцерогены). Мембранные и гиалоплазматические метилтрансферазы метилируют OH-, NH₂- и SH-группы и метаболизируют, например, пиридин, тиоурацил, унитиол, кокаин.

Функционирование всех ферментов второй фазы ограничивается тем, что они метаболизируют только те вещества, которые имеют функциональные группы. Именно поэтому эти ферменты чаще включаются после образования или освобождения функциональных групп ферментами первой фазы, то есть во второй фазе метаболизма ксенобиотиков. Однако трансферазы имеют важные достоинства: 1) они есть во всех клетках, поэтому: 2) функционируют при любых путях поступления ксенобиотиков в организм, 3) осуществляют или завершают детоксикацию, а иногда исправляют ошибки первой фазы. Так, они обезвреживают токсичные метаболиты ПАУ (канцерогены), хлороформа (фосген), парацетамола.

2. Связывание, транспорт и выведение ксенобиотиков

Эти процессы чаще носят физический характер. В плазме крови огромное количество как эндогенных (жирные кислоты, свободный билирубин), так и экзогенных веществ (сульфаниламиды, антибиотики, салицилаты, сердечные гликозиды, противосвертывающие) связывается и транспортируется альбумином. Некоторые вещества (жирораство-

римые витамины, анаболические стероиды) переносят липопротеины. В клетках, особенно печени, многие ксенобиотики (ПАУ, канцерогены, нитропроизводные, антибиотики) связываются (некоторые ковалентно) глутатионтрансферазами. Металлы связываются SH-группами GSH и небольшого белка металлотионеина, очень богатого остатками цистеина. Связанные ксенобиотики неактивны, постепенно они освобождаются, метаболизируются и выводятся.

Очень важный механизм выведения из клетки ксенобиотиков – функционирование Р-гликопротеина, являющегося транспортной АТФазой. Когда гидрофобное вещество, в том числе противораковое лекарство, проникает в клетку, то оно удаляется из нее Р-гликопротеином за счет энергии гидролиза АТФ. Это снижает эффективность химиотерапии рака.

Большинство ксенобиотиков в результате метаболизма становятся более гидрофильными, поступают в плазму крови, откуда они удаляются почками с мочой. «Кооператив» печень – почки играет важнейшую роль в обезвреживании и выведении из организма большинства ксенобиотиков. Вещества более гидрофобные или с большой молекулярной массой (>300) чаще выводятся с желчью в кишечник и затем удаляются с калом.

3. Индукция защитных систем

Есть данные, что еще в древности Митридат систематически принимал небольшие дозы ядов, чтобы избежать острого отравления. «Эффект Митридата» основан на индукции определенных защитных систем: фенобарбитал индуцирует систему цитохрома Р-450, глутатион- и УДФ-глю-куронилтрансферазы и эпоксидгидролазы; дибунол (бутилокситолуол) и бутилоксианизол – эти же трансферазы и ферменты синтеза глутатиона; противораковые лекарства – Р-гликопротеин и синтез глутатиона; металлы вызывают накопление обоих видов связывающих их SH-веществ. В результате возрастает устойчивость клеток и организма к ядам и лекарствам. Так, снотворное действие фенобарбитала постепенно все больше снижается. Курсовое введение фенобарбитала у новорожденных увеличивает связывание и, следовательно, обезвреживание свободного билирубина при наследственном дефекте этой системы или гемолитической желтухе. При химиотерапии злокачественных процессов начальная эффективность лекарства часто постепенно падает, более того, развивается множественная лекарственная устойчивость, то есть устойчивость не только к этому средству, но и целому ряду других. Вещества, ингибирующие Р-гликопротеин или его индукцию и ферменты синтеза глутатиона, перспективны для повышения эффективности химиотерапии.

4. Действие ксенобиотиков на организм

Токсическое действие ксенобиотиков включает 3 главных типа эффектов:

1. Клеточное повреждение, которое может привести к гибели клеток. Есть много механизмов, ведущих к повреждению клеток. Один из них связан с ковалентным связыванием активных метаболитов ксенобиотиков с ДНК, РНК, белками. Если это приводит к нарушению быстро протекающих процессов в клетке, важных для ее выживания (окислительное фосфорилирование, проницаемость мембран), то эффекты повреждения клеток развиваются быстро.

2. Активные метаболиты ксенобиотиков могут связываться с белками, модифицировать их и изменять антигенные свойства. В результате клетка повреждается различными иммунологическими механизмами.

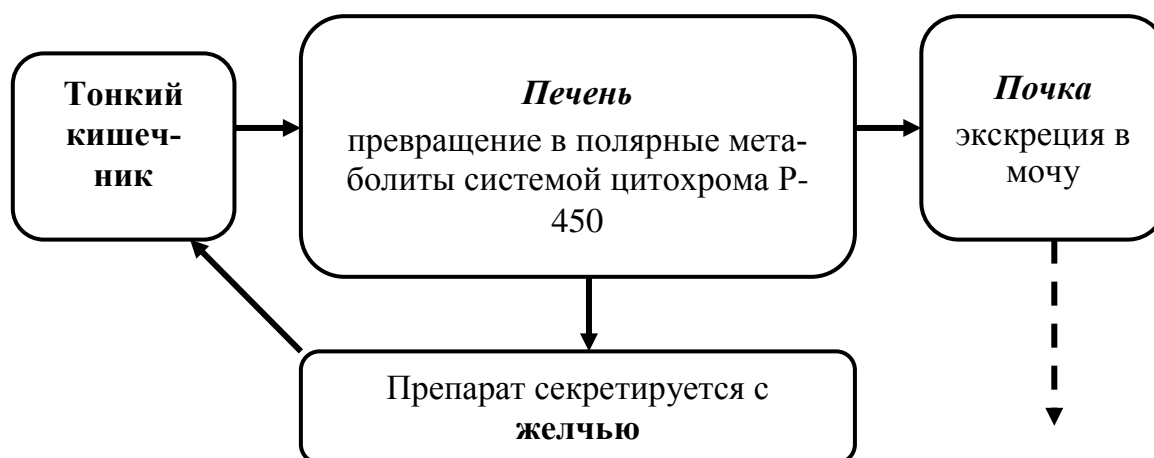
3. Стимуляция химического канцерогенеза.

Некоторые ксенобиотики способны оказывать канцерогенное действие только после их биотрансформации (непрямой канцерогенез). Например – бензпирен (проканцероген) после I этапа превращается в гидроксипирен, являющийся канцерогеном. В ходе монооксигеназных реакций из ряда ксенобиотиков образуются эпоксиды. Эпоксиды высоко реактивны, мутагенны и канцерогенны. Их инактивация происходит с помощью эпоксидгидролаз, присутствующих в мембранах эндоплазматического ретикула.

5. Метаболизм лекарств в здоровой печени

Большинство лекарств является жирорастворимыми веществами. Это свойство, с одной стороны, определяет хорошее всасывание препаратов в ЖКТ, т.к. слизистая кишечника в принципе представляет собой двойной липидный слой, а с другой стороны препятствует экскреции препаратов почками. В связи с этим одной из функций печени является защита организма от накопления в крови экзогенных и эндогенных жирорастворимых компонентов путем уменьшения их проницаемости сквозь липидные мембраны. Эта функция осуществляется путем превращения жирорастворимых компонентов в водорастворимые, экскретируемые с мочой. Другим фактором, определяющим ключевую роль печени в метаболизме медикаментов, является ее положение «больших ворот» для проникновения в организм всего того, что поступает в ЖКТ.

Схема нормального метаболизма медикаментов при приеме внутрь



Факторы, влияющие на скорость метаболизма препаратов

- Генетические особенности (скорость ацетилирования).
- Характер питания (уровень альбуминов, наличие кофакторов).
- Употребление алкоголя и барбитуратов (хроническое употребление – индукция цитохрома Р-450, однократный прием большой дозы – супрессия).
- Возраст (возрастное снижение клиренса медикаментов).
- Пол.
- Наличие заболевания печени.
- Состояние проницаемости мембран гепатоцита для данного медикамента.
- Химическое строение препарата.

Лекция 49

БИОХИМИЯ КРОВИ

1. Функции крови

Кровь – это высокоспециализированная ткань, выполняющая важные функции.

1. **Дыхательная** – кровь транспортирует O_2 от легких к тканям и CO_2 от тканей к легким.

2. **Гомеостатическая** – поддерживает постоянство внутренней среды клеток и тканей, т.е. физико-химические условия: рН, осмотическое давление, ионный состав.

3. **Питательная** – доставляет питательные вещества к тканям.

4. **Поддерживает водный баланс.**

5. **Регуляторная** – 1) Транспортирует биологически активные вещества – гормоны, медиаторы к тканям. 2) Образование в клетках крови регуляторов обмена веществ: гистамина – в базофилах, эозинофилах, серотонина – в базофилах, тромбоцитах, гепарина – в базофилах. 3) Из белков плазмы образуются активные полипептиды – кинины: брадикинин, каллидин. Они регулируют скорость кровотока, повышают проницаемость капилляров, стимулируют сокращение сердца, понижают АД, расширяя периферические и коронарные сосуды, сокращают гладкие мышцы бронхов, кишечника, матки.

6. **Экскреторная** – доставляет конечные продукты обмена к органам выделения.

7. **Терморегуляторная** – через теплообмен.

8. **Защитная:** 1) иммунная – наличие иммунных белков – Ig – и 2) гемостатическая – наличие белков системы свертывания крови, предохраняющих организм от кровопотери.

9. **Обезвреживающая** – осуществляется путем разведения поступающих токсических веществ, связывания их с альбуминами, а также превращения некоторых из них ферментами.

2. Состав крови

Кровь состоит из плазмы и взвешенных в ней форменных элементов: эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов. Клетки составляют 45% объема.

Плазма крови – жидкая часть после осаждения форменных элементов.

Сыворотка крови – плазма без фибриногена. Содержит воду, электролиты, метаболиты, питательные вещества, белки, гормоны. Большую часть сухого остатка крови – 85% плазмы составляют белки. Норма содержания общих белков в плазме 65-85 г/л. В настоящее время описаны около 100 белковых компонентов плазмы. Для их разделения применяют метод электрофореза. При грубом делении все белки плазмы делят на альбумины, глобулины, фибриноген.

Альбумины – в норме содержание в крови 40-50 г/л. Самые легкие белки крови, М.м. в пределах 65-70 тыс. Составляют 55-60% всех белков плазмы. Быстро обновляющиеся белки – период полураспада – 7 суток. Альбумины выполняют ряд важных функций.

1. Обеспечивают в основном коллоидно-осмотическое давление плазмы (онкотическое), т.к. обладают высокой гидрофильностью и низкой М.м. (онкотическое давление зависит от количества молекул).

Онкотическое давление, создаваемое белками, препятствует выходу воды из сосудов. Снижение концентрации альбумина в крови приводит к отекам.

2. Транспортная – обусловлена наличием большого числа реакционно-способных групп – NH_2 , COOH , SH , OH и др. Альбумины транспортируют Ca , Zn , Cu , I , жирные кислоты, витамин Д, стероидные гормоны, желчные пигменты, токсины, лекарства – пенициллины, сульфаниламиды, аспирин. Следовательно, альбумины – неспецифические переносчики.

3. Обеспечение постоянства рН крови – мощная буферная система.

4. Резервная – при белковом голодании источником аминокислот для синтеза белков становятся продукты гидролиза альбуминов.

Глобулины – это гетерогенная смесь белков, содержание в крови – 20-30 г/л, нерастворимы в воде, растворимы в солевых растворах. При электрофорезе на бумаге разделяются на фракции α_1 , α_2 , β , γ . М.м. > 75 тыс.

Функции:

1. Участие в создании коллоидно-осмотического давления плазмы.

2. Транспортная (специфические переносчики), например:

- липиды – липопротеины;
- стероидные гормоны – транскортины;
- половые гормоны – тестостерон, эстрадиол-связывающие белки;
- V_{12} – транскобаламин;
- Fe – трансферрин;
- Cu – церулоплазмин.

3. Поддержание постоянства рН.

4. Защитная – иммуноглобулины.

5. Фибриноген участвует в процессе свертывания крови, относится к глобулинам, норма содержания в крови – 2-4 г/л.

Почти все глобулины синтезируются в печени, γ -глобулин – в РЭС.

3. Белки острой фазы воспаления

В крови существует группа белков, связанных с острым воспалительным процессом, так называемая «**белки острой фазы**». Большинство из них синтезируется в печени. Сигналом для их синтеза служат медиаторы пептидной природы (например, интерлейкин I), освобождающиеся клетками воспалительного очага.

К белкам острой фазы относят:

1. **Лектины.** Это специфические белки, избирательно и обратимо связывающие углеводные компоненты гликоконъюгатов различной природы. Эндогенные лектины являются новым типом биологических и иммунологических маркеров, позволяющих диагностировать воспалительные и онкологические заболевания.

Лектины принимают участие:

- 1) в процессах иммунорегуляции;
- 2) активации комплемента;
- 3) адгезии лейкоцитов к эндотелию
- 4) лектинофагоцитоза;
- 5) метастазирования.

Примеры лектинов:

Маннозосвязывающий белок – МВР, связывает маннозо-содержащие углеводные структуры микроорганизмов, активирует систему комплемента, фагоцитоз патогенных микробов. Его содержание увеличивается в 1,5-3 раза у больных малярией, после хирургических операций. При наследственном заболевании у детей, сопровождающимся снижением уровня МВР, развивается синдром иммунодефицита, сопровождающийся повторяющимися бактериальными и грибковыми инфекциями.

Лектины сурфактантной системы оказывают активирующее действие на альвеолярные макрофаги, включая стимуляцию процесса фагоцитоза микробов и избирательную стимуляцию окислительного метаболизма.

Сурфактант – белково-липидная смесь, покрывающая поверхность альвеол и обеспечивающая снижение величины их поверхностного натяжения, необходимого для поддержания эластичности и предотвращения коллапса легких. При легочных заболеваниях изменяется уровень сурфактантовых белков в крови.

С-реактивный белок (СРП, СРБ) и амилоидный белок сыворотки крови человека SAP (пентраксины). СРП взаимодействует с С-полисахаридами пневмококков. Эти лектины могут непосредственно инактивировать воспалительные агенты, снижать степень повреждения тканей и способствовать их регенерации и восстановлению, способны активировать систему комплемента. Норма содержания СРП в крови – 0 г/л, при воспалении – до 0,1 г/л.

2. **Ингибиторы трипсина, антитрипсин и др.** Ингибиторы протеолитических ферментов, освобождаемых из лизосом при разрушениях бактериальных клеток и обеспечивающие минимальное повреждение тканей хозяина. Содержание в крови в норме – 2,5-4,0 г/л, при воспалении 5-7 г/л.

3. **Гаптоглобин** синтезируется в печени. Факторы, регулирующие его образование, неизвестны. Биологическая роль также недостаточно ясна. Комплекс гемоглобин-гаптоглобин быстро разрушается в организме, поэтому он может ускорять катаболизм гемоглобина, попавшего в плазму крови при разрушении эритроцитов в очаге воспаления. Возможно, гаптоглобин сохраняет Fe в организме. Содержание в крови в норме – 0,6-1,8г/л, при воспалении – 3-6г/л.

4. Ферменты плазмы крови

1) **Секреторные** – синтезируются в органах, но свое действие оказывают только в сосудистом русле. Например, ЛХАТ, ЛПЛ. ЛХАТ синтезируется в печени, катализирует эстерификацию холестерина в сосудистом русле. ЛПЛ синтезируется в клетках жировой и мышечной ткани, секретируется в кровь и участвует в гидролизе триацилглицеринов, входящих в состав липопротеинов.

2) **Индикаторные** – синтезируются и оказывают свое действие только в тканях. Появление их в крови говорит о повреждении клеток. Например, АсАТ, АлАТ.

3) **Экскреторные** – нормальные компоненты желчи, при желчнокаменной болезни попадают в кровь. Например, щелочная фосфатаза, лейцинаминопептидаза.

В плазме крови содержатся промежуточные и конечные продукты обмена белков. Это небелковые азотистые вещества: полипептиды, аминокислоты, мочевины, мочевая кислота, креатин, креатинин, пурины, пиримидины.

Среди безазотистых веществ в крови присутствуют продукты обмена углеводов и липидов: глюкоза, молочная и пировиноградная кислоты, жирные кислоты, глицерин, кетоновые тела.

Постоянными компонентами плазмы являются минеральные вещества: NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂, NaHCO₃, CaCO₃, K₂HPO₄, Ca(PO₄)₂, Na₂SO₄, незначительные количества соединений Fe, Cu, Zn, I, Mn, Co.

5. Белки эритроцитов

Представлены гемоглобином и небольшим количеством белков стромы.

Различают два основных типа белков плазматической мембраны: поверхностные и интегральные. Поверхностные белки локализованы на внутренней цитоплазматической поверхности мембраны. К ним относятся глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, **актин**, **спектрин**. Цепи спектрина образуют разветвленную волокнистую сеть. Спектрин стабилизирует и регулирует вместе с актином форму мембраны эритроцитов, которая изменяется при прохождении клеток через капилляры.

Интегральные белки расположены внутри мембраны. Их можно отделить от мембраны только с помощью детергентов или органических растворителей. В мембране имеется **анионный канал**, делающий ее проницаемой для HCO_3^- и Cl^- . Это димер белка и составляет $\frac{1}{4}$ общего количества белка в мембране. Этот канал имеет большое значение для транспорта CO_2 эритроцитами, канал Na^+K^+ АТФ-азы.

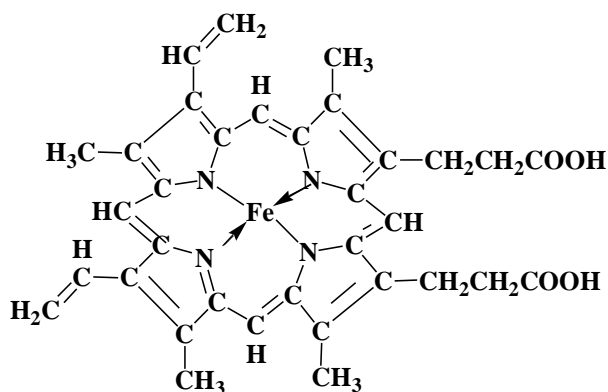
Гемоглобин - основной белок эритроцитов. Это сложный Fe содержащий белок с **м.м. 68000**. Состоит из белковой части – глобина и простетической группы гема. Молекула имеет 4 субъединицы с М. м. 17 тыс. каждая. В состав субъединицы входит гем и одна полипептидная цепь.

В глобин входит 574 аминокислоты. Различают 2 α и 2 β цепи. α -цепь состоит из 141 аминокислоты, N концевая - валин, С - аргинин. β -цепь имеет 146 аминокислот, N концевая - валин, С - гистидин. Четвертичная структура гемоглобина состоит из 2-х α и 2-х β цепей:

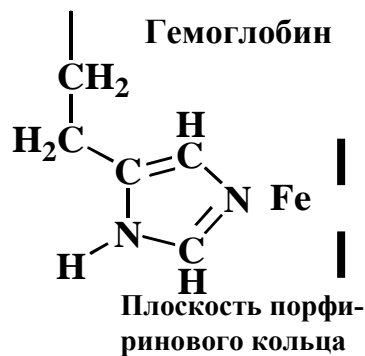
$\alpha_2 \beta_2$. Это основной гемоглобин взрослого человека HbA_1 (adultus).

Гемовые группы находятся на поверхности глобулы в особых карманах, образованных петлями полипептидной цепи. Глобин соединяется через имидазольное кольцо гистидина с гемом по 5 координационной связи железа.

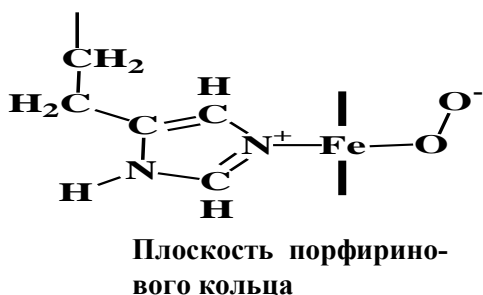
а) Гем



б)



в) Оксигемоглобин

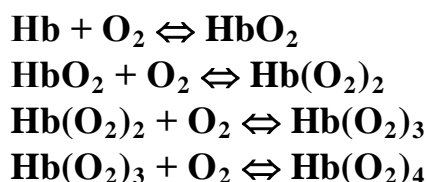


Структура гема (а), структура активного центра дезоксигемоглобина (б), структура активного центра оксигемоглобина (в)

Атом железа может образовать шесть координационных связей. Четыре связи направлены к атомам азота пиррольных колец, оставшиеся две связи – перпендикулярно к плоскости порфиринового кольца по обе его стороны. Гемы расположены вблизи поверхности белковой глобулы в специальных карманах, образованных складками полипептидных цепей глобина. Гемоглобин при нормальном функционировании может находиться в одной из трех форм: феррогемоглобин (обычно называемый дезоксигемоглобином или просто гемоглобином), оксигемоглобин и ферригемоглобин (называемый также метгемоглобином). В феррогемоглобине железо находится в закисной форме Fe(II), одна из двух связей, перпендикулярных к плоскости порфиринового кольца, направлена к атому азота гистидинового остатка, а вторая связь свободна (рис. б). Кроме этого гистидинового остатка, называемого проксимальным (соседним), по другую сторону порфиринового кольца и на большем расстоянии от него находится другой гистидиновый остаток – дистальный гистидин, не связанный непосредственно с атомом железа. Взаимодействие молекулярного кислорода со свободным гемом приводит к необратимому окислению атома железа тема $[\text{Fe(II)} \Rightarrow \text{Fe(III)}; \text{гем} \Rightarrow \text{гемин}]$. В дезоксигемоглобине глобин предохраняет железо гема от окисления.

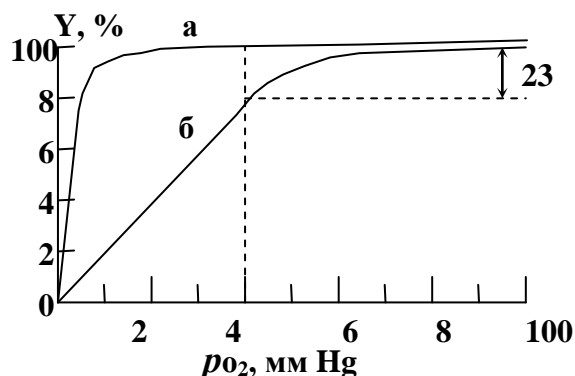
Обратимое присоединение кислорода (оксигенация), позволяющее гемоглобину выполнять свою основную функцию переносчика, обеспечивается возможностью образовать прочные пятую и шестую координационные связи и перенести электрон на кислород не от железа (то есть окислить Fe^{2+}), а от имидазольного кольца проксимального гистидина. Вместо молекулярного кислорода железо гема может присоединить окись углерода CO (угарный газ). Даже небольшие концентрации CO приводят к нарушению кислородпереносящей функции гемоглобина и отравлению угарным газом.

Выше было сказано, что одна молекула гемоглобина содержит четыре субъединицы и, следовательно четыре тема, каждый из которых может обратимо присоединить одну молекулу кислорода. Поэтому реакцию оксигенации можно разделить на четыре стадии:



Прежде чем рассмотреть эту главную функциональную реакцию гемоглобина более детально, необходимо сказать несколько слов о мышечном гемоглобине – миоглобине. Он содержит одну молекулу гема и одну полипептидную цепочку, состав и структура которой подобны составу и структуре β -субъединицы гемоглобина. Как и для ге-

моглобина, важнейшей функцией миоглобина является обратимое присоединение молекулярного кислорода. Эту функцию характеризует так называемая кривая оксигенации, связывающая степень насыщения гемоглобина кислородом (в процентах) с парциальным давлением последнего, pO_2 (мм Hg).



Типичные кривые оксигенации гемоглобина и миоглобина (при условии достижения химического равновесия) приведены на рис. Для миоглобина кривая является гиперболой, как и должно быть в случае одностадийной химической реакции при условии достижения химического равновесия:

Кривые оксигенации миоглобина (а) и гемоглобина (б)

Совершенно другая картина возникает в случае гемоглобина. Кривая диссоциации имеет S-образную форму. Без кислорода молекулы гемоглобина обладают низким сродством к кислороду, затем кривая становится круче и при высоких значениях pO_2 практически сливается с кривой диссоциации миоглобина.

Между гемами одной молекулы гемоглобина существует некоторая связь, благодаря которой присоединение кислорода к одному гему влияет на присоединение кислорода к другому гему той же молекулы. Это явление получило название гем-гем взаимодействия. Физиологический смысл гем-гем взаимодействия очевиден. Сигмоидная форма кривой диссоциации создает условия максимальной отдачи кислорода при переносе гемоглобина от легких с высоким значением pO_2 к тканям с низким значением pO_2 . Для человека значения pO_2 артериальной и венозной крови в нормальных условиях ($T 37^\circ C$, $pH 7,4$) равны соответственно 100 и 40 мм Hg. При этом (рис. б) гемоглобин отдает тканям 23% связанного кислорода (степень оксигенации меняется от 98 до 75%). При отсутствии гем-гем взаимодействия для одномолекул миоглобина (рис. а) эта величина не превышает 5%. Миоглобин поэтому служит не переносчиком, а депо кислорода и отдает его мышечной ткани лишь при резкой гипоксии, когда насыщение ткани кислородом падает до недопустимо низкого значения.

Присоединение кислорода меняет кислотно-основные свойства гемоглобина. Оксигемоглобин является более сильной кислотой, чем дезоксигемоглобин. Поэтому в тканях, где значительная часть гемоглобина теряет кислород и становится более сильным основанием, гемоглобин связывает образующуюся в ходе метаболических внутриклеточных процессов углекислоту. В альвеолах легких дезоксигемоглобин

снова превращается в оксигемоглобин, становится более сильной кислотой и способствует отщеплению CO_2 . Это слегка упрощенное описание важного процесса **транспорта углекислоты эритроцитами**. Углекислота, освобождаясь тканями, недостаточно хорошо растворима для эффективного переноса. С помощью фермента карбоангидразы, ускоряющего прямую и обратную реакцию двуокись углерода



превращается в хорошо растворимый бикарбонат-анион. В капиллярах тканей отщепление кислорода повышает содержание дезоксигемоглобина, связывающего протоны и смещающего, таким образом, равновесие реакции вправо. Легко растворимый ион бикарбоната переносится кровью. В альвеолах легких гемоглобин оксигенируется, протоны освобождаются и равновесие смещается влево. Образуется плохо растворимая двуокись углерода CO_2 , которая удаляется из водной фазы и выдыхается. Таким образом, гемоглобин работает как буфер с переменным значением рК. Функция гемоглобина как переносчика углекислоты не менее важна, чем его функция переносчика кислорода.

Производные гемоглобина

1) Гемоглобин, не связанный с O_2 и содержащий гем с Fe 2-х валентным, называют **дезоксигемоглобином**, восстановленным гемоглобином, сокращенно **Hb**.

2) Полностью оксигенированный **Hb**, называемый оксигемоглобином, содержит 4 молекулы O_2 .

3) Гемоглобин может присоединять CO_2 , образуя карбогемоглобин.

4) Карбоксигемоглобин образуется при присоединении угарного газа CO . При этом гемоглобин теряет способность связывать O_2 , развивается удушье.

5) Метгемоглобин – содержит Fe в 3-х валентной форме и не может присоединять O_2 . В небольших количествах образуется в норме, но при участии метгемоглобинредуктазы восстанавливается до гемоглобина.

Повышение количества метгемоглобина (**метгемоглобинемия**) наблюдается у людей:

1) После воздействия амилнитрита, анилина, (нитробензола), нитратов, сульфаниламидов, (фенацетина), салицилатов - окисляющих Fe 2-х валентное в Hb до 3-х валентного.

2) Семейная метгемоглобинемия обусловлена редкой врожденной недостаточностью метгемоглобинредуктазы в эритроцитах боль-

ных. В этом случае от 25 до 40% всего гемоглобина может находиться в виде MetHb, что приводит к цианозу.

3) С HbM.

HbM - это группа гемоглобинов, у которых вследствие мутации остаток гистидина, участвующий в связывании Fe, замещен другими аминокислотами, чаще тирозина. Это приводит к тому, что Fe окислено до Fe³⁺ и не может восстановиться метгемоглобинредуктазой.

MetHb способен связать синильную кислоту с образованием малотоксичного цианметгемоглобина. Поэтому противоядием при отравлении синильной кислотой являются препараты, превращающие часть гемоглобина в MetHb (мет. синь, амилнитрит).

Нарушение способности крови транспортировать O₂ при метгемоглобинемии зависит от соотношения гемоглобина и метгемоглобина. Легкая степень метгемоглобинемии клинических последствий не имеет, исключая несущественный косметический дефект - легкая цианотичность.

6. Гетерогенность гемоглобина

Различают 3 типа гетерогенности: 1) эмбриональная, 2) обусловленная наличием минорных Hb, 3) генетическая.

1) **Эмбриональная.** В эритроцитах плода наибольшую часть составляет фетальный гемоглобин HbF. У него две α цепи как у HbA и две γ цепи, -α₂γ₂. γ цепи отличаются от β цепей иной последовательностью 37 аминокислот. Сродство к O₂ у HbF значительно выше, чем у HbA. Поэтому HbF обеспечивает доставку O₂ эмбриону из системы кровообращения матери. После рождения HbF начинает исчезать и через 4-6 месяцев не обнаруживается.

2) **В эритроцитах** взрослого кроме основного HbA₁α₂β₂ имеются минорные гемоглобины, составляющие 5-10% от общего количества гемоглобина:

а) HbA₂ составляет 2,5%, имеет 2α и 2δ (дельта) цепи α₂δ₂. δ цепи отличаются от β цепей последовательностью 10 аминокислот.

б) HbA_{1b} - 3-6%, HbA_{1c} - 1%, образуются в результате гликозилирования N концевых остатков валина β цепей. При диабете количество этих гемоглобинов повышается.

3) Генетическая гетерогенность связана с точечными мутациями в одном из генов, кодирующих синтез α,β,γ или δ цепей. Выявлено 300 вариантов гемоглобина, они называются аномальные Hb.

7. Гемоглобинопатии

Структурные аномалии гемоглобина, приводящие к клиническим признакам болезни, называют гемоглобинопатии. При этом изменяется

одно из 3-х свойств нормального Hb: 1) растворимость, 2) сродство к O_2 , 3) устойчивость к денатурации.

1) Изменение растворимости наблюдается при серповидно-клеточной анемии. Эритроциты содержат HbS, у которого в β цепи в 6-ом положении вместо глутамата расположен валин. Такое замещение полярной боковой цепи на неполярную, приводит к резкому понижению растворимости дезоксигемоглобина S. В результате образуется волокнистый осадок, который деформирует эритроцит, придавая ему форму серпа. Такие эритроциты быстро разрушаются, возникает гемолитическая анемия. Анемия возникает только у гомозигот, у гетерозигот - бессимптомно. Эта мутация имела приспособительное значение и была распространена в зонах малярии. Люди с такими генами значительно меньше подвержены малярии, так как в серповидных эритроцитах условия для развития малярийного плазмодия не благоприятны.

2) Мутации, приводящие к замене аминокислот вблизи гема, вызывают нарушение связывания O_2 . В HbM гистидин заменен на тирозин, в результате HbM стабилизирован в форме MetHb и не способен связывать O_2 .

3) Замена аминокислот во внутренней части молекулы Hb, приводит к изменению третичной структуры и как следствие к нестабильности молекулы Hb.

8. Синтез гема и глобина, регуляция

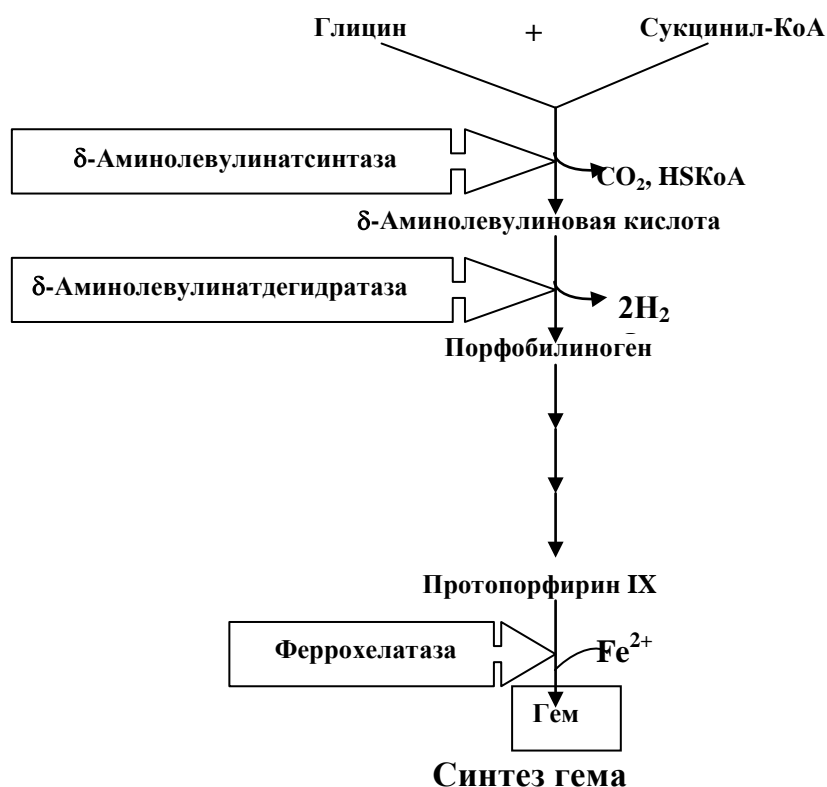
Синтез глобина

Цепи α и β глобина синтезируются на полисомах, образованных, как правило, пятью рибосомами. Цепь α освобождается первой, присоединяется к β цепи, еще связанной с рибосомой и отделяет ее, образуя димер $\alpha\beta$. Два димера соединяются в молекулу Hb $\alpha_2\beta_2$. Соединение гема с глобином может происходить или в процессе синтеза полипептидных цепей или после окончания синтеза глобина.

Ферменты синтеза гема аллостерически ингибируются гемом и гемоглобином.

Синтез пептидных цепей Hb происходит только в присутствии гема. При низкой концентрации гема синтез глобина замедляется. Отсюда синтез гема и глобина происходит координировано и ни один из этих компонентов не образуется в избыточном или недостаточном количестве.

Стероидные гормоны и некоторые лекарства (барбитураты, диклофенак, сульфаниламиды, эстрогены, прогестины) являются индукторами синтеза аминолевулинатсинтазы.



В результате генетических дефектов или нарушения регуляции ферментов, участвующих в биосинтезе гема, развиваются **порфирии**. Первичные порфирии обусловлены генетическими дефектами ферментов синтеза гема, вторичные связаны с нарушениями регуляции реакций синтеза гема. При этих заболеваниях накапливаются промежуточные метаболиты синтеза гема - порфириногены, которые оказывают токсическое действие на нервную систему и вызывают невропсихические симптомы. Порфириногены на свету превращаются в порфирины, которые при взаимодействии с кислородом образуют активные радикалы, повреждающие клетки кожи.

Генетически обусловленное нарушение синтеза одной из нормальных цепей гемоглобина приводит к **талассемии**. Если угнетается синтез β цепей, развивается β талассемия, α - α талассемия. При β талассемии наряду с HbA_1 в крови появляется до 15% HbA_2 и резко повышается содержание HbF . Болезнь характеризуется поражением печени, селезенки, разрушением костного мозга, деформацией черепа, тяжелой гемолитической анемией. Талассемия α не совместима с жизнью, так как в каждый Hb входит α цепь.

9. Метаболизм эритроцита

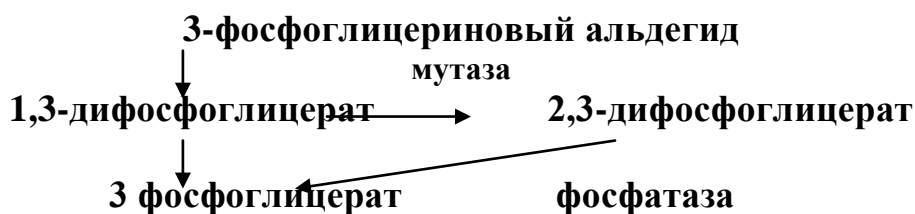
Зрелый эритроцит млекопитающих не содержит клеточных органелл, поэтому для него характерен упрощенный метаболизм, предназначенный для сохранения структуры мембраны и стромы эритроцита, и предотвращения окисления Fe в гемоглобине.

Для реконструкции мембраны используются белки и липиды плазмы – происходит обмен между эритроцитами и окружающей их плазмой.

Жизнеспособность эритроцита определяется двумя метаболическими путями: анаэробным гликолизом и пентозофосфатным.

Примерно 90% глюкозы в эритроцитах распадается в процессе гликолиза и 10% - в пентозофосфатном пути. Потребление O_2 эритроцитами очень низкое и связано преимущественно с окислением гемоглобина в метгемоглобин. Образующийся в ходе этой реакции супероксидный ион $O_2^{\cdot -}$ удаляется супероксиддисмутазой, которая очень активна в цитозоле эритроцита.

Энергия гликолиза обеспечивает работу $Na^+ K^+$ АТФ-азы, блокада гликолиза приводит к выравниванию трансмембранного потенциала и гибели эритроцита. Особенностью гликолиза в эритроцитах является наличие шунта, приводящего к образованию 2,3-дифосфоглицерата.



2,3-дифосфоглицерат является одним из регуляторов переноса O_2 . Он связывается с гемоглобином и уменьшает сродство его к O_2 , таким образом облегчается освобождение O_2 из эритроцитов в тканях.

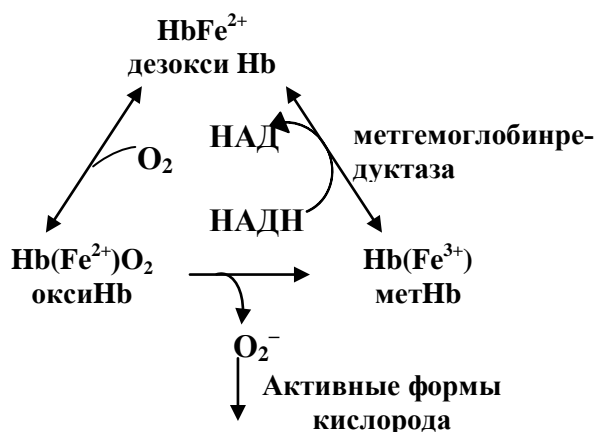
Активно используется глюкоза в эритроцитах и по пентозофосфатному пути. Образующиеся при этом НАДФН₂ используется в защитных восстановительных системах, например, для восстановления глутатиона. Восстановленный глутатион используется: 1) для поддержания в восстановленной форме цистеиновых остатков белков, 2) в процессах детоксикации, 3) предотвращает Fe в гемоглобине от окисления. При наследственных заболеваниях, когда активность ферментов ПФП снижена, наблюдается патологический гемолиз и развитие анемии.

Высокое содержание кислорода в эритроцитах вызывает повышение скорости образования супероксидного анион-радикала, H_2O_2 (пероксида водорода) и OH^{\cdot} (гидроксил-радикала).

Постоянным источником активных форм кислорода в эритроцитах является неферментативное окисление гемоглобина:



Активные формы кислорода могут вызвать гемолиз эритроцитов. Эритроциты содержат ферментную систему, предотвращающую токсическое действие радикалов кислорода и разрушение мембран эритроцитов. Гликолиз обеспечивает синтез АТФ и восстановление НАД. АТФ необходим для работы ионных насосов. НАДН является коферментом метгемоглобинредуктазы, катализирующей восстановление метгемоглобина до гемоглобина. Супероксидный анион супероксиддисмутазой превращается в пероксид водорода, который под действием глутатионпероксидазы или каталазы превращается в H_2O и O_2 . Донором водорода для глутатионпероксидазы является восстановленный глутатион (GSH). Окисленный глутатион (GSSG) восстанавливается ферментом глутатионредуктазой, кофермент которого НАДФН образуется в пентозофосфатном пути катаболизма глюкозы.



При генетическом дефекте глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и приеме некоторых лекарств, являющихся сильными окислителями, потенциала глутатионовой защиты может оказаться недостаточно. Это приводит к увеличению содержания в клетках активных форм кислорода, вызывающих окисление SH-групп молекул гемоглобина. Образование дисульфидных связей между протомерами гемоглобина и метгемоглобина приводит к их агрегации – образованию телец Хайнца. Последние способствуют разрушению эритроцитов при попадании их в мелкие капилляры. Активные формы кислорода и сами разрушают мембраны, вызывая перекисное окисление липидов мембран.

Основные механизмы фагоцитоза. В ответ на инфекционные агенты и другие стимуляторы в гранулематозных клетках происходит респираторный взрыв. Он является главным источником супероксидного аниона, H_2O_2 , гидроксильных радикалов, гипохлорида

(НОСl), оксида азота (NO). Этот процесс, продолжающийся 30-40 мин, сопровождается резким повышением поглощения кислорода и поэтому называется респираторным взрывом. В результате мембраны и другие структуры бактериальной клетки разрушаются.

10. Другие клетки крови

Нейтрофилы. Обладают антимикробным действием, поглощают, переваривают бактерии, фрагменты поврежденных тканей. В них протекают аэробное и анаэробное окисление глюкозы. Много ферментов, продуцирующих H_2O_2 и пероксидный радикал HO_2^\bullet , которые используются в процессе фагоцитоза. Много лизосом, т.к. поглощенный материал расщепляется гидролитическими ферментами.

Базофилы и эозинофилы участвуют в аллергических реакциях, т.к. образуют гистамин. Базофилы также продуцируют серотонин, гепарин. В основном все клетки получают энергию за счет гликолиза, базофилы – за счет окислительного фосфорилирования.

11. Кровь как источник лекарственных препаратов

При кровопотерях, перед сложными операциями, после них больным переливают кровь. Ее заготавливают на станциях переливания крови. Эритроциты в заготовленной крови могут быть полноценными лишь в течение 30 дней, их жизнеспособность удлиняют, добавляя к крови глюкозу и АТФ.

Переливают также плазму, при снижении содержания эритроцитов – эритроцитарную массу, при лучевых поражениях – лейкоцитарную массу.

Для усиления защитных сил организма используют иммунологически активные препараты: противокоревую, противоскарлатиновую, противодифтерийную сыворотки, антистафилококковый, противогриппозный, противококлюшный глобулины, γ -глобулин.

Используются гемостатические препараты – антигемофильная плазма. В хирургии при ожогах, операциях на печени, сердце, легких для остановки кровотечений используют фибринные губки и фибринные пленки. При операциях на паренхиматозных органах местно используют тампоны с тромбином.

Противоанемические и стимулирующие препараты – полиоболин – сухой порошок белковых компонентов плазмы, эригем – высушенный гемолизат эритроцитов.

Лекция 50

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ ПОЧЕК, МОЧА

Метаболизм и энергетические затраты почек ориентированы преимущественно на процессы, обеспечивающие экскрецию. Почки хорошо кровоснабжаются, 25 % сердечного выброса приходится на кровоснабжение почек. Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) в норме 120 мл/мин, что эквивалентно 170 литрам в сутки. Однако, за сутки выделяется 1-2 литра мочи, остальное реабсорбируется в канальцах. Установлено, что каждые 2 часа фильтруется объем плазмы, эквивалентный объему всей внеклеточной жидкости. Поэтому патологические процессы, затрагивающие почки, очень сильно сказываются на водном, солевом гомеостазе, на выделении продуктов жизнедеятельности.

Почки отличаются интенсивным энергетическим обменом. В них расходуется 10% всего потребляемого человеком кислорода, в то время как масса почек составляет только 0,5% от массы тела. Это связано с активным трансмембранным транспортом веществ при образовании мочи. Основной движущей силой этого транспорта служит градиент концентрации ионов Na^+ и K^+ , создаваемый $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATP}$ Фазой (вторичный активный транспорт).

1. Функции почек

1. Обезвреживающая:

в почках происходит обезвреживание чужеродных веществ путем образования парных соединений с глицином, уксусной и глюкуроновой кислотами, а также окисление некоторых органических спиртов и др. веществ. Общее обезвреживание NH_3 путем образования аммонийных солей.

2. Мочеобразовательная и экскреторная:

– удаление конечных продуктов метаболизма (мочевины, креатинина, уратов, сульфатов, фосфатов и др.)

–

3. Регуляторно-гомеостатическая:

– поддержание водно-электролитного, кислотно-основного баланса, осмотического давления и объема внеклеточной жидкости.

4. Метаболическая:

– глюконеогенез,

– дезаминирование аминокислот.

Дезаминирование аминокислот координировано с глюконеогенезом, т.к. при этом освобождается углеродный скелет, необходимый для синтеза глюкозы.

5. Эндокринная:

- продукция ренина (см. ренин – ангиотензиновая система).
- продукция эритропоэтина.

Эритропоэтин — полипептидный гормон, в основном образуется в почках и печени. Основное место биосинтеза эритропоэтина во взрослом организме - почки, а у эмбриона - печень. Эритропоэтин синтезируется интерстициальными клетками корковой части почки. Вместе с другим фактором, так называемым «*колонийстимулирующим фактором*» (КСФ), этот гормон контролирует дифференцировку стволовых клеток костного мозга.

Секреция эритропоэтина стимулируется при гипоксии ($pO_2 \downarrow$). В многочисленных экспериментах с изолированной почкой показано, что почка содержит сенсоры, реагирующие на изменения концентрации кислорода. В условиях гипоксии количество циркулирующего в плазме эритропоэтина возрастает примерно в 1000 раз. В течение нескольких часов гормон обеспечивает превращение недифференцированных клеток костного мозга в эритроциты, и концентрация эритроцитов в крови увеличивается. Нарушение функции почек ведет к снижению секреции эритропоэтина и заболеванию *анемией*. В настоящее время почечная анемия может быть компенсирована за счет эритропоэтина, получаемого методами генной инженерии.

- синтез 1,25-дигидрохолекальциферола
- катаболизм гормонов (паратормона, инсулина)

2. Механизм образования мочи

Образование мочи происходит в структурно-функциональных единицах почки – **нефронах**. В почке человека содержится около 1 млн. нефронов. Морфологически нефрон представлен сосудистым клубочком и окружающей его капсулой, проксимальным канальцем, петлей Генле, дистальным канальцем, впадающим в собирательную трубочку.

Моча образуется в результате трех процессов – фильтрации, реабсорбции и секреции.

Почечный клубочек.

Через базальную мембрану клубочков свободно фильтруется вода и низкомолекулярные соединения с массой до 50 кДа. Движущей силой фильтрации является разность гидростатического давления в капиллярах клубочка и в полости капсулы. Фильтрат (первичная моча) по составу и концентрации низкомолекулярных веществ не отличается

от плазмы крови. На величину клубочковой фильтрации влияет целый ряд факторов.

Почечные факторы, влияющие на величину клубочковой фильтрации:

- величина гидростатического давления крови в капиллярах клубочка;
- количество функционирующих клубочков (почечные клубочки подчиняются общему закону резервации);
- величина давления ультрафильтрата в капсуле клубочка;
- степень проницаемости капилляров клубочка (при некоторых заболеваниях проницаемость капилляров настолько повышается, что через клубочковый фильтр проходит белок и форменные элементы крови).

Внепочечные факторы, влияющие на величину клубочковой фильтрации:

- величина кровяного давления в магистральных сосудах (аорта, почечная артерия);
- скорость почечного кровотока;
- величина онкотического давления крови;
- функциональное состояние других выделительных органов;
- степень гидратации тканей (количество воды в тканях).

Проксимальный отдел канальца – происходит активная и пассивная реабсорбция компонентов первичной мочи в кровь.

Активно реабсорбируются белки, пептиды, аминокислоты, мочевая кислота, глюкоза, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , фосфат и сульфаты.

Пассивно: вода, бикарбонаты, хлориды, мочевины. В просвет проксимальных канальцев активно секретуются H^+ , антибиотики, красители, пассивно – аммиак.

Степень реабсорбции Na^+ , а с ним и воды (всасывается около 2/3) контролируется альдостероном, калий всасывается полностью. Реабсорбция Ca^{2+} и фосфатов контролируется паратгормоном.

Дистальный отдел канальца продолжает активную реабсорбцию Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} и пассивную реабсорбцию воды, хлоридов и мочевины. Здесь также происходит активная секреция H^+ и K^+ и пассивная – NH_3^+ . Регулирует всасывание воды вазопресин.

Внутрипочечные факторы, влияющие на величину реабсорбции:

- скорость протекания первичной мочи по системе почечных канальцев;
- реабсорбционная способность почечного эпителия, которая изменяется под действием различных веществ, в частности, гормонов;

- количество непороговых веществ в первичной моче.

Внепочечные факторы, влияющие на величину реабсорбции:

- состояние эндокринной системы организма, особенно наличие гормонов, усиливающих обмен веществ (инсулин, тироксин) и влияющих на реабсорбционную способность канальцевого эпителия (АДГ, альдостерон);
- водно-солевой баланс организма;
- количество непороговых веществ в крови.

3. Составные части мочи

Вещества, в зависимости от механизма их проникновения в мочу, делят на несколько групп.

1. Вещества, попадающие в мочу преимущественно в результате **фильтрации** в клубочках. Это креатинин, мочевины, инулин.

2. Вещества, концентрация которых в моче определяется **соотношением** процессов **секреции** и **реабсорбции** в канальцах. Это, в основном, электролиты.

3. Вещества, главным образом **секретируемые** из плазмы крови в просвет проксимальных канальцев. Это некоторые органические кислоты и основания.

4. Вещества, практически **отсутствующие в плазме крови** и поступающие в мочу из клеток почечных канальцев – NH_3 , некоторые ферменты.

5. Вещества, которые в норме практически полностью **реабсорбируются** в проксимальных отделах канальцев – сахара, аминокислоты.

Вещества первых четырех групп относятся к **беспороговым**. Их присутствие в моче не связано с концентрацией этих веществ в крови.

Вещества пятой группы относят к **пороговым**. При неповрежденных почках они появляются в моче лишь тогда, когда их концентрация в крови превышает определенную величину (порог). Появление пороговых веществ в моче возможно и на фоне их нормального содержания в крови при нарушении механизма реабсорбции в почках. В конечной моче обычными методами пороговые вещества не определяются.

Небелковые азотистые вещества мочи следующие:

1. Мочевина выделяется в количестве от 333 до 583 ммоль/24 ч, процесс усиливается при ускоренном распаде белков (голодание, ожоги, травмы) и снижается при нарушении фильтрации плазмы в клубочках.

2. Мочевая кислота – конечный продукт пуринового обмена (от 2,35 до 5,9 ммоль/24 ч). Содержание растет при избытке в пище нукле-

иновых кислот, при заболеваниях, сопровождающихся усиленным распадом клеток или при повышенном синтезе пуринов.

3. Креатинин выводится с интенсивностью, пропорциональной мышечной массе, поэтому его количество в суточной порции неодинаково у разных лиц. Отношение количества креатинина в моче (в мг) к массе тела (креатининовый коэффициент) менее вариабельно – 18-32 – у мужчин и 10-25 – у женщин.

4. Креатин обнаруживается в моче у детей и подростков, а также беременных.

Креатинурия взрослых связана с нарушением превращения креатина в креатинин. Это происходит при заболеваниях мышц, переохлаждении тела, судорожных состояниях.

5. Аминокислоты выделяются в нормальных условиях в количестве 0,29-5,35 ммоль азота/24 ч. Среди них преобладают глицин, гистидин и аланин. Рост содержания наблюдается при нарушениях метаболизма аминокислот, при повреждениях транспортных систем, обеспечивающих реабсорбцию аминокислот в почечных канальцах, при ускоренном распаде белков.

6. Аммонийные соли в физиологических условиях выделяются в количестве от 30 до 60 ммоль/24 ч (аммиак аммонийных солей). Повышение наблюдается при развитии ацидоза, понижение при алкалозе и поражениях дистальных канальцев, где локализуется процесс аммониегенеза.

7. Гиппуровая кислота выделяется с мочой в количествах, пропорциональных количеству принятой пищи, обычно около 5,5 ммоль/24 ч.

8. Индикан, или индоксилсерная кислота, содержится в следовых количествах, возрастающих при обильной мясной пище или развитии гнилостных процессов в кишечнике.

9. Азотистые пигменты, в частности уробилиноген, а также глюкуроныды желчных кислот, билирубина, содержатся в моче в небольших количествах.

Безазотистые компоненты мочи:

– Глюкоза и другие моносахариды в нормальной моче обычными лабораторными методами не обнаруживаются, хотя содержание глюкозы в суточной порции составляет от 0,3 до 1,1 ммоль. Исключение – алиментарная или эмоциональная глюкозурия; при патологии – диабет (сахарный, стероидный).

– Лактат и пируват выделяются с мочой в количестве до 1,1 и 0,11 ммоль/24 ч. Увеличение может наблюдаться при интенсивной

мышечной работе или гипоксии, а также при патологических состояниях (сахарный диабет, голодание и др.).

– Кетоновые тела выделяются с мочой в количестве 20-50 мг/24 ч и принятыми в лабораториях методами не обнаруживаются. Содержание увеличивается при голодании, сахарном диабете.

– Минеральные соли: нормальная моча содержит натрия 174-222, калия – 69-71, кальция – 4,02-4,99, неорганического фосфора – около 33 ммоль в сутки; изменения этих величин наблюдается при нарушениях водно-солевого и минерального обмена (гипофункция надпочечников, гиперальдостеронизм, гиповитаминоз Д, гипопаратиреозидизм).

Таким образом, все перечисленные компоненты мочи можно разделить на 2 группы:

Нормальные компоненты мочи:	Патологические компоненты мочи:
<p>1. <u>Органические вещества:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Мочевина, • Креатинин, • мочевая кислота • Креатин (только у детей) • Аминокислоты • Гиппуровая кислота <p>2. <u>Неорганические (минеральные):</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Натрий, хлор, калий, кальций, магний • Бикарбонаты, фосфаты, сульфаты • Аммиак 	<ul style="list-style-type: none"> • Белок – <i>протеинурия:</i> • Кровь – <i>гематурия</i> • Глюкоза – <i>глюкозурия</i> • Кетоновые тела – <i>кетонурия</i> • Билирубин • Уробилин • Порфирины

4. Исследование состава мочи

Скорость образования мочи и ее состав зависят от диуреза, мышечной активности, пищеварения, погодных условий, эмоционального состояния и многих других факторов. В связи с этим предпочтительнее анализировать суточную порцию мочи. Наиболее часто встречающимся исследованием является *общий анализ мочи*. В это понятие входит исследование следующих параметров:

1. *Физико-химические свойства*

- Цвет
- Удельный вес
- Прозрачность
- рН

- Наличие и количество белка, глюкозы, желчных пигментов и др.

2. *Микроскопия осадка*

- Эпителиальные клетки
- Лейкоциты
- Эритроциты
- Конгломераты и их ассоциаты
- Наличие солей и прочих включений

Объем мочи за 24 ч колеблется от 600 до 2500 мл и в норме зависит преимущественно от количества поступившей в организм жидкости.

Цвет мочи определяется присутствующими в ней пигментами. Обычно это янтарный цвет. При стоянии моча темнеет в результате окисления уробилиногена. Необычно темный цвет говорит об избытке билирубина, уробилина, порфиринов или гомогентизиновой кислоты. Окрашивание наблюдается при приеме некоторых лекарственных средств, пищевых красителей.

Удельный вес и рН мочи. Общая концентрация растворенных веществ в моче отражает эффективность работы почек и учитывается по удельному весу (в норме от 1,008 до 1,012). рН мочи может варьировать от 4,6 до 8,0, чаще находится в пределах от 5,5 до 6,5. Кислый ее характер обусловлен присутствием фосфорной кислоты (продукт обмена фосфопротеидов, фосфолипидов и нуклеиновых кислот). При исключительно растительной пище наблюдается выделение щелочной мочи.

Осадок мочи может быть организованным (эпителиальные клетки, цилиндры, форменные элементы крови) и неорганизованным. Неорганизованный осадок мочи представлен различными кристаллическими образованиями, которые могут быть следующими: 1) хлопьевидный – из нуклеопротеидов или мукопротеидов и эпителиальных клеток мочеполовых путей; 2) из смеси фосфатов кальция и аммонийного фосфата, если моча щелочная; 3) из оксалатов и уратов, растворяющихся при подкислении; 4) из кислой мочи – мочевая кислота.

Белок в моче. Белки в норме выделяются в количестве (0,03 г/24 ч), не определяемом обычными лабораторными методами. Это констатируется как отсутствие белка или наличие его в следовых количествах в моче. Увеличение наблюдается при повреждениях мочевыводящих путей или базальной мембраны нефрона.

Причины протеинурии

1. Протеинурия, связанная с гиперпротеинемией

- а) Нормальные белки
- Гемоглобин (гемолиз)

Миоглобин (рабдомиолиз) б) Аномальные белки Фрагменты иммуноглобулинов (белок Бенс-Джонса)
2. Гломерулярная протеинурия а) Нарушенная почечная гемодинамика Ортостатическая протеинурия, физические нагрузки б) Повышенная проницаемость клубочков
3. Канальцевая протеинурия а) Повреждение канальцев Отравление тяжелыми металлами, лекарственными препаратами. б) Интерстициальные заболевания Нефрит, пиелонефрит
4. Секретированная протеинурия а) Протеинурия Тамм-Хорсфала

5. Роль почек в регуляции кислотно-щелочного равновесия (КЩР)

Постоянство рН поддерживается: буферными системами внеклеточной жидкости, изменением легочной вентиляции, скоростью выделения кислот через почки.

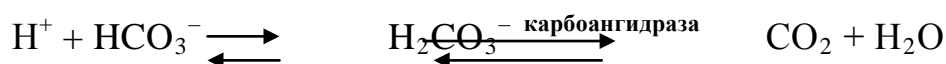
Почки участвуют в регуляции КЩР посредством 3-х основных механизмов.

1. Реабсорбции гидрокарбоната HCO_3^-
2. Регенерации HCO_3^-
3. Выведения ионов водорода H^+ .

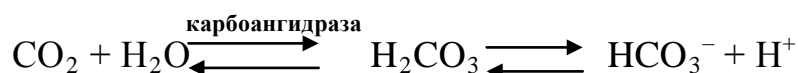
Реабсорбция гидрокарбоната

Моча практически не содержит ионов HCO_3^- , т.к. они полностью реабсорбируются в проксимальных канальцах. Для транспорта HCO_3^- используется градиент $[\text{Na}^+]$ между просветом канальца и клеткой канальца, создаваемый $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATP}$ Фазой. Вход Na^+ в клетку проксимального канальца из просвета сопряжен с выходом H^+ из клетки в просвет канальца.

В просвете проксимального канальца происходит образование CO_2 через следующие реакции:



CO_2 диффундирует в клетки проксимальных канальцев. Здесь происходит образование гидрокарбоната.



Гидрокарбонат проникает затем в кровь, а H^+ – в просвет канальца.

Регенерация гидрокарбоната

Связана с процессом *секреции* H^+ в просвет канальцев. Из мочи в клетки дистальных канальцев диффундирует CO_2 , из которого при участии карбоангидразы образуется H_2CO_3 . H_2CO_3 диссоциирует с образованием HCO_3^- , поступающего в кровь и H^+ , который выводится с мочой. Выход каждого H^+ в просвет канальцев сопряжен с образованием и переходом в кровь одного иона HCO_3^- и зависит от активности карбоангидразы.

Выведение ионов водорода

Ионы водорода с мочой выводятся в виде свободных ионов (незначительно), и, в основном, в виде аниона H_2PO_4^- и ионов аммония NH_4^+ .

Поддержание осмотического давления и объема внеклеточной жидкости

Контролируется гормонами, для которых почки – орган-мишень:

1. *Вазопрессином* (в эпителии канальцев активирует гиалуронидазу и увеличивает проницаемость эпителия. В результате возрастает реабсорбция воды, а конечная моча – концентрируется)
2. *Альдостероном* (ускоряется активный транспорт ионов Na из первичной мочи, что приводит к задержке Na в организме → рост осмотического давления)
3. *Натрийуритическим гормоном* (усиливает фильтрующую способность клубочков → увеличивается объем мочи без изменения концентрации Na)
4. Ангиотензином (опосредованно).

6. Нарушения мочеобразования

Несмотря на огромное количество патологических процессов в почках, клинические проявления так или иначе обусловлены следующими механизмами:

1. *Нарушением гломерулярной функции* – приводит к снижению клубочковой фильтрации, задержке выведения конечных продуктов обмена.

2. *Нарушением гломерулярного аппарата* – приводит к фильтрации крупных молекул (протеинурия), фильтрации форменных элементов крови, особенно слепков эритроцитов (гематурия).
3. *Нарушением функции почечных канальцев* – приводит к снижению осмоляльности, удельной плотности, глюкозурии, аминацидурии, гипокалиемии, низкому содержанию в плазме крови бикарбонатов и метаболическому ацидозу, гипофосфатемии, гипоурикемии и др.

7. Почечная недостаточность

Выделяют острую и хроническую почечную недостаточность.

Острая почечная недостаточность

- *Преренальная* – обусловлена снижением кровоснабжения почек → снижена скорость клубочковой фильтрации, а функция почечных канальцев сохранена.
- *Интраренальная* – обусловлена множеством причин, но все они приводят к некрозу почечных канальцев. Клубочки страдают реже, СКФ снижена из-за вазоконстрикции. Патогенез не ясен.
- *Постренальная* – обусловлена препятствием оттока мочи. Если состояние сохраняется длительно → вторичное повреждение почечных канальцев

Хроническая почечная недостаточность

Обусловлена снижением количества функционирующих нефронов, что приводит к:

- нарушению концентрирования и разведения мочи
- нарушению гомеостаза электролитов и ионов водорода (ацидоз)
- задержке выводимых продуктов метаболизма (уремия)
- нарушению метаболизма витамина D (остеодистрофия)
- снижению синтеза эритропоэтина (анемия).

Признаки почечной недостаточности

Лабораторно:

1. Азотемия как результат снижения клубочковой фильтрации (в качестве уремических токсинов выступают производные гуанидина – метилгуанидин и гуанидинпировиноградная кислота, а также производные фенола – индол, скатол и др.);

2. Протеинурия, гипо- и диспротеинемия как следствие ускоренного катаболизма протеинов, вторичная гиперлиппротеинемия IV типа; снижение концентрации мочи; признаки метаболического ацидоза;

3. Анемия, обусловленная торможением эритропоэза при одновременном ускоренном гемолизе эритроцитов;

4. Признаки активации внутрисосудистого свертывания или вторичная гиперкоагулемия; рост агрегационной и адгезивной активности тромбоцитов.

Одним из наиболее часто встречающихся клинико-лабораторных синдромов при заболеваниях почек является **нефротический синдром**.

Клинические проявления:

- Выраженная протеинурия (более 3,5 г/л в сутки)
- Гипоальбуминемия (менее 30 г/л)
- Гиперлипидемия
- Отеки

Основные причины почечных отеков:

1. Снижение онкотического давления (из-за потери белка – нефротический синдром)
2. Повышение проницаемости сосудистой стенки (вследствие повышения активности гиалуронидазы и снижения содержания кальция в крови – острый гломерулонефрит)
3. Вторичный гиперальдостеронизм (вследствие задержки электролитов и воды)

В клинике ни одна из причин не проявляется как самостоятельная, а лишь преобладает в том или ином случае.

8. Почечные камни

Обычно состоят из продуктов обмена веществ, в норме имеющих в первичной моче в концентрациях, близких к величинам их максимальной растворимости. Незначительные изменения состава мочи могут вызвать осаждение этих соединений в ткани почек в виде кристаллов или камней.

Условия, способствующие образованию камней:

1. Высокая концентрация в моче одного или нескольких компонентов клубочкового фильтрата. Это может быть связано или с уменьшением объема мочи или с чрезмерно высокой скоростью экскреции образующих камни продуктов обмена.

2. Изменение рН мочи, способствующее образованию осадков различных солей.

3. Застой мочи вследствие нарушения мочеотделения.

4. Отсутствие соответствующих ингибиторов. Предполагается, что моча в норме содержит ингибиторы роста кристаллов оксалата Ca^{2+} . В моче больных, у которых систематически образуются кальциевые камни, такие ингибиторы отсутствуют.

Виды мочевых камней

1. Содержащие кальций. Составляют 70-90% всех почечных камней, состоят из оксалата или фосфата кальция. Гиперкальциурия способствует образованию кальциевых осадков, а вид соли зависит от рН мочи, наличия в системе оксалатов или фосфатов. Гиперкальциурия бывает при остеопорозе, при длительном ацидозе, когда усиливается ионизация солей Са, при гипервитаминозе D.

Усиленная экскреция оксалатов способствует образованию оксалата кальция, нерастворимого даже при нормальном содержании Ca^{2+} в моче. Причиной повышенного уровня оксалатов может быть потребление определенных продуктов питания, гипервитаминоз С.

Щелочная среда способствует образованию кальциевых осадков. При высоких значениях рН осаждаются преимущественно фосфаты Ca^{2+} , оксалатные камни образуются при любых значениях рН.

2. Камни, состоящие из мочевой кислоты. Составляют примерно 10% всех почечных камней. Осаждению уратов способствует кислая моча. В большинстве случаев непосредственную причину возникновения камней выявить не удастся.

3. Цистиновые камни.

4. Ксантиновые камни.

Эти виды камней встречаются редко при врожденных заболеваниях цистинурии или ксантинурии.

Лекция 51

БИОХИМИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

1. Характеристика мышечных белков

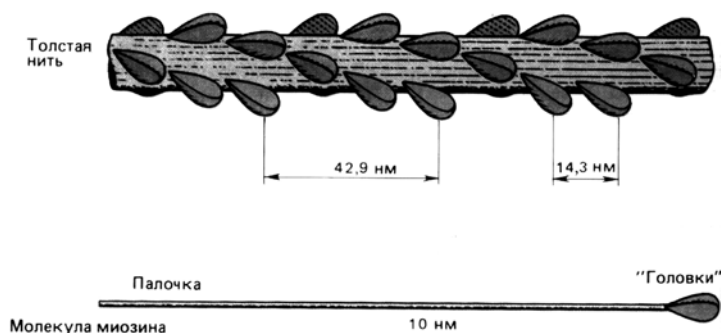
Мышечная ткань составляет 40 % от веса тела человека. Биохимические процессы, протекающие в мышцах, оказывают большое влияние на весь организм человека. Функция мышц – механическое движение, в котором химическая энергия превращается в механическую при постоянном давлении.

Различают 2 группы мышечных белков: саркоплазматические и миофибриллярные.

Саркоплазматические белки экстрагируются из мышц солевыми растворами с малой ионной силой. К ним относятся миоглобин, ферменты гликолиза, ферменты митохондрий, белки, участвующие в обмене Са – (кальсеквестрин и белок «с высоким сродством к кальцию»).

Миофибриллярные белки экстрагируются из мышц солевыми растворами с высокой ионной силой. Эти белки составляют основу молекулярной структуры миофибрилл.

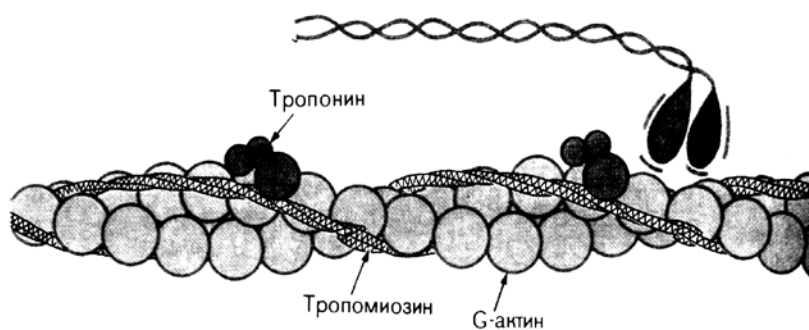
Миофибрилла скелетных мышц состоит из сократительных элементов – **саркомеров**. Саркомеры содержат параллельные белковые нити двух типов – тонкие и толстые. Толстые нити содержат миозин, тонкие – актин, тропомиозин, тропонин. Каждая толстая нить окружена шестью тонкими.



Структура толстой нити миофибрилл

Толстые нити образованы белком миозином. **Миозин**, М.М. 500 тыс., состоит из двух тяжелых полипептидных цепей и четырех легких. N-конец каждой тяжелой цепи имеет глобулярную форму, образуя «головку» молекулы. К каждой из головок нековалентно присоединены по 2 легкие цепи. С-конец тяжелой цепи имеет конформацию α -спирали. Головка миозина присоединена к остальной части молекулы **гибким участком**. Это позволяет головке обратимо присоединяться к актину. Палочкообразные хвосты молекул миозина могут соединяться друг с другом, образуя пучки, головки будут располагаться вокруг пучка по спирали. В области М-линии пучки соединяются «хвост к хвосту», образуя миозиновые нити саркомера.

В головке миозина есть центры связывания с актином и АТФ. Она способна гидролизовать АТФ на **АДФ+Рн**, т.е. обладает ферментативной активностью. Присоединение АТФ к миозину и гидролиз АТФ происходит очень быстро. Однако отщепление продуктов гидролиза АДФ и Рн от миозина происходит медленно. В покое головка миозина представляет комплекс **М+АДФ+Рн**; актин обладает к ней большим сродством.



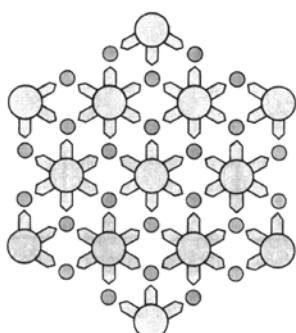
Строение тонкой нити; образование комплекса с головкой миозина

Тонкие нити. Основным белком тонких нитей является **актин**. Актин имеет центры связывания с миозином. Он бывает в двух формах: глобулярный G-актин (М.М. 4200) и фибриллярной – F-актин. F-актин образуется при полимеризации G-актина, это двух-цепочечная спираль из мономеров G-актина.

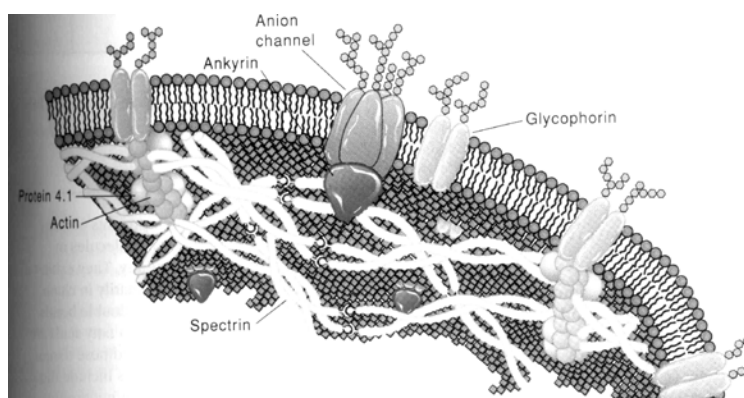
Тропомиозин – двухцепочечная α -спирализованная палочковидная молекула (М.М. 70000). Располагается в желобке между цепями F-актина. В покое тропомиозин закрывает в G-актине центры связывания с миозином. Длина молекулы тропомиозина равна семи глобулам G-актина.

Тропонин (М.М. 76000) состоит из трех субъединиц с глобулярной структурой, расположен на концах каждой молекулы тропомиозина. Субъединица Т обеспечивает связывание с тропомиозином, субъединица С – образует связь с Ca^{2+} , субъединица I расположена таким образом, что **в покое** мешает взаимодействию актина с миозином.

Между собой актин, тропомиозин и тропонин связаны нековалентными связями.



Взаиморасположение толстых и тонких нитей мифибрилл



Актин в мембране эритроцита

Биохимические механизмы мышечного сокращения и расслабления на примере поперечно-полосатых мышц

Большую роль в мышечном сокращении играют ионы Са и саркоплазматические белки кальсеквестрин и белок с высоким сродством к Ca^{2+} . Эти белки расположены в цистернах саркоплазматического ретикулума. Саркоплазматический ретикулум – это внутриклеточная мембранная система, окружающая мышечные нити.

Кальсеквестрин – кислый гликопротеин с Мм 45000 Да, спосо-

бен присоединять 45 молекул Ca^{2+} , **белок с высоким сродством к кальцию** (Мм 55000 Да) связывает 25 молей Ca^{2+} . Перенос Ca^{2+} из цистерн саркоплазматического ретикулаума происходит по градиенту концентрации простой диффузией. Из цитоплазмы в цистерны - против градиента при участии Ca^{2+} зависимой АТФазы и затраты АТФ.

В состоянии покоя система активного транспорта накапливает Са в цистернах саркоплазматического ретикулаума.

Сокращение мышцы начинается с прихода потенциала действия на концевую пластинку двигательного нерва. В синапс выделяется ацетилхолин, который связывается с постсинаптическими рецепторами мышечного волокна. Далее потенциал действия распространяется вдоль сарколеммы к поперечным трубочкам Т-системы. В области Z-линий происходит передача сигнала от поперечных трубочек на цистерны саркоплазматического ретикулаума. Приход потенциала действия вызывает деполяризацию мембран цистерн. Это приводит к освобождению Ca^{2+} и началу мышечного сокращения.

1. Ca^{2+} связывается с субъединицей С тропонина. Это изменяет конформацию всей молекулы тропонина – субъединица I перестает мешать взаимодействию актина с миозином, изменение конформации субъединицы Т передается на тропомиозин.

2. Тропомиозин поворачивается на 20° и открывает закрытые ранее центры в актине для связывания с миозином.

3. Головка миозина, которая в покое представляет собою комплекс **М+АДФ+Рн**, присоединяется к актину **перпендикулярно**, причем актин обладает к этому комплексу большим сродством. (Образование поперечных мостиков).

4. Присоединение актина вызывает быстрое освобождение АДФ и Рн из миозина. Это приведет к изменению конформации и головка миозина **повернется на 45°** (рабочий ход). Поворот головки, связанный с актином, вызовет перемещение тонкой нити относительно миозина.

5. К головке миозина, вместо ушедших АДФ и Рн, вновь присоединяется АТФ, образуя комплекс **М+АТФ**. Актин обладает к нему малым сродством, это вызовет отсоединение головки миозина (разрыв поперечных мостиков). Она вновь становится перпендикулярно около тонкой нити.

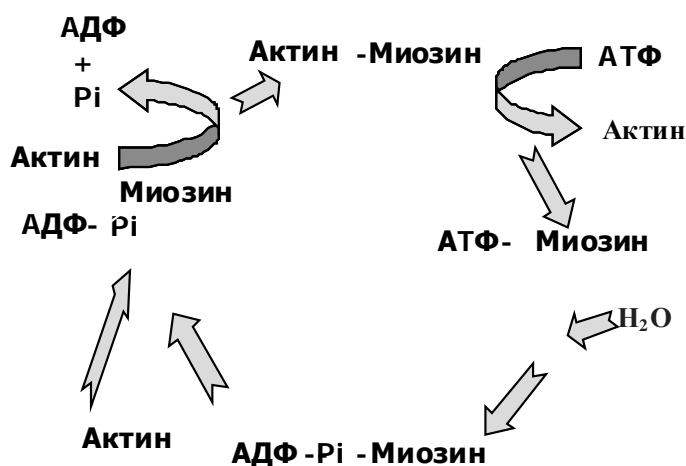
6. В головке миозина, не связанной с актином, происходит гидролиз АТФ. Вновь образуется комплекс **АДФ+Рн+миозин** и все повторяется с третьего пункта.

После прекращения действия двигательного импульса, Ca^{2+} с помощью Ca^{2+} -зависимой АТФ-азы переходит в саркоплазматический ретикулум. Уход Ca^{2+} из комплекса тропонина приводит к смещению субъединиц I и тропомиозина и закрытию активных центров актина, делая его неспособным взаимодействовать с миозином. Мышца рас-

слабляется.

Мирошниченко, Шуба (Киев) предложили новый механизм сокращения мышцы – сокращение скелетной мышцы происходит за счет вкручивания миозиновых филаментов в трубкообразные структуры, образованные актиновыми филаментами. Миозин (головка) не контактирует с глобулами актина, а зацепляется за актиновый филамент.

Гидролиз АТФ приводит к циклическому образованию и распаду - комплекса актина и миозина



При низкой концентрации АТФ число головок миозина, связанных с актином, нарастает, т.к. не разрываются поперечные мостики. Низкая концентрация АТФ приводит к судорогам. Образование прочных связей между актиновыми и миозиновыми нитями – причина трупного окоченения, обусловленного исчезновением АТФ.

Первая пересадка сердца была выполнена в 1968 г. в ЮАР, в 1972 г. появилось сообщение о синдроме «каменного сердца». Его суть состояла в том, что приготовленное к пересадке сердце после некоторого периода ожидания приобретало исключительную жесткость, сопоставимую с плотностью камня, и становилось непригодным для использования. Практически сразу на эту статью откликнулся видный биохимик Арнольд Кату, написавший статью «Каменное сердце – вызов биохимику». Он указал, что этот синдром возникает после длительной ишемии и является следствием развития контрактуры миокарда – состояния, при котором кардиомиоциты находятся в состоянии сокращения, что не позволяет сердечной мышце выполнять насосную функцию.

Механизм сокращения гладких мышц

Гладкие мышцы содержат молекулы актина, тропомиозина, миозина, но они не обладают тропониновой системой, кроме того, легкие

цепи миозина гладких мышц отличаются от легких цепей поперечно-полосатых мышц. Сокращение гладких мышц регулируется Ca^{2+} .

Миозин гладкой мускулатуры содержит особую **легкую цепь (р-легкая цепь)**, предотвращающую связывание миозиновых головок с F-актином. Чтобы она не мешала этому взаимодействию, р-легкая цепь должна предварительно фосфорилироваться.

Этапы сокращения гладких мышц

1. 4 Ca^{2+} взаимодействуют с кальмодулином.
2. Комплекс кальмодулин – 4 Ca^{2+} активирует киназу легких цепей миозина.
3. Активная киназа фосфорилирует легкую цепь р.
4. Фосфорилированная легкая цепь «р» перестает ингибировать взаимодействие миозина с F-актином.
5. Миозин взаимодействует с F-актином, активируется АТФаза, начинается сократительный цикл.

Расслабление гладких мышц происходит, когда:

1. Падает содержание ионов Ca^{2+} в саркоплазме ниже 10^{-7} ммоль/л.
2. Ca^{2+} отсоединяется от кальмодулина, который, в свою очередь, отделяется от киназы легкой цепи миозина, вызывая ее инактивацию.
3. Нового фосфорилирования легкой цепи «р» не происходит. Протеинфосфатаза отщепляет от легкой цепи «р» фосфаты.
4. Дефосфорилированная легкая цепь «р» миозина ингибирует связывание миозиновых головок с F-актином и подавляет активность АТФазы.
5. Миозиновые головки в присутствии АТФ отделяются от F-актина. Мышца расслабляется.

Сравнительная характеристика актин-миозинового взаимодействия в поперечно-полосатых и гладких мышцах

Признаки	Поперечно-полосатые мышцы	Гладкие мышцы
Белки мышечных филаментов	актин, миозин, тропомиозин, тропонин (TnI, TnT, TnC)	актин, миозин (есть особая р-легкая цепь), тропомиозин
Ингибитор взаимодействия F-актина с миозином	TnI тропомиозин	нефосфорилированная р-легкая цепь миозина
Сокращение активируется	Ca^{2+}	Ca^{2+}

Прямое действие Ca^{2+}	Ca^{2+} связывается с TnC	Ca^{2+} связывается с кальмодулином
Действие связанного с белком Ca^{2+}	снимает ингибирующий эффект TnI	Комплекс кальмодулин Ca^{2+} активирует киназу легких цепей миозина

Метаболизм мышц

Различают белые и красные мышечные волокна. В красных мышцах содержится много миоглобина, который служит внутриклеточным резервом O_2 . Красные мышцы содержат многочисленные митохондрии с плотно упакованными складчатыми мембранами. Они расположены в непосредственной близости к сократительным миофибриллам, которые используют АТФ, образующуюся в митохондриях при окислительном фосфорилировании. Для этого класса скелетных мышц характерно медленное сокращение и способность длительное время оставаться в состоянии сокращения.

В мышцах, функции которых требуют коротких, быстрых движений, мало миоглобина и митохондрий, поэтому их называют белыми мышцами. Они содержат большие запасы гликогена в цитоплазме и их функция зависит преимущественно от анаэробного гликолиза как источника АТФ.

Характеристика быстрых и медленных скелетных мышц

Признак	Быстрые скелетные мышцы	Медленные скелетные мышцы
Цвет	Белый	Красный
Миоглобин	Нет	Есть
Активность миозиновой АТФ-азы	Высокая	Низкая
Утилизация энергии	Высокая	Низкая
Частота сокращений	Высокая	Низкая
Длительность сокращений	Малая	Большая

У человека нет специализированных мышц, но есть специализированные волокна: в мышцах-разгибателях больше "белых" волокон, в мышцах спины больше "красных" волокон.

У людей при голодании главным после жира источником запасенной энергии служит белок скелетных мышц. Это объясняет очень большую потерю мышечной массы при длительном голодании. В ходе внутриклеточного распада актина и миозина образуется 3-

метилгистидин, который выводится с мочой. По скорости выведения его с мочой можно судить о скорости деградации мышечных белков. Мышцы являются главным местом катаболизма аминокислот с разветвленной цепью. Образующиеся при этом аминогруппы в ходе реакций трансаминирования переносятся на α -кетоглутарат и пируват с образованием глутамата и аланина. Источником почти всего пирувата, идущего на синтез аланина, является глюкоза, поступающая в мышцы из печени. Аланин из мышц поступает в печень, где его углеродный скелет используется в глюконеогенезе, а NH_2 группа удаляется в виде мочевины (**глюкозо-аланиновый цикл**).

В мышцах действуют 3 АТФ-зависимых механизма:

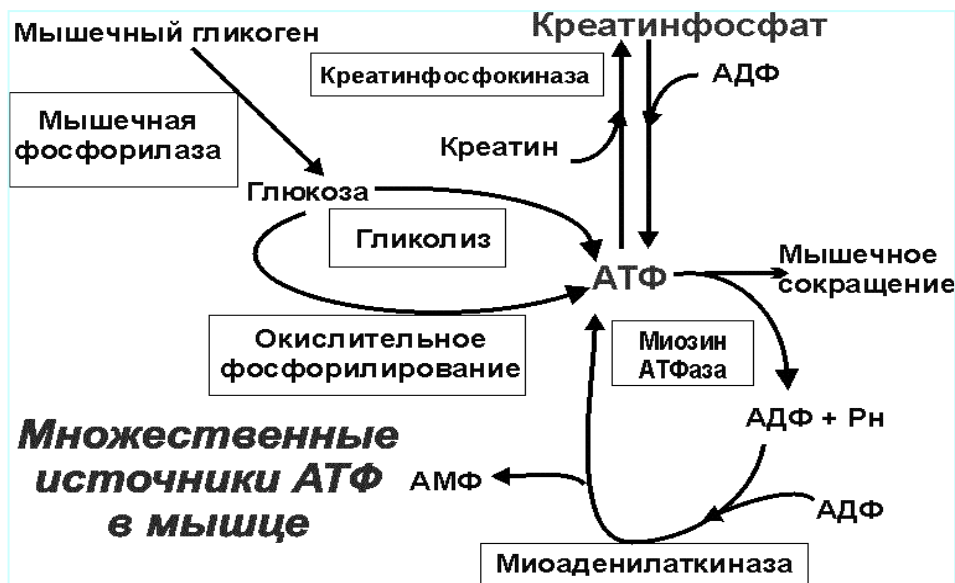
1. Натриевый насос клеточной мембраны;
2. Кальциевый насос внутри самой клетки;
3. Миозин-актиновое взаимодействие (сокращение-расслабление).

Мышца потребляет огромное количество энергии. То количество АТФ, которое имеется в мышце, может поддерживать сократительную активность всего лишь на протяжении доли секунды. Однако в мышцах позвоночных богаты энергией фосфатные связи запасаются в виде **креатинфосфата**. Это макроэргическое соединение в термодинамической шкале стоит выше АТФ, поэтому при участии креатинкиназы (КК) может происходить перенос фосфата от креатинфосфата к АДФ с образованием АТФ (субстратное фосфорилирование).

КК



В работающей мышце запас креатинфосфата быстро истощается, а, следовательно, снижается и содержание АТФ. При этом возрастает концентрация АДФ и P_i , а также уровень АМФ.



Накопление АМФ, АДФ (аллостерические активаторы) приводит к стимуляции гликолиза, ЦТК и окислительного фосфорилирования, что приводит к восстановлению резервов АТФ и креатинфосфата. Это самый быстрый способ ресинтеза АТФ. Максимально эффективен. Не требует присутствия кислорода, не дает побочных нежелательных продуктов, включается мгновенно. Его недостаток – малый резерв субстрата (хватает только на 20 с работы). Обратная реакция может протекать в митохондриях с использованием АТФ, образовавшейся в процессе окислительного фосфорилирования.

Мембрана митохондрий хорошо проницаема как для креатина, так и для креатинфосфата, а креатинфосфокиназа есть и в саркоплазме, и в межмембранном пространстве митохондрий.

Миокиназная реакция. Протекает только в мышечной ткани.



Реакция катализируется миокиназой (аденилаткиназой). Главное значение этой реакции заключается в образовании АМФ – мощного аллостерического активатора ключевых ферментов гликолиза, гликогенолиза.

Анаэробный гликолиз и гликогенолиз. Не требуют присутствия кислорода (анаэробные процессы). Обладают большим резервом субстратов. Используется гликоген мышц (2 % от веса мышцы) и глюкоза крови, полученная из гликогена печени. Недостатки следующие: небольшая эффективность – 3 АТФ на один глюкозный остаток гликогена; накопление недоокисленных продуктов (лактат); анаэробный гликолиз начинается не сразу – только через 10-15 с после начала мышечной работы.

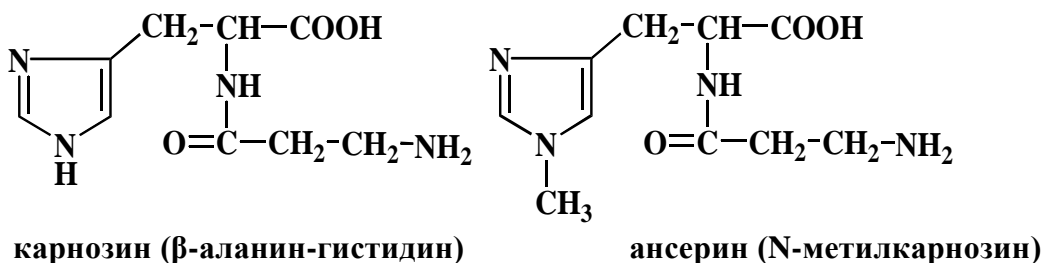
Окислительное фосфорилирование. Преимущества: это наиболее энергетически выгодный процесс – синтезируется 38 молекул АТФ при окислении одной молекулы глюкозы. Имеет самый большой резерв субстратов: может использоваться глюкоза, гликоген, глицерин, кетоновые тела. Продукты распада (CO_2 и H_2O) практически безвредны. Недостаток: требует повышенных количеств кислорода.

Важную роль в обеспечении мышечной клетки кислородом играет миоглобин, у которого сродство к кислороду больше, чем у гемоглобина: при парциальном давлении кислорода, равном 30 мм.рт.ст., миоглобин насыщается кислородом на 100 %, а гемоглобин - всего на 30 %. Поэтому миоглобин эффективно отнимает у гемоглобин доставляемый им кислород.

Основные источники энергии в мышечной ткани в покое: β -окисление жирных кислот, кетоновые тела; при работе (в зависимости от снабжения O_2) – анаэробный гликолиз, гликогенолиз, ЦТК.

В скелетных мышцах, кроме адениловых нуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ), креатинфосфата, креатина содержатся и другие **небелко-**

вые азотистые вещества – карнозин и ансерин. Это имидазол содержащие дипептиды. Синтезируются из конечного продукта распада пиримидиновых нуклеотидов - β-аланина. Эти соединения активируют $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATФазу}$, а также увеличивают амплитуду мышечного сокращения, предварительно сниженную утомлением.



Изменение метаболизма при мышечной работе

Уменьшение концентрации АТФ смещает равновесие креатинфосфокиназной реакции вправо: используется креатинфосфат. Далее включается гликолиз, так системе окислительного фосфорилирования необходима 1 мин для запуска. Это пусковая фаза мышечной работы.

Дальше изменения метаболизма зависят от интенсивности мышечной работы: если мышечная работа длительная и небольшой интенсивности, то в дальнейшем клетка получает энергию путем окислительного фосфорилирования – это работа в "аэробной зоне"; если мышечная работа субмаксимальной интенсивности, то - дополнительно к окислительному фосфорилированию включается анаэробный гликолиз – это наиболее тяжелая мышечная работа – возникает "кислородная задолженность", это – работа "в смешанной зоне"; если мышечная работа максимальной интенсивности, но непродолжительная, то механизм окислительного фосфорилирования не успевает включаться. Работа идет исключительно за счет анаэробного гликолиза. После окончания максимальной нагрузки лактат поступает из крови в печень, где идут реакции глюконеогенеза, или лактат превращается в пируват, который дальше окисляется в митохондриях. Для окисления пирувата нужен кислород, поэтому после мышечной работы максимальной и субмаксимальной интенсивности потребление кислорода мышечными клетками повышено – возвращается кислородная задолженность (долг).

Существует наследственная предрасположенность к мышечной работе – у одних людей больше "быстрых" мышечных волокон – им рекомендуется заниматься теми видами спорта, где мышечная работа максимальной интенсивности, но кратковременная (тяжелая атлетика, бег на короткие дистанции и тому подобное). Люди, в мышцах которых больше "красных" ("медленных") мышечных волокон, наибольших успехов добиваются в тех видах спорта, где необходима длитель-

ная мышечная работа средней интенсивности, например, марафонский бег (дистанция 40 км). Для определения пригодности человека к определенному типу мышечных нагрузок используется пункционная биопсия мышц.

В результате скоростных тренировок (bodybuilding) утолщаются миофибриллы, кровоснабжение возрастает, но непропорционально увеличению массы мышечных волокон, количество актина и миозина возрастает, увеличивается активность ферментов гликолиза и креатинфосфокиназы.

Более полезны для организма тренировки "на выносливость". При этом мышечная масса не увеличивается, но увеличивается количество миоглобина и митохондрий.

Лекция 52

БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ ТКАНИ

1. Возникновение и проведение нервного импульса

Нервные импульсы – это электрические сигналы, создаваемые током ионов через плазматическую мембрану нейронов. В создании нервного импульса участвуют $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATP}$ Фаза, натриевые и калиевые каналы.

$\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATP}$ Фаза выводит из клетки 3 иона Na и вводит 2 иона K^+ , это активный транспорт с затратой 1 молекулы АТФ (движение против градиента концентрации – Na – снаружи, K – внутри).

Движение Na^+ по натриевым и K^+ по калиевым каналам происходит по градиенту концентрации.

1.1. Потенциал покоя

В состоянии покоя по разные стороны мембраны существует разность потенциалов около 60-70 мВ (отрицательный заряд внутри).

Причины возникновения потенциала покоя

Ионы K^+ стремятся покинуть клетку (где их много), чтобы уравнять внешнюю и внутреннюю концентрации. В клетке остается избыток анионов (белки, нуклеиновые кислоты), которые не могут выходить наружу. Это создает на внутренней поверхности мембраны отрицательный заряд. Ионы Cl^- стремятся проникнуть в клетку по градиенту концентрации.

Ионы Na двигаются внутрь клетки по градиенту концентрации, но гораздо в меньших количествах, чем выводится K^+ , т.к. проницаемость мембраны для Na^+ составляет 1/20 по сравнению с проницаемостью для K^+ .

Вывод: в состоянии покоя ионы Na и K перемещаются по градиенту концентрации (K^+ из клетки, Na^+ – внутрь), причем Na^+ в меньших количествах. Это создает потенциал покоя.

1.2. Потенциал действия

Возбуждение нерва временно вызывает резкое возрастание проводимости нервного волокна для K^+ , Na^+ . Сначала меняется проницаемость мембраны для Na^+ , она возрастает в 100 раз, Na^+ по своим каналам движется в клетку. В результате потока Na^+ внутри аксона происходит вначале деполяризация мембраны (заряд равен 0), а затем поляризация, однако теперь внутри аксона положительный заряд, Na^+ -каналы спонтанно закрываются и открываются K^+ -каналы. K^+ выходит из клетки и мембранный потенциал опять становится отрицательным. Ионные каналы остаются открытыми непродолжительное время, после их закрытия Na^+K^+ АТФаза восстанавливает исходное распределение ионов по сторонам мембраны.

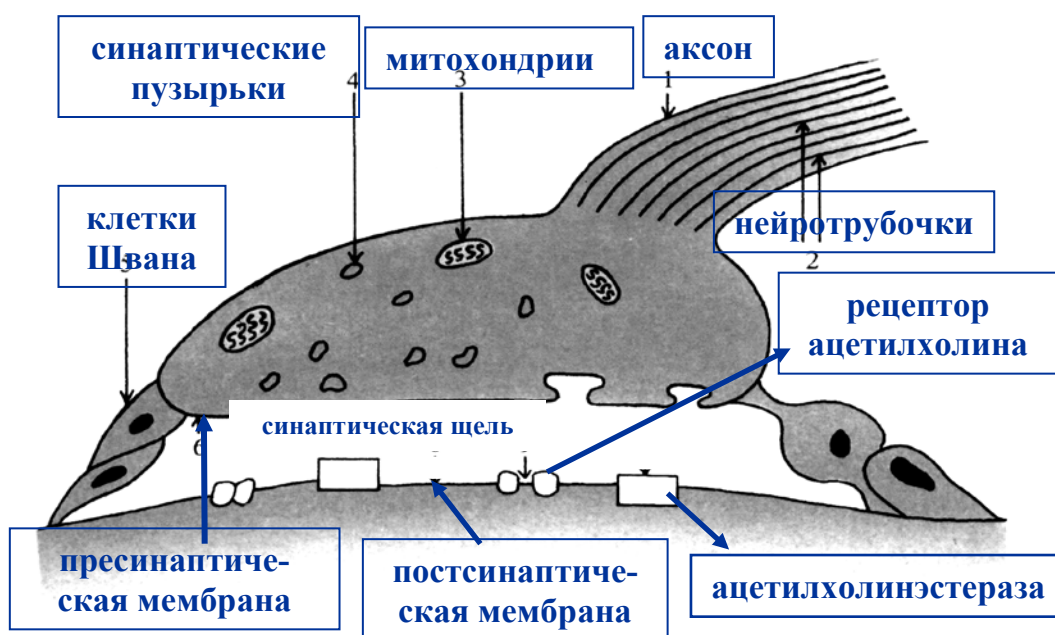
Диффузия ионов из места возбуждения в соседние участки аксона снижает там потенциал покоя и вызывает открытие Na-каналов, т.е. развитие потенциала действия. В безмиелиновых волокнах Na-каналы располагаются вдоль всего аксона **равномерно**, поэтому потенциал действия распространяется по аксону постепенно. В миелиновых волокнах Na-каналы сосредоточены в **перехватах Ронвье**, поэтому потенциал действия перескакивает от перехвата к перехвату, вследствие чего импульс проводится быстрее и эффективнее.

2. Передача возбуждения в синапсах

Достигнув конца аксона, возбуждение передается другой клетке. Клетки разделены синаптической щелью. Синапс образован мембранами контактирующих клеток. Передача возбуждения происходит с помощью медиаторов.

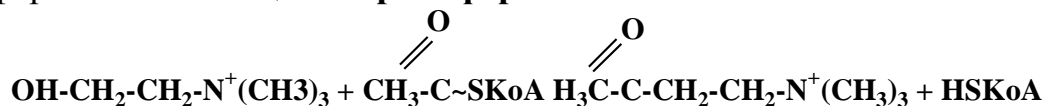
Каждый тип синапса использует только определенный тип медиатора: холинэргические синапсы – ацетилхолин, адренэргические – катехоламины.

Строение холинэргического синапса



2.1. Холинэргическая передача

Ацетилхолин синтезируется вблизи пресинаптического окончания аксона (путем переноса ацетильной группы от ацетил-КоА на холин), фермент **холинацетилтрансфераза**.



Образовавшийся ацетилхолин попадает в синаптические пузырьки. Его высвобождение из пузырьков происходит **порциями в ответ** на возбуждение, передаваемое от аксона.

После освобождения в щель ацетилхолин взаимодействует с рецепторами на постсинаптической мембране.

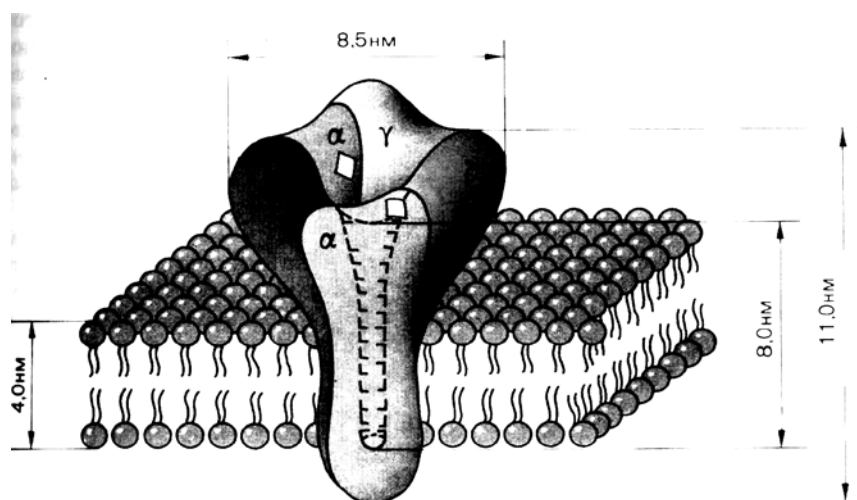
Еще в 1953 г. Д. Нахманзон предположил, что этот рецептор представляет собой белок, который при взаимодействии с нейромедиатором претерпевает конформационные изменения, ведущие к образованию трансмембранного ионного канала. Холинорецепторы подразделяются на два типа: никотиновые и мускариновые. Никотиновые рецепторы способны активироваться никотином и находятся в основном в месте контакта аксонов со скелетными мышцами, в то время как мускариновые рецепторы имеют высокое сродство к мускарину и сосредоточены в мозге, секреторных клетках, гладких и сердечной мышцах.

Связывание ацетилхолина с никотиновыми рецепторами приводит к изменению конформации рецепторов, которое передается аденилатциклазе, локализованной в постсинаптической мембране. Запуск

аденилатциклазного механизма приводит к фосфорилированию белков натриевых и калиевых каналов и увеличению проницаемости мембраны для Na^+ и K^+ . Как следствие происходит деполяризация клеточной мембраны за счет быстрого входа ионов натрия, что в конечном итоге ведет к возбуждению мышечной клетки. Следовательно, биологическая функция никотинового ацетилхолинового рецептора заключается в изменении ионной проницаемости постсинаптической мембраны в ответ на связывание ацетилхолина. После этого ацетилхолин гидролизуется ацетилхолинэстеразой до холина и рецептор переходит в исходное состояние.

Ацетилхолиновый рецептор локализован в зоне синаптических контактов с очень высокой плотностью, превышающей 1 молекулу рецептора на 100 нм^2 поверхности мембраны. Такая плотность позволяет секретируемым молекулам ацетилхолина вступать во взаимодействие с рецептором, избежав гидролиза ацетилхолинэстеразой.

Строение ацетилхолинового рецептора

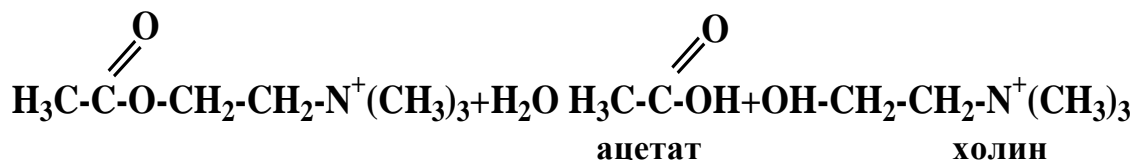


В электрофизиологических экспериментах установлены основные параметры одиночного канала холинорецептора: его проводимость составляет 20 пСм (См – Сименс, единица измерения электропроводимости), а время жизни не превышает 1-3 мс. Канал проницаем для ионов натрия, калия, кальция и даже некоторых органических катионов. С учетом размера последних полагают, что канал представляет собой пору, размеры которой в самой узкой части должны быть не менее $0,65 \times 0,65 \text{ нм}$.

Согласно существующим моделям функционирования канала ацетилхолинового рецептора, рецептор может находиться в трех состояниях: покоя, открытом (активированном) и десенситизированном. Активация канала достигается взаимодействием с ацетилхолином и явля-

ется быстрым процессом, протекающим в миллисекундном диапазоне. В десенситизированном состоянии медиатор все еще связан с рецептором, но канал уже закрыт. Переход из одного состояния в другое, по видимому, сопровождается существенными конформационными изменениями субъединиц белкового комплекса. Ацетилхолиновый рецептор никотинового типа представляет собой трансмембранный комплекс пяти гликопротеинов, образующий хемовозбудимый ионный канал. В отсутствие ацетилхолина канал находится в закрытом состоянии. При связывании с ацетилхолином канал на короткое время открывается для прохождения через него ионов натрия и калия, а затем переходит в десенситизированное состояние.

После диссоциации ацетилхолина из комплекса рецептором он разрушается под действием ацетилхолинэстеразы. Ацетилхолинэстераза связана с наружной стороной постсинаптической мембраны. В среднем на каждый ацетилхолиновый рецептор приходится 1 молекула фермента.



Нарушение холинэргической передачи

При заболевании **миастения** в крови находят антитела против собственных рецепторов ацетилхолина, что приводит к нарушению нейромышечной передачи, что проявляется мышечной слабостью (широкий зрачок, расслабление мышц). Лекарственные препараты (неостигмин, эзерин) ингибируют ацетилхолинэстеразу, тем самым они усиливают действие ацетилхолина. Еще более мощными ингибиторами фермента являются органические фторфосфаты. Они образуют прочную связь с ацетилхолинэстеразой и вызывают смерть от остановки дыхания. Это нервнопаралитические яды – табун, зарин.

Соединения, оказывающие влияние на синаптическую передачу

Холинэргические синапсы

Ботулотоксин	Белок клостридий. Тормозит освобождение ацетилхолина из синаптических пузырьков. Источник – неправильно хранившиеся мясные, рыбные продукты и грибы.
Никотин	Алкалоид табака. Имитирует действие ацетилхолина на «никотиновые» рецепторы
Мускарин	Алкалоид гриба-мухомора. Имитирует действие ацетил-

	холина на «мускариновые» рецепторы
Тубокурарин	Основной компонент кураре – яда из некоторых южноамериканских растений. Блокирует рецепторы нервно-мышечных синапсов скелетной мускулатуры (миорелаксант)
Дитилин	Синтетический релаксант с курареподобной активностью
Атропин	Алкалоид растений семейства пасленовых. Блокирует мускариновые рецепторы. Применяется для устранения спазма гладкой мускулатуры.
Физостигмин	Алкалоид растений семейства бобов. Ингибитор ацетилхолинэстеразы. Применяется в лечении глаукомы.

Зомби

Дословно «зомби» означает «живой мертвец». Понятие это пришло с острова Гаити, где существовал, да, пожалуй, и поныне существует целый культ «зомби». Он состоит как бы из двух звеньев: сначала убийство, а затем возвращение к жизни. Жертве, которую намерены превратить в «зомби», подмешивают в еду яд, так называемую «пудру зомби». Основным компонентом для ее приготовления является рыба пузан. Она напоминает воздушный шарик, утыканный иголками, и содержит в себе яд тетродотоксин. Это очень сильный нервно-паралитический яд, превышающий степень воздействия цианистого калия в 500 раз. У жертвы сразу же прекращается дыхание, синееет поверхность кожи, стекленеют глаза. Лишь очень опытный специалист может определить, что смерть человека видимая, его искусственно ввели в состояние клинической смерти. Через несколько дней такого человека похищают с кладбища, чтобы якобы вернуть его к жизни. Так он становится «зомби». Осознание своего «я» возвращается к нему неполностью или не возвращается вовсе, остаются животные инстинкты, он легко внушаем.

2.2. Адренэргическая передача

Медиаторами адренэргической передачи являются катехоламины – норадреналин, адреналин, дофамин. Механизм их синтеза в нервной системе такой же, как и в мозговом веществе надпочечников. **Норадреналин** встречается в основном в симпатической нервной системе, в стволе мозга и в гипоталамусе. **Дофамин** обнаруживается в полосатом теле и в базальных ганглиях. В адренэргических синапсах нет систем, разрушающих медиаторы в синаптической щели. Вместо этого на пресинаптической мембране есть рецепторы для медиатора, взаимодействие с ними прекращает освобождение в щель новых порций медиатора. Кроме этого, в синаптической щели есть специальная

транспортная система для выкачивания медиатора из синапса.

Реабсорбированный норадреналин либо вновь повторно используется, либо инактивируется ферментами МАО, метилированием.

С нарушением дофаминэргической передачи связана болезнь Паркинсона. У больных отмечается ригидность мышц, маскообразное лицо, задержка начала движений. Концентрация дофамина в хвостатом ядре и скорлупе снижена. При шизофрении высказано предположение об избыточной дофаминэргической передаче. Известно, что все лекарства, которые являются эффективными при шизофрении, вызывают блокаду дофаминовых рецепторов. Отсюда побочное действие этих препаратов: возникновение симптомов, характерных для болезни Паркинсона.

Соединения, оказывающие влияние на синаптическую передачу

Адренэргические синапсы

Дигидроэрготамин	Продукт восстановления эрготамина спорыньи. Блокатор α -адренорецепторов. Применяется в лечении мигрени.
Пропранол (анаприлин)	Синтетический блокатор β -адрено-рецепторов. Применяется в лечении стенокардии, нарушении ритма сердца.
Имизин	Синтетический ингибитор обратного переноса катехоламинов из синаптической щели в нервное окончание. Применяется в лечении депрессивных психозов.
Ипразид	Синтетический ингибитор монооксидазы, способствующий накоплению катехоламинов в синапсах. Применяется в лечении депрессивных психозов.
Резерпин	Алкалоид раувольфии. Ингибитор депонирования катехоламинов в пузырьках. Применяется как снижающий артериальное давление и в лечении шизофрении.

2.3. Тормозные медиаторы

Главным тормозным медиатором в нервной системе является **гамма-аминомасляная кислота (ГАМК)**. ГАМК увеличивает проницаемость постсинаптических мембран для K^+ . В результате отдалается мембранный потенциал от порогового уровня, при котором возникает потенциал действия. Инактивация ГАМК осуществляется путем трансминирования.

Глицин – тормозной медиатор в спинном мозге и в большинстве структур ствола мозга. Торможение осуществляется в результате повышения проводимости постсинаптической мембраны для СГ, что приводит к ее гиперполяризации.

Соединения, оказывающие влияние на синаптическую передачу

Глициновые синапсы

Стрихнин	Алкалоид семян чилибухи. Связывается с глициновыми рецепторами, вытесняя глицин. Тонизирующее средство, при передозировке – судороги.
Апамин	Компонент пчелиного яда. Эффект аналогичный стрихнину.

2.4. Пептидные синапсы

Энкефалины и эндорфины

Эндорфины – это родовое название эндогенных опиоидных пептидов. Эти пептиды назвали опиоидными из-за способности связываться с теми же рецепторами, которые связывают морфин и др. опиаты. Первыми были открыты два пентапептида, названные энкефалинами: мет-энкефалин и лей-энкефалин (остальные 4 аминокислоты одинаковые). Они, по-видимому, участвуют в интеграции сенсорной информации, имеющей отношение к боли.

В гипоталамусе позже были обнаружены более длинные пептиды α -, β -, γ -эндорфины, которые оказались в 12-100 раз активнее энкефалинов. Эти пептиды участвуют в регуляции эмоциональных ответов, вырабатываются также при мышечной работе.

Имеющиеся данные позволяют предполагать, что эндорфины и энкефалины могут синтезироваться в нервной ткани, в надпочечниках. Особый интерес к этим соединениям связан с надеждой найти анальгетики, к которым не возникает привыкания.

Энкефалины играют важную роль в регуляции функционального состояния ЦНС, сердечно-сосудистой системы, пищеварительной и других. Энкефалины оказывают гепатопротекторное действие. При действии энкефалинов секреторная функция печени, желудка, поджелудочной железы, как правило, снижается, поэтому можно полагать, что физиологическая роль энкефалинов, находящихся в крови, заключается в угнетении секреторной активности регулируемых органов.

Установлена взаимосвязь между содержанием опиоидных пепти-

дов и тяжестью ишемии при инфаркте миокарда. Инфаркт миокарда сопровождается повышением уровня опиоидных пептидов не только в ткани миокарда и в крови, но и в различных структурах мозга и надпочечниках. Показано, что опиоидные пептиды обладают антиишемической активностью за счет угнетения процесса перекисного окисления липидов и стабилизации мембран кардиомиоцитов, наибольшей антиишемической активностью обладает β -эндорфин, меньшей – лей-энкефалин. Одним из главных механизмов реализации антиишемического действия считается ингибирующее влияние опиоидных пептидов на активность симпатикоадреналовой системы.

В клинике используют синтетический аналог лей-энкефалина, препарат даларгин, у больных ИБС, при инфаркте миокарда.

Соединения, оказывающие влияние на синаптическую передачу

Пептидные синапсы

Морфин	Алкалоид опия, наркотик. Соединяется с энкефалиновыми рецепторами, имитируя их действие. Болеутоляющее средство.
Налоксон	Синтетический структурный аналог морфина. Антагонист энкефалинов, противоядие при отравлении морфином.

3. Особенности энергетического обмена нервной ткани

Интенсивность энергетического метаболизма в нервной ткани значительно выше, чем в других тканях. У человека мозг составляет около 2 % от массы тела и потребляет приблизительно 20% всей энергии, расходуемой организмом в покое. Характерной особенностью энергетического обмена головного мозга является высокая в сравнении с другими тканями интенсивность потребления кислорода и глюкозы из крови, поэтому ухудшение условий доставки кислорода кровью приводит к нарушениям энергетики и функции мозга.

Высокая скорость окислительных и энергетических реакций характерна не для всей нервной ткани. Периферические нервы используют приблизительно в 30 раз меньше кислорода, чем эквивалентное по массе количество ткани из центральной нервной системы (ЦНС). В головном мозге прослеживается дифференцированность в интенсивности дыхания различных мозговых образований. По мере перехода от филогенетически более молодых передних отделов мозга к филогене-

тически более старым задним отделам интенсивность дыхания снижается. По скорости поглощения кислорода отделы мозга можно расположить в следующей убывающей последовательности: кора больших полушарий > мозжечок и промежуточных мозг > средний и продолговатый мозг > спинной мозг.

Важной особенностью, отличающей энергетический метаболизм в мозге от других тканей, является невозможность замены основного субстрата окисления - глюкозы другими соединениями, интенсивно окисляющимися во многих тканях. Это обусловлено низкой проницаемостью гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) у взрослых животных для свободных жирных кислот, кетоновых тел, аминокислот. У растущих особей, когда еще происходит формирование ГЭБ, в мозг могут поступать кетоновые тела и свободные жирные кислоты, уровень которых в крови в ранний постнатальный период высок. Однако, несмотря на возможность проникновения в мозг кетоновых тел, их вклад в энергетический баланс несравнимо ниже, чем у глюкозы.

Несмотря на доминирующее значение окислительных процессов в нервной ткани, существует динамическое равновесие между дыханием и анаэробным гликолизом. Это подтверждает постоянное присутствие в нормальных условиях в мозге определенного количества лактата. Существование такой базальной активности анаэробного гликолиза, способной в любой момент резко активизироваться и в определенной степени компенсировать потерю способности к окислению, имеет немаловажное значение, обеспечивая нервные клетки энергией в неблагоприятных и несвойственных им гипоксических условиях.

С учетом того, что более 90% метаболизируемой в мозге глюкозы подвергается аэробному окислению по гликолитическому пути с последующим окислением в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК), последний играет особую роль в энергетическом обеспечении ЦНС. Пополнение пула ацетил-КоА для цитратсинтазной реакции ЦТК может происходить при окислении свободных жирных кислот, кетоновых тел, метаболизме некоторых аминокислот. Однако эти пути наработки ацетил-КоА, имеющие большое значение для многих тканей, в мозге взрослых животных играют незначительную роль. Главным механизмом ввода углеродного скелета пируват в ЦТК служит окислительное декарбоксилирование под действием пируватдегидрогеназного комплекса (ПДК), который в мозговой ткани преобладает над реакциями карбоксилирования, катализируемыми пируваткарбоксилазой и НАДФ-зависимой малатдегидрогеназой. При длительном голодании, тяжелых формах диабета, тиреотоксикозе увеличивается использование в ткани головного мозга кетоновых тел в качестве источника ацетил-КоА с последующей утилизацией в ЦТК. Однако, даже в таких экстремальных условиях за счет окисления кетоновых тел и свободных

жирных кислот покрывается не более 20% энергетических потребностей мозга.

Таким образом, можно заключить, что энергетический обмен головного мозга находится в тесной взаимосвязи с уровнем функциональной активности нервной ткани. При существовании общих закономерностей энергетического обеспечения, пластического обмена и функций различных клеток организма, имеется определенная специфика течения этого процесса в головном мозге. Она выражается, прежде всего, в чрезвычайно большой скорости обмена веществ, малых количествах энергетических ресурсов, полной в силу этого зависимости от притока крови к ткани мозга и очень большой чувствительности к гипоксии. Энергия при функционировании мозга в основном затрачивается на химическую работу по синтезу различных органических соединений и на работу по формированию ионных концентрационных градиентов, необходимых для создания мембранных потенциалов и генерации потенциалов действия. Эти превращения и соответствующие им энергозатраты лежат в основе всех разнообразных и сложнейших функций мозга, включая обработку сенсорной информации, мышление и память.

Лекция 53

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

Фармацевтическая биохимия представляет совокупность биохимических знаний, используемых в решении задач фармации. Биохимические знания и методы используются с разными целями: при разработке рациональных форм конкретных лекарственных средств или их комбинаций; создании и использовании методов стандартизации и контроля качества лекарств в процессе их производства и при хранении в аптечной сети; изучении фармакокинетики лекарств; изучении фармакодинамики и оценке специфической активности, токсичности и побочного действия лекарственного препарата; поиске и апробации новых лекарственных средств, в оценке клинической эффективности создаваемых новых лекарственных средств.

Биогенные и синтетические лекарственные средства

С пищей или другими путями в организм человека и животных попадают природные и синтетические вещества, не используемые как источники энергии или как структурные компоненты тканей.

Их называют чужеродными соединениями или ксенобиотиками (греческие слова ксенос – чужой, биос – жизнь). Чужеродными соединениями являются пестициды, инсектициды, консерванты, отходы промышленных предприятий, продукты бытовой химии. К их числу относится большинство лекарственных веществ. Являясь чужеродными для нормальных метаболических путей и в то же время часто обладая большой биологической активностью, эти вещества могут изменять и даже нарушать нормальное течение биохимических процессов. В условиях развития патологического процесса лекарственные вещества могут нормализовать метаболизм и тем самым обусловить выздоровление.

В настоящее время фармация располагает огромным арсеналом синтетических лекарственных препаратов и большим количеством средств природного происхождения (животного, растительного и др.), которые называют биогенными. К биогенным препаратам относятся ферменты, гормоны, витамины и их коферментные формы, антибиотики, аминокислоты, углеводы (моносахариды), макроэргические соединения (АТФ), биогенные амины, антиметаболиты, препараты, получаемые из крови и плазмы. Те из них, которые являются обычными промежуточными продуктами метаболизма, превращаются по обычным путям. Биогенные препараты растительного, микробного происхождения, являющиеся для нашего организма ксенобиотиками (как и синтетические), метаболизируются по специфическим путям.

Знание химической природы, физико-химических свойств этих биологически активных веществ и путей их превращений в организме необходимо не только для понимания характера их действия, но и для оценки назначаемых дозировок, учета возможной несовместимости, для сохранения активности отдельных лекарственных форм при их приготовлении, хранении и перевозке.

Фармакокинетика и метаболизм лекарств. Факторы, влияющие на процессы фармакокинетики.

Изучением движения, т.е. поступления, всасывания, распределения, метаболизма и выделения, химических веществ в живом организме занимается хемобиокинетика. Одним из ее направлений является фармакокинетика, изучающая судьбу фармпрепаратов.

Совокупность процессов превращений лекарственных веществ в организме можно изобразить в виде схемы.

Схема превращений лекарственных веществ в организме. (LADME - система)



В соответствии с названием этапов превращений лекарственных веществ она получила название LADME –системы.

Если бы с лекарственным веществом после его введения в организм ничего не происходило, оно могло бы действовать неопределенно долгое время. На самом же деле большая часть лекарственных препаратов превращается в неактивные вещества и выводится из организма. Эффективность большинства лекарственных веществ и продолжительность их действия в значительной мере определяются скоростью их химических превращений. И врачу, и провизору важно знать, где локализуется то или иное лекарство, каким химическим превращениям подвергается для правильного дозирования, целенаправленного накопления лекарств в определенных тканях, воздействия на процесс их химических превращений.

Поэтому важно представлять все этапы судьбы лекарственного вещества в организме: всасывание, распределение, метаболизм, выделение, изучаемые фармакокинетикой. Изучением же изменений различных систем организма под влиянием лекарства занимается фармакодинамика.

Пути поступления лекарств в организм

Поступление лекарственных веществ в организм возможно:

.

1. через желудочно-кишечный тракт (энтеральный путь);
2. через легкие;
3. через кожу и слизистые;
4. парентерально.

Способы введения также делят на:

интраваскулярные - внутривенно, внутриаартериально, внутрисердечно;

экстраваскулярные - подкожно, внутримышечно, перорально, ректально, через кожу, слизистые, легкие.

I. Освобождение лекарственного вещества из лекарственной формы (liberation)

Многие лекарства для различных способов введения (перорального, парентерального, глазные капли, капли в нос) используются в виде истинных растворов. Однако из многих лекарственных форм (таблетки, капсулы, суспензии, свечи, липосомы) лекарство должно перейти в раствор и раствориться в жидкостях организма (желудочном соке, тканевой жидкости).

II. Всасывание (absorption) - перенос лекарства в кровеносное русло. При интраваскулярном способе введения этого этапа нет. Всасывание лекарственных веществ может происходить через слизистую оболочку рта, желудка, кишечника, через легкие, кожу. Характер этого этапа определяется физико-химическими свойствами самого препарата, характером лекарственной формы и способом введения. Поступление лекарства в кровь происходит быстрее при парентеральном введении водных растворов, чем при энтеральном способе введения.

В любом случае – при всасывании со слизистой разных отделов пищеварительного тракта, через альвеолы легких, кожу, через стенки сосудов (а в дальнейшем – при поступлении в клетки, при выведении - через почечные канальцы) лекарственное вещество проходит через биологические мембраны, которые могут быть представлены одним или не-

сколькими слоями клеток. Этим может определяться разная проницаемость для лекарственных веществ. Транспорт ксенобиотиков через биологические мембраны осуществляется с помощью тех же механизмов, как и биогенных веществ (простая диффузия, облегченная диффузия, активный и везикулярный транспорт).

Для подавляющего большинства ксенобиотиков и лекарственных веществ основным механизмом переноса через мембраны является простая диффузия. Ее скорость рассчитывается по формуле, где скорость прямо пропорциональна площади поверхности переноса (A), разности концентраций вещества между клеткой и окружающей средой ($c_1 - c_2$), коэффициенту диффузии (K) транспортируемого вещества и обратно пропорциональна толщине мембраны (d)

$$V = K \frac{A (c_1 - c_2)}{d}$$

Коэффициент диффузии переносимого вещества зависит от его молекулярной массы, пространственной конфигурации, степени ионизации и растворимости в липидах.

Путем простой диффузии через мембраны легко проникают липофильные неионизированные молекулы, т.к. они хорошо растворяются в липидном бислое мембран.

Электролиты транспортируются через мембраны в соответствии со степенью их ионизации и растворимости в липидах неионизированных молекул. Ионизированные формы хорошо растворимы в воде и плохо – в липидах, поэтому они практически не проходят путем простой диффузии, в то время как неионизированные формы лекарственных веществ транспортируются простой диффузией, т.к. растворимы в липидах. Поэтому ионизированные молекулы всасываются медленнее, а степень их ионизации (а отсюда и скорость всасывания) зависит от величины рН и различий величины рН по сторонам мембраны. Многие лекарственные вещества являются слабыми кислотами (ацетилсалициловая кислота, сульфаниламиды, снотворные и др.) или основаниями (эфедрин, теофиллин и другие алкалоиды). При физиологических значениях рН они слабо ионизированы и всасываются. В то же время в кислой среде желудка алкалоиды – слабые основания ионизируются и не всасываются. При поступлении их в кишечник со средой близкой к нейтральной алкалоиды переходят в слабо ионизированное состояние и легко всасываются.

Лекарственные вещества, являющиеся сильными основаниями или кислотами (антибиотики, курареподобные средства и др.), при физиологических значениях рН полностью ионизированы, не всасываются

простой диффузией, а переносятся путем активного транспорта или другими механизмами.

Липофильные неэлектролиты (алкоголи, хлороформ, диэтиловый эфир и другие) легко проходят через мембраны.

Лекарственные вещества, являющиеся аналогами биогенных, транспортируются с помощью:

1. облегченной диффузии (жирорастворимые витамины, органические кислоты, моносахариды);

2. активного транспорта (аминокислоты, моносахариды, витамин В₂, сердечные гликозиды);

3. везикулярного транспорта (жирорастворимые витамины, крахмал, комплекс витамина В₁₂ с внутренним фактором Кастла).

Особенности всасывания лекарственных веществ в зависимости от путей введения их в организм.

1. Энтеральный способ. При введении лекарств через пищеварительный тракт всасывание может происходить со слизистой ротовой полости, желудка, тонкого и толстого кишечника и осуществляется путем простой диффузии.

Введение лекарств со слизистой ротовой полости и прямой кишки имеет важное значение, т.к. препараты при этом не подвергаются действию ферментов пищеварительных соков, попадают в кровеносное русло, минуя печень, где метаболизируется большинство лекарственных соединений, и доставляются к органам, где оказывают свое действие. Этим продлевается время их активного действия. Сублингвальный способ рекомендуется для применения стероидных гормонов, валидола, нитроглицерина и других препаратов, которые при введении через желудочно-кишечный тракт и попадании в печень быстро инактивируются.

На всасывание лекарств в желудке и кишечнике оказывают влияние целый ряд факторов:

- **объем содержимого:** при большом объеме содержимого в желудке или кишечнике лекарственное средство, перемешиваясь с пищей, медленно, малыми дозами всасывается в кровь, которые могут не обеспечить фармакотерапевтическую концентрацию вещества в крови.

- **секреция пищеварительных желез:** изменяет рН содержимого в желудке и кишечнике, что отражается на ионизации лекарственных веществ, а следовательно, и скорости всасывания.

- **НСI** в желудке может вызвать расщепление препарата (уротропин - на формалин и аммиак).

- **ферменты и другие активные вещества пищеварительных соков:** способны расщеплять амидные, гликозидные, эфирные, пептидные связи в препаратах.

- **желчные кислоты** могут образовывать нерастворимые (а следовательно невсасывающиеся) комплексы с неомицином, канамицином, могут инактивировать нистатин, полимиксин.

- **ускоренная эвакуация содержимого:** уменьшает возможность всасывания со слизистой.

- **скорость кровообращения** определяет скорость всасывания лекарственных веществ. Усиление кровотока в слизистой способствует всасыванию, уменьшение кровотока приводит к снижению скорости и степени всасывания лекарств. Поэтому препараты, понижающие скорость кровотока, ухудшают всасывание других лекарств при сочетанном их применении.

- **взаимодействие лекарственных веществ с компонентами пищи:** препараты ряда тетрациклина образуют нерастворимые комплексы с кальцием пищи (творог, молочная пища), солями железа. Таннин, содержащийся в чае, фруктах, образует нерастворимые комплексы с алкалоидами. Препараты кальция с уксусной, щавелевой, угольной и другими кислотами (в желудке), с жирными кислотами (в кишечнике) образуют нерастворимые соли. Пища замедляет всасывание пенициллина, феноксипенициллина, эритромицина, линкомицина, сульфаниламидных препаратов, аспирина. При лечении антикоагулянтами следует исключить овощи, богатые витамином К₁- капусту, салат, зеленые помидоры, перец.

- напитки, соки, употребляемые для маскировки неприятного вкуса лекарств, могут изменить рН среды (вследствие содержания кислот), что приводит к ионизации и ухудшению всасывания лекарства. Кислая среда может вызвать разрушение кислотонеустойчивых антибиотиков (эритромицин, препараты пеницилина). С цикломатом Na или Ca (сахарин), используемым как подслащивающее средство в напитках, линкомицин образует нерастворимый комплекс.

- пища влияет на всасывание лекарства из разных лекарственных форм: растворы и суспензии менее подвержены этому влиянию т.к. относительно свободно перемещаются из желудка в кишечник. Высвобождение же препарата из таблеток с кишечнорастворимым покрытием замедляется в присутствии пищи и может задержать его всасывание. Поэтому для эффективной фармакотерапии и исключения воздействия перечисленных факторов прием лекарственных препаратов рекомендуют проводить натощак за 30-60 мин. до еды или через 2-2,5 часа после приема пищи, запивая водой в количестве не менее 100 мл.

Неорганические препараты можно принимать после еды, так как они не изменяются в процессе пищеварения, но и из этого правила есть исключения.

- **взаимодействие лекарств** при их одновременном поступлении может привести не только к нарушению их всасывания, но и распреде-

ления в организме и на местах их рецепции. При этом может уменьшаться или увеличиваться их фармакологическая активность с появлением самых неожиданных эффектов.

Классически полезными являются комбинации пенициллина и стрептомицина, ампициллина и оксациллина (ампиокс), олеандомицина и тетрациклина (олететрин). В этих комбинациях расширяется антимикробный спектр и возрастает антибактериальный эффект.

В других случаях одновременное поступление препаратов может приводить к образованию нерастворимых комплексов, не реабсорбируемых слизистой. Так, соли Ca, Al, Mg, Fe, входящие в препараты (например, антацидный алмагель), образуют нерастворимые комплексы с тетрациклином, тормозят всасывание сердечных гликозидов, амиазина. Тетрациклин образует нерастворимый комплекс с висмутом, содержащимся в препаратах «Викалин», «Викаир». Между их приемом необходим интервал в 2-3 часа.

Холинолитики (атропин, платифиллин) замедляют двигательную и эвакуаторную деятельность желудочно-кишечного тракта и, следовательно, всасывание одновременно назначаемых препаратов. Они могут стать причиной длительного контакта препаратов со слизистой желудка (например, ацетилсалициловой кислотой), что вызывает раздражение слизистой, вплоть до изъязвления в отдельных случаях.

При приеме препаратов йода он выделяется слезными железами, поэтому для лечения конъюнктивита нельзя пользоваться мазями, содержащими ртуть, которая при реакции с йодом образует йодид ртути, обладающий прижигающим действием.

Препараты пролонгированного действия - хинидин-дурулес, кинилентин и другие, содержащие лекарственное вещество в 2-3^x - кратной дозе, имеют в структуре оболочки компоненты, растворимые в органических растворителях, например, в этаноле. Сочетание их приема со спиртовыми настойками или алкогольсодержащим напитком может ускорить высвобождение действующего начала и привести к токсическому эффекту.

2. Всасывание лекарственных веществ через кожные покровы: липофильных происходит очень быстро путем простой диффузии (мази). Полярные вещества, гидрофильные всасываются медленно через волосяные луковицы, сальные железы. Скорость и степень всасывания препарата зависит от физиологического состояния кожи. Ускорение всасывания достигается обработкой кожи (компрессы, припарки) или поверхностно-активными веществами.

3. Всасывание в легких через стенки альвеол происходит путем простой диффузии. Введение препаратов через легкие осуществляют в виде газов или летучих жидкостей (анестезирующие газы, закись азота, эфир, противоастматические препараты, а также антибиотики).

4. **При парентеральном способе** введения (подкожно, внутримышечно, внутривенно, внутриартериально) препарат сразу попадает в кровь или быстро проникает в кровеносное русло при подкожном и внутримышечном введении (гидрофильные). Липофильные препараты всасываются медленнее, создавая в мышцах депо.

Мы рассмотрели все барьеры, через которые проходят лекарственные вещества в организме. Но существуют два очень специфических барьера:

- гемато-энцефалический.
- плацентарный.

Оба барьера препараты проходят путем простой диффузии в зависимости от их растворимости в липидах.

Через гемато-энцефалический барьер проходят не все лекарственные вещества и только в свободном виде. Например, хорошо проходят стрептомицин, изониазид, слабо - пенициллин, не проходит тетрациклин и препараты его ряда. При воспалительных заболеваниях мозговых оболочек проницаемость гемато-энцефалического барьера увеличивается.

Плацентарный барьер, подобно гемато-энцефалическому для центральной нервной системы, защищает плод от токсического действия ксенобиотиков. Скорость прохождения веществ через него зависит от размера молекул, т.к. плацента непроницаема для молекул с массой более 1 тыс. Да. К плоду через этот барьер быстро проходят этанол, снотворные, наркотические препараты, анестетики, сульфаниламиды, антибиотики, хлорпромазин и др. Скорость проникновения через плаценту пропорциональна концентрации свободного препарата в крови женщины. Снижение связывания препарата с белками крови (вследствие одновременного приема нескольких лекарств) или ускоренное освобождение из связанной формы может увеличить скорость прохождения лекарства через барьер к плоду и вызывать токсический эффект.

Транспорт лекарств кровью. Различные биологически активные низкомолекулярные вещества транспортируются в ткани, к органам выделения с помощью кровотока. В процессе эволюции возникли специфическая и неспецифическая транспортные системы крови.

Неспецифической транспортной системой являются альбумины плазмы крови, которые имеют большое количество функциональных групп, гидрофобных участков. Лекарственные вещества связываются с ними водородными связями, силами электростатического, гидрофобного взаимодействия. Альбумины осуществляют транспорт сульфаниламидов, салицилатов, хлорпромазина, тиопентала, diaзепамa, дигитоксина и др.

Специфическая транспортная система представлена глобулиновой фракцией плазмы крови, содержащей белки со строго определенной

функцией. Ею переносятся тироксин (тироксинсвязывающий глобулин), глюкокортикоиды (транскортин), тестостерон и эстрадиол (сексстероидсвязывающий глобулин), железо (трансферрин), медь (церулоплазмин), кобаламин (транскобаламин), витамин Е (токоферолсвязывающий белок) и другие.

Эндогенные биологически активные вещества могут связываться и специфической, и неспецифической системами.

Транспорт лекарственных веществ может осуществляться форменными элементами (эритроцитами – витамин В₂, лейкоцитами – витамин С, тромбоцитами – серотонин). Но их тоже относят к неспецифической транспортной системе.

Связывание лекарственного вещества с той или иной транспортной системой имеет важное значение, т.к. при этом образуется **комплекс, не проникающий через сосудистые, тканевые мембраны и не участвующий в фармакологическом эффекте.**

Связывание с белками замедляет скорость удаления лекарственного вещества из крови, поступления в ткани, метаболизм его ферментными системами, фильтрацию в почечных канальцах, т.е. возникает резерв связанного лекарства и увеличивается время его нахождения в организме.

Распределение (distribution): лекарственное вещество из крови поступает в межклеточное пространство и далее в клетки тканей и органов (от 10 минут до 2 часов).

В клетках лекарственные вещества взаимодействуют с биомолекулами – белками, нуклеиновыми кислотами, полисахаридами, липидами, выполняющими роль рецепторов. Через них реализуется фармакологический эффект. Взаимодействие может происходить со всей молекулой рецептора или ее частью.

Присоединение фармакологического агента к рецептору вызывает изменение его конформации, что сопровождается целой цепью последовательных реакций, реализующихся в виде определенного эффекта в клетках или в изменении каких-то функций в организме. Таким образом, фармакологический эффект может наблюдаться на уровне клетки, органов или функциональных систем органов. При этом могут включаться как активирующие, так и тормозные процессы. Например, спазм гладких мышц бронхов может быть вызван карбахолином, а их расслабление – эуфиллином. В действии фармакологических веществ определенное значение могут иметь «немые» рецепторы – участки макромолекул, с которыми они соединяются, но не вызывают никакого фармакологического эффекта. Соединение с немymi рецепторами может привести к снижению концентрации свободного лекарственного вещества и соответственно к снижению терапевтического эффекта.

Длительность действия лекарства зависит от его концентрации, достаточной для насыщения рецепторов. Устанавливается динамическое равновесие между количеством препарата, связанного с рецепторами, частью препарата, связанного с транспортной системой, и частью свободного препарата.

Так как лекарственные вещества подвергаются биотрансформации, приводящей к их инактивации и выведению из организма, количество их постепенно снижается во всех трех фракциях.

Лекарственные вещества и ксенобиотики могут накапливаться в тканях в разных количествах. Так, противомаларийное средство резохин может накапливаться в сетчатке и привести к необратимым изменениям зрения. Жировая ткань поглощает эфир, дибензимин. Хлорпромазин избирательно накапливается в ткани мозга. Волосы, ногти накапливают мышьяк.

Накапливаются обычно те ксенобиотики, которые соединяются с макромолекулами.

Биотрансформация ксенобиотиков и лекарственных веществ (metabolism)

Метаболизм лекарственных веществ изучают путем определения их содержания или их метаболитов в биологических жидкостях (крови, моче и других), тканях, экскретах, а также путем определения активности ферментов, участвующих в метаболизме препаратов.

Биотрансформация - совокупность химических превращений ксенобиотиков и лекарственных веществ, сопровождающихся изменением химической структуры, биологической активности, физико-химических свойств, что способствует их выведению из организма.

Химические превращения могут происходить на разных этапах пути препаратов в организме:

- в пищеварительном тракте под действием ферментов желудочного, панкреатического и кишечного соков (расщепление пептидных, амидных, гликозидных, эфирных и других связей), а также под действием ферментов кишечной микрофлоры.

- во внеклеточных жидкостях – крови, лимфе, спинно-мозговой жидкости, межклеточной.

- в клетках.

Превращения чужеродных веществ могут происходить в разных органах: легких, почках, селезенке, клетках слизистой кишечника, мозгу, коже, сердце, плаценте. Однако большинство чужеродных соединений (природных, продуктов химического производства, лекарственных веществ) метаболизируется в печени, которая для этого обладает набором ферментных систем большой мощности и относительно небольшой

специфичности. Ферментные системы, обезвреживающие ксенобиотики, локализованы в клетках в цитоплазме, митохондриях, лизосомах, пероксисомах, но, в основном, в процессе обезвреживания участвуют микросомальные окислительные системы.

Конечно, не все молекулы подвергаются превращениям, когда первый раз с кровью попадают в печень. Лекарственные вещества обычно прописываются в таких дозах, чтобы достаточное количество их прошло через печень и попало к месту своего назначения, а изменения они претерпевают далее, когда снова и снова поступают в печень.

Биотрансформация обычно протекает в две фазы:

1. Реакции первой фазы обуславливают специфическую перестройку в молекуле с образованием функциональных групп, увеличивающих гидрофильность вещества и способствующих осуществлению второй фазы. К ним относятся реакции окисления, восстановления или гидролиза.

2. Вторая фаза - реакции конъюгации (соединения) с эндогенными веществами с образованием конъюгатов.

Сущность этих реакций заключается в инактивации ксенобиотиков в результате изменения химической структуры, увеличении гидрофильности, в результате чего соединения хорошо фильтруются и плохо реабсорбируются в почках, и это способствует более быстрому их удалению из организма.

Правда, иногда метаболизм вещества может заключаться только в реакциях конъюгации, или конъюгация может предшествовать химической перестройке препарата. Некоторые вещества могут подвергаться только химическим превращениям (реакции 1 фазы), и образующиеся неактивные метаболиты без последующей конъюгации выводятся с мочой.

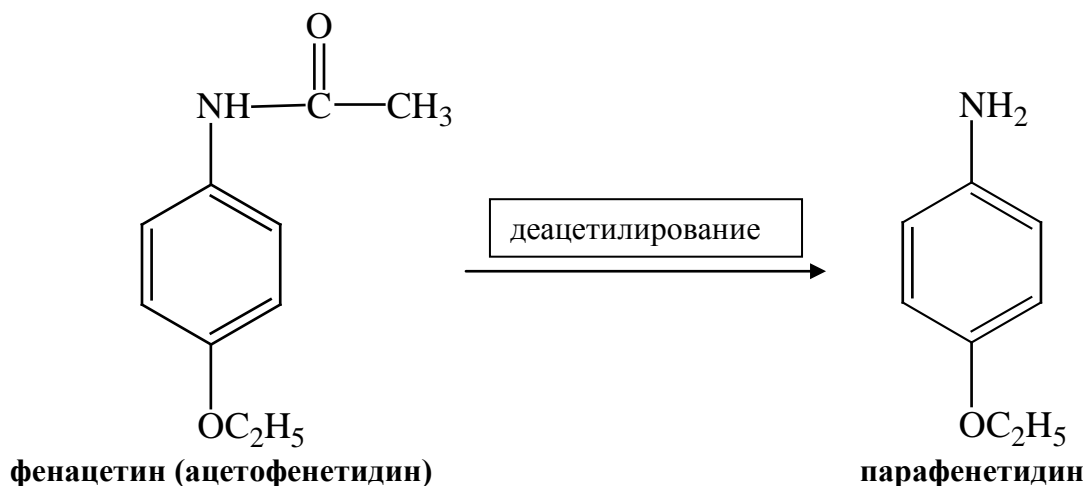
Изменения активности и токсичности ксенобиотиков в процессе метаболизма

В большинстве случаев биотрансформация ксенобиотиков и лекарственных веществ приводит к их инактивации. Однако в ряде случаев химические превращения могут привести к изменению токсичности или биологической активности. Биотрансформация может сопровождаться:

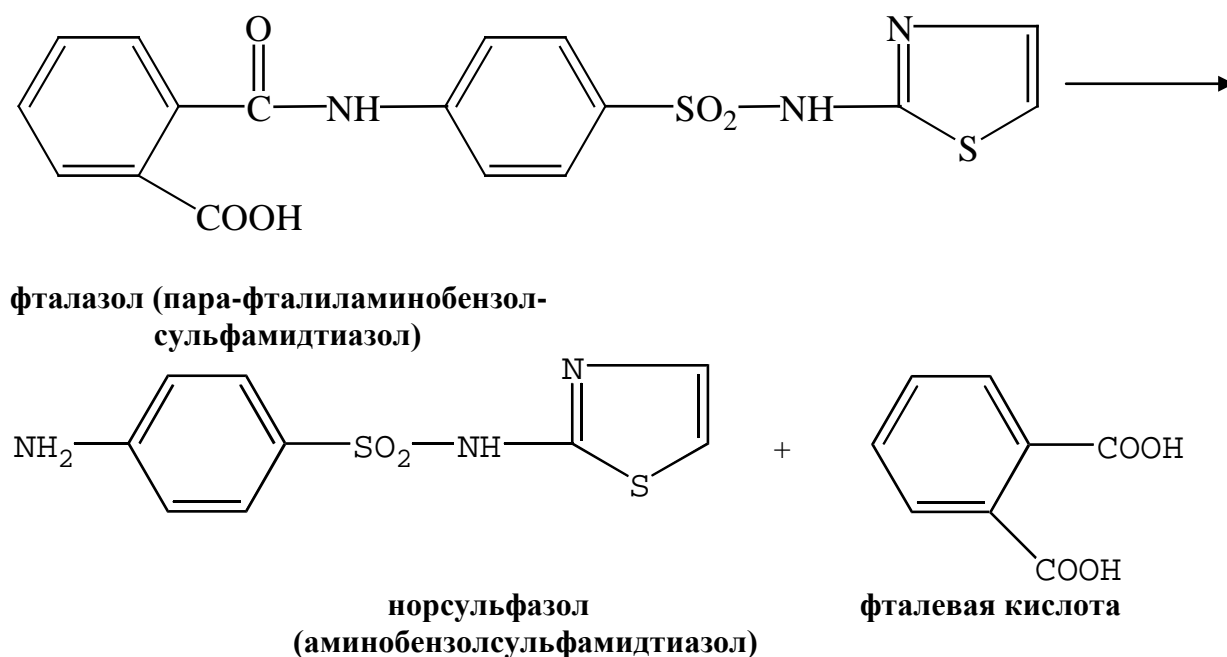
1. Появлением токсичности. Примером является окисление малотоксичного метилового спирта с превращением в токсичные формальдегид и муравьиную кислоту. Фторацетат в организме активируется с образованием фторацетил-КоА, который вступает в цикл трикарбонных кислот, конденсируясь со щавелевоуксусной кислотой. Образуется фторцитрат, который необратимо ингибирует аконитатгидратазу и

цикл трикарбоновых кислот. Такие превращения получили название «летальных синтезов», т.к. образующиеся токсические продукты приводят к смертельному исходу.

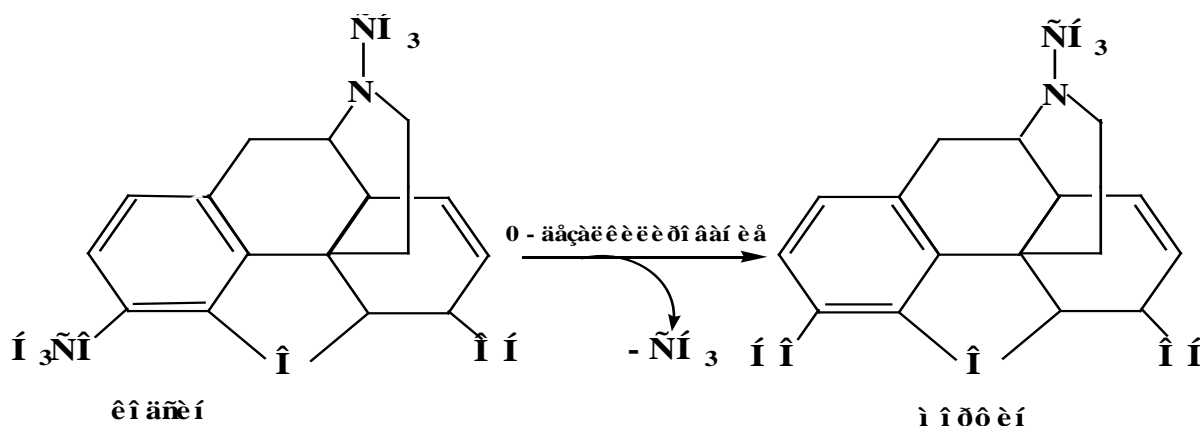
2. Усилением токсичности. Так, при деацетилировании фенацетина (жаропонижающего, болеутоляющего, противовоспалительного средства) образуется парафенетидин, вызывающий гипоксию вследствие окисления гемоглобина в метгемоглобин.



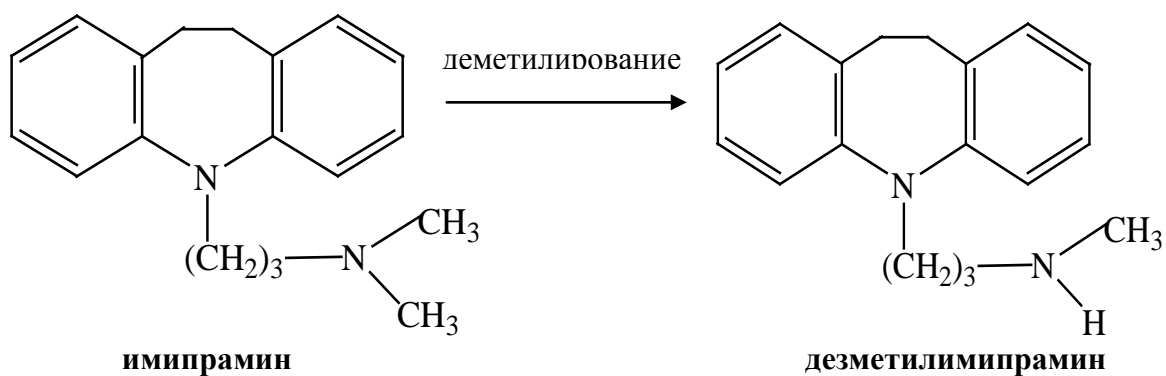
3. Появлением фармакологической активности. Это происходит в результате расщепления лекарственного препарата с освобождением активно действующего вещества или освобождением заблокированных функциональных групп. Например, расщепление фталазола в пищеварительном тракте приводит к образованию норсульфазола, обладающего бактериостатическим действием.



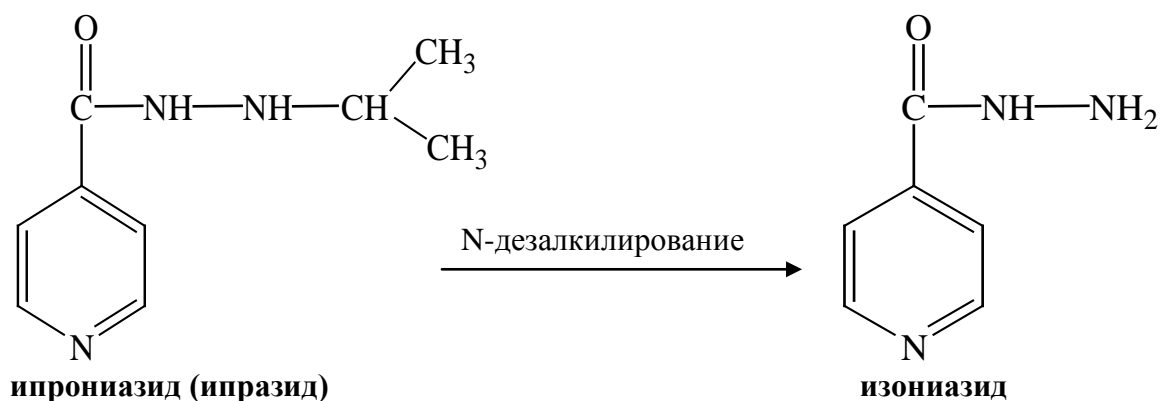
4. Усилением активности. Так, кодеин при О-дезалкилировании (деметиловании) превращается в сильный наркотик морфин.



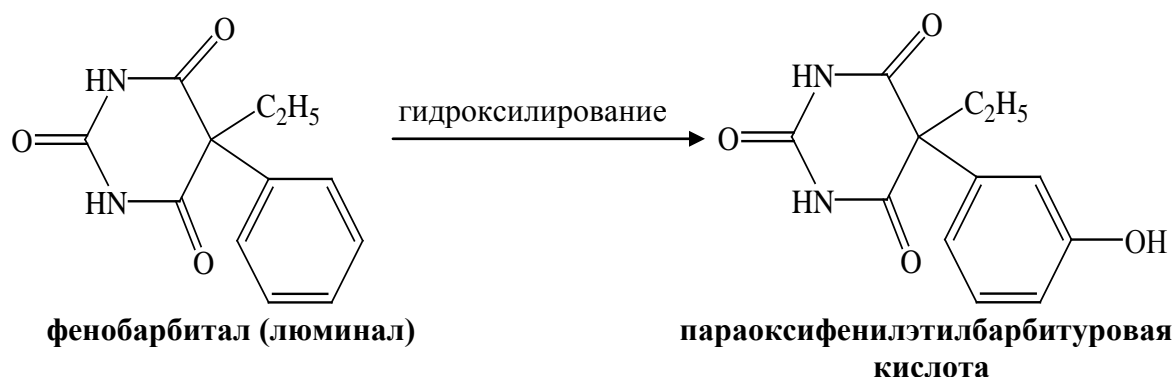
Усиление активности наблюдается при деметилировании антидепрессанта имипрамина с образованием дезметилимипрамина, обладающего более сильным антидепрессивным действием.



5. Изменением активности. Примером является метаболизм антидепрессанта ипрониазида, при дезалкилировании которого образуется изониазид с противотуберкулезным действием.



6. Полной инактивацией. Метаболиты барбитуратов (гидрокси-производные), мепробоматов, фенотиазинов не обладают фармакологической активностью.



Гидроксилирование фенобарбитала приводит к его полной инактивации.

Локализация и виды метаболических превращений ксенобиотиков и лекарств в организме

Метаболизм лекарственных веществ может происходить на всем пути следования: в пищеварительном тракте, во внеклеточных жидкостях и в клетках.

В пищеварительном тракте под действием ферментов желудочного, панкреатического и кишечного соков, а также ферментов кишечной микрофлоры могут расщепляться пептидные, амидные, гликозидные, эфирные и другие связи. Например, фталазол превращается в норсульфазол, гидролизуются сердечные гликозиды.

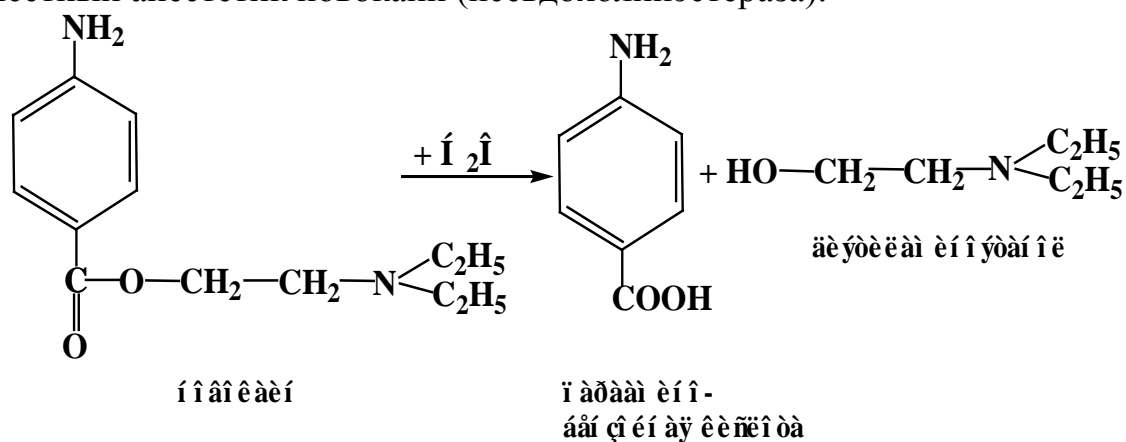
В некоторых случаях это влияет на концентрацию препарата в крови. Так, конъюгаты лекарственных веществ с глюкуроновой кислотой (глюкурониды), выделяемые с желчью в кишечник, не всасываются. Под действием фермента глюкуронидазы кишечной микрофлоры они гидролизуются, и препарат вновь всасывается в кровь (происходит кишечно-печеночная циркуляция). Как и ферменты организма, ферменты кишечной микрофлоры осуществляют кроме реакций гидролиза реакции окисления и восстановления.

Метаболизм лекарственных препаратов в пищеварительном тракте может отразиться на создании их терапевтической концентрации в организме, т.е. снизить биодоступность пероральных форм.

Метаболизм лекарственных веществ во внеклеточных жидкостях (кровь, лимфа, спинномозговая жидкость) может происходить путем гидролиза с участием ферментов эстераз (фосфатазы, псеводохо-

линэстеразы и др.), а также путем окисления спиртов, альдегидов, аминов (алкогольдегидрогеназа и др.).

Так, в плазме крови содержится эстераза, быстро гидролизующая местный анестетик новокаин (псевдохолинэстераза).



Внутриклеточный метаболизм. Основным местом метаболизма ксенобиотиков (в том числе и лекарственных препаратов) является печень, хотя процесс биотрансформации может происходить в сердце, легких, почках, коже, нервной ткани, плаценте, кишечнике. Основную роль в метаболизме играют ферменты, локализованные в эндоплазматической сети (микросомальные ферменты) и осуществляющие реакции окисления, восстановления, гидролиза.

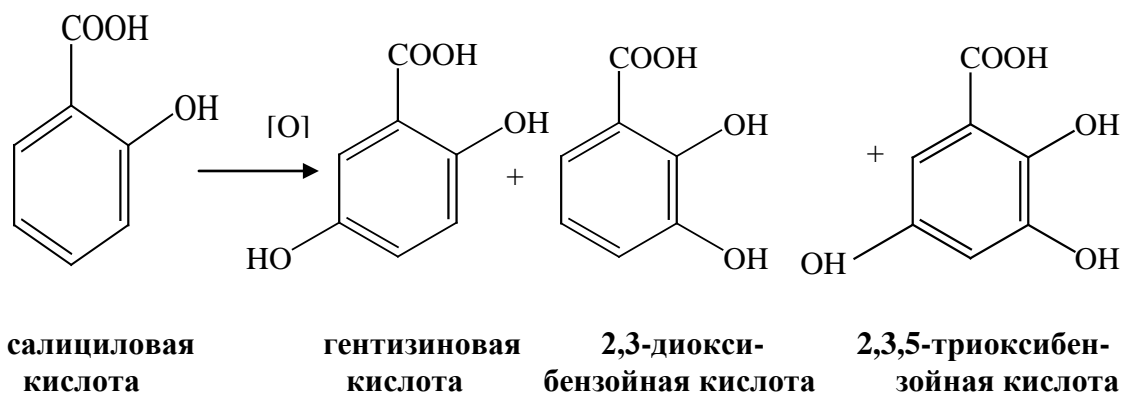
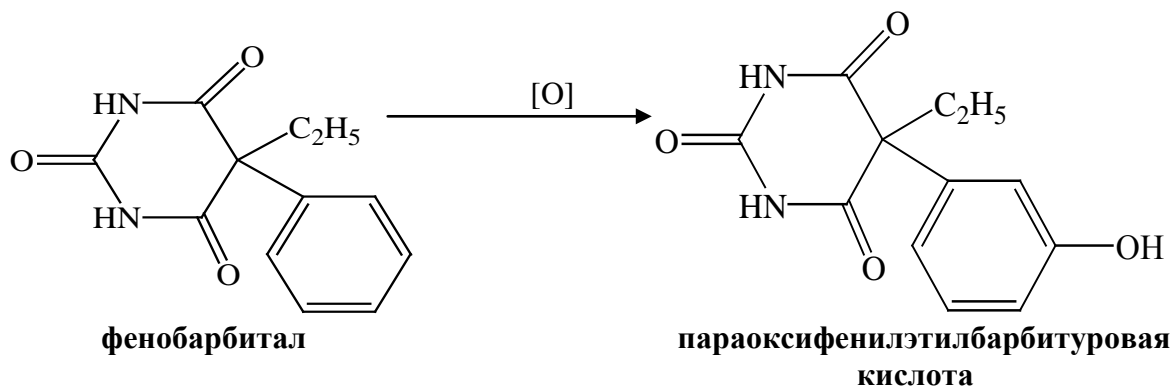
1. Большинство превращений связано с окислением, включающим широкий круг реакций: гидроксирование ароматических, ациклических соединений, аминов, дезалкилирование, дезаминирование, сульфирование.

Микросомальное окисление осуществляется монооксигеназной (гидроксилазной) окислительной системой, метаболизирующей гидрофобные соединения. Эта система включает цитохром P₄₅₀, флавиновые ферменты и железосерные белки (FeS - белки).

Для работы этой системы необходим донор протонов и электронов - восстановленные эквиваленты НАДФ • Н + Н⁺. Сам процесс микросомального окисления рассмотрен в разделе «Биологическое окисление».

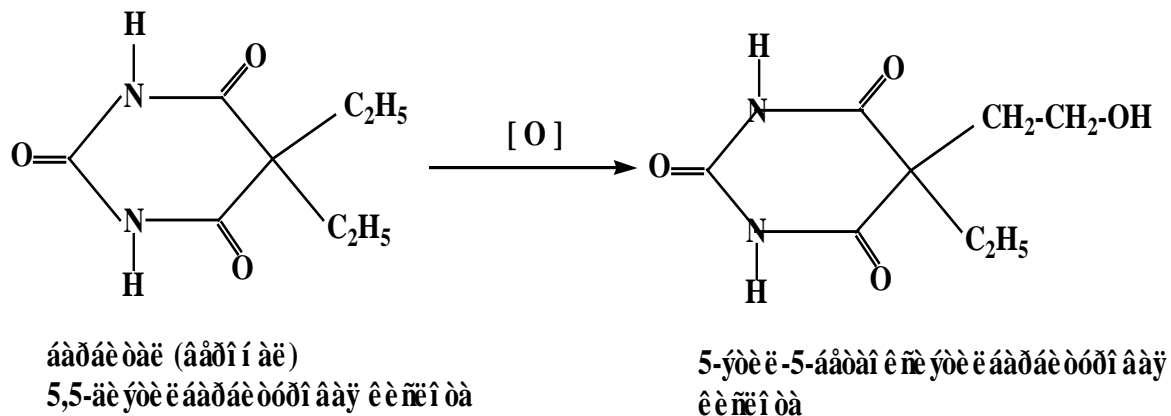
Гидроксилазные окислительные системы осуществляют следующие основные реакции окисления ксенобиотиков:

1. **Гидроксирование ароматических соединений.** Встречается очень часто.

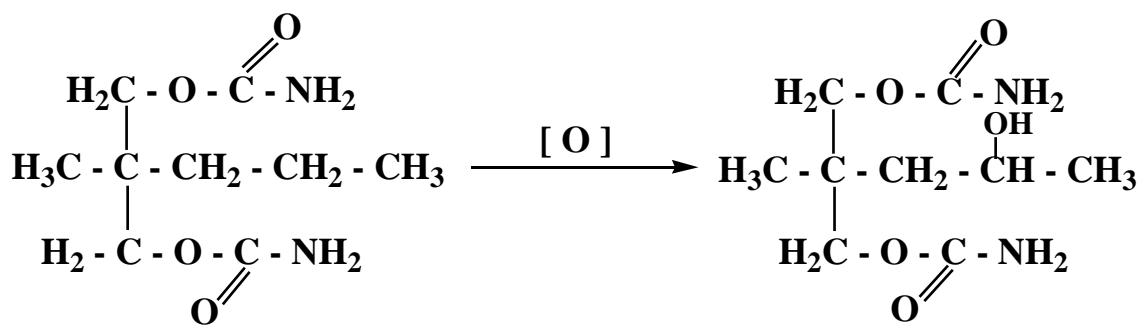


2. Гидроксилирование ациклических соединений.

Метаболизм снотворного средства барбитала (тиопенталнатрия и других барбитуратов) частично происходит путем гидроксилирования боковой цепи.

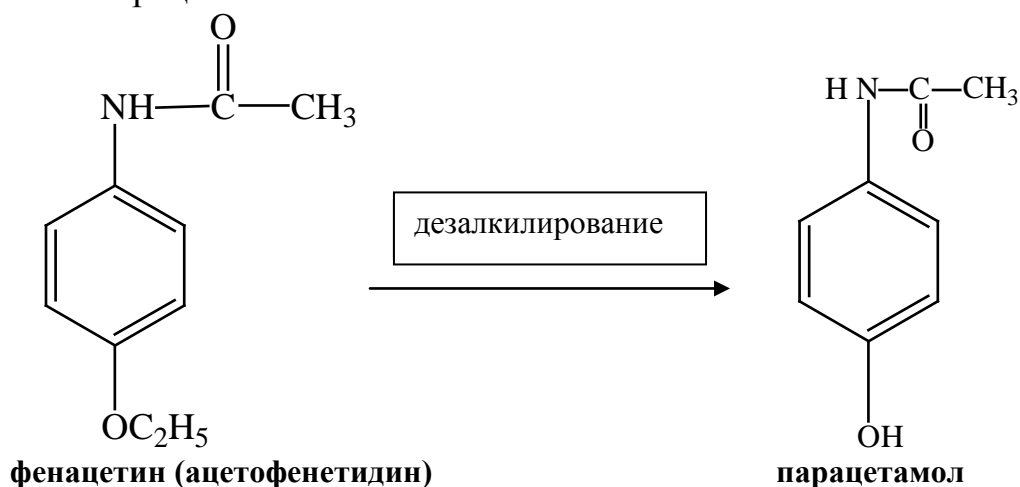


Транквилизатор мепробамат метаболизируется, в основном, путем гидроксилирования боковой цепи.



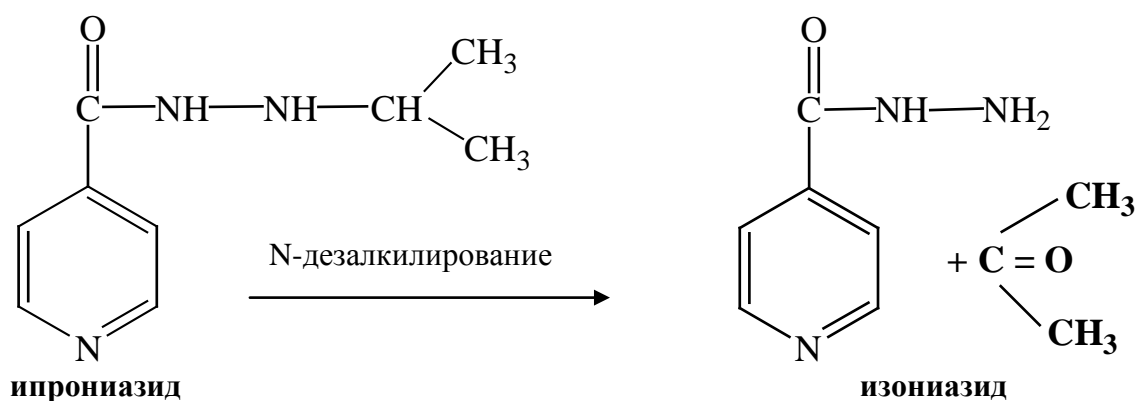
3. O-дезалкилирование.

Примером такого окисления служит превращение кодеина в морфин (см. выше), жаропонижающего и обезболивающего средства фенацетина в парацетамол.

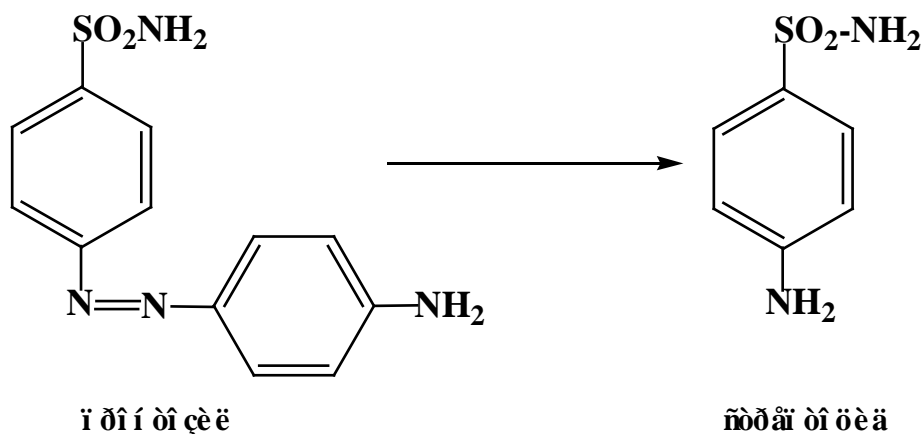


Парацетамол в настоящее время используется как самостоятельный препарат.

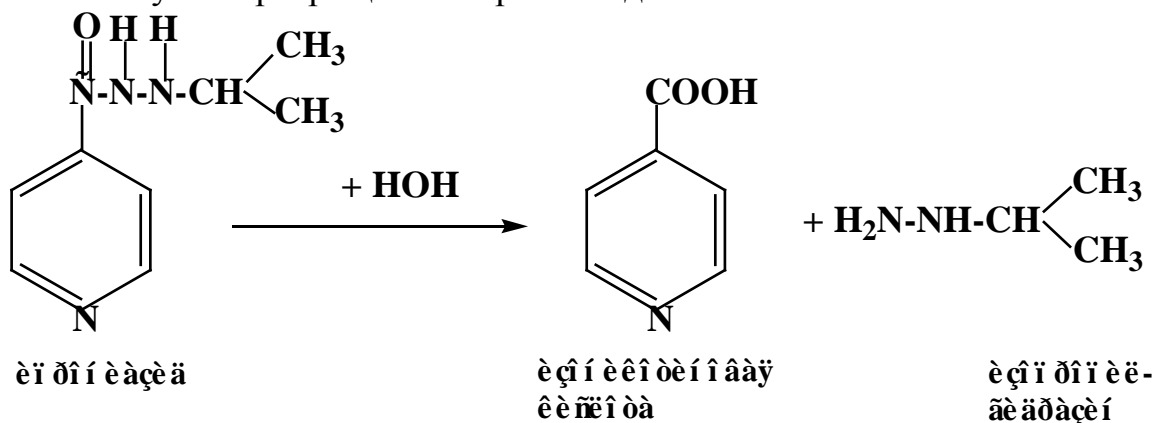
4. N-дезалкилирование. Таким путем частично метаболизируется антидепрессант ипропиазид, превращаясь в изониазид.



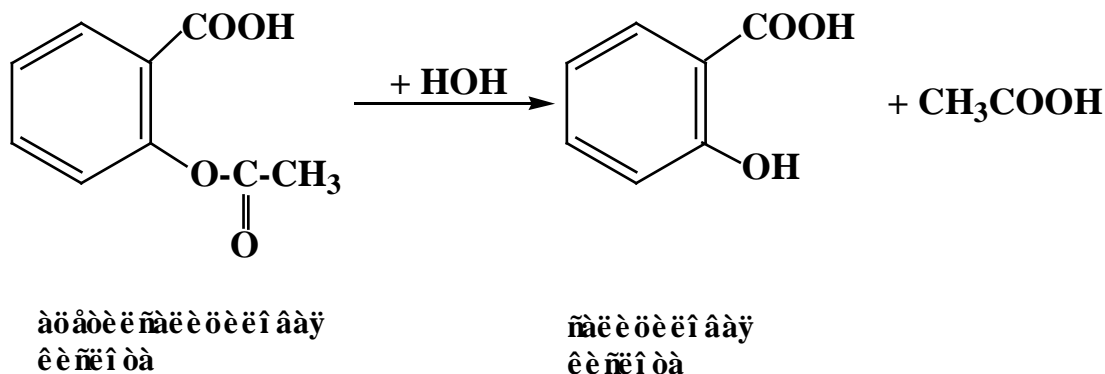
Дезалкилированию подвергаются многие лекарственные средства: производные морфина, барбитуровой кислоты, антипирина, фенотиазина и др.



3. Важным путем инактивации препаратов является гидролиз, протекающий также с участием микросомальных ферментов. Ему подвергаются сложные эфиры, амиды. Ферменты, осуществляющие гидролиз, есть в печени, почках, слизистой кишечника. Гидролиз является основным путем превращения ипрониазида.

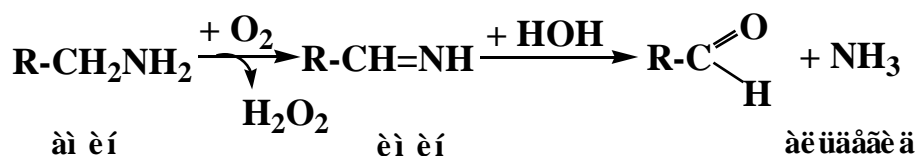


Примером такого превращения является и гидролиз ацетилсалициловой кислоты:

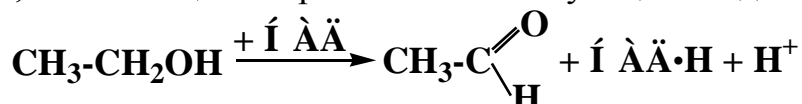


Метаболизм чужеродных соединений происходит и при участии **немикросомальных ферментов** путем реакций окисления, восстановления, дезаминирования.

Например, в митохондриях локализованы аминоксидазы, осуществляющие окислительное дезаминирование аминов по обычной схеме:

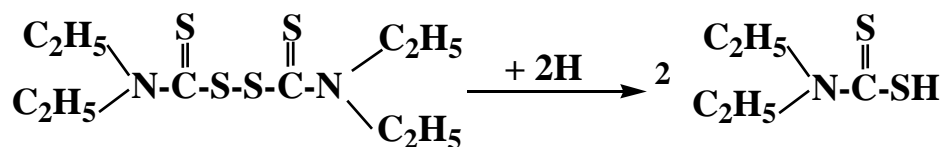


В цитозоле печени, легких, почек имеется фермент алкогольдегидрогеназа, окисляющая спирты в соответствующие альдегиды.



В цитозоле печени имеются также ферменты альдегидоксидазы, ксантиноксидазы, окисляющие альдегиды. Они могут образоваться при дезаминировании аминов, в том числе, серотонина, адреналина, норадреналина.

Примером немикросомального восстановления является превращение антабуса, используемого при лечении алкоголизма.



Ферменты лизосом осуществляют биотрансформацию лекарств, в основном, путем гидролиза.

2 фаза биотрансформации - реакции конъюгации. В них препараты или их метаболиты соединяются с эндогенными веществами. В эту фазу может вступить вещество или его метаболит только, если они имеют соответствующие функциональные группы, способные к конъюгации с эндогенными веществами. Конъюгация сопровождается уменьшением липофильности вещества и увеличением полярности, гидрофильности. Изменение физико-химических свойств конъюгатов способствует их быстрой экскреции. Фармакологическая активность у них либо резко ослаблена, либо отсутствует. Реакции конъюгации - ферментативные, идут с затратой энергии. Различные лекарственные вещества конъюгируются с разными соединениями.

Различают два типа реакций конъюгации:

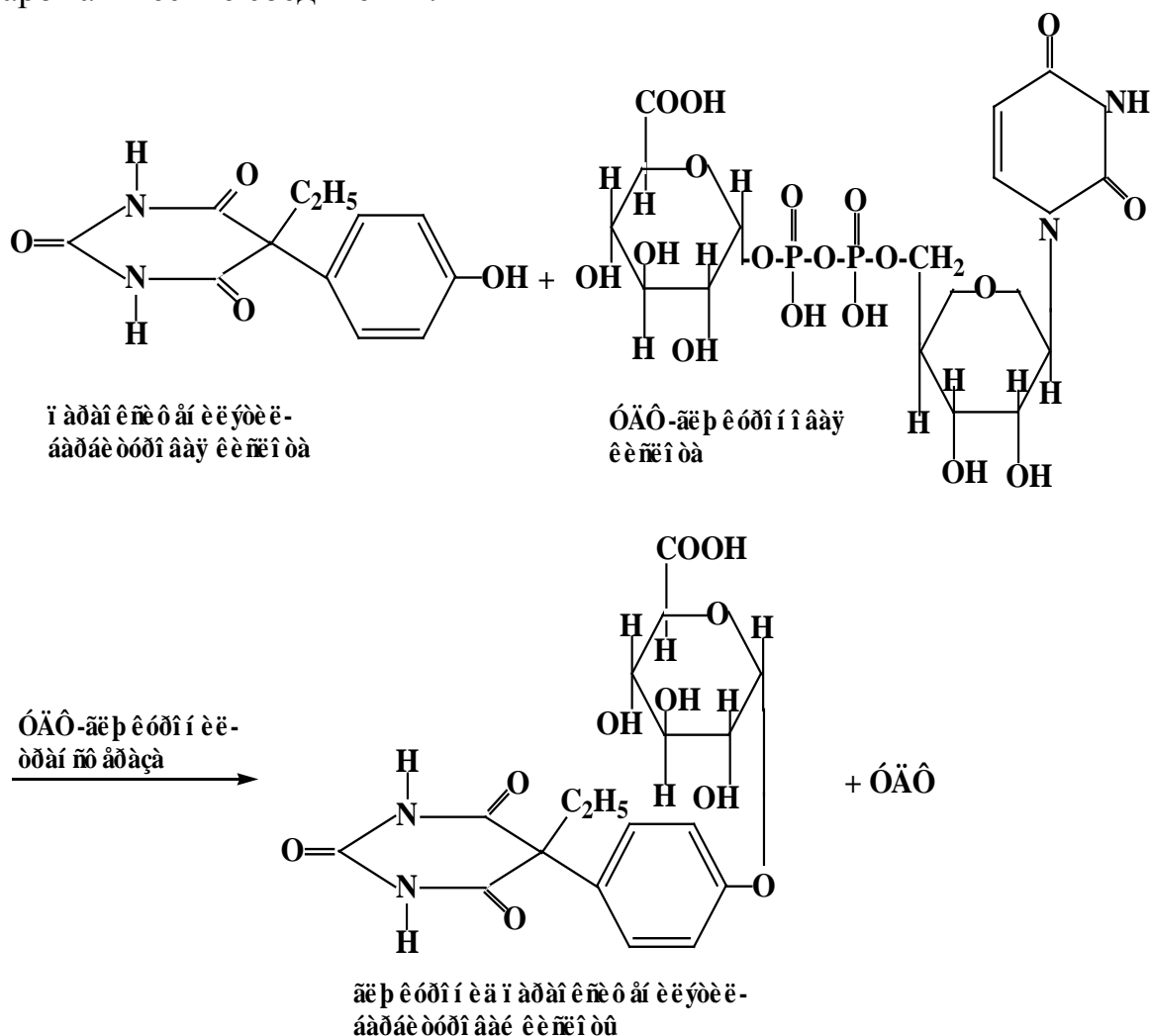
1. **активируется конъюгирующее вещество**, которое соединяется с субстратом. Такой тип реакций имеет место во многих тканях, но, главным образом, протекает в печени.

2. **активируется субстрат**, и к нему присоединяется конъюгирующее вещество. Происходит в печени и почках.

В настоящее время изучены следующие реакции конъюгации.

Реакции I типа:

1. **Конъюгация с глюкуроновой кислотой**, участвующей в активной форме - в виде УДФ - глюкуроновой кислоты. Эта активная форма образуется из УДФ - глюкозы. Вещества, имеющие гидроксильную группу, способны непосредственно взаимодействовать с глюкуроновой кислотой (например, морфин). Но чаще эта реакция конъюгации происходит после гидроксирования (например, барбитураты, хлорпромазин и др.). Такой тип конъюгации возможен также по карбоксильной и аминогруппам. Конъюгация осуществляется УДФ-глюкуронилтрансферазой, локализованной в мембранах ЭПС печени, почек, кожи, кишечника. Конъюгации с глюкуроновой кислотой подвергаются фенолсодержащие соединения, спирты, карбоновые кислоты, ароматические соединения.

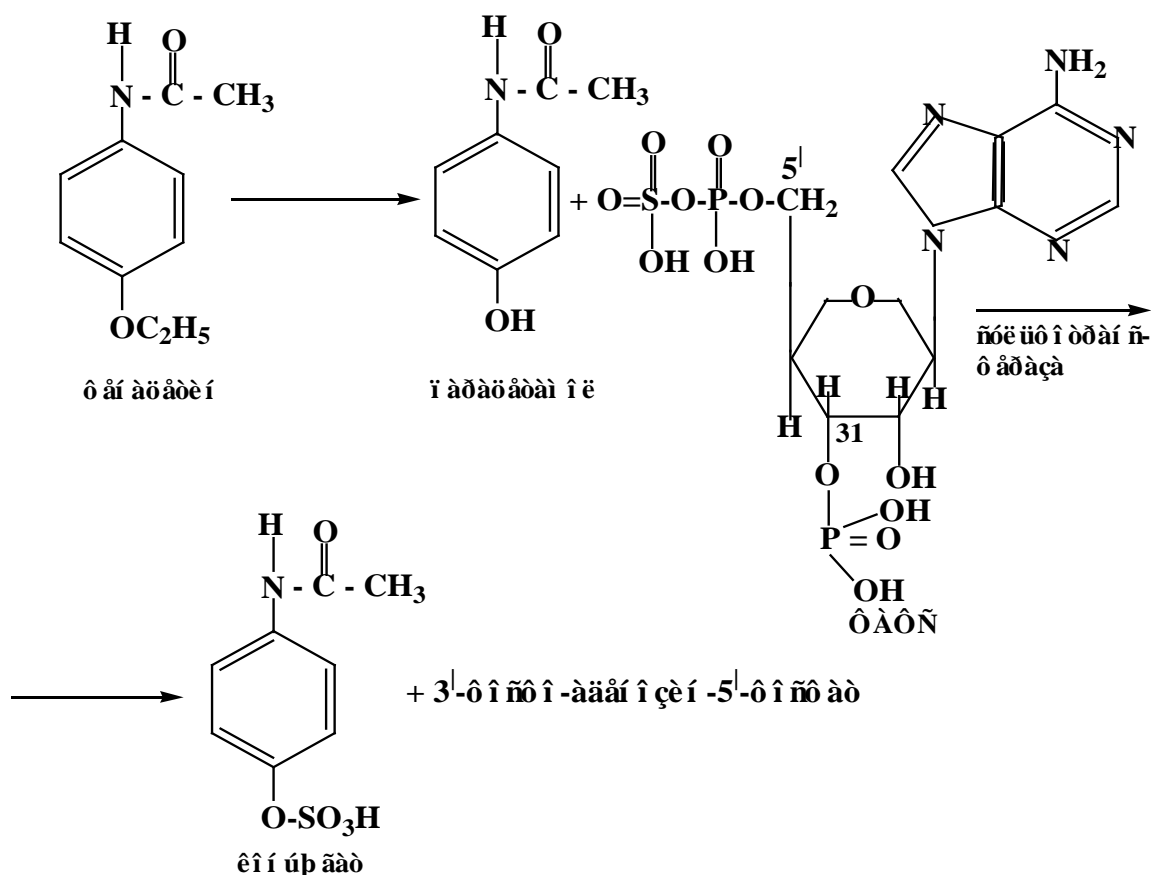


Образующиеся глюкурониды выделяются из организма.

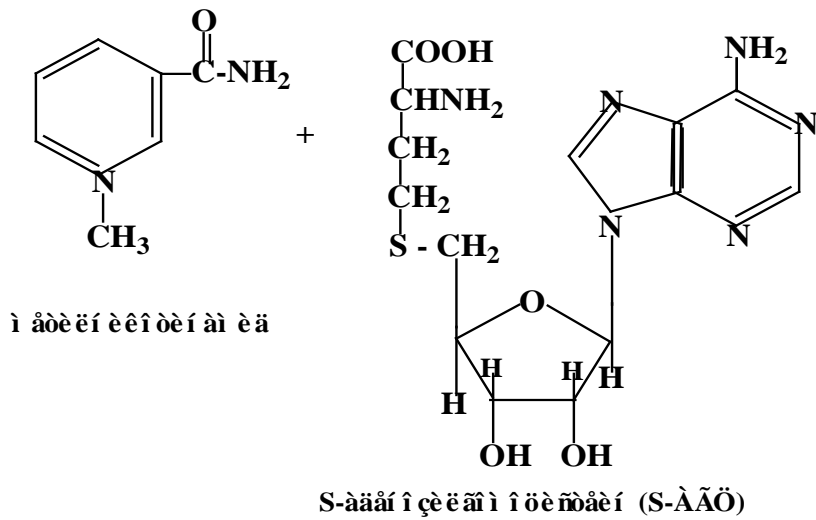
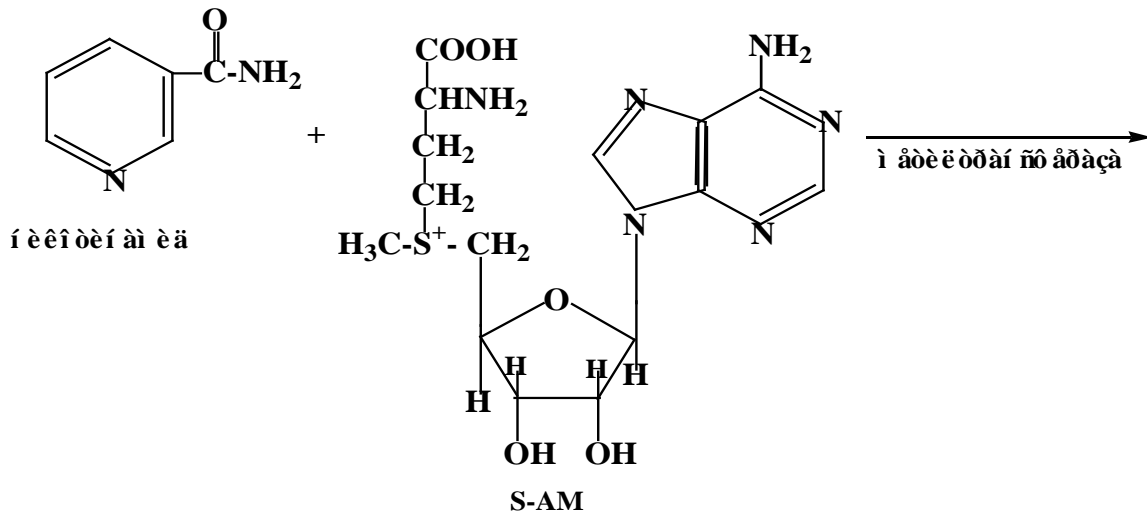
2. **Конъюгация с серной кислотой (сульфатная)** происходит в основном в печени, а также в почках, кишечнике, плаценте под дей-

ствием сульфотрансфераз, локализованных в цитозоле клеток. В реакции участвует активная форма серной кислоты - 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС). Такой конъюгации подвергаются фенолы, стероиды, индол, скатол и другие циклические соединения, имеющие OH-группы.

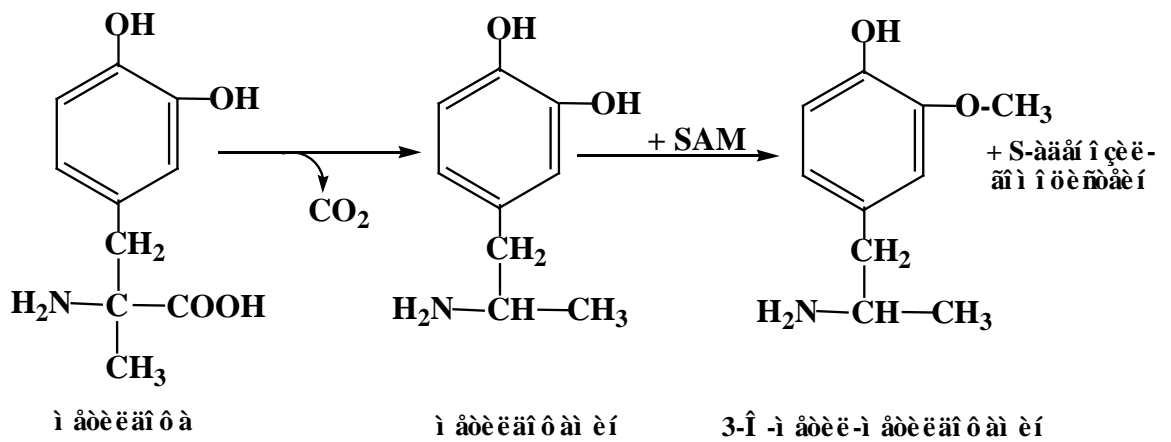
Активная форма сульфата образуется из H_2SO_4 и АТФ. Источником неорганического сульфата являются процессы превращения цистеина. Этот тип конъюгации является эволюционно наиболее древним видом детоксикации и часто примитивным, т.к. образующиеся конъюгаты могут быть токсичными.



3. Конъюгация путем метилирования, т.е. переноса метильной группы с S-аденозилметионина на амины, фенолы, тиоловые соединения, имеющие OH-, NH_2 - и SH- группы, с образованием N-, O- и S-метильных конъюгатов. Донором метильных групп является S- аденозилметионин (S-AM)-активная форма метионина, образующаяся при его взаимодействии с АТФ. Конъюгация идет при участии метилтрансфераз в ЭПС печени, а также легких, почек, селезенки, кожи, мозга. Может идти в цитозоле клеток.



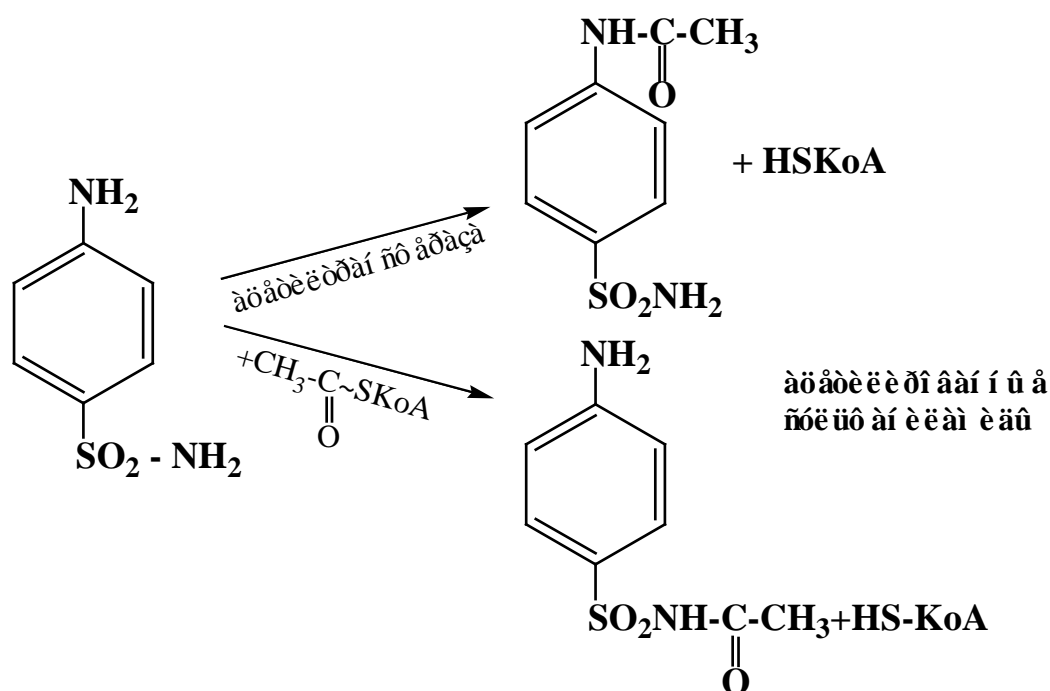
Метилированию подвергается метилдофа-гипотензивный препарат.



4. **Ацетилирование** - присоединение к молекуле ксенобиотика или его метаболита ацетильного радикала, источником которого являет-

ся ацетил-КоА, образующийся как промежуточный продукт при распаде углеводов, жиров и аминокислот. Ацетилированию подвергаются ароматические и алифатические амины, сульфаниламиды, гидразины, гидразида, серотонин, гистамин, т.е. ксенобиотики, имеющие аминогруппы, сульфгидрильные группы. Процесс осуществляется ацетилтрансферазами, локализованными в цитозоле клеток печени, легких, почек, селезенки, мозга, поджелудочной железы, эритроцитов, кишечника.

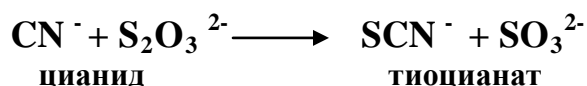
Примером такой инактивации лекарственных веществ и ксенобиотиков служит ацетилирование сульфаниламидов:



Таким путем происходит инактивация изониазида.

Все люди существенно отличаются способностью к ацетилированию ксенобиотиков, так как активность ацетилтрансфераз генетически детерминирована. Отсюда людей делят на «быстрых» и «медленных» ацетиляторов, что необходимо учитывать при химиотерапии больных, так как у «медленных» может проявиться токсическое действие ксенобиотика.

5. Тиосульфатная конъюгация - используется при обезвреживании цианидов. Источником тиосульфата являются серусодержащие аминокислоты.

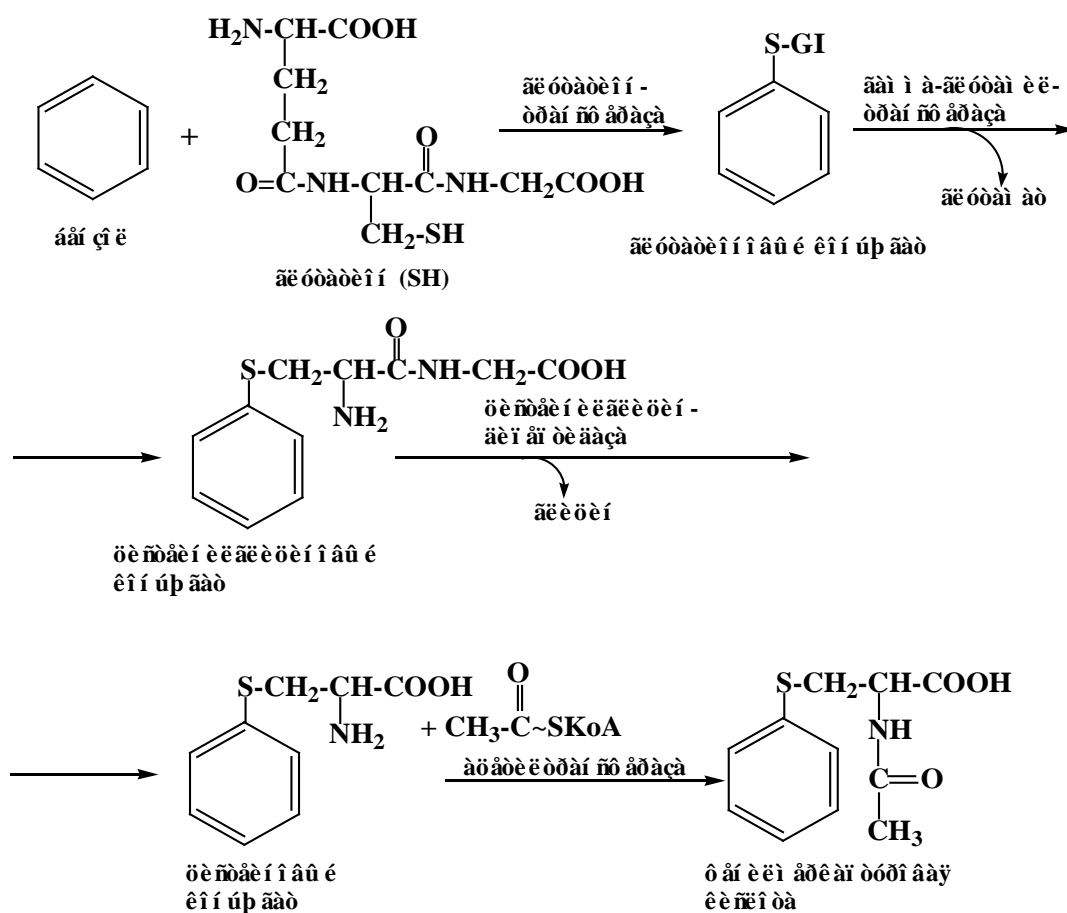


Обезвреживание таким типом характерно и для неорганических цианидов (синильная кислота, ее соли) и органических производных

(ацетонитрил, акрилонитрил, бензилцианид, нитрилминдальная кислота и др.).

б. Конъюгация с глутатионом катализируется глутатион-S-алкилтрансферазой, протекает в цитозоле печени и почек. Является путем обезвреживания ароматических, алифатических ксенобиотиков, солей тяжелых металлов, ртути. При этом образуются глутатионовые конъюгаты. Вторым этапом этого процесса является отщепление от этого конъюгата остатка глутаминовой кислоты мембранным ферментом γ -глутамилтрансферазой. Затем от комплекса отщепляется остаток глицина (ферментом цистеинилглициндипептидазой) и остается комплекс ксенобиотика с цистеином, который либо выводится из организма, либо подвергается ацелированию ацетилтрансферазой и образуется соответствующая меркаптуровая кислота. Меркаптуровые кислоты выделяются с желчью, частично с калом и мочой.

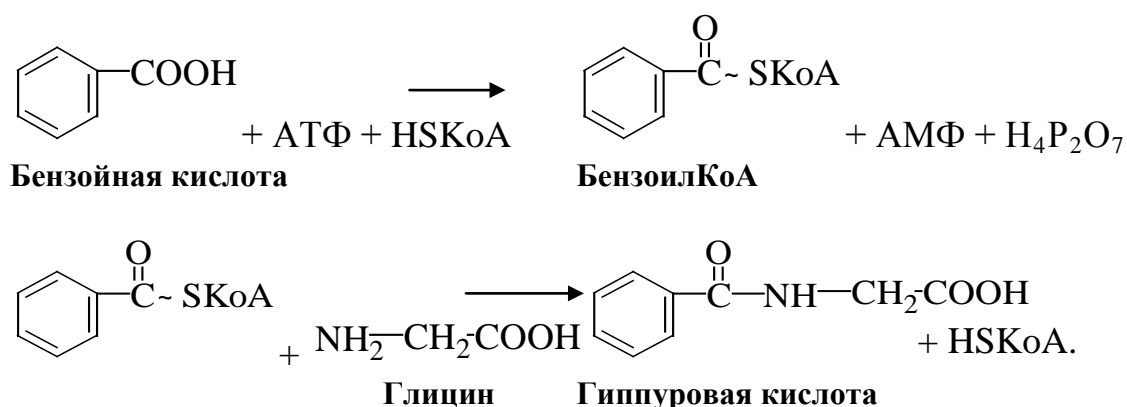
Примером такой конъюгации является обезвреживание бензола, нафталина и других ксенобиотиков.



Глутатионовая конъюгация наряду с глюкуронидной и сульфатной являются основными механизмами обезвреживания в организме лекарственных веществ.

В рассмотренных типах реакций конъюгации активируется конъюгирующее вещество, которое соединяется с субстратом. Такой тип реакций происходит во многих тканях, но главным образом в печени.

В печени и почках имеется второй тип реакций, когда происходит активация субстрата и к нему присоединяется конъюгирующее вещество. К ним относится конъюгация с аминокислотами (пептидная) – с глицином, цистеином, глутамином. Ферменты – ацилглицинтрансферазы осуществляют метаболизм ароматических и гетероциклических карбоновых кислот. Локализованы в цитозоле клеток печени. Примером является превращение бензойной кислоты в гиппуровую, которая выделяется из организма.



Кроме перечисленных механизмов возможна конъюгация с формилом, глицилтаурином, фосфатная, но они мало изучены.

Следует понимать, что лекарственные вещества обычно метаболизируются одновременно по нескольким возможным путям и при этом могут образовывать различные метаболиты.

Заключительный этап движения лекарств в организме - **выведение**.

Выведение ксенобиотиков возможно:

1. в неизмененном виде
2. в виде метаболитов (после ферментативных превращений)
3. в виде конъюгатов
4. в составе комплексов с биомолекулами.

Выведение гидрофильных соединений (ксенобиотиков, их метаболитов, конъюгатов) происходит главным образом с мочой через почки, гидрофобных - с желчью через кишечник. Кроме этого выведение может осуществляться с выдыхаемым воздухом (летучие вещества), секретом бронхиальных желез, слюной (сульфаниламиды, пенициллин, фенобарбитал, йодиды), желудочным соком (хинин, амидопирин), мо-

локом (снотворные, болеутоляющие, спирты, никотин), слезами (рифампицин).

С желчью из организма выводятся антибиотики (тетрациклин и препараты его ряда, пенициллин), сульфаниламиды, стероидные гормоны, сердечные гликозиды, психофармакологические средства. Следует отметить, что с желчью выводятся **только конъюгаты** ксенобиотиков.

Выделение почками в некоторых случаях осуществляется путем активного транспорта, и при этом выделяемые вещества могут конкурировать друг с другом, уменьшая скорость выведения. Это может использоваться в фармакологической практике: так, пробенецид угнетает выведение пенициллина, салицилаты - выведение пробенецида.

Факторы, влияющие на метаболизм лекарств

Факторы, влияющие на скорость метаболизма лекарств в организме, подразделяются на:

1. генетические
2. физиологические
3. внешней среды

1. **Генетические факторы.** Отклонения в метаболизме лекарств могут быть обусловлены наследственными дефектами ферментов, катализирующих их превращения.

В то же время выявлено существование нормальных вариантов некоторых ферментов в человеческих популяциях, т.е. генетический полиморфизм. Это приводит к индивидуальным различиям как в метаболизме препаратов, так и в реакциях на препараты.

Изучение индивидуальных особенностей скорости метаболизма лекарств привело к возникновению нового направления медицинской биохимии - фармакогенетики. Ее достижением является выявление полиморфизма фермента ацетилтрансферазы, осуществляющей превращения противотуберкулезного препарата изониазида, новокаинамида, апрессина, пенициламина, сульфаниламидов и др. путем ацетилирования. У людей разных этнических групп активность этого фермента различная, в связи с чем людей подразделили на медленных и быстрых ацетиляторов. В разных этнических группах соотношение быстрых и медленных ацетиляторов разное: в европеидной и негроидной популяциях отношение примерно равно. У египтян преобладают медленные ацетиляторы, а у эскимосов, японцев - быстрые. Эти различия в группах медленных и быстрых ацетиляторов определяют эффективность и продолжительность действия препарата, это особенно четко проявляется на примере метаболизма гипотензивного препарата апрессина. Ацетилконъюгаты метаболитов апрессина не обладают гипотензивным действием. Поэтому назначение апрессина в стандартной дозе без учета

фенотипа у значительной части больных – быстрых ацетиляторов не даст лечебного эффекта. И наоборот у больных – медленных ацетиляторов при курсовом приеме апрессина могут развиваться побочные явления со стороны сердечно-сосудистой системы.

Многочисленными исследованиями выявлена также индивидуальная степень активности микросомальной гидроксилазной окислительной системы: «медленные окислители», «быстрые окислители», «средние окислители».

Таким образом, знание особенностей метаболизма лекарств может способствовать индивидуализации дозирования препаратов, установлению оптимальной дозировки лекарства и исключению риска токсических осложнений от приема препаратов.

2. К физиологическим факторам относятся возраст, пол, состояние питания, физиологические состояния организма (беременность), состояние гормональной системы, сезонные и суточные ритмы, наличие различных заболеваний. Важным фактором являются **возрастные особенности** метаболизма лекарств.

У детей до 8-недельного возраста плохо развиты механизмы метаболизма ксенобиотиков: низкая активность монооксигеназной системы окисления, мало цитохрома P₄₅₀, низкая активность УДФ-глюкуронилтрансферазы. Поэтому назначение лекарств в этот период может вызвать токсический эффект. У пожилых и людей старческого возраста метаболизм ксенобиотиков нарушается вследствие морфологических, биохимических, функциональных изменений в органах. У них часто наблюдаются гипоксия, гиповитаминозы, атеросклеротические и дистрофические поражения тканей. В результате снижается активность ферментов, метаболизирующих лекарства, уменьшается количество клеток-мишеней, изменяется транспорт веществ через барьеры, связывание лекарств с белками крови, их распределение в тканях. Могут даже возникать новые пути биотрансформации.

Снижают активность метаболизма ксенобиотиков голодание, белковое голодание, гиповитаминозы. Витамины В₁, В₂ стимулируют метаболизм ксенобиотиков. Употребление в пищу сыра, брынзы, масла, сливок, печени, пива, кофе и других продуктов, богатых аминами, одновременно с приемом ингибиторов моноаминоксидаз (ниаламида, ипрониазида, нуредала, трансамина и др.) могут вызвать гипертонические кризы, вплоть до инсультов.

Употребление богатых витамином К продуктов (шпината, белокачанной капусты и др.) одновременно с антикоагулянтами (дикумарином, синкумарином и др.) снижает эффект этих препаратов.

В период беременности часто снижается активность микросомальных ферментов, и это приводит к повышению чувствительности к лекарствам.

Метаболизм ксенобиотиков **в мужском организме** протекает в 2-2,5 раза быстрее, чем в женском.

При заболеваниях органов, обеспечивающих метаболизм лекарственных препаратов, особенно печени, а также органов, обеспечивающих выведение лекарств и их метаболитов из организма, особенно почек, резко возрастает их действие, вплоть до токсического эффекта. Инфекционные заболевания, диабет, хронический гепатит, алкогольные поражения печени снижают метаболизм лекарств, и создаются предпосылки для их передозировки.

Гормоны могут влиять на активность микросомальных ферментов. Ускоряют метаболизм андрогены, АКТГ, глюкокортикоиды. Тормозят метаболизм ксенобиотиков эстрогены, прогестерон, йодтиронины, адреналин. Выраженное влияние на метаболизм лекарственных препаратов оказывает **суточный ритм**: ночью он усиливается, световой день и его увеличение тормозят.

3. Существенное влияние на метаболизм лекарственных веществ в организме оказывают **факторы окружающей среды**.

В настоящее время выявлено более 250 химических соединений, вызывающих увеличение активности микросомальных ферментов. К числу индукторов относятся барбитураты, антигистаминные препараты, бутадиион, анальгетики (амидопирин), антитуберкулезные средства (рифампицин), стероиды (тестостерон, метилтестостерон, гидрокортизон, преднизолон), антидиабетические препараты. Индукторами являются полициклические и хлорированные углеводороды, бифенилы, спирты, кетоны. Несмотря на разнообразие их химического строения они имеют общим признаком липофильность и тропизм по отношению к мембранам эндоплазматической сети. Сами индукторы являются субстратами для микросомальных ферментов и их делят на индукторы широкого и узкого спектра действия.

Индукторами широкого спектра действия являются фенobarбитал и другие барбитураты, хлорированные углеводороды (в том числе ДДТ), которые способны ускорять биотрансформацию путем увеличения содержания цитохрома Р-450, стимулирования процессов окисления, восстановления, конъюгации. Интенсивность их влияния зависит от химического строения, количества, индивидуальных особенностей организма.

Подобные свойства барбитуратов оказались полезными при передозировке антикоагулянтов благодаря ускорению их биотрансформации и замедлению всасывания в пищеварительном тракте.

В то же время перечисленные лекарственные средства-индукторы снижают эффект многих одновременно назначаемых препаратов - левомицетина, дигоксина, дигитоксина, эстрогенов, витамина Д, вызывая их быстрое разрушение и снижение концентрации в крови ниже терапев-

тической. Для получения адекватного эффекта этих препаратов необходимо введение соответственно больших их количеств. Ослабление терапевтического эффекта туберкулостатических препаратов изониазидового ряда наблюдается при одновременном введении пиридоксина, никотинамида, глутаминовой кислоты.

Известен и ряд чужеродных соединений, подавляющих метаболизм лекарственных веществ, пролонгируя тем самым их действие. Ингибиторы микросомальных монооксигеназ имеют различную химическую природу. По механизму оказываемого эффекта они условно подразделяются на:

- обратимые ингибиторы прямого действия (эфир, спирты, лактоны, хиноны, фенолы, антиоксиданты),
- обратимые ингибиторы непрямого действия, влияющие на микросомальные ферменты через промежуточные продукты их обмена, которые способны образовать комплексы с цитохромом P₄₅₀ (производные бензола, ароматические амины, гидразины, алкиламины),
- необратимые ингибиторы, разрушающие цитохром P₄₅₀ (полигалогенированные алканы, четыреххлористый углерод, серусодержащие соединения и др.),
- ингибиторы, тормозящие синтез и (или) ускоряющие распад цитохрома P₄₅₀ (ионы металлов, органические соединения, влияющие на синтез гема, ингибиторы белкового синтеза - антибиотики).

Механизм ингибирования полностью не изучен, но в основе действия многих ингибиторов лежит конкуренция за активный центр фермента, влияние на синтез монооксигеназ, на их разрушение, изменение проницаемости мембран и др.

Такие ингибиторы как циметидин, аллопуринол, изониазид, фуразолидон, олеандомицин, соли эритромицина, левомицетин, пероральные контрацептивы и др. могут привести к относительной передозировке при комбинированном их назначении с другими препаратами и даже токсическому эффекту. Например, циметидин может вызвать токсические эффекты при одновременном применении с теофиллином (аритмия, рвота), с диазепамом (заторможенность, галлюцинации), фенитоином (атаксия, лейкопения).

Таким образом, при множественной химиотерапии можно наблюдать либо стимулирующий, либо ингибирующий эффекты. Лекарственные препараты – индукторы, стимулируя метаболизм одновременно вводимых лекарств, понижают уровень активного препарата в крови и тканях и уменьшают его терапевтический эффект. И наоборот, лекарственные препараты – ингибиторы, угнетая метаболизм, способствуют увеличению концентрации активного препарата в организме, повышают и даже пролонгируют его фармакологический эффект.

Ускоренный метаболизм лекарственного вещества при повторных его приемах вследствие индуцирующего влияния на микросомальные ферменты может быть причиной появления устойчивости к данному лекарству.

К внешним факторам, влияющим на активность микросомальных окислительных систем, относятся ионизирующее облучение, стресс. Ионизирующее облучение снижает активность монооксигеназной окислительной системы, стресс повышает продукцию глюкокортикоидов, увеличивающих активность ферментов метаболизма лекарств.

Выраженное влияние на метаболизм лекарственных веществ оказывают алкоголь и никотин. Сам алкоголь стимулирует микросомальное окисление в печени, т.е. индуцирует метаболизм лекарств. Однако продолжительное употребление алкоголя вызывает прогрессирующее поражение печени, и, следовательно, снижается активность микросомальных ферментов и метаболизм лекарств, увеличивается продолжительность пребывания лекарства в организме и может происходить накопление препарата. Под влиянием алкоголя может измениться скорость всасывания препарата в желудке и кишечнике. В отдельных случаях этанол может тормозить связывание лекарств с белками плазмы крови (хинидин, триамтерин), в результате увеличивается фракция свободного препарата в крови, ускоряется переход его в ткани, усиливается фармакологический эффект вплоть до токсического.

Никотин усиливает биотрансформацию лекарственных веществ.

Таким образом, знание основных закономерностей метаболизма лекарственных веществ в организме необходимо и провизору и врачу для характеристики лечебных и токсических свойств лекарств, правильного проведения фармакотерапии, для разработки новых эффективных фармакологических препаратов с заданными свойствами.

Лекция 54

ФОТОСИНТЕЗ

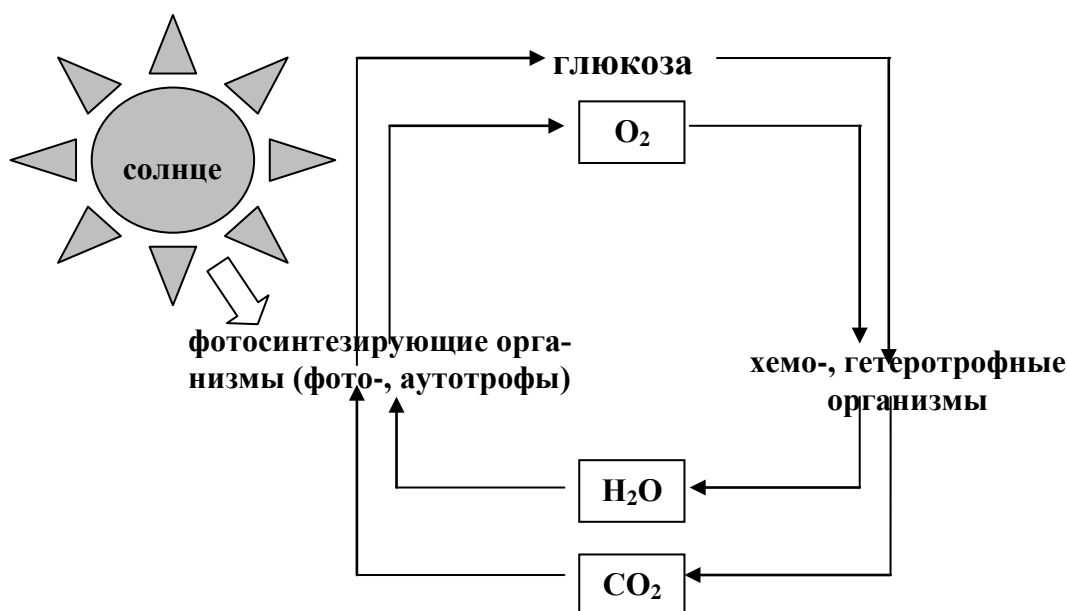
Внешняя энергия для всех жизненных процессов на Земле черпается из двух источников: химической энергии неорганических веществ (земной источник) и энергии света (космический источник). В первом случае используется свободная энергия, выделяющаяся при окислении неорганических веществ (например, $\text{Fe}^{2+} \xrightarrow{-e} \text{Fe}^{3+}$) и запасаемая при хемосинтезе некоторыми микроорганизмами: железобактериями, серобактериями и др.

Однако главное значение для жизни имеет энергия солнечного света, которая используется для синтеза органических молекул из двуокиси углерода – процесса в высокой степени эндергонического.

Сложная система реакций, с помощью которых происходит превращение энергии фотонов солнечного света в химическую энергию органических молекул, называется **фотосинтезом**.

Организмы, в которых происходит фотосинтез, называются фотосинтезирующими. Они в процессе фотосинтеза получают все необходимые для их роста и обновления органические вещества. В то же время сами эти организмы или продукты их жизнедеятельности служат пищей для всех остальных членов биосферы.

В биосфере в сбалансированном стационарном состоянии сосуществуют фотосинтезирующие организмы (фототрофы) и хемотрофы, использующие химическую энергию органических веществ и кислород – продукты фотосинтеза. Аэробные хемотрофы (они же и гетеротрофы) используют кислород для расщепления органических веществ до CO_2 и H_2O и генерируют энергию их химических связей в АТФ, используемую для собственных нужд. Образующаяся при этом двуокись углерода возвращается в атмосферу и вновь используется фотосинтезирующими организмами, являющимися автотрофами. Таким образом, солнечная энергия является движущей силой для круговорота, в процессе которого атмосферный углекислый газ и атмосферный кислород непрерывно циркулируют, проходя через биосферу.



В минуту на поверхность Земли падает энергия в $5 \cdot 10^{20}$ ккал. Фотосинтезирующими организмами поглощается только около 2% этой энергии (10^{19} ккал). Но в химическую энергию органических веществ трансформируется всего лишь 30% поглощенной, т.е. КПД фотосинтеза ~ 30%.

В пересчете на углерод при фотосинтезе на Земле в год синтезируется $\sim 5 \cdot 10^{10}$ т органического вещества.

Однако значение фотосинтеза этим не исчерпывается. Оно гораздо шире:

1. В процессе жизнедеятельности организмы расходуют запасенную энергию в основном путем окислительных реакций с превращением всех углеродных соединений в конечном итоге в наиболее окисленную форму – двуокись углерода. Фотосинтез способствует сохранению равновесия как путем восстановления CO_2 до органических соединений, так и тем, что этот процесс сопровождается выделением в атмосферу молекулярного кислорода. В процессе фотосинтеза в год поглощается $2 \cdot 10^{12}$ т CO_2 и выделяется в атмосферу $13 \cdot 10^{10}$ т молекулярного кислорода.

2. Хотя клетки используют освобождающуюся в процессе катаболизма энергию в сопряженных эндогонических реакциях синтеза (анаболизм), запасают ее в синтезированных полимерных молекулах, все же часть энергии непрерывно рассеивается в виде тепла. В результате энтропия биосферы возрастает. Это следствие второго закона термодинамики для любой замкнутой системы. Таким образом, жизнь на Земле неизбежно должна была бы прекратиться, если бы не было непрерывного притока лучистой энергии извне и фотосинтеза, использующего эту энергию.

3. Предшественники первых живых существ на Земле – так называемые протобионты – вероятно, появились в то время, когда земная атмосфера еще не содержала кислорода. Первые фотосинтезирующие организмы, жившие около трех миллиардов лет назад, почти наверняка были примитивными прокариотическими клетками с фотосинтезом, напоминающим этот процесс у современных бактерий, только в упрощенной форме. Спустя один или два миллиарда лет некоторые из этих организмов дали начало древним формам сине-зеленых водорослей. С этого момента в атмосферу стал поступать кислород, что, в конце концов, около 600 млн. лет назад в начале кембрийского периода привело к появлению эукариотических организмов. Запасы энергии, генерируемые растительным миром за год, в 10 раз превышают количество энергии полезных ископаемых, потребляемых за год всем населением Земли.

В то же время сами эти полезные ископаемые (уголь, нефть, природный газ) являются продуктами фотосинтеза, происходившего миллионы лет назад.

То-есть существует глобальная зависимость как в энергии, так и в пище от процесса фотосинтеза (и прошлого, и нынешнего). Именно поэтому механизмы фотосинтеза являются одной из самых важных фундаментальных биохимических проблем.

Распространение фотосинтеза. Виды фотосинтезирующих организмов

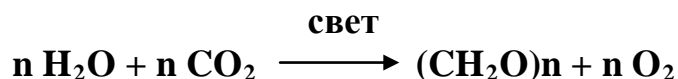
Способностью к фотосинтезу обладают как эукариоты, так и прокариоты.

К фотосинтезирующим эукариотам относятся высшие растения (зеленые), многоклеточные (зеленые, красные, бурые) и одноклеточные водоросли.

К фотосинтезирующим прокариотам относятся сине-зеленые водоросли и бактерии – зеленые, пурпурные.

Фотосинтез, идущий на поверхности Земли, более чем на половину осуществляется в морях, реках, озерах одноклеточными организмами, особенно водорослями.

Суммарное уравнение для всех фотосинтезирующих организмов, за исключением бактерий, следующее:



n – чаще всего принимают равным 6, что соответствует образованию глюкозы как конечного продукта фотосинтеза.

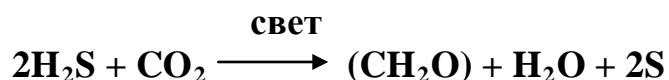
Таким образом, суть фотосинтеза заключается в восстановлении CO_2 до углеводов за счет энергии поглощаемого растением света.

Фотосинтезирующие организмы подразделяют на два класса: образующие кислород и не образующие его.

Источником водорода для восстановления при синтезе органических молекул для всех растений и многих фотосинтезирующих микроорганизмов служит вода. В результате выделяется кислород, поддерживающий кислородный баланс земной атмосферы.

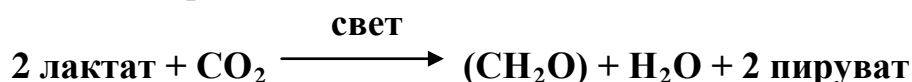
Однако некоторые микроорганизмы вместо воды в качестве донора водорода используют органические соединения (органические кислоты, их эфиры, вторичные спирты), неорганические соединения серы, молекулярный водород. При этом не происходит выделения кислорода.

Зеленым серным бактериям донором водорода служит сероводород.



Продуктом окисления его является сера.

В качестве донора может использоваться лактат:



Акцепторами электронов, кроме углекислого газа, могут быть нитраты, у азотфиксирующих организмов CO_2 и молекулярный азот, восстанавливающийся до аммиака.

Таким образом, фотосинтез может протекать с участием различных доноров и акцепторов электронов.

Локализация фотосинтетических систем в клетке. Характеристика фотосинтезирующих структур

У фотосинтезирующих бактерий молекулярные компоненты фотосистем расположены в специализированных органеллах мезосомах, образующихся в результате впячивания внутрь клеточной мембраны.

У высших растений фотосинтетический аппарат находится в высокоспециализированных органеллах, называемых пластидами. Пластиды зеленых частей растений называются **хлоропластами**. Пластиды, содержащиеся в цветах, плодах, корнях и в которых нет хлорофилла, а имеются только каротиноиды, называются **хромопластами**. В бесцветных частях растений (клубни, корни) имеются пластиды, не содержащие пигментов, называемые **лейкопластами**. Они могут переходить друг в друга: лейко- в хромо- и хлоропласты (клубни картофеля зеленеют на свету).

Хлоропласты – сложно организованные клеточные структуры. По размеру они больше митохондрий – длина 3-10 мкм, диаметр 0,5-2,0 мкм. Число их в клетке высших растений составляет от 50 до 200, у некоторых водорослей в каждой клетке содержится только один хлоропласт.

В клетках зеленых растений, как правило, присутствуют и хлоропласты и митохондрии. На свету у растений может идти дыхание наряду с процессом фотосинтеза, а в ночное время растения получают энергию только за счет митохондриального дыхания.

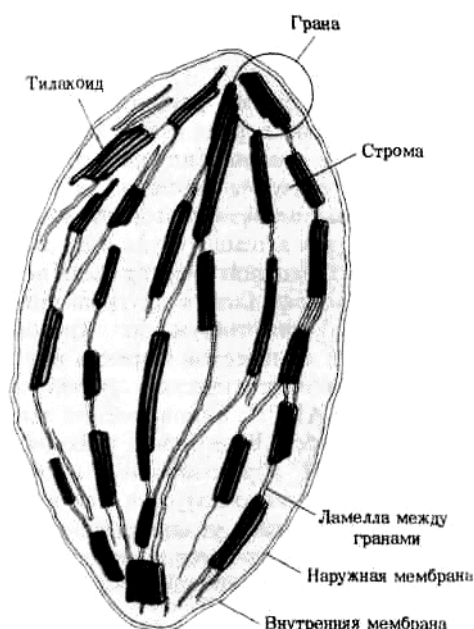
По структуре хлоропласты очень близки к митохондриям: имеют наружную довольно хрупкую мембрану и внутреннюю. Наружная мембрана по структуре напоминает мембраны эндоплазматической сети, обладает слабыми барьерными свойствами для ионов и молекул с молекулярной массой до 10.000 Да.

Внутренняя мембрана отделена от наружной межмембранным пространством и относительно непроницаема для больших и малых молекул, заряженных молекул, протонов, гидроксидных ионов.

Внутренняя мембрана путем впячивания и почкования образует структуры **ламеллы**, пронизывающие строму и расположенные в ней более или менее параллельно друг другу с различной протяженностью. Ламеллы переходят в структуру в виде уплощенного пузырька, называемую тилакоидом. Это замкнутый мешок в поперечнике около 15 нм.

Тилакоиды уложены поперек хлоропласта стопками, называемыми гранами. В среднем в хлоропласте около 50 гран.

Содержимое хлоропласта, остающееся после удаления ламеллярной системы, называется **стромой** или матриксом, который имеет мелкозернистое строение.



Строение хлоропласта

В ламеллярной системе протекают световые процессы фотосинтеза, в строме – темновые ферментативные реакции, связанные с фиксацией CO_2 .

Транспорт веществ через внутреннюю мембрану хлоропласта осуществляется при помощи транслоказ (АТФ в обмен на выход АДФ, фосфаты в обмен на выход 3-фосфоглицерина или диоксиацетонфосфата).

Пигменты фотосинтеза

Во всех фотосинтезирующих клетках содержатся пигменты – хромофоры, способные поглощать свет. Их подразделяют на три основные группы: хлорофиллы, каротиноиды, фикобилины. Зеленые хлорофиллы имеются во всех клетках, хотя сами эти клетки не всегда имеют зеленый цвет. Фотосинтезирующие водоросли могут быть красными, пурпурными, бурыми благодаря наличию в них желтых каротиноидов, синих или красных фикобилинов, называемых вспомогательными пигментами.

Наибольшее значение в фотосинтезе имеют хлорофиллы, существующие в нескольких формах. Главную роль играет хлорофилл «а». Он содержит четыре замещенных пиррольных кольца, одно из которых

(IV) частично восстановлено. Эту структуру называют форбиновым кольцом. В положениях 1, 3, 5, 8 к нему присоединены метильные радикалы, во 2-ом – винильный, в 4-ом – этильный. В 6 положении присоединен остаток малоновой кислоты, в 7-ом – пропионовой. Остаток малоновой кислоты участвует в образовании пятого циклопентанового кольца, слитого с третьим пиррольным. Эта характерная структура из пяти колец называется феопорфирином (от греч. *rheo* – бурый). Оба кислотных остатка эстерифицированы. С остатком малоновой кислоты связан метиловый спирт, с пропионовой – фитол ($C_{20}H_{39}OH$). Фитол состоит из четырех изопреновых единиц, что придает ему большую гидрофобность. Наличие фитола в хлорофилле обуславливает липоидные свойства и его растворимость в органических растворителях. Фитол также обеспечивает присоединение молекул хлорофилла к липопротеиновым комплексам мембран тилакоидов и их ориентацию.

Атомы азота пиррольных колец ковалентно и координационно связаны с Mg^{2+} , в результате чего образуется устойчивый комплекс магнийпорфирина.

Все остальные хлорофиллы (b, c, d, e) отличаются по структуре тремя признаками:

1. строением «хвоста» (у «с» фитол отсутствует);
2. заместителями в форбиновом кольце;
3. числом и распределением ненасыщенных связей в кольце.

Активность хлорофиллов не зависит от их связи с белками.

В большинстве фотосинтезирующих клеток содержится два вида хлорофилла. Один из них всегда хлорофилл «а», другой может быть различным («b» – у зеленых растений, «с» – у бурых водорослей, «d» – у красных водорослей).

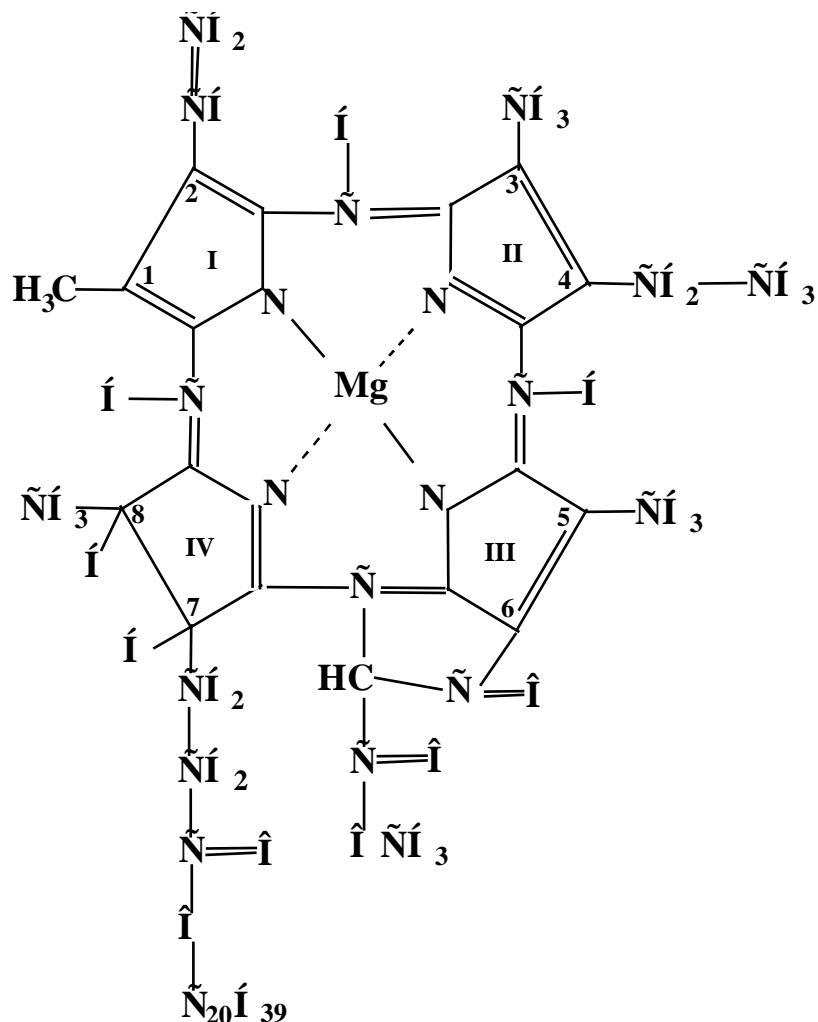
В клетках высших растений обычно содержатся хлорофиллы «а» и «b». В хлорофилле «b» метильный радикал в 3-ем положении замещен формильной группировкой. Хлорофилла «а» обычно в 2,5 раза больше.

Общее содержание хлорофилла составляет 1% сухого вещества.

Все хлорофиллы являются фоторецепторами, так как интенсивно поглощают видимый свет. Разные хлорофиллы имеют максимум поглощения при разной длине волны: «а» – 663 нм, «b» – 400 нм.

Кроме хлорофиллов хромофорами, то есть рецепторами квантов света, могут быть и другие пигменты – каротиноиды (желтого, красного, пурпурного цвета), фикобилины (красные, синие). К каротиноидам относятся β -каротин, лютеин, ксантофилл. Фикобилины – тетрапиррольные структуры с незамкнутой цепью. Все они являются дополнительными рецепторами благодаря их способности поглощать в той части спектра, где не поглощает хлорофилл. Полагают также, что они предохраняют хлорофилл от распада под действием молекулярного кислорода.

Видимый свет – это форма электромагнитного излучения с длиной волны от 400 до 700 нм. Своим происхождением он обязан процессам слияния ядер атомов водорода на Солнце (при $t^0 \sim 20.000.000$ K), в результате чего образуются атомы гелия и электроны с выделением части энергии в виде фотонов – квантов видимого света.



Хлорофилл «а»

Вещества способны поглощать свет в зависимости от их атомной структуры – расположения электронов вокруг ядра. Электроны поглощают фотоны с определенной длиной волны, что и обуславливает спектр поглощения соединений.

Когда фотон сталкивается с атомом или молекулой, его энергия поглощается одним из электронов. Атом или молекула при этом переходят в состояние возбуждения, более богатое энергией. Возбудить атом или молекулу могут только фотоны с определенной длиной волны. Возбуждение происходит почти мгновенно, менее 10^{-15} сек. Возбужденные молекулы крайне неустойчивы – время их жизни в этом состоянии всего $10^{-9} - 10^{-8}$ сек. При прекращении действия света молекула возвра-

щается в свое основное состояние – с более низкой энергией. Энергия, поглощенная молекулой, может выделяться в виде тепла, света (флуоресценция).

Стадии фотосинтеза

Процесс фотосинтеза осуществляется путем световых фотохимических и темновых ферментативных реакций.

Световая стадия. Характеристика фотосистем. В световой стадии участвуют две фотосистемы, представляющие функциональные ансамбли светопоглощающих пигментов: фотосистема I и фотосистема II.

Функциональная единица **фотосистемы I** содержит около 200 молекул хлорофилла «а» и 50 молекул каротиноидов. Эти пигменты являются фотосборщиками энергии, т.е. поглощают фотоны. На этот ансамбль имеется одна молекула пигмента P_{700} , играющего роль реакционного центра.

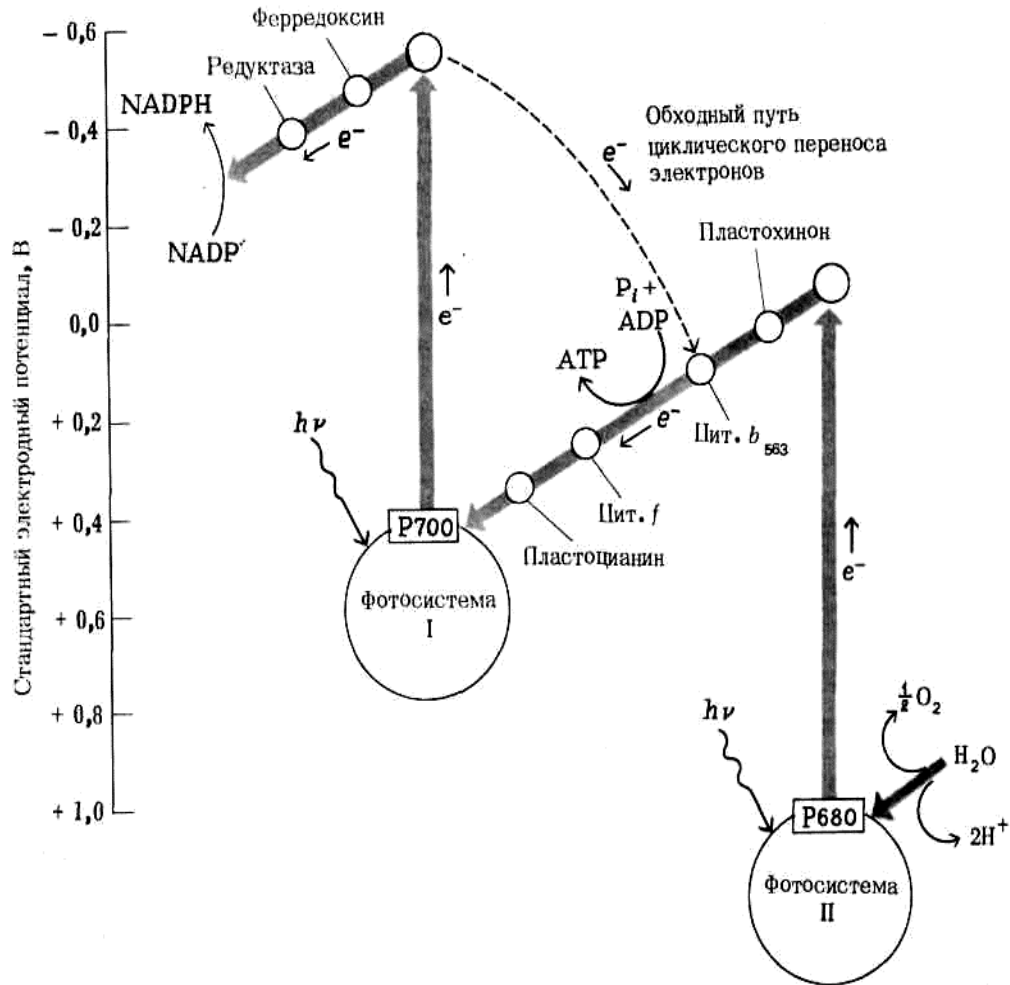
Фотосистема II включает пигменты фотосборщики – около 200 молекул хлорофилла «а», 200 молекул хлорофилла «b», фикобилины или ксантофиллы. Реакционным центром системы является молекула пигмента P_{680} . Фоторецепторы поглощают кванты света и передают свою энергию возбуждения к реакционному центру – месту, где протекают химические реакции.

В реакционных центрах находятся хлорофиллы с особыми свойствами, обусловленными их окружением. Полагают, что это агрегированная форма хлорофилла «а». Имеются хлорофиллы с максимумом поглощения при длине волны 700 нм и 680 нм, поэтому они названы пигментами P_{700} и P_{680} , т.е. это фотохимически активная форма хлорофилла. На их долю приходится 1/400 часть общего хлорофилла в клетке.

Энергетический уровень возбужденного состояния P_{700} и P_{680} ниже, чем у других хлорофиллов – фоторецепторов, поэтому они способны забирать энергию возбуждения от фотосборщиков в виде экситонов. Перенос энергии к реакционному центру идет очень быстро – менее 10^{-10} сек.

В тилакоидах локализованы обе фотосистемы, в ламеллах – только I. Фотосистема I более древняя в эволюционном отношении, есть у всех фотосинтезирующих клеток. Фотосистема II появилась позднее. В состав обеих фотосистем кроме пигментов входят еще переносчики электронов.

Полный набор пигментов и переносчиков электронов обеих фотосистем составляет структурный и функциональный ансамбль, называемый **квантосомой** (м.м. около 2 млн Да, длина около 17,5 нм).



Взаимосвязь фотосистем и цепей переноса электронов

Механизм световой стадии. Фотосборщики обеих фотосистем поглощают кванты света, возбуждаются и энергию возбуждения в виде экситонов передают реакционным центрам – пигментам P_{700} (в I фотосистеме) и P_{680} (во II фотосистеме). В темноте в основном состоянии восстановительный потенциал $P_{700} = +0,4$ в (см. рисунок). Тенденция к отдаче электронов очень мала. При поглощении энергии – экситонов P_{700} переходит в возбужденное состояние, что сопровождается изменением распределения электронов со сдвигом ОВП до $-0,6$ в. Таким образом, свет в фотосистеме I вызывает переход P_{700} на более высокий энергетический уровень, в результате чего увеличивается способность к отдаче электрона и восстановлению НАДФ с потенциалом $-0,32$ в. Передача электрона идет не непосредственно, а через ряд переносчиков. P_{700} (ОВП = $-0,6$ в) передает электрон на связанный ферредоксин (железо-серный белок, связанный с мембраной, ОВП = $-0,6$ в, Z). Он далее передает электрон растворимой форме ферредоксина (ОВП = $-0,432$ в), с которого **ферредоксин-НАДФ-редуктаза** с простетической группой **ФАД** переносит электрон на НАДФ (ОВП = $-0,32$ в). Два электрона транспортируются двумя молекулами ферредоксина.

Потеря молекулой P_{700} электрона приводит к переходу его в окисленное состояние, т.е. возникает электронная дырка, подлежащая заполнению. В заполнении дырки участвуют фотосистема II и цепь переносчиков электронов, связывающая обе фотосистемы.

При освещении фотосистемы II экситоны фотосборщиков поглощаются пигментом P_{680} , который переходит в возбужденное состояние. ОВП P_{680} в основном состоянии равен + 1,0 в. Возбуждение молекулы приводит к сдвигу ОВП до - 0,06 в (т.е. на 1,0 в), в результате чего появляется способность к отдаче электрона. От P_{680} электроны переносятся на Q – прочно связанную молекулу пластохинона (ОВП = - 0,06 в), с нее на подвижный (свободный) пластохинон (ОВП = 0,08), далее на цитохром b_{559} (цит.f – от латинского frons – листья, ОВП = + 0,01 – 0,02 в). От него электроны переходят на цитохром c_{552} (ОВП = + 0,365 в), являющийся интегральным мембранным белком. Он передает электроны пластоцианину – белку с м.м. 10500 Да, имеющему атом меди, который расположен вблизи поверхности молекулы и связан с остатками цистеина и метионина (ОВП = + 0,4 в). Локальное натяжение при атоме меди облегчает перенос электронов на окисленную форму P_{700} . Но теперь возникает дефицит электронов у P_{680} . Заполнение электронной дырки происходит за счет электронов воды ($E_0 = + 0,82$ в). Потенциал P_{680} более положителен, чем воды. В результате перехода электронов на пигмент P_{680} выделяются кислород и протоны, которые присоединяются к НАДФ, принявшему электроны, а сам процесс разложения воды получил название фотолиза.

Таким образом, свет вызывает перенос электронов от воды ($E_0 = + 0,82$ в) к НАДФ ($E_0 = - 0,32$ в), т.е. против градиента химического потенциала, что отражает схема взаимосвязи фотосистем и цепей переноса электронов. Фактически для того, чтобы бедные энергией электроны воды оказались способными восстановить НАДФ, каждый электрон должен быть дважды «подброшен» вверх. В каждой фотосистеме на один «подброшенный вверх» электрон расходуется один квант или фотон. После этого электроны с избыточной энергией устремляются вниз по системе переносчиков по градиенту потенциала. На каждый электрон, переходящий от воды к НАДФ, поглощаются два кванта света (по одному каждой фотосистемой).

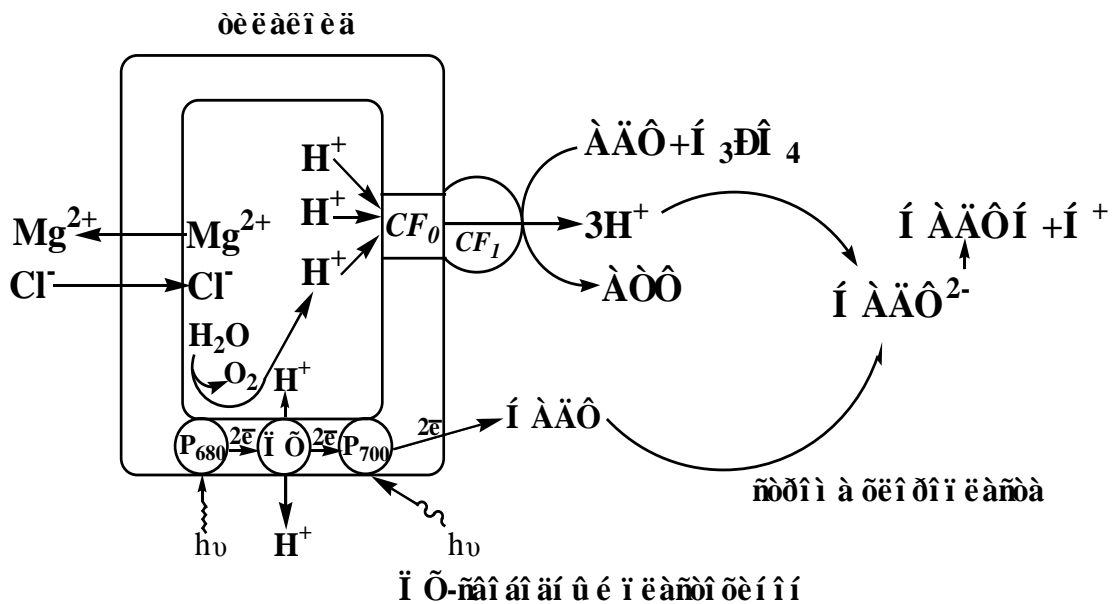
Для образования молекулы O_2 при фотолизе воды к НАДФ должны быть переданы четыре электрона, т.е. должно быть поглощено восемь квантов (по четыре каждой фотосистемой).

Рассмотренный перенос электронов с восстановлением НАДФ называется нециклическим путем.

Фотосинтетическое фосфорилирование

Во время перехода электронов из фотосистемы II в фотосистему I происходит фосфорилирование АДФ с образованием АТФ.

Схема фотосинтетического фосфорилирования в хлоропластах



Это означает, что часть световой энергии, улавливаемой фотосистемами, трансформируется в энергию макроэргических связей АТФ. Этот процесс стали называть фотосинтетическим фосфорилированием. Перенос электронов через асимметрично ориентированные фотосистемы I и II создает большой протонный градиент.

Фотосинтетический перенос электронов и фотофосфорилирование в хлоропластах во многом сходны с переносом электронов и окислительным фосфорилированием в митохондриях. Сходство проявляется в следующем:

1. реакционные центры (P_{700} и P_{680}), переносчики электронов и ферменты, участвующие в образовании АТФ, находятся в мембране тилакоидов;
2. необходимое условие – целостность мембраны тилакоида;
3. тилакоидная мембрана непроницаема для протонов;
4. фотофосфорилирование можно заблокировать или разобщить теми же реагентами, что и окислительное;
5. синтез АТФ осуществляется ферментным ансамблем - комплексом CF_1-CF_0 , похожим на АТФ-азу митохондрий, поэтому его назвали CF (от англ. chloroplast). CF_1 – «грибовидные» молекулы из 5 типов субъединиц, расположенные на наружной поверхности тилакоид-

ной мембраны и обращенные в строму хлоропласта (подобно головке АТФ-азы митохондрий, обращенной в матрикс). Они катализируют образование АТФ из АДФ и неорганического фосфата. CF_0 – протонный канал, образованный тремя видами субъединиц и проходящий через мембрану тилакоида.

Отличительной особенностью мембраны тилакоида является ее проницаемость для ионов хлора и магния.

В создании протонного градиента имеют значение и фотолиз воды, происходящий во внутреннем пространстве тилакоида, и перенос электронов пластохином. Тилакоидная мембрана, подобно внутренней мембране митохондрий, асимметрична по молекулярному строению, а свободный пластохинон, участвующий в переносе электронов между второй и первой фотосистемами, подобен убихинону, плавающему во внутренней мембране митохондрии. Взяв электроны, пластохинон забирает протоны у воды стромы и перекачивает их внутрь тилакоида (как убихинон в межмембранное пространство митохондрии). За счет этого и фотолиза воды в полости тилакоида среда становится кислой, рН приближается к 4,0 – 3,5.

Изучая окислительное фосфорилирование, мы выражаем электрохимический потенциал уравнением $\Delta\mu_n = \Delta\phi + \Delta pH$. В хлоропластах почти вся величина $\Delta\mu_n^+$ создается градиентом рН, а не электрическим потенциалом, как в митохондриях. Причина отличия в том, что в результате проницаемости мембраны тилакоида для ионов хлора и магния, увеличение протонного градиента в полости тилакоида сопровождается либо переносом хлора в том же направлении (Cl^-), либо переносом иона магния (Mg^{2+}) на 2 протона в строму (т.е. противоположном направлении). Этим поддерживается электронейтральность и не возникает большой величины электрического потенциала.

Возникающий протонный градиент запускает синтез АТФ. При прохождении через комплекс $CF_0 - CF_1$ трех протонов синтезируется молекула АТФ, что соответствует потреблению 60,2 кДж. Синтезированная АТФ высвобождается в матрикс. Поступившие в матрикс протоны соединяются с $НАДФ^{2-}$, восстановленными электронами. Образуется $НАДФН + H^+$. **Конечные продукты световой стадии АТФ, НАДФН + H^+** , обладающие запасом энергии и восстановительными свойствами, обеспечивают последующие темновые реакции превращения CO_2 в углеводы. **Кислород** выделяется в атмосферу.

Возможен также и другой путь переноса электронов с пигмента P_{700} не на НАДФ, а через цитохром b_{563} на цитохром c_{552} и далее на пластоцианин. С него электроны возвращаются к P_{700} и заполняют электронную дырку. Происходит генерирование энергии в АТФ (разница ОВП переносчиков электронов превышает 0,2 в), но без образования $НАДФН + H^+$. Этот процесс получил название **циклического фото-**

фосфорилирования. Вторая фотосистема в нем не участвует. Оно функционирует в растительной клетке тогда, когда она вполне обеспечена НАДФН + H⁺, т.е. восстановительными эквивалентами, но для метаболических целей нужна АТФ.

Параллельно с процессом фотосинтеза на свету может происходить и дыхание. Оно не сопровождается окислительным фосфорилированием и направлено на использование НАДФН + H⁺ на восстановление молекулярного кислорода. Его функция не ясна. Возможно, что оно используется как предохранительный клапан для поддержания определенного уровня восстановительных эквивалентов.

Темновая стадия фотосинтеза

Протекает в матриксе (строме) хлоропласта, где синтезированные на свету АТФ и НАДФН + H⁺ используются для связывания СО₂ и восстановления его до углеводов.

В соответствии с общим уравнением фотосинтеза



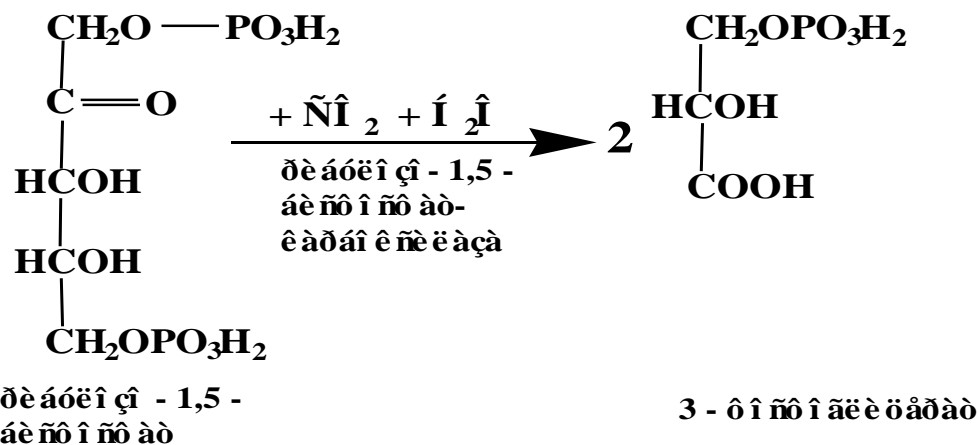
изменение стандартной свободной энергии для синтеза одной молекулы глюкозы составляет + 686 ккал/моль (2867,5 кДж). Обратное этому процессу окисление глюкозы сопровождается уменьшением свободной энергии на эту же величину.

Какое же количество энергии должна поставить световая стадия для удовлетворения этой эндергонической реакции?

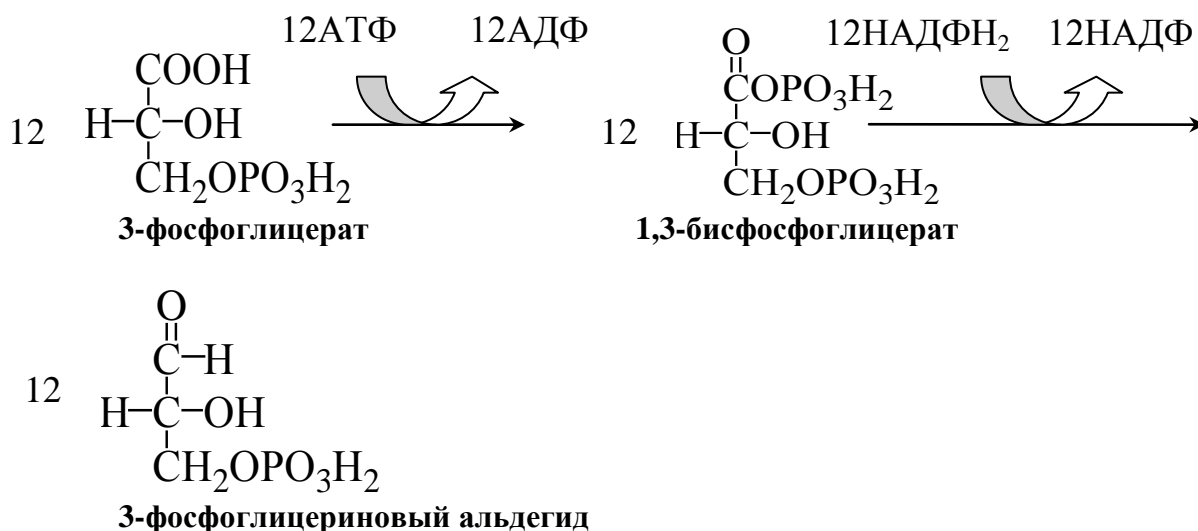
Мы уже рассчитали, что для переноса одного электрона от H₂O к НАДФ должны быть поглощены два кванта света, по одному на каждую фотосистему. Образование одной молекулы кислорода требует четырех электронов, т.е. поглощения восьми квантов. Для выделения шести молекул кислорода нужны 48 квантов. Энергия одного «моля» квантов колеблется от 72 ккал (301 кДж) при 400 нм до около 41 ккал (171,4 кДж) при 700 нм. Таким образом, зеленым клеткам для синтеза одного моля глюкозы требуется в зависимости от длины волны поглощаемого света от 48 · 41 = 1968 ккал (8226 кДж) до 48 · 72 = 3456 ккал (14446 кДж).

Опыты с использованием ¹⁴C показали, что СО₂ присоединяется к рибулозо-1,5-бисфосфату при участии рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы, которая локализована на внешней поверхности мембран тилакоидов, обращенной к матриксу. Фермент составляет 1/6 часть всех белков хлоропласта (т.е. содержится в очень большом количестве).

Фермент осуществляет карбоксилирование и гидролитическое расщепление с образованием двух молекул 3-фосфоглицериновой кислоты.

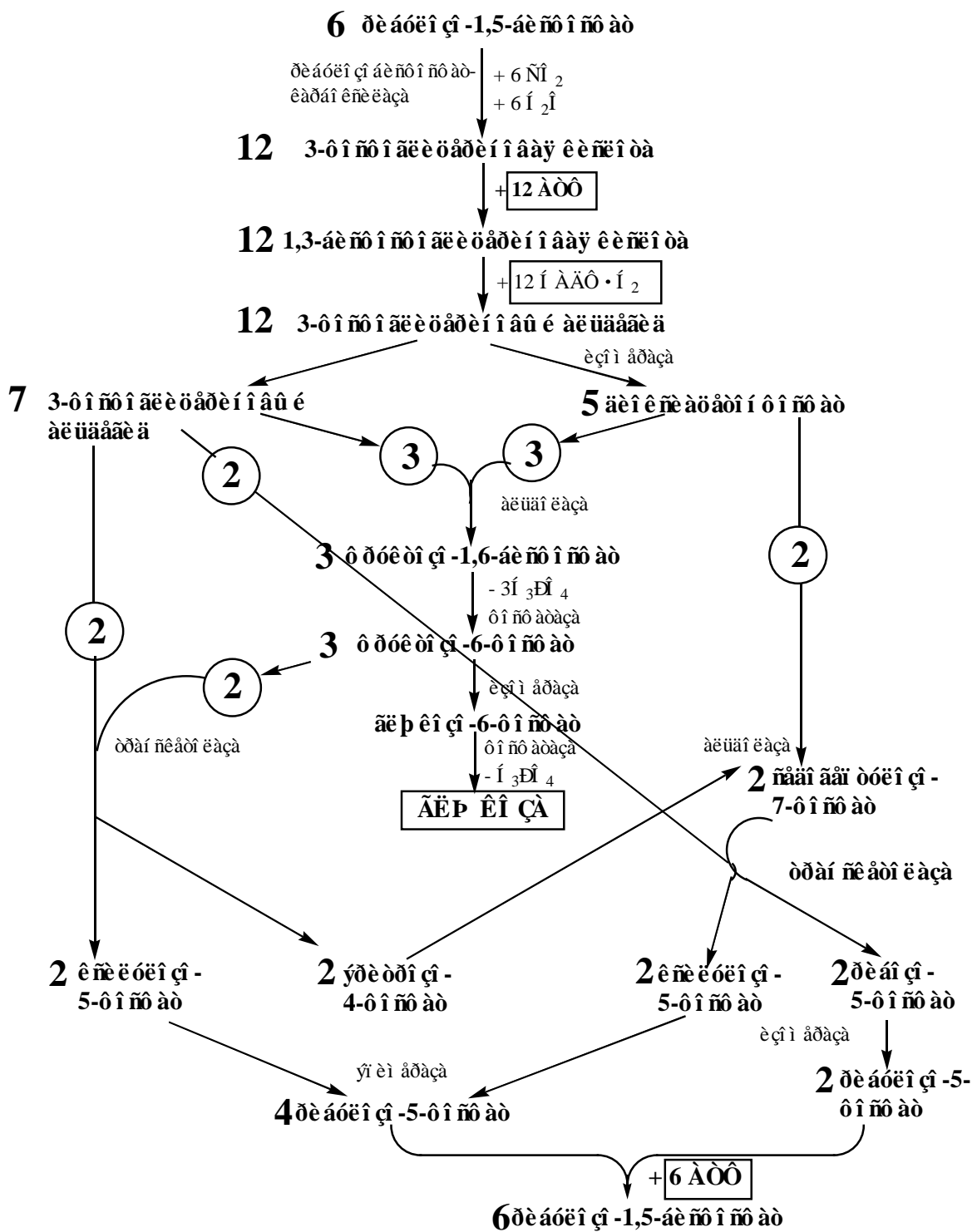


Рибулозо-1,5-бисфосфат вступает в процесс и в конце регенерируется. В этом процессе, получившем название цикла Кальвина, сочетаются реакции гликолитического превращения углеводов и пентозного пути.

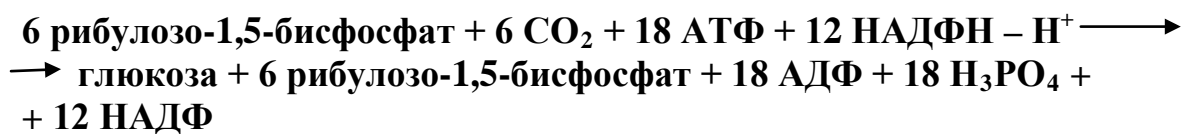


Восстановление 1,3-бисфосфоглицериновой кислоты в 3-фосфоглицериновый альдегид катализирует глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа, специфичная в отношении к НАДФ – Н + Н⁺. Дальнейшие стадии приводят к образованию молекулы глюкозы и 6 молекул рибулозо-5-фосфата (см. схему), на фосфорилирование которых затрачивается еще 6 АТФ. Таким образом, регенерируется 6 молекул рибулозо-1,5-бисфосфата.

Ñèí òàç ããê ñ ç è ðããáí àðàòè ÿ ðè áóéí çí -1,5-àè ñò í ñò àòà



Суммарное уравнение процесса:



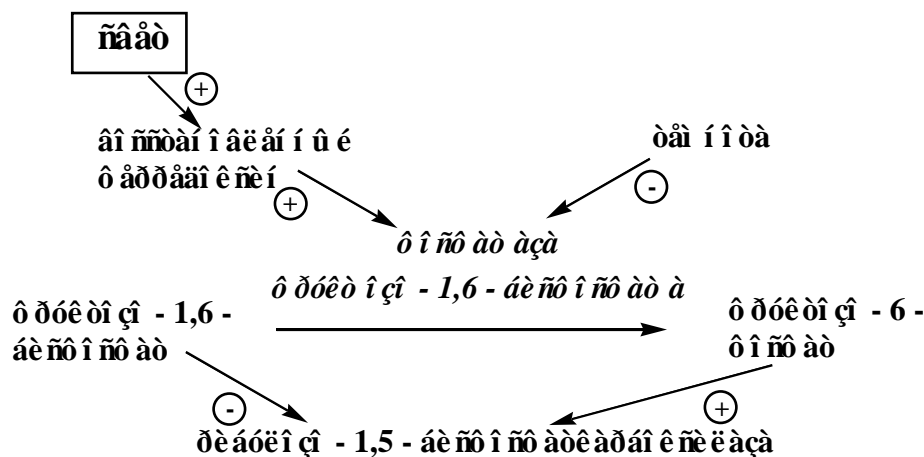
В итоге на каждую молекулу CO_2 расходуется $2\text{НАДФН} + \text{H}^+$ и 3АТФ . Первичным продуктом при ассимиляции CO_2 является 3-фосфоглицериновая кислота, а другие органические вещества являются продуктами ее преобразований.

Регуляция фотосинтеза

Метаболический тип регуляции основан на аллостерической регуляции активности ферментов: рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилазы (главный), альдолазы, седогептулозо-бисфосфатазы и других.

Регуляция рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы

активируют	ингибируют
1. НАДФН + H^+	1. фруктозо-1,6-бисфосфат
2. Mg^{2+}	
3. подщелачивание матрикса за счет ухода протонов в полость тилакоида	
4. фруктозо-6-фосфат	



Свет активирует образование восстановленного ферредоксина, он активирует фосфатазу фруктозо-1,6-бисфосфата. Образующийся фруктозо-6-фосфат стимулирует рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазу.

В темноте бисфосфатаза неактивна. Накапливается фруктозо-1,6-бисфосфат, который ингибирует карбоксилазу.

Бесхлорофильный фотосинтез

В 1976 году Стокениус обнаружил, что галлобактерии, живущие в засоренных водоемах, осуществляют бесхлорофильный фотосинтез благодаря белку родопсину, содержащему ретиналь. Бактериородопсин насквозь пронизывает мембрану и, поглощая свет, перекачивает прото-

ны изнутри клетки наружу в результате чего на мембране возникает потенциал. Эти бактерии могут работать в морской воде. В присутствии кислорода галлобактерии синтезируют АТФ в ходе окислительного фосфорилирования, при недостатке кислорода – переключаются на фотосинтетический механизм.

Лекция 55

КОСТНАЯ ТКАНЬ

Особым высокоспециализированным видом соединительной ткани является костная ткань. Она отличается большой твердостью, механической прочностью, наличием большого количества межклеточного вещества при сравнительно небольшом числе костных клеток. В межклеточном веществе костной ткани преобладают неорганические соединения. В этом смысле костная ткань уникальна. В организме человека нет другой ткани, столь богатой минералами, кроме тканей зубов. Своеобразное, высокоспециализированное объединение органических и неорганических компонентов кости, правильность ориентации коллагеновых волокон вдоль длинной оси кости, упорядоченное расположение кристаллов минерального вещества костной ткани создали весьма совершенную структуру, обладающую специфическими механическими и физиологическими свойствами.

Рассматривая биохимические аспекты костной ткани, следует различать понятия «кость как орган» и «костная ткань».

Кость как орган – сложное структурное образование, в котором наряду со специфической костной тканью содержатся красный и желтый костный мозг, хрящ, надкостница, кровеносные сосуды и находящаяся в них кровь. (Л.И. Слуцкий, 1969 г.) Она является опорой мягких тканей и служит рычагом, который перемещается с помощью сокращения мышц. Макроскопическая и микроскопическая структура кости – **органа опорно-двигательного аппарата** – полностью приспособлена для выполнения этих функций.

Костная ткань – главная составная часть кости. В то же время соотношение перечисленных компонентов в разных костях и в разных отделах одной и той же кости различно, поэтому химический состав их очень неоднороден. Костная ткань состоит из костных пластинок; в зависимости от плотности и расположения их костное вещество делят на

компактное и губчатое. Компактное костное вещество в основном содержится в телах длинных костей, губчатое – в их эпифизах, а также в коротких и широких костях.

Клетки костной ткани представлены остеобластами, остеоцитами и остеокластами.

Остеобласты – клетки, содержащие все компоненты, присущие клеткам других тканей. Отличительной их особенностью является сильное развитие эндоплазматического ретикулума и наличие мощного аппарата белкового синтеза, что характерно для интенсивно секретирующих клеток. Остеобласты осуществляют синтез проколлагена, который из эндоплазматической сети перемещается в комплекс Гольджи, где включается в везикулы, секретируемые в межклеточное вещество. Здесь же синтезируются гликозаминогликаны и белковый компонент протеогликанов, которые также поступают в межклеточное вещество.

Остеоциты – зрелые отростчатые клетки, образующиеся из остеобластов. Также способны синтезировать компоненты межклеточного вещества.

Между этими клетками в молодой и зрелой кости имеются большие различия. В очень молодой кости остеоциты богаты цитоплазмой и очень сходны с остеобластами. В зрелой кости остеоциты содержат меньше цитоплазмы, эндоплазматический ретикулум слабо развит, ядро также имеет меньшие размеры.

Остеокласты – гигантские многоядерные клетки со слабо развитым эндоплазматическим ретикулумом, содержащие мало рибосом, но большое количество лизосом и митохондрий. В связи с этим у них ограничена способность синтезировать РНК и белки, а основной функцией является рассасывание (резорбция) костной ткани (органического матрикса и межклеточного вещества).

Характерной особенностью костной ткани является ее способность к минерализации, что обуславливает ее уникальные механические качества и определяет ее функции:

1. опорно-защитную;
2. депо неорганических веществ.

Химический состав: находится в динамическом равновесии с кровью.

В компактной кости 60-70% составляют минеральные вещества, 20% – органические вещества и 10% – вода.

В губчатой кости: 30-40% – минеральные вещества, более 50% – органические и 10% вода.

Клеточные элементы занимают незначительный объем.

Органическая соединительно-тканная основа – матрикс состоит из коллагеновых волокон, ориентированных в одном направлении. Между волокнами расположены кристаллы гидроксиапатита, ори-

ентированные в том же направлении. Это придает кости пластинчатое строение. Пластинки могут располагаться параллельно друг другу, если находятся на плоской поверхности (трабекулярная кость), или концентрически, если находятся на поверхности каналов, в центре которых проходят кровеносные сосуды.

Основное вещество состоит из гликопротеинов и протеогликанов.

Белки матрикса костной ткани

Среди белков органического матрикса преобладает **коллаген** – составляет 95% органического матрикса. Вместе с минеральными компонентами коллаген является главным фактором, определяющим механические свойства кости. Коллагеновые фибриллы образованы коллагеном I типа, который в костной ткани отличается более высоким содержанием оксипролина, лизина, оксилизина и фосфатов, связанных с остатками серина.

Наряду с коллагеном в матриксе содержатся **адгезивные неколлагеновые белки**, специфичные для костной ткани.

Костный кислый гликопротеин. М.м. 75000 Да. Содержит большое количество сиаловых кислот и фосфатов, участвует в минерализации костной ткани.

Костный сиалопротеин. М.м. 59000 Да. Содержит много сиаловых кислот. В молекуле имеет трипептид с последовательностью АРГ–ГЛУ–АСП, необходимой для взаимодействия с белками интегринами. Это интегральные белки в мембранах клеток, служат рецепторами для связывания с белками межклеточного вещества. Установлено, что связывание с клетками происходит через специальный рецептор, содержащий последовательность из 10 ГЛУ, которая обуславливает его кальций-связывающие свойства. Связан с клетками и с апатитом.

Белок относят к фосфопротеинам, т.к. половина остатков серина в молекуле соединена с фосфатом. Функция белка окончательно неясна, но полагают, что он участвует в анаболической фазе образования костной ткани. Синтез костного сиалопротеина тормозится кальцитриолом и стимулируется дексаметазоном.

Остеокальцин. М.м. 58000 Да. Найден только в костях и зубах. В его молекуле имеются три остатка гамма-карбоксиглутаминовой кислоты, способной связывать кальций. Прочно связан с апатитом, участвует в регуляции роста кристаллов. Нарушения обмена этого белка вызывают нарушения функции костной ткани.

Остеонектин. М.м. 43000 Да. Широко распространен в тканях. Имеет кальций-связывающий домен и участки, богатые глутаминовой кислотой. Связан с коллагеном и апатитом.

Остеопонтин. М.м. 32600 Да. Как костный сиалопротеин и кис-

льный гликопротеин, является анионным белком за счет высокого содержания остатков аспарагиновой кислоты, но меньше содержит углеводов. Фосфорилирован по остаткам серина. Имеет трипептид АРГ–ГЛУ–АСП в участке для специфического связывания с интегринами. Синтез белка стимулируется кальцитриолом. Остеопонтин обнаружен в светлой зоне остеокластов, связанной с минеральными компонентами. Полагают, что он служит для привлечения предшественников остеокластов и связывания их с минеральным компонентом кости, т.к. остеокласты имеют большое количество интегриновых рецепторов, которые могут связываться с остеопонтином.

Тромбоспондин. М.м. 150000 Да. Олигомер, состоящий из трех субъединиц. Также имеет последовательность АРГ–ГЛУ–АСП, позволяющую ему связываться с поверхностями клеток. Связывается с другими белками костной ткани.

Гликозаминогликаны органического матрикса костной ткани представлены хондроитинсульфатом (главный), гиалуроновой кислотой, кератансульфатом.

Матрикс отличается высоким содержанием лимонной кислоты. Около 90% всего количества цитрата в организме человека сосредоточено именно в костной ткани, что, по-видимому, связано с его участием в мобилизации кальция из этого депо.

Кроме этого в матриксе содержатся липиды (0,67 г/100 г сухой ткани компактного вещества), холестерин (в комплексном соединении с коллагеном).

Минеральные соединения межклеточного матрикса

В костной ткани, дентине, цементе, зубной эмали минеральный компонент представлен главным образом фосфорнокислыми солями кальция и другими неорганическими соединениями.

Природных форм фосфатов кальция несколько.

Апатиты. Имеют общую формулу $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2$, где X – фтор или ОН-группа. Фторапатиты широко распространены, но, в основном, это почвенные минералы. В животном мире преобладают гидроксиапатиты. 99% кальция организма находятся в костях в виде гидроксиапатита, из них обменивается 1%.

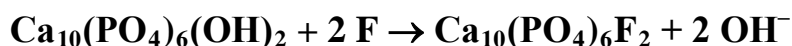
Апатиты – устойчивые соединения, но легко обмениваются ионами с окружающей средой.

Замещаемые ионы	Заместители
PO_4^{3-}	AsO_3 , HPO_4^{2-} , CO_2
Ca^{2+}	Sr, Ba, Pb, Na, K, Mg, H_2O
OH^-	F, Cl, Br, J, H_2O
2OH^-	CO_2^{2-} , O_2^-

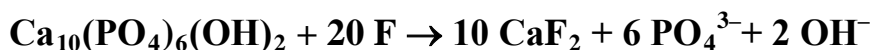
В состав костей и тканей зубов входят соли HPO_4^{2-} и PO_4^{3-} , т.е. ортофосфаты кальция. Пирофосфаты входят в состав зубного камня. В ходе замещения ионов в апатите поддерживается принцип общего распределения зарядов. Главным же фактором, определяющим возможность замены, является размер атома.

Фторapatит – наиболее стабильный из всех апатитов. Образует кристаллы гексагональной формы с плотностью $3,2 \text{ г/см}^3$.

Реакция взаимодействия фтора с фосфатами кальция в водной среде зависит от концентрации фтора. При невысоком содержании фтора (до 500 мг/л) образуются кристаллы фторapatита.



При высокой концентрации (больше 2000 мг/л) кристаллы не образуются:



Продукт реакции CaF_2 .

Фтор резко уменьшает растворимость гидроксиapatитов в кислой среде. Так же, но с меньшим эффектом, действуют ионы цинка, олова. Повышают растворимость ионы цитрата, карбоната, магния. Полагают, что фтор необходим для отложения апатитов в плотных тканях.

Карбонатный апатит. В присутствии карбонат иона или гидрокарбонат иона образуется карбонатный апатит более аморфный, чем основная соль фосфата кальция. Его структура сходна со структурой апатита костей и эмали.

Стронциевый апатит. Стронций может вытеснять кальций в кристаллической решетке с образованием такого апатита. Структура кристаллов при этом нарушается. В местностях, загрязненных радионуклеидами (после аварии на ЧАЭС), радиоактивный стронций может накапливаться, так как он плохо выводится вследствие плохой растворимости.

К природным формам фосфата кальция также относятся:

Витлокит – одна из форм трикальций фосфата- β $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ содержит в кристаллической решетке ионы Mg^{2+} , Mn^{2+} или Fe^{2+} . Образует ромбические кристаллы. В организме встречается редко. Входит в состав зубного камня и обнаруживается в кариозно пораженной эмали.

Монетит (CaHPO_4) и брушит ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) – в организме встречаются редко. Брушит обнаружен в дентине и зубном камне. Монетит образует кристаллы в виде треугольных пластинок, но иногда в

виде палочек и призм, брушит – клиновидной формы. Растворимость кристаллов зависит от рН, увеличивается в кислой среде (при рН меньше 6,0). При нагревании брушит превращается в монетит.

Октокальций фосфат – $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Занимает промежуточное положение между кислыми солями – монетитом и брушитом – и основной солью – гидроксипатитом. Входит в состав зубного камня.

Кристаллы в виде тонких пластинок, напоминают кристаллы апатита. Имеет слоистую структуру с чередованием слоев соли толщиной 1,1 нм и слоев воды толщиной 0,8 нм. В щелочной среде гидролизует в апатит. Низкие концентрации фтора ускоряют гидролиз.

Минерализация костной ткани

Минерализация широко распространена в животном мире. У позвоночных в основе минерализации костного скелета лежит образование кристаллов с участием фосфатов кальция.

Внеклеточная жидкость, из которой происходит осаждение соли, представляет пересыщенный раствор фосфата кальция. В процессе осаждения выделяют две стадии:

- образование плотного осадка (нуклеация),
- рост кристаллов из ядра.

Нуклеация может быть гомогенной, если пересыщенный раствор является однофазным. Ионы образуют пары, триплеты, которые объединяются в кластеры. Если размер их больше критического радиуса кристалла, то происходит рост кристалла. Если размер меньше, то кластер распадается. Если в пересыщенном растворе имеется другая фаза (чаще другой кристалл «S»), то на ее поверхности происходит рост кристалла путем адсорбции. Это гетерогенная нуклеация. В обоих случаях размер образующихся кристаллов от 0,5 до 2 нм в диаметре.

Механические свойства таких структур как кость и эмаль зависят от величины кристаллов. Процесс нуклеации происходит только в пересыщенном растворе. Рост кристаллов происходит при более низких концентрациях раствора.

Рост кристалла происходит на образовавшемся ядре путем добавления новых ионов с образованием спиралевидных структур. Другие ионы и молекулы, содержащиеся даже в небольшой концентрации в растворе, могут тормозить кристаллизацию. Полагают, что они адсорбируются на поверхности кристалла и тормозят адсорбцию других ионов. Так, гексаметафосфат тормозит кристаллизацию карбоната кальция, пирофосфаты, полифосфаты, полифосфанаты, некоторые белки слюны тормозят нуклеацию и рост кристаллов гидроксипатитов.

Изучение кристаллов осуществляют методом рентгенструктурно-

го анализа. Частички, из которых построен кристалл, располагаются симметрично и называются элементарными ячейками. Ячейки образуют сетку, называемую матрицей. Различают семь типов ячеек и соответственно семь типов кристаллов: моноклинные, триклинные, орторомбические, тригональные, тетрагональные, гексагональные, кубические.

Инициаторами минерализации в тканях являются молекулы, которые могут связываться с коллагеном: протеогликаны, гликозаминогликаны, фосфопротеины, белки, содержащие γ -карбоксиглутаминовую кислоту. Например, остеоонектин связывается с коллагеном и гидроксипатитом и может вызвать нуклеацию апатита из раствора фосфата кальция.

Электронно-микроскопические исследования показали, что в зоне минерализации образуются внеклеточные пузырьки, связанные с мембранами и содержащие кристаллы апатита. Они и являются зонами нуклеации, а коллагеновые волокна ориентируют рост кристаллов в пространстве. В пузырьках также содержатся липиды, активная фосфатаза, которая расщепляет органические фосфорсодержащие соединения и повышает содержание фосфора в этом месте. Но при минерализации эмали, дентина и цемента такие пузырьки не обнаружены.

Ионный состав крови и межклеточной жидкости может влиять на кристаллы апатитов, т.к. постоянно происходит обмен ионов кристаллической решетки. В нем выделяют три этапа.

Вначале (в течение нескольких минут) происходит обмен ионами между гидратной оболочкой кристалла и подвижной жидкостью, в которую он погружен. На втором этапе идет обмен ионами между гидратной оболочкой и поверхностью кристалла. В нем могут участвовать ионы фосфорной кислоты, кальция, фтора, стронция, натрия и др. Это происходит в течение нескольких часов. На третьем этапе ионы проникают вглубь кристаллов, что длится месяцами и годами.

Регуляция метаболизма костной ткани

В общей регуляции метаболизма костной ткани важную роль играет **регуляция кальциевого гомеостаза**. Она осуществляется тремя гормонами: паратиреоидными, кальцитонином и кальцитриолом.

На рост костного скелета и метаболизма в костной ткани влияют соматотропин, тиреоидные гормоны, инсулин, глюкокортикоиды, ростовые факторы, гормоны местного действия – простагландины и др.

Лекция 56

БИОХИМИЯ ЗУБОВ

Зубы – это сложно устроенный орган, состоящий из трех видов плотных тканей, отличающихся по строению и происхождению: эмали, дентина и цемента. Кроме них имеется рыхлая соединительная ткань, входящая в пульпу зуба.

Эмаль – самая твердая ткань, по шкале твердости приближающаяся к кварцу. Она покрывает коронку зуба. Ее особенностью является то, что сразу после формирования она утрачивает клетки, т.е. она не способна к регенерации. Не имея клеток, она в течение длительного времени поддерживает свое состояние, хотя и подвергается воздействию различных факторов.

До прорезывания зубов эмаль покрыта мембраной – органической оболочкой, состоящей из бесклеточного слоя (толщиной ~1 мкм) и слоя клеток, производивших эмаль (толщиной ~10 мкм). Она называется **кутикулой**. Сразу после прорезывания зуба кутикула стирается, сохраняясь лишь в пришеечной области. При контакте эмали со слюной зуб покрывается органической бесклеточной оболочкой слюнного происхождения, содержащей десквамированный эпителий. Она называется **пелликулой**. Толщина суточной пленки 2-4 мкм. Она устойчива к действию кислот, но легко разрушается при механическом воздействии. На поверхности ее находятся бактерии, продукты их метаболизма и погибшие бактерии образуют бляшки, которые кальцифицируются с образованием камней.

Основу зуба составляет **дентин**. В нем имеются клетки – одонтобласты, которые покрывают внутреннюю часть зуба, его полость. Эти клетки позволяют дентину сохранять способность к регенерации в течение всей жизни зуба. Коронковая часть дентина покрыта эмалью, а корневая часть – цементом. Корень зуба вставляется прочно в костную ткань и прикрепляется периодонтальными связками.

Эмаль, дентин и цемент отличаются по химическому составу:

Эмаль. Большую часть зрелой эмали составляют неорганические вещества – 96%, в незрелой – 37%, эмали молочных зубов – 80%. Структурными единицами являются кристаллы апатитов, из которых формируются эмалевые призмы. Чем четче границы кристаллов, тем степень минерализации выше. В наружном (поверхностном) слое эмали призмы частично доходят до поверхности, поэтому имеются призматические и беспризматические участки. Кристаллы в призмах ориентированы перпендикулярно к поверхности. Межпризматические пространства заполнены органическими молекулами и водой. После удаления минеральных компонентов остается тонкая сеть органической матрицы.

Неорганические компоненты представлены кристаллами апатитов:

- гидроксиапатит – 75%;
- карбонатапатит – от 12 до 19%;
- хлорапатит – 4,4%;
- фторапатит – от 0,66 до 1%;
- другие минеральные соединения до 2%.

Кристаллы эмали отличаются от кристаллов других плотных тканей своими размерами: они ~ в 10 раз больше кристаллов дентина и костной ткани. Кристаллы объединяются в призмы, которые содержат миллионы кристаллов. Призмы собраны в пучки, которые идут поперек слоя эмали, изгибаясь в виде спирали.

Содержание Са и Р в эмали составляет 33,6-39,4 и 16,1-18,0% соответственно. В направлении от поверхности зуба к дентину их концентрация снижается: Са снаружи 37,8%, внутри 34,5%, Р – 18% и 15%. В идеальном апатите содержится 10 атомов Са, молярное соотношение Са/Р сохраняется постоянным 1,62-1,78 в среднем 1,67, весовое соотношение 2,1-2,3. Замещение Са на Сr, Ва, Mg приводит к уменьшению коэффициента Са/Р, и это способствует развитию кариеса.

Вторым элементом в количественном отношении является Mg (0,3-0,9%). Относительно велико также количество Zn (20-25 мг/100 г сухого остатка) и Fe (2-40 мг/100 г).

На состав и свойства гидроксиапатита влияет состав и свойства раствора, омывающего эти кристаллы. В наружном слое эмали высокая концентрация Са и Р делает его устойчивым к действию кислот. Содержание F в поверхностном слое в 10 раз больше, чем в подлежащем. То же самое относится к хлоридам (Zn, Pb). Содержание же карбонатов Na, Mg, Fe растет в направлении к дентину.

По всей эмали равномерно распределены медь, К, Al.

Минеральный состав эмали может колебаться в зависимости от характера питания.

Самое сильное кариостатическое действие проявляют F, Р, менее – Си, Мо, ванадий, бор, литий, золото.

Кариесогенными элементами считают Mn, Pb, Si (кремний), Se (селен), кадмий.

Содержание воды в эмали: зрелой – 2% (до 3%), незрелой – 20% (до 44%).

Вода находится в двух видах:

- свободная – 0,8-1%;
- связанная – входит в гидратную оболочку кристаллов апатитов – 3-3,3% от массы эмали.

Вода заполняет интерпризматические пространства.

Органические компоненты эмали: составляют в незрелой эмали

– 19-20%, в зрелой – 0,1% (до 4%).

В созревающей эмали содержатся два вида белков:

- амелогенины,
- энамелины.

Вначале основная масса представлена амелогенинами (90%), по мере созревания эмали они разрушаются и увеличивается количество энамелинов.

Амелогенины – м.м. не больше 30000 Да. Содержат много про, гис, лей, глу. Гидрофобны и склонны к агрегации, не содержат гидроксипролина и цистеина.

Энамелины – кислые белки с м.м. 50000-70000 Да. Сильно гликозилированы: содержат до 4% гексозаминов и до 4% нейраминовой кислоты. Вторичная структура представлена β -структурой.

Количество белков по мере созревания эмали уменьшается больше, чем в 100 раз.

Кроме белков содержатся пептиды, липиды, моносахариды.

Белков содержится больше во внутренней части эмали, чем на наружной поверхности. Белки и пептиды, расположенные снаружи, более растворимы в воде.

В эмали обнаружен Ca-связывающий белок (м.м. 20000 Да), который, присоединяя Ca, полимеризуется и переходит в нерастворимую форму, образуя белковую трехмерную сетку, нерастворимую в нейтральной среде. Одна молекула связывает 8-10 Ca^{+2} . Сетка белков связывается через Ca с гидроксиапатитом и фиксируется на волокнах амелогенинов. Таким образом, возникает белковая матрица эмали, которая инициирует дальнейшие процессы нуклеации и кристаллизации гидроксиапатита и определяет расположение и ориентацию кристаллов.

Это обуславливает последовательность формирования эмали и упорядоченность, и равномерность ее структуры.

Транспорт минеральных веществ происходит:

1. в направлении: пульпа → дентин → эмаль.
2. из слюны.

Проницаемость эмали язычной поверхности зубов больше, чем губной.

Для проницаемости важное значение имеют микропространства, заполненные водой, по которым могут проникать вещества в зависимости от осмотического давления и радиуса ионов.

Дентин

В дентине содержится до 72% неорганических веществ, 17% органических и 13% воды.

Неорганические вещества представлены гидрокси- и фторапати-

товыми кристаллами и аморфным фосфатом Са.

Так как дентин – разновидность соединительной ткани, то главными компонентами органического матрикса являются коллаген и протеогликаны. Коллаген, как и костный, I типа.

Клетки дентина – одонтобласты функционируют на протяжении всей жизни зуба. Они образуют тонкий слой, выстилающий полость зуба. Их отростки пронизывают дентин до сочленения его с эмалью, формируя дентиновые каналы. В них проходят и окончания нервных волокон, проникающих из пульпы. По этим канальцам проходит зубной ликвор, т.е. они выполняют трофическую функцию.

Основное вещество содержит гликозаминогликаны, представленные хондроитин-4-сульфатом, хондроитин-6-сульфатом, гиалуроновой кислотой (т.е. склеивающее вещество). В этом веществе содержится большое количество минеральных солей. В основном веществе располагаются коллагеновые фибриллы, собранные в пучки. К неколлагеновым белкам относятся фосфопротеины (богаты сер, асп, поэтому эстерифицированы фосфатом и имеют кислые свойства). Кислые свойства обуславливают способность связывать Са. Эти белки появляются в предентине перед началом минерализации и располагаются на линии фронта минерализации.

В дентине мало белков с остатками γ -карбоксиглутаминовой кислоты. Низкое содержание и других органических веществ: липидов, фосфолипидов.

Неорганический компонент дентина отличается высоким содержанием Mg (в 3 раза больше, чем в костях), карбонатов (больше чем в эмали). F содержится больше в области, граничащей с пульпой. Его количество увеличивается с возрастом.

Гидроксиапатит отличается от эмалевого по отношению Са/P (здесь 1,5-1,7). Химический состав дентина не совпадает с формулой гидроксиапатита, т.к. в нем содержится аморфный фосфат и карбонат Са, вода и другие ионы (Mg, Na, Sr).

Формирование дентина может идти в течение всей жизни (после прорезывания зубов) – образуется вторичный дентин, заполняющий полость зуба и менее минерализованный.

Цемент – различают 2-х типов:

– клеточный – в верхушечной части корня и в области бифуркации корней,

– бесклеточный – покрывающий остальную часть корня.

Клеточный цемент по составу похож на грубоволокнистую кость и содержит цементоциты.

Бесклеточный не содержит эти клетки и состоит из коллагеновых волокон и матрикса.

Химический состав:

- 68-70% составляют неорганические вещества (разные формы апатитов);
- 17-20% – органические (коллаген, протеогликаны, липиды);
- 10-15% – вода.

Цемент прочно соединен с дентином, неравномерно покрывая его в области корня. Снаружи он связан прочно с тканями связочного аппарата зуба.

Пульпа – разновидность рыхлой соединительной ткани. По направлению к корневой части зуба уплотняется. Плотная часть более устойчива к микроорганизмам, токсинам.

Химический состав:

- неорганических веществ ~5%,
- органических веществ ~40%,
- воды ~60%.

Пульпа выполняет трофическую функцию, защитную и репаративную.

Лекция 57

БИОХИМИЯ ЖИДКОСТЕЙ ПОЛОСТИ РТА. БИОХИМИЯ СЛЮНЫ

Ротовая жидкость, находящаяся в ротовой полости, представляет суммарный секрет слюнных желез (околоушных, подъязычных, подчелюстных, малых желез полости рта), детрит полости рта, десневую жидкость и содержимое десневых карманов, микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности, слущенные эпителиальные клетки, мигрировавшие через слизистую полости рта нейтральные лейкоциты (слюнные тельца) и продукты их распада, остатки пищи. Поэтому ротовую жидкость называют «**слюной смешанной**» в отличие от истинной слюны – секрета слюнных желез.

Гормональной регуляции слюноотделения нет. Выделение слюны происходит условно рефлекторно при виде, запахе пищи и под действием безусловных рефлексов при механическом раздражении слизистой. Процесс слюноотделения требует большой **затраты энергии**, поставляемой окислительными процессами. О высокой интенсивности обмена в слюнных железах свидетельствует **активное поглощение кислорода** – железы занимают промежуточное положение между почками и печенью (почки используют 10% всего поглощаемого организмом кислорода при массе 0,5% от массы тела).

Функции ротовой жидкости: очень многообразны.

1. Пищеварительная: в начальном этапе пищеварения слюна смачивает, размягчает пищу, облегчает проглатывание, растворяет химические вещества пищи, воздействует на них ферментами: амилазой, мальтазой. В слюне создается оптимум рН для действия амилазы, выделяются активаторы (Cl). Амилаза содержится в слюне не у всех животных – ее нет в слюне собак, лошадей, кошек и некоторых обезьян.

2. Минерализующая: слюна поставляет минеральные вещества и микроэлементы для эмали зубов, поддерживая оптимальный химический состав ее, т.к. представляет перенасыщенный раствор гидроксиапатитов. Образующиеся при их гидролизе ионы Ca^{2+} и HPO_4^{2-} после прорезывания зубов диффундируют в эмаль и происходит ее минерализация. Постоянное

насыщение эмали этими ионами с возрастом приводит к «созреванию» ее (уплотнению структуры), росту; повышение плотности снижает ее растворимость и делает более высокой кариесрезистентность. Эта функция обеспечивает также восстановление химического состава эмали после ее повреждения и при ряде заболеваний.

3. Защитная: состоит в защите от внешнего влияния и поддержке гомеостаза ротовой полости. Омывая поверхность зуба, слюна влияет на структуру и химический состав его, изменяет их. На поверхность эмали зуба осаждаются из слюны гликопротеины и другие белки, пептиды, кальций, другие вещества, образуя пелликулу, защищающую эмаль от действия органических кислот. Слюна предохраняет слизистую и органы полости рта от механических, химических воздействий, благодаря наличию различных гликопротеинов. Наличие иммуноглобулинов А (и других классов) защищает слизистые оболочки, и раны ротовой полости реже инфицируются, чем других тканей. В слюне содержатся соединения с гемокоагуляционной и фибринолитической активностью, что способствует быстрому заживлению ран (в ней есть протромбин, тромбопластин, активаторы и ингибиторы фибринолиза).

4. Очищающая: заключается в механическом очищении полости рта от остатков пищи, скоплений микроорганизмов и др. благодаря большой скорости секреции слюны. Содержащиеся в слюне лизоцим, бактериолизин, лейкоциты проявляют бактерицидное действие. Высокие антибактериальные свойства обеспечивают устойчивость к кариесу.

5. Регуляторная – в железистых клетках вырабатываются белки, способные регулировать биохимические процессы в тканях полости рта и пищеварительного тракта. В них образуются **ростовые факторы эпидермиса и нервов**, ускоряющие регенерацию тканей при их механическом повреждении элементами пищи.

Общая характеристика и химический состав ротовой жидкости

В сутки у взрослого человека в норме выделяется 1-2 л слюны (скорость секреции – 0,2-0,5 мл/мин днем, а ночью в 10 раз ниже). Максимальная скорость саливации у детей в возрасте 5-8 лет, а затем она снижается. Наибольшее количество слюны выделяют околоушные железы.*

Между функцией слюнных желез и состоянием зубов есть прямая взаимосвязь: гипосаливация и ксеростомия (сухость во рту) приводят к множественному поражению зубов кариесом, и даже некрозу эмали. Прекращение секреции слюны на одной стороне полости рта приводит к поражению зубов этой стороны кариесом (удаление желез, перевязка протоков).

Химический состав слюны

Слюна – это мутная вязкая жидкость** с плотностью 1,002-1,017. На 98-99,5% состоит из воды. 0,5-2% составляет сухой остаток, 2/3 которого представлены органическими веществами, а 1/3 – минеральными.

Сравнительный химический состав слюны и плазмы крови

Показатель	Слюна	Плазма крови
Плотность	1,002-1,017	1,050-1,060
Вязкость	1,2-2,4 ед.	
pH	6,5-7,5	7,36±0,05
вода	98-99,5%	83%
сухой остаток	0,5-2%	17%
Ca	0,04-0,08 г/л 1,5-5 ммоль/л	0,08-0,11 г/л 2,2-2,6 ммоль/л
P	0,06-0,24 г/л 1,9-7,7 ммоль/л	0,02-0,04 г/л 0,64-1,3 ммоль/л
Mg	0,4-0,9 ммоль/л	0,78-0,92 ммоль/л
K	0,56-1,48 г/л 20 мэкв/л	0,13-0,19 г/л 3,16-5,4 ммоль/л
Na	0,08-0,56 г/л 20-40 мэкв/л	3,12-3,52 г/л 130-150 ммоль/л
Cl	20-40 мэкв/л	96-108 ммоль/л

* В основном выделение слюны осуществляется тремя парами желез: околоушными, подчелюстными и подъязычными.

** Мутность слюны обусловлена наличием клеток эпителия, лейкоцитов. Вязкость обусловлена наличием гликопротеинов, белков, клеток. В норме 1,2-2,4, при кариесе увеличивается до 3 ед. Увеличение вязкости уменьшает очищающую и минерализующую функции.

F	5,3-5,18 мэкв/л	
бикарбонаты	10-20 мэкв/л	4,5-5,5 ммоль/л

Концентрация минеральных веществ в слюне ниже, чем в плазме крови, т.е. это **гипотоническая жидкость**. При низкой скорости секреции слюны сильно гипотонична. Ее осмотическое давление увеличивается с повышением скорости слюноотделения, и при его максимальной скорости слюны может стать изотоничной плазме крови.

К минеральным компонентам слюны относятся Ca, K, Na, Mg, Si (кремний), Al, Zn, Cr, Fe, Mn, Cu и др. катионы, а также анионы: хлориды, фосфаты, бикарбонаты, фториды, бромиды, сульфаты, роданиды и другие.

Кальций (Ca): содержится 0,04-0,08 г/л (1,5-5 ммоль/л) по сравнению с кровью 0,08-0,11 г/л (2,2-2,6 ммоль/л) (т.е. почти в 2 раза меньше, чем в крови).

Большая часть Ca (55-60%) в слюне находится в ионизированном состоянии, остальная часть (40-45%) – связана с белками. Одна молекула белка связывает до 130 атомов Ca. С возрастом содержание Ca в слюне повышается. При высоких концентрациях Ca^{+2} в протоках слюнных желез могут образоваться слюнные камни, закупоривающие проток. Соединяясь с органическими веществами, соли кальция могут образовывать зубной камень, откладывающийся на зубах.

Содержание фосфора в слюне 0,06-0,24 г/л (1,9-7,7 ммоль/л) в крови 0,02-0,04 г/л (0,64-1,3 ммоль/л) т.е. выше, чем в сыворотке крови.

Фосфор, в основном, входит в неорганические соединения, лишь ~5% – в органические. Он находится в виде пиро- и ортофосфата. Ca и P образуют соединения типа гидроксиапатитов, которые наиболее устойчивы при соотношении $Ca/P = 1/1,67$. У разных людей это соотношение колеблется от 1/2 до 1/1,3.

В слюне поддерживается состояние перенасыщенности гидроксиапатитами, при гидролизе которых образуются ионы Ca^{2+} и $НРО_4^{2-}$. Эта перенасыщенность препятствует растворению эмали и способствует диффузии этих ионов в эмаль и их адсорбции на эмаль. Выявлено, что у лиц с множественным кариесом перенасыщенность слюны гидроксиапатитами на 24% ниже, чем у кариесрезистентных людей.

Содержание Mg 0,4-0,9 ммоль/л, с возрастом оно увеличивается.

Содержание K 0,56-1,48 г/л

в плазме крови 0,13-0,19

т.е. в 4-5 раз больше, чем в плазме крови.

Содержание Na 0,08-0,56 г/л

в плазме крови 3,12-3,52

т.е. значительно ниже, чем в плазме крови.

Содержание К и Na в слюне значительно изменяется в течение суток.

Содержание ионов Cl 20-40 мэкв/л

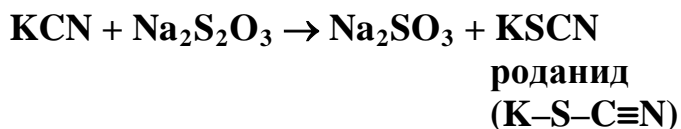
бикарбонатов 10-20 мэкв/л

При кариесе концентрация Na снижается, а Cl – повышается.

Содержание фтора 5,3-5,18 мэкв/л или 0,1-0,3 части на 1000000 частей слюны. Соединения фтора способны угнетать бактериальную флору и могут включаться в зубной налет и в состав фторапатитов эмали.

Концентрация неорганического **йода** в слюне примерно в 10 раз больше, чем в сыворотке крови, т.е. слюнные железы концентрируют йод.

В слюне обнаруживаются также **тиоцианаты** или **роданиды**, которые образуются в печени под действием фермента роданезы при сульфировании цианидов:



Их содержание в слюне варьирует, известна зависимость их содержания от степени контакта человека с табачным дымом, от количества поступающего витамина В₁. Полагают, что роданиды выполняют защитную функцию и вместе с галогенами активируют ферменты пероксидазы, расщепляющие перекисные соединения. Вполне возможно, что слюна накапливает роданиды, т.к. их содержание в ней превышает содержание в других биологических жидкостях. Это используется в судебной медицине, т.к. реакция на роданиды позволяет идентифицировать пятна слюны большой давности.

Таким образом, содержание фосфора, калия, йода и роданидов в ротовой жидкости намного выше, чем в плазме крови. Одним из важнейших показателей гомеостаза слюны, определяющим состояние зубов, является рН.

В норме в покое рН колеблется в пределах 6,5-7,5, т.е. близок к нейтральному значению. При патологическом состоянии рН может смещаться как в кислую (до 5,4), так и в щелочную сторону (до 8,0). Это приводит к нарушению коллоидно-кристаллической структуры (мицеллярной) фосфорно-кальциевых соединений и снижению их устойчивости в пересыщенном состоянии, отсюда нарушается минерализующая функция слюны.

Постоянство рН слюны поддерживается бикарбонатной, фосфатной и белковой буферными системами.

Кислотность слюны зависит от скорости слюноотделения, бу-

ферных систем, характера пищи, гигиенического состояния полости рта, времени суток, возраста.

При низкой скорости секреции, несоблюдении гигиены полости рта рН слюны обычно смещается в кислую сторону. Этому также способствуют кислые фрукты, соки. У беременных женщин рН слюны смещено в кислую сторону, а также у больных после лучевой терапии.

В ночное время рН слюны снижается, утром – самое низкое значение, к вечеру повышается.

С возрастом кислотность слюны уменьшается и повышается кариесрезистентность.

рН влияет на насыщенность слюны гидроксиапатитами. В пределах значений 6,0-8,0 она перенасыщена гидроксиапатитами, а **при рН ниже 6,0** становится ненасыщенной и приобретает свойства деминерализующей жидкости.

При подщелачивании слюны увеличивается степень перенасыщенности гидроксиапатитами, увеличивается устойчивость к кариесу, но образуются зубные камни.

В полости рта в области контакта трех сред: жидкой (слюна, десневая жидкость), твердой (зубы) и мягкой (десна, слизистая оболочка) возникает электрохимический потенциал разной величины (в норме от +5 до +150 мВ). Разность потенциалов в разных точках полости рта приводит к появлению электрического тока, что может привести к развитию патологических процессов.

При кариесе и деминерализации величина электрохимического потенциала **снижается** вплоть до отрицательных величин. После пломбирования зубов ЭХП может вновь стать положительным.

Изменения электрохимического потенциала очень выражены при протезировании зубов, особенно если протезы из разных металлов, что ведет к возникновению электротоков и развитию патологии.

Органические компоненты ротовой жидкости

Органические вещества в смешанной слюне представлены белками, низкомолекулярными азотсодержащими веществами, углеводами и продуктами их расщепления, липидами, витаминами и др.

Содержание органических веществ в слюне и плазме крови

Химические компоненты	Слюна	Плазма крови
Белки	0,95-2,32 г/л	65-85 г/л
Глюкоза	0,05 ммоль/л 0,01-0,02 г/л	3,33-6,2 ммоль/л 0,8-1,2 г/л
Лактат	0,03-0,05 г/л	0,08-0,16 г/л
Пировиноградная кислота	22,7-45,4 мкмоль/л	45,6-114 мкмоль/л

Холестерин	0,065-0,233 ммоль/л	3,64-5,2 ммоль/л
Мочевина	1,83 ммоль/л 0,10-0,15 г/л	2,5-8,32 ммоль/л 0,2-0,4 г/л
Мочевая кислота	0,088 ммоль/г	0,12-0,24 ммоль/л
Аммиак	1,2-1,6 мкмоль/л 20-100 мг/л	17-78 мкмоль/л 0,1-0,3 мг/л
Фосфор липидов	0,0016-0,064 ммоль/л	1,97-4,68 ммоль/л

Содержание белков в слюне варьирует в пределах 0,95-2,32 г/л, т.е. в 40-70 раз ниже, чем в плазме крови.

При бумажном электрофорезе они делятся на фракции:

1. лизоцим,
2. альбумины,
3. α_1 , α_2 , β и γ -глобулины,

но глобулинов в слюне больше, чем альбуминов, и более 40% от всех перечисленных фракций составляют β -глобулины.

При электрофорезе в полиакриламидном геле выделяют 17 полос.

По аминокислотному составу белки условно делят на 4 группы:

- | | | |
|---------------|---|---|
| I – кислые | } | участвуют в образовании пелликулы на поверхности эмали. |
| II – основные | | |

III – богатые пролином – препятствуют росту кристаллов из слюны, пересыщенной Са и Р.

IV – богатые гистидином – проявляют антимикробное действие.

Более половины всех белков слюны составляют **муцины** – гликопротеины с М.м. $2 \cdot 10^6$. Они содержат в своем составе сиаловые кислоты, N-ацетилгалактозамин, фукозу и галактозу. Олигосахаридные группировки составляют 60% их состава. В осажденном виде они находятся на поверхности зуба и растворяются очень медленно. Осаждаются муцины под действием слабокислой среды.

Вырабатываются муцины в подчелюстных железах и выполняют важные функции:

1. Смазывают слизистые оболочки полости рта и поверхности зубов, защищая их от повреждений.
2. Связывают Са слюны
3. Участвуют в поддержании постоянства рН.

Белки богатые пролином содержат от 16 до 33% пролина, кислые за счет высокого содержания остатков фосфорной кислоты, благодаря чему тормозят рост кристаллов; если у этих белков удалить фосфатные группы, связанные с остатками серина, то исчезает способность ингибировать рост кристаллов. Из этих белков выделен пептид из 30 аминокислот, который тормозит рост кристаллов.

Важную роль в выполнении защитной функции играют иммуноглобулины (Ig), которые, в основном, представлены иммуноглобулином

А (JgA). Он вырабатывается околушной железой и участвует в антибактериальной защите. Кроме иммуноглобулина А в слюне содержатся иммуноглобулин G (JgG), иммуноглобулин М (JgM), имеющие сывороточное происхождение. Иммуноглобулины присоединяются к муцину, и эти гликопротеиновые комплексы могут усиливать или ослаблять присоединение бактерий к поверхности зуба.

Из слюны выделен **пептид-статерин** с м.м. 5380 Да, содержащий до 15% пролина и 25% кислых аминокислот. Он не только тормозит рост кристаллов, но и фазу их образования (нуклеации).

Белок-лактоферрин (выделенный впервые из молока) связывает ионы железа, лишая бактерии этого элемента, ограничивает их рост. Но некоторые бактерии могут усваивать и железо, связанное с лактоферрином.

Са-связывающий белок, имеющий высокое сродство к гидроксиапатиту. Увеличение его количества способствует образованию зубного налета и зубного камня.

Происхождение некоторых ферментов слюны

Ферменты	Источник фермента		
	слюнные железы	микроорганизмы	лейкоциты
Оксидоредуктазы:			
каталаза	-	+	-
пероксидаза	+	-	+
лактатдегидрогеназа (ЛДГ ₃ , ЛДГ ₄ , ЛДГ ₅)	+	+	+
Трансферазы:			
аминотрансферазы	-	+	-
Гидролазы:			
амилаза	+	-	-
мальтаза	-	+	+
сахараза	-	+	-
гиалуронидаза	-	+	-
лизоцим	+	-	+
фосфатазы (кислая, щелочная)	+	+	+
липаза	+	-	+
протеиназы	-	+	+
пептидазы	-	+	+
хондроитин-сульфатаза	-	+	+
уреаза	-	+	-
Лиазы:			
Альдолаза	-	+	-
карбоангидраза	+	-	-

Из слюны выделено более 100 ферментов различного происхож-

дения: железистого, лейкоцитарного и микробного.

Ферментами, секретируемыми железами, являются α -амилаза, лизоцим, аминотрансферазы, лактатдегидрогеназа, пероксидаза, кислая и щелочная фосфатазы, карбоангидраза и др.

Амилаза слюны идентична панкреатической, очень активна, что используется в судебной-медицинской практике (идентификация пятен слюны на одежде и других объектах по гидролизу крахмала).

Лизоцим – синтезируется эпителиальными клетками протоков слюнных желез. Поступает в ротовую полость со смешанной слюной со скоростью $\sim 5,2$ мкг/мин. Источником лизоцима являются также нейтрофилы (поступают в ротовую полость со скоростью ~ 200000 клеток в мин) – скорость поступления его с этими клетками ~ 1 мкг/мин. Бактерицидное действие его связано с гидролизом β -1,4-гликозидной связи между N-ацетилглюкозамином и N-ацетилмурамовой кислотой в полисахаридах клеточной стенки микроорганизмов. Наиболее чувствительны к нему грамположительные микроорганизмы и некоторые вирусы. Снижение образования лизоцима наблюдается при стоматитах, гингивитах, парадонтозе.

Важную роль в выполнении защитной функции играют ферменты ДНК-аза, РНК-аза, пероксидаза.

ДНК-аза и РНК-аза в слюну выделяются лейкоцитами и лимфоцитами. В сутки секретируется две изоферментных формы РНК-азы: ~ 60 мкг кислой и ~ 45 мкг щелочной, и 3-4 мкг двух изоферментных форм ДНК-азы. Эти ферменты замедляют рост и размножение многих микроорганизмов ротовой полости.

Пероксидаза выделяется полиморфноядерными лейкоцитами и слюнными железами. Кроме нее слюнными железами (и в щитовидной железе) вырабатывается йодидпероксидаза. Бактерии, продуцирующие H_2O_2 , чувствительны к этим ферментам. В присутствии ионов CNS^- (слюнная пероксидаза) или Cl^- (лейкоцитарная) образуется $H_2O_2 - Cl^- \rightarrow HOCl$ – гипохлорит-ион, который превращает аминокислоты белков бактерий в активные альдегиды или др. токсические продукты, т.е. проявляется бактериостатическое действие.

К ферментам микробного происхождения относятся каталаза, лактатдегидрогеназа, аминотрансферазы, гексокиназа, мальтаза, сахараза, протеиназы, коллагеназа, уреазы и др. В слюне содержится **супероксиддисмутаза**, изоферментный набор которой отличается у людей разных национальностей.

Небелковый или остаточный азот \sim в 2 раза ниже, чем в сыворотке крови (15-25 ммоль/л) и включает мочевины, мочевую кислоту, аминокислоты, аммиак, креатинин, пептиды; его содержание определяется содержанием в крови, т.к. его компоненты попадают в слюну путем диффузии.

К безазотистым веществам слюны относятся липиды – холестерин и его эфиры, жирные кислоты, глицерофосфолипиды; углеводы – олигосахаридные компоненты муцинов, гликозаминогликаны, ди- и моносахариды, их продукты расщепления – лактат, пировиноградная кислота, уксусная, лимонная и другие органические кислоты.

В слюне также содержатся **витамины С, В₁, В₂, В₆, РР, Н, пантотеновая кислота; гормоны** – катехоламины, кортикостероиды (кортизол, кортизон), прогестерон, эстрогены, тестостерон, АТФ, АДФ, АМФ, простагландины, биогенные амины.

Состав слюны изменяется в зависимости от характера пищи, состояния центральной нервной системы, скорости секреции, времени суток, возраста:

– При повышении скорости секреции в слюне увеличивается содержание Na, К – не изменяется, а I-снижается.

– К вечеру в слюне увеличивается содержание веществ, продуцируемых слюнными железами, и уменьшается количество компонентов микробного происхождения (самоочищение полости рта), к утру количество этих компонентов увеличивается.

– По мере старения организма снижается уровень хлора в слюне и в несколько раз увеличивается содержание кальция. Отсюда может идти образование зубного и слюнного камней.

– С возрастом уменьшается объем суточной секреции слюны, снижается активность ферментов.

Десневая жидкость: жидкое содержимое десневого желобка. В сутки в ротовую полость поступает 0,5-2,5 мл этой жидкости, содержащей эпителий, лейкоциты, микроорганизмы, электролиты, белки, ферменты. В десневом желобке капилляры расположены под эпителием, и происходит трансудация содержимого капилляров в ротовую полость, включая даже некоторые белки крови. Возможен также обратный ток некоторых молекул из ротовой полости.

Таким образом, десневая жидкость у людей со здоровым пародонтом – это трансудат плазмы крови, и содержание минеральных веществ в ней такое же, как и в плазме. Микробный состав как в зубном налете. В жидкости содержатся ферменты, характерные для крови и для эпителия слизистой. Через десневой желобок в слюну поступают лейкоциты, что очень важно в антимикробной защите.

Жидкость вымывает различные частицы из десневого канала и предотвращает образование камней здесь

При поражении пародонта десневая жидкость образуется за счет осмотической экссудации продуктов обмена бактерий и компонентов зубного налета. В результате воспалительных процессов тканей могут развиваться аутоиммунные процессы, приводящие к нарушению связочного аппарата зубов, плохо поддающиеся лечению.

Зубной ликвор – это жидкость, заполняющая свободные пространства тканей зуба. С ней в зубные ткани поступают питательные вещества. Различают дентинный и эмалевый ликвор.

Дентинный ликвор составляет 12% от массы дентина и 20% от его объема. Содержит минеральные и органические вещества: до 92 мг/л Са, 42 мг/л фосфатов, ~28 мг/л С1, белки, подобные белкам плазмы крови, аминокислоты, ферменты, витамины, микроэлементы. Ликвор движется в сторону эмали со скоростью ~4 мм/час и выполняет трофическую функцию. Изменение скорости и направления тока вызывают ощущение боли, чувство «оскомины».

Эмалевый ликвор меньше изучен, т.к. его очень мало – 6-11% объема эмали. Так как размеры микропространств в эмали очень малы, через кристаллы гидроксиапатита, как через сито, в эмалевую жидкость проходят только молекулы небольших размеров: минеральные вещества, микроэлементы, небольшие органические молекулы.

В глубоких зонах эмали ликвора находится больше, чем в поверхностных. С возрастом его количество уменьшается.

Пелликула зуба. Тонкий слой органических веществ, содержащий небольшое количество бактерий, остающийся после снятия зубного налета с поверхности эмали, называется пелликулой. Это структурный компонент зуба.

В ней содержатся белки с низким содержанием цистеина, метионина, не содержащие гидроксипролина и гидроксизина, похожие на гликопротеины слюны (после отщепления остатков нейраминовой кислоты от углеводного компонента), подвергшиеся действию ферментов бактерий. В состав пелликулы также входят кислые фосфопротеины слюны и фрагменты стенок бактерий, пептиды, аминокислоты, аминокислоты, сахара, сиаловые кислоты, кальций и другие минеральные вещества. В химическом отношении она представляет гликопротеиновый комплекс, в отличие от зубного налета не содержащий микробов. Образуется на поверхности эмали после прорезывания зуба и выполняет защитную функцию, снижая многократно растворимость эмали и предохраняя эмаль от действия органических кислот. Пелликула не стирается при жевании, чистке зубов и может быть удалена только при воздействии сильных абразивных агентов.

Зубной налет. Это мягкий слой органической матрицы и бактериальных клеток, откладывающийся на эмали поверх пелликулы. В отличие от пелликулы он удаляется при чистке зубов.

Химический состав зубного налета в разных участках полости рта варьирует в зависимости от возраста, диеты, гигиенических навыков. В среднем он содержит 80% воды, 20% сухого остатка. **40%** сухого остатка составляют **минеральные вещества** (фосфор, Na, K, Ca, F, Zn, Fe) и **60%** – **органические** (гликозаминогликаны, гликопротеины, оса-

ждаемые из слюны, полисахариды, синтезируемые бактериями из глюкозы – декстран-глюконы, из фруктозы – леваны, и гетерополисахариды).

При исключении углеводов из пищи полисахариды в матриксе зубного налета исчезают.

Быстрому развитию зубного налета способствует сахароза, она является предшественником для синтеза этих полисахаридов, а также стимулирует синтез ферментов у бактерий, осуществляющих образование полисахаридов. **Содержание фтора** в зубном налете может в 10-100 раз превышать его содержание в слюне и колеблется от 6 до 180 мг/кг. Фтор включается в него из пищи, воды, слюны, и может поступать из эмали при снижении рН зубного налета и активации процессов деминерализации эмали. Содержание фтора в зубном налете с возрастом увеличивается. Содержание минеральных веществ в налете достаточно высокое, они могут быть в виде гидроксиапатитов, фторапатитов, фторидов кальция и др.

Чем выше содержание Са и Р в зубном налете, тем меньше его карриесогенное действие. Зубной налет устойчив к смыванию слюной, полосканию полости рта, т.к. его поверхность покрыта слизистым полупроницаемым мукоидным гелем.

Он удаляется при чистке зубов щеткой, но уже через 2 часа начинает накапливаться. Сначала в нем преобладают аэробные микроорганизмы, а затем смесь аэробных и анаэробных. В 1 мг от 5 до 800 млн. бактерий.

Полагают, что зубной налет защищает эмаль, т.к. его отсутствие приводит к эрозии и некрозу эмали.

Патогенное значение он приобретает при его больших скоплениях в углублениях, щелях, пришеечных участках зуба и уменьшении скорости слюноотделения.

Зубной камень – это твердое образование на поверхности зубов, возникающее чаще на язычной стороне зубов вблизи протоков слюнных желез. Зубной камень образуется в результате осаждения из слюны солей фосфатов и карбонатов кальция и магния в органическую матрицу зубного налета. С другой точки зрения – это минерализованная зубная бляшка, прикрепленная к эмали в области корня зуба.

По статистике зубной камень имеется у 75% людей, а при наличии гингивита – у 90% обследованных.

В зубном камне содержится:

- 4-10% воды,
- 13-25% органических веществ,
- 72-82% минеральных веществ.

Основные его компоненты – Са и Р.

В сильноминерализованных камнях содержится

- кальция – 29%,
- фосфатов – 16%.

В слабоминерализованных:

- кальция – 21%,
- фосфатов – 12%.

Также содержатся Mg, Na, Si, Zn, Pb, кадмий. **Из органических компонентов** – аминокислоты; моносахариды (глюкоза, галактоза, галактозамин, глюкуроновая кислота); фосфолипиды, холестерин, ди- и триглицериды, жирные кислоты; ферменты; также входят остатки пищи, клетки эпителия, лейкоциты, микробы.

Образованию камня способствует снижение коллоидоустойчивости слюны в связи с изменением pH в щелочную сторону в результате накопления аммиака при действии уреазы на мочевины.

Зубной камень является частой причиной болезней пародонта, т.к. на его шероховатой поверхности задерживаются остатки пищи, микробы, эпителий, что способствует развитию и поддержанию воспаления. В свою очередь образованию камня может способствовать воспаление тканей пародонта (наряду с изменением химического состава слюны, накоплением зубного налета), т.е. возникает порочный круг.

Биохимия кариеса

Кариес зубов – одно из наиболее распространенных заболеваний, встречающееся у 98% людей.

На начальной стадии на гладкой поверхности зуба появляется белое пятно («меловое»), где эмаль теряет блеск вследствие увеличения пористости ее и поэтому увеличения рассеивания света. Эта пористость возникает вследствие действия органических кислот, образующихся при расщеплении глюкозы ферментами бактерий зубного налета.

В местах скопления зубного налета (адсорбирующего сахарозу) ферменты бактерий расщепляют пелликулу, и органические кислоты проникают к эмали, происходит ее деминерализация, формируется дефект, куда проникают бактерии.

Дентин и пульпа имеют клетки, которые реагируют на повреждение образованием вторичного дентина, минерализацией дентиновых канальцев. Происходит воспаление твердых тканей зуба – потеря карбонатных ионов, кальция, магния.

Способствуют развитию кариеса:

- снижение скорости слюноотделения;
- увеличение вязкости слюны и повышение содержания в ней муцинов;
- сдвиг pH слюны в кислую сторону;
- снижение степени насыщенности слюны соединениями Ca и P

вследствие сдвига рН в кислую сторону;

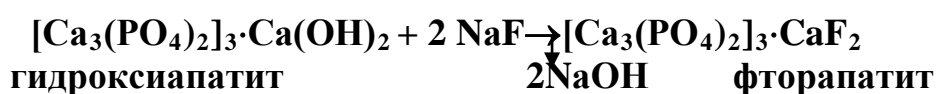
– активация ферментов катаболизма глюкозы в слюне и зубном налете (микробного происхождения).

Особенно благоприятная ситуация для развития кариеса складывается во время сна, когда накапливается молочная кислота вследствие гликолиза.

– Потребление больших количеств чистых сахаров.

– Недостаточное поступление фтора в организм.

Фтор – важный элемент, присутствие которого необходимо для правильного формирования костей и зубов. Фтор соединяется с гидроксиапатитом с образованием фторапатита:



Кристаллы фторапатита среди кристаллических компонентов составляют очень небольшую долю, однако они придают кристаллам гидроксиапатита прочность и кислотоустойчивость.

Натуральные, а тем более рафинированные продукты питания не всегда содержат достаточные количества фторидов. Для нас главным источником фторидов является питьевая вода. Оптимальное содержание F в питьевой воде – 0,7-1,5 мг/л. Содержание в сыворотке крови в норме – 1,0 мкмоль/л, зависит от содержания в питьевой воде. 99% всего F находится в организме в минерализованных тканях (зубах, костях).

Исследования, проводимые в США, показали, что добавление в воду фтора в концентрации 1 часть на 1000000 значительно снижает вероятность развития кариеса. Поэтому многие водопроводные компании сейчас проводят фторирование водопроводной воды.

Избыточное поступление фтора в организм вредно и вызывает флюороз, для которого характерно развитие крапчатости зубов.

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

Белки, строение, функции

1. Напишите тетрапептид асп-фен-глен-гис. В какой области рН данный пептид будет находиться в изоэлектрическом состоянии?

Ответ: Данный пептид находится в изоэлектрическом состоянии при $pH \leq 7$.

2. Смесь аминокислот, содержащая валин, лейцин, аспарагиновую кислоту, лизин, гистидин, серин была подвергнута фракционированию методом электрофореза на бумаге при $pH=6,2$. Какие аминокислоты будут перемещаться к катоду, аноду или останутся на линии старта?

Ответ: На линии старта останутся – вал, лей, сер. К катоду будут передвигаться – лиз, гис. К аноду будут передвигаться – асп, глн.

3. Почему белок молока (казеин) сворачивается (т.е. выпадает в осадок), если молоко кислое?

Ответ: В результате потери двух факторов устойчивости белка в растворе – заряда (изоэлектрическая точка белков молока ниже $pH=7,0$) и гидратной оболочки.

4. В какой последовательности будут выходить из колонки при гель-фильтрации на сефадексе белки со следующими молекулярными массами?

1) иммуноглобулин А – 500 000; 2) фибриноген 330 000; 3) трансферрин – 75 000; 4) ретинол-связывающий белок – 24 000; 5) транскортин – 55 000?

Ответ: 1, 2, 3, 5, 4.

5. Пепсин желудочного сока ($pH 1,5$) имеет изоэлектрическую точку около 1,0, что намного ниже, чем у других белков. Какие функциональные группы должны присутствовать в пепсине в относительно большом количестве, чтобы фермент мог иметь такую низкую изоэлектрическую точку? Какие аминокислоты имеют эти группы в своем составе?

Ответ: В пепсине присутствуют в большом количестве карбоксильные группы. В составе пепсина большое количество кислых аминокислот – аспарагиновой и глутаминовой.

6. Большинство глобулярных белков при кратковременном нагревании до $65^{\circ}C$ денатурирует. Однако те глобулярные белки, в которых содержится много остатков цистеина, денатурируют только при более длительном нагревании до более высоких температур. Какова молекулярная основа этого?

Ответ: Остатки цистеина препятствуют полному разворачива-

нию молекул белка.

7. Напишите тетрапептид мет-тир-лиз-глу. В какой области рН данный пептид будет находиться в изоэлектрическом состоянии?

Ответ: Данный пептид находится в изоэлектрическом состоянии при $\text{pH} \leq 7$.

8. Напишите тетрапептид арг-ала-лиз-мет. В какой области рН данный пептид будет находиться в изоэлектрическом состоянии?

Ответ: Данный пептид находится в изоэлектрическом состоянии при $\text{pH} > 7$.

9. Почему при добавлении к водному раствору белка нейтральных солей в высокой концентрации белок выпадает осадок?

Ответ: При добавлении высоких концентраций солей из молекул белка удаляется гидратная оболочка, в результате чего растворимость белка уменьшается.

Ферменты

1. Измеряя скорость ферментативной реакции в зависимости от концентрации субстрата в отсутствии и в присутствии ингибиторов (А и В) были получены следующие данные:

Концентрации (М)	Скорость реакции (ммоль/л)		
	без ингибиторов	Ингибитор А	Ингибитор В
1×10^{-5}	20	10	15
2×10^{-5}	30	20	22
3×10^{-5}	37	28	26
4×10^{-5}	40	37	28
5×10^{-5}	40	40	30
6×10^{-5}	40	40	30

Определите тип ингибирования в каждом случае, объясните свое заключение. В каком случае добавление субстрата может снять ингибирующий эффект?

Ответ: Без ингибитора: $V_{\max} = 40$ ммоль/л, $K_m = 1 \times 10^{-5}$ М. В присутствии ингибитора А: $V_{\max} = 40$ ммоль/л, $K_m = 2 \times 10^{-5}$ М. В присутствии ингибитора В: $V_{\max} = 30$ ммоль/л, $K_m = 1 \times 10^{-5}$ М. Вывод: ингибитор А – конкурентный, ингибитор В – неконкурентный. В случае ингибитора А добавление субстрата до концентрации 5×10^{-5} М может снять ингибирующий эффект.

2. Высокая токсичность метанола обусловлена действием продукта его метаболизма – формальдегида, который образуется при окислении метанола под действием алкогольдегидрогеназы. Один из

методов лечения при отравлении метанолом состоит в том, что больному назначают этанол (внутрь, внутривенно). Объясните механизм лечебного действия этанола в данном случае. Имеет ли значение количество вводимого этанола и почему?

Ответ: Этанол конкурирует с метанолом за активный центр алкогольдегидрогеназы, препятствуя наработке формальдегида. Преимущественное связывание алкогольдегидрогеназы с этанолом будет лишь при концентрации, превышающей концентрацию этанола. Поэтому доза вводимого этанола должна быть достаточно высокой.

3. Как удалить кофермент от апофермента?

Ответ: Методом диализа или гель-фильтрации.

4. Кислая фосфатаза из простаты ингибируется тартрат-ионами, а из других органов этот фермент не ингибируется тартрат-ионами. Как это можно использовать в диагностике рака простаты?

Ответ: Анализ активности фермента проводят в присутствии и в отсутствие тартрата. Разность между результатами измерений в этих двух пробах характеризует тартратчувствительную кислую фосфатазу простаты. При раке простаты активность тартратчувствительной кислой фосфатазы резко возрастает.

5. Чтобы сохранить сладкий вкус свежесобранной кукурузы, очищенные початки помещают на несколько минут в кипящую воду, а затем охлаждают в холодной воде. Кукуруза, обработанная таким образом и хранящаяся в замороженном виде, сохраняет свой сладкий вкус. В чем биологическая основа этой обработки?

Ответ: Фермент, ответственный за превращение сахара в крахмал, инактивируется при нагревании.

6. В лаборатории два студента независимо друг от друга выделили фермент лактатдегидрогеназу (из сердца цыпленка), восстанавливающую пируват в лактат. Фермент был получен в виде концентрированного раствора. Затем оба студента измерили ферментативную активность полученных ими растворов и определена V_{max} , K_m и удельная активность. При сравнении результатов оказалось, что значения K_m у них совпадали, а удельная активность у одного была равна 100, а у другого – 150. Чем отличались выделенные ферменты?

Ответ: Степенью очистки. У первого студента фермент был хуже очищен от белков, вследствие чего оказалась ниже удельная активность.

Энергетика

1. Известно, что окисление сукцината с помощью ФАД-зависимых дегидрогеназ характеризуется $\Delta G = -0,9$ ккал, а окисление с

помощью НАД-зависимых дегидрогеназ $\Delta G = +16,1$ ккал. Что является более подходящим акцептором для электронов при дегидрировании сукцината, почему?

Ответ: ФАД, так как отрицательное значение ΔG свидетельствует об экзергонической реакции. Окисление сукцината НАД-зависимыми дегидрогеназами требовало бы дополнительной энергии.

2. Напишите суммарное уравнение реакции окисления изолимонной кислоты (изоцитрат) в суспензии митохондрий, содержащей избыток неорганического фосфата, АДФ при добавлении малоновой кислоты (малонат) и 2,4-динитрофенола. Объясните механизм действия малоната и 2,4-динитрофенола.

Ответ: $\text{Изоцитрат} + \text{Ф}_n + \text{АДФ} \rightarrow \text{сукцинат} + 2\text{CO}_2 + \text{АТФ}$. Малонат – конкурентный ингибитор сукцинатдегидрогеназы, поэтому будут протекать реакции от изоцитрата только до сукцината. 2,4-динитрофенол – протонифор, разобщитель дыхания и фосфорилирования, поэтому образуется лишь одна молекула АТФ методом субстратного фосфорилирования.

3. Почему прием внутрь разобщителей тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования вызывает обильное потоотделение и повышение температуры тела. Объясните это явление на молекулярном уровне. Как изменяется отношение Р/О в присутствии разобщающих агентов?

Ответ: В присутствии разобщителей энергия электрохимического потенциала рассеивается в виде тепла. Коэффициент Р/О уменьшается.

4. В эксперименте с изолированными митохондриями в качестве окисляемого субстрата использовали малат. Как изменится коэффициент Р/О, если: а) в инкубационную смесь добавить ингибитор НАДН-дегидрогеназы; б) вместе с ингибитором добавить сукцинат?

Ответ: а) окислительное фосфорилирование не происходит, т.е. коэффициент Р/О равен 0; б) сукцинат окисляется в укороченной дыхательной цепи, поэтому коэффициент Р/О будет равен 2.

5. Многие организмы (ряд бактерий, дрожжи, паразитирующие черви) не нуждаются в кислороде. Какой из известных двух способов образования АТФ используется в этих организмах для аккумуляции энергии?

Ответ: субстратное фосфорилирование.

Обмен углеводов

1. У больного ребенка с умственной отсталостью молоко вызывает понос и рвоту. В плазме крови обнаружена низкая концентрация

глюкозы, но высокое содержание редуцирующих сахаров. В моче обнаруживается галактоза. Объясните почему в плазме крови наблюдается высокое содержание редуцирующих сахаров, а в моче обнаруживается галактоза?

Ответ: Недостаточность галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы приводит к накоплению в тканях и плазме крови галактозы. Увеличение уровня редуцирующих сахаров обусловлено накоплением галактозы в плазме крови. Избыток галактозы удаляется мочой.

2. Больной ребенок не переносит молока. Как только он его выпьет, начинается рвота и понос. При проведении теста на толерантность к лактозе (больной получает определенное количество лактозы, а затем через определенные промежутки времени определяют концентрацию глюкозы и галактозы в сыворотке крови; в норме – через час уровень их возрастает, а затем снижается) установлено, что у больного концентрация галактозы и глюкозы в крови не увеличивалась, а оставалась постоянной. Почему у больного не происходит изменений в содержании сахаров в крови?

Ответ: Недостаточность лактазы кишечного сока. Исключить лактозу (молоко) из диеты.

3. Возможен ли синтез глюкозы из пирувата, если цикл трикарбоновых кислот и окислительное фосфорилирование полностью ингибированы?

Ответ: Нет. Для глюконеогенеза необходима энергия АТФ и ГТФ и восстановительные эквиваленты ($\text{НАДН}^+\text{Н}^+$). Энергия и восстановительные эквиваленты образуются в цикле трикарбоновых кислот и в процессе окислительного фосфорилирования при катаболизме аминокислот, жирных кислот или углеводов.

4. Как влияет повышение концентраций АТФ и АМФ на каталитическую активность фосфофруктокиназы?

Ответ: Фосфофруктокиназа активируется при повышении концентрации АМФ и ингибируется при повышении концентрации АТФ.

5. Чем обусловлено быстрое повышение лактата в крови при физической нагрузке? Что является причиной снижения уровня лактата после физической нагрузки?

Ответ: Повышение концентрации лактата обусловлено увеличением скорости гликолиза. Причиной снижения уровня лактата является превращение лактата в глюкозу через пируват.

6. Может в клетках животных лактат образоваться из жирных кислот?

Ответ: Нет, так как жирные кислоты распадаются до ацетил-КоА, который не превращается в пируват, а значит и лактат.

Обмен липидов

1. Что означает выражение «жиры сгорают в пламени углеводов» и почему этот процесс нарушается при голоде и диабете?

Ответ: В результате катаболизма жиров (бета-окисление жирных кислот) образуется ацетил-КоА, который «сгорает» в цикле трикарбоновых кислот после конденсации со ЩУК (щавелевоуксусной кислотой). ЩУК образуется из пирувата путем его карбоксилирования (путь, пополняющий запасы ЩУК). При голодании и сахарном диабете в клетке образуется мало пирувата, а, следовательно, и ЩУК. Из-за возникающего относительного дефицита ЩУК ацетил-КоА накапливается и превращается в кетоновые тела.

2. В гепатоцитах человека, злоупотребляющего алкоголем, нарушен синтез фосфолипидов и белков. Как это повлияет на содержание в печени нейтральных жиров?

Ответ: В печени будут накапливаться триглицериды и эфиры холестерина, так как фосфолипиды и белки необходимы для выведения триглицеридов из гепатоцитов в составе ЛПОНП.

3. Как распределяется изотопная метка в молекуле пальмитиновой кислоты, синтезированной из малонил-КоА, меченого ^{14}C по углеродному атому карбоксильной группы?

Ответ: Метка не будет обнаруживаться, так как она теряется в виде CO_2 .

4. С чем связано гемолитическое действие змеиного яда?

Ответ: Наличием фосфолипазы A_2 – фермента, отщепляющего жирную кислоту из положения 2 фосфатидилхолина мембран эритроцитов и переводящего его в детергент – лизофосфатидилхолин.

5. Некоторые из применяемых в кулинарии жиров, например, сливочное масло, быстро портятся при хранении на воздухе при комнатной температуре, тогда как свойства твердых жиров типа маргарина в аналогичных условиях меняются мало. Почему?

Ответ: Ненасыщенные жирные кислоты, содержащиеся в больших количествах в сливочном масле, легко окисляются кислородом воздуха.

6. Объясните, какими свойствами липидов мембран обеспечивается образование из липидного бислоя замкнутых структур – липосом. Каково биологическое значение этих свойств и как они связаны со структурой биологических мембран?

Ответ: Липиды, образующие бимолекулярные слои, относятся к амфипатическим молекулам, т.е. они содержат гидрофильную и гидрофобную части. Чтобы уменьшить соприкосновение гидрофобной части молекулы с водой, липиды формируют двумерные пленки, в ко-

торых гидрофильные части обращены к воде, а гидрофобные расположены на внутренней стороне пленки. Более того, чтобы воспрепятствовать взаимодействию гидрофобных краев такой пленки с водой, липидные бислои смыкаются. Из этих свойств липидов вытекают важные биологические следствия, а именно – образование замкнутых мембранных поверхностей, в результате чего в клетке возникают внутриклеточные компартменты.

7. Липидный бислой клеточной мембраны предохраняет клетки от быстрой потери ионов K^+ , Cl^- , Mg^{2+} . Почему?

Ответ: Этим ионам приходится проходить через неполярную среду, составляющую внутреннюю часть мембраны.

8. Для экстракции интегральных белков мембран используют детергенты. Почему?

Ответ: Детергенты сольбилизируют гидрофобные части мембран, высвобождая интегральные белки.

9. Какая часть молекулы триацилглицерина содержит больше биологически доступной энергии: остатки жирных кислот или остаток глицерина?

Ответ: Остатки жирных кислот.

10. Почему при интенсивном росте ткани опухоли в крови больного часто обнаруживают гипохолестеринемию?

Ответ: При наличии быстро растущей опухоли холестерин используется для построения мембран интенсивно делящихся клеток.

11. Что в большей мере нарушает переваривание липидов у взрослых людей - дефицит липазы при панкреатите или дефицит желчных кислот в ЖКТ при болезнях желчевыводящих путей?

Ответ: при дефиците желчных кислот блокируются все этапы усвоения жира (эмульгирование, гидролиз и всасывание), в при дефиците липазы только гидролиз.

12. В последние годы для лечения хронических заболеваний печени при ее жировом перерождении применяют препарат гептрал, действующим началом которого является S-аденозилметионин. Объясните механизм действия гептрала.

Ответ: S-аденозилметионин является универсальным донором метильных групп, которые используются в синтезе фосфатидилхолина. Фосфатидилхолин необходим для образования ЛПОНП в печени, транспортирующих триглицериды из печени в другие органы.

13. В приготовлении майонеза используют яичные желтки, содержащие большое количество фосфотидилхолина. При сбивании их с растительным маслом происходит образование стабильного не расслаивающегося соуса. Объясните, почему это происходит.

Ответ: Фосфатидилхолин является амфифильным соединением

и способствует образованию из жира стойкой эмульсии.

Обмен белков

1. Если любители мяса едят его в количествах, превышающих их потребности в калориях, они могут приобрести лишнюю массу тела: а) Каким метаболическим путём мясо, богатое белками, может привести к отложению триацилглицеринов? б) Какие метаболические изменения могут произойти в результате такого питания?

Ответ: В результате трансаминирования образуются кетокислоты, способные преобразовываться в ацетил-КоА и, в последующем, в жирные кислоты. При связывании жирных кислот с глицерином образуются триацилглицерины. В результате значительного увеличения продукции аммиака возрастет продукция мочевины, способной увеличить осмолярность плазмы и дать ощущение жажды. Это, в свою очередь, сопровождается увеличением потребления воды.

2. Кошкам, не получавшим пищи накануне вечером, дали утром натошак аминокислотную смесь, содержащую весь набор аминокислот, за исключением аргинина. Через 2 часа содержание аммиака в крови значительно возросло, и появились симптомы аммиачного отравления. В контрольной группе, получавшей полный набор аминокислот, не было отклонений. Объясните причины аммиачного отравления в подопытной группе животных.

Ответ: Аргинин необходим для нормального функционирования цикла мочевины. При его недостатке процесс синтеза мочевины может ухудшаться, что приведет к накоплению аммиака и, следовательно, к появлению симптомов аммиачного отравления.

3. Казеин – белок молока, не содержит остатков цистина и цистеина, его нативная конформация напоминает беспорядочный клубок. Кератин – белок шерсти, богат цистином и цистеином, высокоупорядочен. Каким образом свойства этих белков скажутся на перевариваемости?

Ответ: Кератин не переваривается, так как высокоупорядочен, содержит дисульфидные связи и его пептидные связи недоступны для протеиназ.

4. Глутамат, доставляемый кровью в ткань головного мозга, превращается там в глутамин, который обнаруживается в оттекающей от мозга крови. Каков смысл этого метаболического превращения?

Ответ: Местное обезвреживание аммиака.

5. При тяжелых вирусных гепатитах у больных может развиваться печеночная кома, обусловленная, в частности, токсическим действием аммиака на клетки мозга. Какова причина столь значительного накоп-

ления аммиака в крови? Как изменится концентрация мочевины в крови у данных больных?

Ответ: Нарушается процесс синтеза мочевины в печени. Концентрация мочевины в крови понижается.

6. Активность какого фермента снижена в почках, если отмечается уменьшение выделения солей аммония с мочой, повышается экскреция натрия и калия и возникает ацидоз?

Ответ: Глутаминазы.

7. Объясните, почему при некоторых заболеваниях печени с лечебной целью назначают метионин.

Ответ: Из метионина образуется S-аденозилметионин, который является донором метильной группы в реакциях трансметилирования. Трансметилирование происходит при синтезе фосфолипидов, необходимых для построения мембран, а также в процессах обезвреживания ксенобиотиков, происходящем в печени.

8. Будут ли обнаруживаться признаки недостаточности аспартата при рационе, который богат аланином, но беден аспартатом?

Ответ: Нет. Азот аланина может посредством трансаминирования переноситься на оксалоацетат с образованием аспартата.

9. Почему дети с генетическим дефектом фенилаланингидроксилазы должны с пищей получать тирозин?

Ответ: При дефекте фенилаланингидроксилазы блокируется синтез тирозина из фенилаланина и тирозин должен поступать с пищей.

10. Животных длительное время содержали на белковой диете с искусственной смесью аминокислот, в которой отсутствовали глутаминовая, аспарагиновая кислоты и серин, однако нарушений в развитии этих животных не обнаружили. Как можно объяснить этот факт?

Ответ: Данные аминокислоты синтезируются в организме.

Обмен нуклеиновых кислот. Матричные синтезы

1. Гистоны – это белки, содержащиеся в ядрах эукариотических клеток. Они прочно связаны с ДНК. ИЭТ гистонов очень велика (около 10,8). Какие аминокислоты должны присутствовать в гистонах в относительно больших количествах? Каким образом эти остатки обеспечивают прочное связывание гистонов с ДНК?

Ответ: 1) положительно заряженные – лиз, арг и гис. 2) электростатическое притяжение между положительно заряженными аминокислотами и отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК.

2. На каких матрицах в клетке, инфицированной онкогенным вирусом, происходит синтез: а) новых молекул вирусной РНК, б) вирусных белков?

Ответ: а) РНК онкогенных вирусов индуцирует в клетках образование молекул ДНК, в которых одна цепь комплементарна исходной РНК. Эта цепь ДНК и служит матрицей для построения новых вирусных РНК при участии РНК-полимеразы. б) синтезированные вирусные РНК служат матрицей для построения вирусных белков.

3. В результате действия высокоактивного химического соединения, попавшего в клетку, оказались отщепленными азотистые основания от обоих нуклеотидов пары Г...Ц. Могут ли репарирующие системы поправить это повреждение?

Ответ: Нет, так как для репарирующих систем необходима неизменная матрица.

4. Единичная цепь (+) ДНК (А-21%, Г-29%, Т-21%, Ц-29%) реплицируется ДНК-полимеразой с образованием комплементарной (-) цепи ДНК. Образовавшаяся двухцепочечная ДНК используется затем в качестве матрицы для РНК-полимеразы, транскрибирующей (-) цепь. Напишите каков будет нуклеотидный состав (процентное соотношение) синтезируемой РНК?

Ответ: А-21%, Г-29%, У-21%, Ц-29%.

5. Подберите характеристики, присущие процессу репликации и репарации:

1. Матрицей является одна из нитей ДНК.
2. Матрицей для синтеза служат обе нити.
3. Субстратами являются дезоксирибонуклеозитрифосфаты.
4. Субстратами являются рибонуклеозитрифосфаты.
5. Процесс локализован в хроматине ядра и митохондриальной ДНК.
6. Процесс протекает в S периоде клеточного цикла.
7. Процесс протекает постоянно на всех стадиях жизнедеятельности клетки.

Ответ на каждый вопрос выберите из четырех, предлагаемых Вам.

- А – Характерно для репликации
- Б – Характерно для репарации.
- С – Характерно для обоих процессов.
- Д – Не характерно ни для одного из процессов.

Ответ: 1Б, 2А, 3С, 4А, 5С, 6С, 7Б.

6. Производное уридина, фторурацил, превращается в клетке во фтордезоксиуридилат – ингибитор тимидилат-синтазы. Как объяснить факт, что фторурацил подавляет рост быстро делящихся раковых клеток у экспериментальных животных?

Ответ: Быстрое деление клеток, подобных раковым, зависит от скорости синтеза ДНК. Поскольку синтез ДНК лимитируется недо-

статком дезокситимидилата, блокирование синтеза последнего, вызванное фтордезоксифторидилатом, снижает скорость деления клеток и тем самым рост опухолей.

7. В химиотерапии рака часто применяют некоторые структурные аналоги фолиевой кислоты (метотрексат, аминоптерин). Каким образом они подавляет рост раковых клеток? Можно ли ожидать, что они будут подавлять также и рост нормальных клеток?

Ответ: Метотрексат и аминоптерин (структурные аналоги фолиевой кислоты) ингибируют дигидрофолатредуктазу, и тем самым блокируют синтез д ТМФ и ДНК. Ингибиторы синтеза дезоксирибонуклеотидов блокируют синтез ДНК и в нормальных клетках, поэтому они токсичны для организма.

8. У большинства организмов нуклеотиды не используются как источник энергии. Почему нуклеотиды являются относительно плохим источником энергии у млекопитающих?

Ответ: Организмы не запасают нуклеотиды в качестве источника энергии и не расщепляют их до конца, а гидролизуют лишь до оснований, а затем реутилизируют эти основания с помощью особых метаболических путей. Из-за низкого отношения углерода к азоту нуклеотиды представляют собой бедный источник энергии.

9. Аллопуринол, ингибитор ксантиноксидазы, используется для лечения подагры. Какова биологическая основа такого лечения?

Ответ: Лечение аллопуринолом подагры приводит к двум биохимическим последствиям. Во-первых, подавляется превращение гипоксантина в мочевую кислоту, в результате чего накапливается гипоксантин. Гипоксантин лучше, чем мочевая кислота, растворяется в крови и моче, и поэтому легче выводится из организма. Во-вторых, ингибируется также превращение гуанина в мочевую кислоту. При этом накапливается ксантин, который, к сожалению, растворяется хуже, чем мочевая кислота. Это служит причиной образования ксантиновых камней.

10. Почему для стимуляции обмена нуклеиновых кислот используют препарат на базе пиримидинового основания – оротат калия и не используют препараты на базе пуриновых оснований?

Ответ: Для биосинтеза нуклеиновых кислот необходимы пиримидиновые и пуриновые азотистые основания. Пищевые пуриновые основания не используются в синтезе пуриновых нуклеотидов, а оротат может включиться в синтезируемый пиримидиновый нуклеотид путем присоединения фосфорибозилпирофосфата.

11. Циклофосфан, попадая в опухолевые клетки, расщепляется присутствующими там фосфатазами с образованием очень реакционно-способного алкилирующего агента, который взаимодействует с ДНК и

повреждает ее структуру. Какие матричные синтезы ингибирует этот препарат в опухолевых клетках?

Ответ: Репликацию и транскрипцию.

Гормоны

1. Для проявления биологического эффекта каких гормонов требуется больше времени и почему?

Ответ: Для стероидных гормонов, так как эффект будет проявляться после появления в клетке вновь синтезированных белков.

2. Добавление адреналина к гомогенату печени приводит к повышению активности гликогенфосфорилазы. Если гомогенат при высокой скорости (100000 g) центрифугировать и к надосадочной жидкости добавить адреналин, данный эффект не отмечается. Почему?

Ответ: При такой скорости центрифугирования аденилатциклаза (мембрансвязанный фермент) осаждается вместе с мембранами, что приводит к нарушению аденилатциклазного механизма действия адреналина.

3. В чём заключается опасность резкой отмены глюкокортикоидов после длительного лечения этими препаратами?

Ответ: При длительном введении глюкокортикоидов по принципу обратной отрицательной связи происходит угнетение синтеза и секреции кортиколиберина, АКТГ (кортикотропина) и, следовательно, собственных кортикостероидов с последующим развитием атрофии коры надпочечников. Резкая отмена экзогенных глюкокортикоидов может привести к синдрому острого гипокортицизма.

4. Больным с приступом бронхиальной астмы наряду с адреналином часто вводят вещества, сходные с теофиллином из чая (например, эуфиллин). Объясните цель и биохимическую основу совместного применения этих препаратов.

Ответ: Цель – снять спазм гладкой мускулатуры бронхов. Адреналин расслабляет гладкую мускулатуру бронхов через аденилатциклазный механизм, стимулируя наработку цАМФ. Эуфиллин и теофиллин ингибируют фосфодиэстеразу, сохраняя наработанный цАМФ и пролонгируют, таким образом, действие адреналина.

5. Объясните механизм действия лекарственного препарата каптоприл, который ингибирует ангиотензин-превращающий фермент и применяется для лечения больных артериальной гипертензией?

Ответ: Прием каптоприла вызывает снижение концентрации ангиотензина II и уменьшение секреции альдостерона. Это обуславливает снижение тонуса сосудов и, следовательно, снижение артериального давления.

6. При анализе крови у небеременной женщины обнаружено, что содержание прогестерона составляет верхнюю границу нормы. В какую стадию яичникового цикла был взят анализ крови?

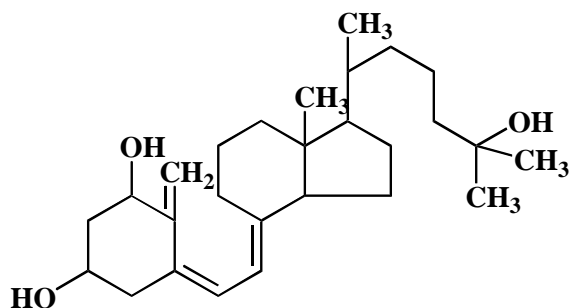
Ответ: В лютеиновую стадию (желтое тело - основной источник прогестерона).

7. При анализе крови у небеременной женщины обнаружено, что содержание прогестерона приближается к нижней границе нормы, а содержание эстрогенов достигает верхней границы нормы. В какую стадию яичникового цикла взят анализ крови?

Ответ: В конце фолликулиновой стадии (предовуляционный пик эстрогенов).

8. Некоторые ученые относят витамин Д к гормонам, проникающим в клетку. Какую форму витамина можно рассматривать как гормон, регулирующий фосфорно-кальциевый обмен? Где она образуется и при участии каких ферментов?

Ответ: Биологически активной формой является 1,25-дигидроксихоле (или эрго) кальциферол (кальцитриол). Образование его происходит путем гидроксилирования витамина Д₃ (или Д₂) в печени в 25-ом положении в процессе микросомального окисления, а затем в почках в 1-ом положении под действием гидроксилазы 25-гидроксикальциферола.



1,25-дигидроксихолекальциферол

Витамины

1. В каком витамине возрастает потребность при преимущественно белковом питании? Почему?

Ответ: В витамине В₆, который необходим для протекания специфических путей катаболизма аминокислот (см. роль вит. В₆ в метаболизме).

2. Почему употребление в пищу большого количества сырых яиц может сопровождаться явлениями дерматита, себорреи, нарушением функции периферической нервной системы?

Ответ: Гиповитаминоз витамина Н, вследствие наличия в сыром

курином белке антивитамина авидина.

3. Почему недостаточность витаминов В₉, В₁₂ может привести к развитию мегалобластической анемии?

Ответ: Витамины В₉, В₁₂ необходимы для процессов метилирования и трансметилирования, следовательно для синтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот.

4. В каком витамине возрастает потребность при преимущественно углеводном питании? Почему?

Ответ: В витамине В₁. См. роль вит В₁ в метаболизме.

5. Какой витамин участвует в окислительно-восстановительных реакциях с присоединением и отщеплением протонов и электронов по изоалаксозидиновому кольцу? Как называется этот процесс?

Ответ: В₂, тканевое дыхание.

6. В конце XIX века и вначале XX века пеллагра была довольно распространенным заболеванием, особенно в сельской местности, где люди употребляли в пищу мало мяса, а питались в основном кукурузой. Объясните, почему такое питание приводило к недостаточности никотиновой кислоты?

Ответ: Кукуруза бедна триптофаном, из которого в организме может синтезироваться витамин РР.

7. Голуби, содержащиеся на экспериментальной диете, утрачивали координацию движений и способность удерживать свое тело в равновесии. Уровень пирувата в крови и мозгу этих птиц значительно превышал нормальный. Такое состояние проходило, если голубям давали мясо. Объясните это явление.

Ответ: Недостаточность тиамина.

8. У больных с патологией почек, несмотря на нормально сбалансированную диету, часто развивается заболевание, похожее на рахит, сопровождающееся интенсивной деминерализацией костей. Какой витамин участвует в минерализации костей? Почему заболевание почек приводит к деминерализации?

Ответ: Для минерализации кости необходим витамин Д₃. При заболеваниях почек нарушается полное гидроксигирование витамина Д₃, т.е. образование его биологически активной формы – кальцитриола.

9. Варфарин является антагонистом витамина К. Предложите молекулярный механизм действия варфарина в качестве антикоагулянта.

Ответ: Варфарин ингибирует редуктазу, необходимую для образования гидрохиноидной формы витамина К, в которой витамин К проявляет свою активность.

10. При постоянном приеме этанола (алкогольная болезнь) раз-

вивается гиповитаминоз В₁, симптомами которого являются расстройства нервной системы. Почему клетки нервной ткани так чувствительны к недостатку витамина В₁?

Ответ: Витамин В₁ в форме тиаминпирофосфата участвует в функционировании пируват- и альфа-кетоглутарат-дегидрогеназных комплексов (общий путь катаболизма). При гиповитаминозе В₁ будет нарушаться аэробный распад глюкозы, т.е. основной процесс, обеспечивающий энергией клетки нервной ткани, что и вызовет нарушения их функционирования.

11. Пропионовая кислота является продуктом жизнедеятельности микрофлоры толстого кишечника. Она также образуется при окислении жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов. Какие витамины необходимы для дальнейшего превращения пропионовой кислоты до конечных продуктов?

Ответ: Биотин как кофермент пропионилкарбоксилазы для образования метилмалонил-КоА и витамин В₁₂ для изомеризации метилмалонил-КоА в сукцинат-КоА.

12. Производители пищевых продуктов, обогащенных витаминами, утверждают, что витамины, полученные из природных источников, полезнее для здоровья, чем синтезированные искусственно (например, витамин С из плодов шиповника и искусственно синтезированный). Отличаются ли витамины из этих двух источников, и может ли организм отличить их друг от друга?

Ответ: Витамины, полученные из этих двух источников идентичны, и организм не может их отличить.

13. Мать 6-месячного грудного ребенка пожаловалась, что у него нарушился сон, появились беспокойство, повышенная чувствительность (гиперестезии), потливость, беспричинная плаксивость. При осмотре у ребенка обнаружено облысение затылочка, повышенный красный дермографизм. В крови повышена активность щелочной фосфатазы, в моче – повышено содержание аммиака и аминокислот. С чем связаны эти расстройства?

Для роста бактерий необходима фолиевая кислота. Если в питательной среде содержится аденин и тимидин, то бактерии могут хорошо расти и при отсутствии фолиевой кислоты. Почему бактерии нуждаются в фолиевой кислоте? Почему потребность в фолиевой кислоте исчезает у бактерий при добавлении в культуральную среду аденина и тимидина? **Ответ:** У ребенка авитаминоз Д, в результате чего развился рахит.

Ответ: Фолиевая кислота необходима для образования тетрагидрофолиевой кислоты, которая участвует в синтезе пуриновых нуклеотидов и тимидилового нуклеотида. При добавлении в питательную сре-

ду тимидина и аденина бактерии могут обходиться без тетрагидрофолата.

14. В конце 19-го и в тридцатые годы 20-го столетия в сельских местностях на юге США, а в годы Великой Отечественной войны на Кавказе было широко распространено заболевание, признаками которого являлись симметричные пигментированные высыпания на лице, шее, тыльной поверхности рук, дерматит, рвота или диаррея, отечность и воспаление языка, бессонница, эйфория, галлюцинации, даже слабоумие. Население этих местностей употребляло в пищу мало мяса, молочных продуктов, а в основном питалось кукурузой. Назовите это заболевание. Объясните причину его возникновения и почему такое питание приводило к нему.

Ответ: Заболевание пеллагра связано с недостаточным поступлением витамина РР – никотиновой кислоты. Витамин РР может синтезироваться в организме из триптофана (незаменимой аминокислоты). При белковой недостаточности и при питании кукурузой, в которой отсутствует триптофан, нарушается синтез никотиновой кислоты и развивается авитаминоз РР. В самой кукурузе никотинамид содержится в больших количествах, но он находится в связанной форме, которая не усваивается организмом. Известно, что если обработать кукурузу слабо щелочным раствором (известковой водой), никотинамид высвобождается и может всасываться в кишечнике.

15. Витамины А и Д можно применять однократно в дозе, обеспечивающей их нормальное содержание в организме в последующие несколько недель. Витамины группы В (В₁, В₂, РР, В₆ и др.) необходимо получать ежедневно. С чем это связано?

Ответ: Витамины А и Д депонируются в организме, а водорастворимые витамины группы В быстро выводятся из организма.

Функциональная биохимия

1. При поступлении больного в клинику отмечалось: моча темного цвета (цвета пива), кал обычной окраски. При анализе плазмы крови больного установлено: общий билирубин – 40 мкмоль/л, прямой билирубин – 20 мкмоль/л. Сделайте предварительное заключение о типе желтухи, какие дополнительные исследования нужно назначить, чтобы подтвердить Ваше предположение.

Ответ: Паренхиматозная желтуха. Дополнительно необходимо назначить исследование желчных пигментов мочи и кала. В моче должны определяться билирубин, уробилиноген. Стеркобилиноген в кале – норма.

2. Получены результаты обследования больного: Анализ крови:

общий билирубин 50 мкмоль/л, прямой билирубин 5,1 мкмоль/л. Анализ мочи: билирубин (-), уробилиноген (+++). Анализ кала: стеркобилиноген выше нормы. Ваше заключение.

Ответ: Гемолитическая желтуха.

3. Результаты обследования больного анализ крови: общий билирубин 30 мкмоль/л, прямой билирубин 20 мкмоль/л. Анализ мочи: билирубин (+), уробилиноген (-). Анализ кала: стеркобилиноген резко снижен. Ваше заключение.

Ответ: Обтурационная желтуха.

4. Некоторые мутации гена гемоглобина оказывают влияние на синтез всех трех типов гемоглобина – A_1 , A_2 и F, тогда как другие – только на один из них. Почему?

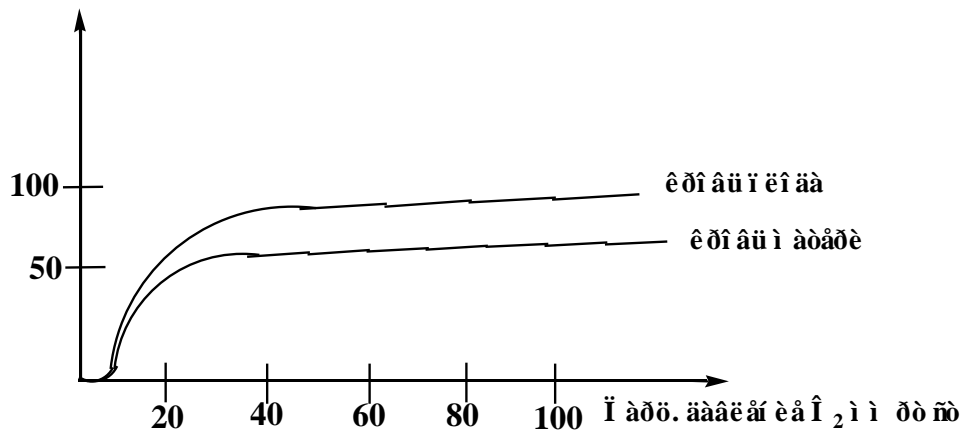
Ответ: Мутации гена α -цепей влияют на все три вида гемоглобина, поскольку эти гемоглобины имеют соответственно следующее субъединичное строение $\alpha_2\beta_2$ $\alpha_2\delta_2$ $\alpha_2\gamma_2$. Мутации генов β -, δ - и γ -цепей скажутся только на одном из типов гемоглобина.

5. При изучении транспорта кислорода у беременных было показано, что кривые насыщения гемоглобина в крови матери и плода, полученные в одних и тех же условиях, сильно различаются.

а) Какой гемоглобин обладает при физиологических условиях более высоким сродством к кислороду? Какое физиологическое значение имеет тот факт, что два гемоглобина обладают разным сродством к кислороду?

Ответ: а) Hb F, то есть гемоглобин плода. б) Hb F забирает O_2 от Hb A матери.

% насыщения H_2



6. Единичная молекула ДНК в хромосоме E.coli (м.м. 2800000000) содержит около 4,5 млн. мононуклеотидов. Высота каждой нуклеотидной единицы вам известна. Вычислите общую длину молекулы ДНК и сравните с длиной клетки E.coli – 2 мкм.

Ответ: 0,34 нм, 1530 мкм, в 750 раз больше.

7. Будет ли отличаться подвижность гемоглобина S от нормального гемоглобина A при электрофорезе в веронал-мединаловом буфере (pH=8,6)?

Ответ: Скорость движения гемоглобина S уменьшится в связи с тем, что в β-цепях остатки глутаминовой кислоты в 6-ом положении замещены на вал.

8. При pH 8,0 был проведен электрофорез смеси липидов, содержащей а) фосфатидилэтаноламин, б) фосфатидилолин, в) фосфатидилсерин. Укажите, какие из этих соединений должны двигаться к катоду (К), аноду (А) или оставаться на старте и почему?

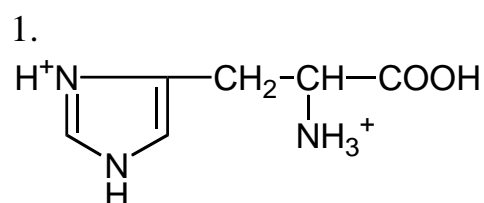
Ответ: а) А, б) старт, в) А.

9. Лекарственный препарат аспирин представляет собой слабую кислоту с $pK' = 3,5$. Всасывание его в кровь может происходить через слизистую желудка и тонкого кишечника. Где аспирин легче всасывается – в желудке или в тонком кишечнике, если величина pH желудочного сока близка к 1, а pH в тонком кишечнике – к 6.

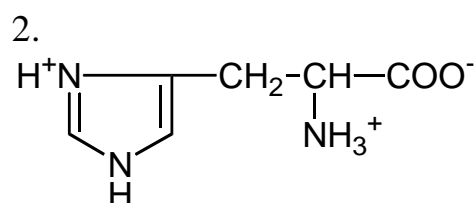
Ответ: В желудке. Через клеточную мембрану быстро проходят незаряженные гидрофобные молекулы, а ионизированные и полярные – медленно. Соляная кислота подавляет диссоциацию аспирина, и поэтому в неионизированном виде он будет всасываться.

10. Гистидин – положительно заряженная аминокислота имеет три ионизированные группы. Напишите, как будет ионизироваться гистидин при pH: 1. 2,3; 2. 6,0; 3. 9,0; 4. 12,0. К какому электроду он будет двигаться в электрическом поле при этих значениях pH?

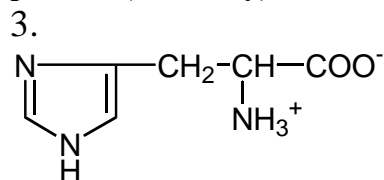
Ответ:



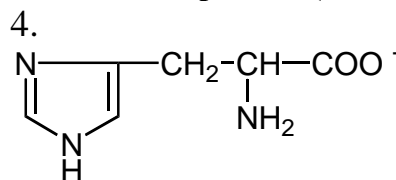
pH=2,3 (к катоду)



pH=6,0 (к катоду)



pH=9 (не движется)



pH=12 (к аноду)

11. При обработке инсулина надмуравьиной кислотой были разрушены дисульфидные связи и разделены А- и В-цепи. Представлена аминокислотная последовательность В-цепи: Фен-Вал-Асп-Гли-Гис-Лей-Цис-SO₃H-Гли-Сер-Гис-Лей-Вал-Глу-Ала-Лей-Тир-Лей-Вал-Цис-SO₃H-Гли-Глу-Арг-Гли-Фен-Фен-Тир-Тре-Про-Лиз-Ала. Укажите, в каких местах произойдет ее расщепление под действием а) трипсина,

б) химотрипсина.

Ответ: Фен⊗Вал-Асн-Глн-Гис-Лей-Цис-SO₃H-Гли-Сер-Гис-Лей-Вал-Глу-Ала-Лей-Тир⊗Лей-Вал-Цис-SO₃H-Гли-Глу-Арг(Т)Гли-Фен⊗Фен⊗Тир⊗Тре-Про-Лиз(Т)Ала

12. В лаборатории два студента независимо друг от друга выделили фермент лактатдегидрогеназу (из сердца цыпленка), восстанавливающую пируват в лактат. Фермент был получен в виде концентрированного раствора. Затем оба студента измерили ферментативную активность полученных ими растворов и определена V_{max} , K_m и удельная активность. При сравнении результатов оказалось, что значения K_m у них совпадали, а удельная активность у одного была равна 100, а у другого – 150. Чем отличались выделенные ферменты?

Ответ: Степенью очистки. У первого студента фермент был хуже очищен от белков, вследствие чего оказалась ниже удельная активность.

ПРАКТИЧЕСКИЕ НАВЫКИ

1. МЕТОД ФЕРМЕНТАТИВНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Принцип: глюкоза в присутствии фермента глюкозооксидазы окисляется кислородом воздуха с образованием перекиси водорода, при разрушении которой под влиянием пероксидазы происходит конденсация фенола и р-аминоантипирина в окрашенное соединение. Интенсивность окрашивания при этом пропорциональна концентрации глюкозы.

Реактивы, исследуемый материал:

1. Рабочий реактив.
2. Стандартный раствор глюкозы.
3. Исследуемая сыворотка.

Ход работы: В три пробирки (холостая, стандартная и исследуемая пробы) вносят по 1 мл рабочего реактива, затем в исследуемую пробу добавляют 0,01 мл сыворотки крови, в стандартную - 0,01 мл стандартного раствора глюкозы, инкубируют в течение 15 минут при 37 °С и колориметрируют при длине волны 500 нм против холостой пробы. Процедура ручного пипетирования:

	холостая проба	исследуемая проба	стандартная проба
Рабочий реагент	1 мл	1 мл	1 мл
Сыворотка	-	0,01 мл	-
Стандарт	-	-	0,01 мл

Концентрация глюкозы рассчитывается по формуле:

$$C_{\text{оп}} = (E_{\text{оп}} * C_{\text{ст}}) / E_{\text{ст}}$$

где $C_{\text{оп}}$ – концентрация глюкозы в исследуемой пробе, $E_{\text{оп}}$ – оптическая плотность исследуемой пробы, $C_{\text{ст}}$ - концентрация глюкозы в стандартной пробе, $E_{\text{ст}}$ – оптическая плотность стандартной пробы

Нормальная концентрация глюкозы крови – 3,65-6,11 ммоль/л.

Диагностическое значение:

Повышение глюкозы в крови выше 6,11 ммоль/л называется *гипергликемией*. Различают две основных группы гипергликемий:

1. Инсулярные – связанные с недостаточным содержанием в организме инсулина или обусловленные неэффективностью его действия (сахарном диабете, панкреонекрозе)
2. Экстраинсулярные – не зависящие от влияния инсулина:
 - повышенная гормональная функция щитовидной железы (гипертиреоз), надпочечников (феохромочитома), гипофиза,
 - диффузные поражения печени,
 - механическое и токсическое поражение ЦНС,

- травмы и опухоли мозга,
- эпилепсия,
- сильный эмоциональный стресс,
- отравления окисью углерода, стрихнином и др. веществами.

Наиболее существенное значение в формировании экстраинсулярных гипергликемий имеют следующие механизмы:

- усиленный распад гликогена,
- повышенный глюконеогенез,
- торможение синтеза гликогена,
- снижение утилизации глюкозы под влиянием гормонов – антагонистов инсулина.

Гипогликемия

Считается, что это состояние имеет место, когда ***уровень глюкозы*** в цельной крови менее 2,2 ммоль/л, а при определении ферментативным методом в сыворотке крови – ***менее 2,5 ммоль/л.***

Симптомы гипогликемии могут быть обусловлены избыточной секрецией адреналина (слабость, потливость, тремор, тахикардия, чувство страха и голода) и дисфункцией ЦНС (головная боль, утрата двигательных функций, спутанность сознания, аномальное поведение, нарушение или потеря сознания).

Гипогликемия опасна тем, что глюкоза является жизненно важным энергетическим сырьем для головного мозга.

Причины гипогликемии по механизму развития можно разделить на три группы:

1. Сниженный выход глюкозы
2. Увеличение утилизации глюкозы
3. Сниженный выход и увеличение утилизации глюкозы

На практике гипогликемия чаще всего наблюдается при:

- передозировке инсулина или других сахароснижающих препаратов,
- гипотиреозе, надпочечниковой недостаточности,
- гиперфункции островков Лангерганса поджелудочной железы (аденомы, гиперплазии, гипертрофии),
- алиментарная гипогликемия (голодание, длительные перерывы между приемами пищи).

2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БИУРЕТОВЫМ МЕТОДОМ

Принцип метода: в основе количественного метода лежит биуретовая реакция: в щелочной среде ионы меди образуют с белками комплексные соединения фиолетового цвета. Интенсивность окраски рас-

твор пропорциональна концентрации белка, которую измеряют фотометрически.

Реактивы, исследуемый материал:

1. Биуретовый реактив (рабочий реактив).
2. Стандартный раствор белка.
3. Сыворотка крови.

Ход работы: В три пробирки (холостая, стандартная и исследуемая пробы) вносят по 1 мл рабочего реактива, затем в исследуемую пробу добавляют 0,02 мл сыворотки крови, в стандартную - 0,02 мл стандартного раствора белка. Через 30 минут колориметрировать при длине волны 546 ± 10 нм против холостой пробы.

Процедура ручного пипетирования:

	холостая проба	исследуемая проба	стандартная проба
Рабочий реагент	1 мл	1 мл	1 мл
Сыворотка, плазма,	-	0,02 мл	-
Стандарт	-	-	0,02 мл

Концентрация общего белка рассчитывается по формуле:

$$C_{\text{оп}} = (E_{\text{оп}} * C_{\text{ст}}) / E_{\text{ст}}$$

где $C_{\text{оп}}$ – концентрация общего белка в исследуемой пробе, $E_{\text{оп}}$ – оптическая плотность исследуемой пробы, $C_{\text{ст}}$ – концентрация общего белка в стандартной пробе, $E_{\text{ст}}$ – оптическая плотность стандартной пробы

Нормальная концентрация общего белка крови у взрослых – 65-85 г/л, у детей – 56-85 г/л

Диагностическое значение: Плазма крови человека содержит в норме более 100 видов белков. Около 90 % общего белка составляют альбумин, иммуноглобулины, липопротеины, фибриноген, трансферрин. Другие белки присутствуют в плазме в значительно меньших количествах.

Понижение концентрации общего белка в крови называется ***гипопротеинемией***, соответственно повышение – ***гиперпротеинемией***.

Причинами ***гипопротеинемии*** являются:

- алиментарный фактор (т.е. недостаточное поступление белка с пищей): голодание, недоедание, связанные как со всевозможными диетами, так и такими заболеваниями, как стеноз пищевода, стеноз пилорического отдела желудка,
- неусваивание белка вследствие различных заболеваний желудочно-кишечного тракта, например: хронические энтериты,
- нарушение биосинтеза белка: гепатиты, циррозы, выраженные интоксикации, врожденные нарушения синтеза отдельных белков – анальбуминемия, болезнь Вильсона-Коновалова,

- потеря белка с кровью (острые и хронические кровотечения) и мочой (нефротический синдром),
- перемещение белка в другие ткани – это образование отеков, переход в так называемое третье пространство (выпоты в серозные полости, в просвет кишечника, на ожоговую поверхность),
- повышение распада белка в организме: опухоли, повышенная функция щитовидной железы, всегда имеет место при кишечной непроходимости,
- физиологическое снижение концентрации белка, например, в последние месяцы беременности и в период лактации.

Относительное снижение концентрации общего белка может наблюдаться при увеличении объема циркулирующей жидкости: большое введение жидкостей внутривенно-капельно, прекращении или резком уменьшении диуреза; гиперпродукции антидиуретического гормона гипоталамуса, сердечной декомпенсации.

Гиперпротеинемия встречается редко. Абсолютная гиперпротеинемия (т.е. не связанная с нарушением водного баланса) наблюдается при миеломной болезни, хронических полиартритах, длительно протекающих воспалительных процессах. Относительная (т.е. вызванная снижением объема циркулирующей жидкости) - при тяжелых ожогах, перитоните, неукротимой рвоте и поносе, несахарном диабете, непроходимости кишечника, хронической почечной недостаточности, усиленном потоотделении.

Следует помнить, что при некоторых заболеваниях, в частности кишечной непроходимости, разлитом перитоните возникающая относительная гиперпротеинемия, обнаруживаемая в биохимическом анализе крови, маскирует характерный для этой патологии дефицит белка.

Гипопротеинемия почти всегда связана с гипоальбуминемией, а гиперпротеинемия – почти всегда с гиперглобулинемией.

3. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЬБУМИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ С БРОМКРЕЗОЛОВЫМ ЗЕЛЕНЫМ

Принцип метода состоит в том, что альбумин с бромкрезоловым зеленым в слабо кислой среде образует окрашенный комплекс синего цвета, интенсивность которого пропорциональна концентрации альбумина.

Реактивы, исследуемый материал:

1. Раствор бромкрезолового зеленого (рабочий реактив).
2. Стандартный раствор альбумина.
3. Исследуемая сыворотка.

Ход работы: В три пробирки (холостая, стандартная и исследуемая пробы) вносят по 1 мл рабочего реактива (бромкрезолового зеленого), затем в исследуемую пробу добавляют 0,01 мл сыворотки крови, в стандартную - 0,01 мл стандартного раствора альбумина, инкубируют в течение 10 минут при 37 °С и колориметрируют при 630-690 нм против холостой пробы.

Процедура ручного пипетирования:

	холостая проба	исследуемая проба	стандартная проба
Рабочий реагент	1 мл	1 мл	1 мл
Сыворотка, плазма,	-	0,01 мл	-
Стандарт	-	-	0,01 мл

Концентрация альбумина рассчитывается по формуле:

$$C_{\text{оп}} = (E_{\text{оп}} * C_{\text{ст}}) / E_{\text{ст}}$$

где $C_{\text{оп}}$ – концентрация альбумина в исследуемой пробе, $E_{\text{оп}}$ – оптическая плотность исследуемой пробы, $C_{\text{ст}}$ – концентрация альбумина в стандартной пробе, $E_{\text{ст}}$ – оптическая плотность стандартной пробы

Нормальная концентрация альбумина крови – 35-52 г/л.

Определение концентрации альбумина в крови имеет очень важное диагностическое значение. Это обусловлено тем, что:

1. альбумин является показателем, характеризующим тяжесть тех заболеваний, которые сопровождаются гипоальбуминемией;

2. альбумин является основным транспортным белком в организме. С альбумином транспортируются: половина всего кальция, свободные жирные кислоты, билирубин, гормоны, лекарственные препараты.

Диагностическое значение: Большое диагностическое значение имеет обнаружение гипоальбуминемии. Клинически проявляется:

–слабостью,

–отеками нижних конечностей. При содержании альбумина в сыворотке крови ниже 30 г/л онкотическое давление снижается настолько, что вода из сосудистого русла переходит во внесосудистое – образуются отеки на нижних конечностях, скапливается жидкость в серозных полостях (брюшной – асцит, плевральной – плеврит, перикардиальной – перикардит).

–судорогами, вследствие гипокальциемии. Комплекс альбумин-кальций является транспортной формой кальция. И возникает ситуация, когда при определении в крови нормальной концентрации кальция, на самом деле из-за гипоальбуминемии отмечается скрытый дефицит кальция.

Причины гипоальбуминемии:

1) снижение поступления и синтеза вследствие: недостаточного питания, дефектов пищеварения, нарушения абсорбции, заболеваний печени. Печень является местом синтеза альбумина, поэтому снижение

его концентрации может служить тестом для оценки ее функционального состояния, например: гипоальбуминемия при хроническом гепатите и циррозе имеет неблагоприятное прогностическое значение.

2) увеличение потери альбумина при кровотечениях, анафилактическом шоке, альбуминурии (т.е. выделении с мочой), при образовании выпотов в серозные полости, при хронических поносах, при хронических заболеваниях почек (например, при нефротическом синдроме, когда концентрация альбумина в крови может достигать 5 г/л при уровне общего белка 25-30 г/л). В хирургической практике это имеет место при так называемых болезнях оперированного желудка (после гастрэктомии или резекции 2/3 желудка), при кишечной непроходимости, остром панкреатите, холецистите, острых флегмонах, абсцессах легких. Выраженная гипоальбуминемия или ее усугубление в динамике при тяжело протекающих хирургических заболеваниях расценивается как крайне неблагоприятный прогностический фактор. Это объясняется двумя причинами:

- Уровень альбумина служит показателем эндогенной интоксикации, и чем выраженнее интоксикация, тем ниже уровень альбумина,

- Гипоальбуминемия приводит к снижению биологической доступности и длительности нахождения в кровеносном русле используемых фармацевтических препаратов, в частности антибиотиков, гормонов, сульфаниламидов и некоторых других.

3) усиление катаболизма альбуминов наблюдается у больных гипертиреозом, гиперкортизолиемией, длительной лихорадкой, обширными травмами.

Чаще всего изменения содержания альбумина в плазме бывают вторичными, т.е. причиной являются какие-либо заболевания. Первичные нарушения очень редки и представляют собой наследственные заболевания. К ним относится анальбуминемия (т.е. отсутствие альбумина) и двойная альбуминемия (бисальбуминемия) – протекает бессимптомно, при электрофорезе белков сыворотки крови выявляют две фракции альбуминов.

Гиперальбуминемия. Абсолютная гиперальбуминемия практически не встречается. Относительная связана с гипо- или дегидратацией, т.е. со снижением объема циркулирующей жидкости.

4. МЕТОД ФЕРМЕНТАТИВНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО ХОЛЕСТЕРИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Принцип метода состоит в том, что холестерин окисляется холестеролоксидазой с высвобождением перекиси водорода, которая в присутствии пероксидазы превращает р-аминоантипирин в окрашенное со-

единение, интенсивность окраски пропорциональна концентрации холестерина.

Реактивы, исследуемый материал:

1. Рабочий реактив.
2. Стандартный раствор холестерина.
3. Исследуемая сыворотка.

Ход работы: В три пробирки (холостая, стандартная и исследуемая пробы) вносят по 1 мл рабочего реактива, затем в исследуемую пробу добавляют 0,01 мл сыворотки крови, в стандартную - 0,01 мл стандартного раствора холестерина, инкубируют в течение 10 минут при 37 °С и колориметрируют при 500 нм против холостой пробы.

Процедура ручного пипетирования:

	холостая проба	исследуемая проба	стандартная проба
Рабочий реагент	1 мл	1 мл	1 мл
Сыворотка	-	0,01 мл	-
Стандарт	-	-	0,01 мл

Концентрация холестерина рассчитывается по формуле:

$$C_{\text{оп}} = (E_{\text{оп}} * C_{\text{ст}}) / E_{\text{ст}}$$

где $C_{\text{оп}}$ – концентрация холестерина в исследуемой пробе, $E_{\text{оп}}$ – оптическая плотность исследуемой пробы, $C_{\text{ст}}$ – концентрация холестерина в стандартной пробе, $E_{\text{ст}}$ – оптическая плотность стандартной пробы

Нормальный уровень общего холестерина - 140- 200 мг/дл или 3,65-5,2 ммоль/л,

При рождении концентрация общего холестерина менее 2,6 ммоль/л, затем она постепенно растет, однако в детстве, как правило, не превышает 4,1 ммоль/л.

Диагностическое значение: Повышенная концентрация холестерина крови (*гиперхолестеринемия*) – это один из главных факторов риска развития атеросклероза. При оценке зависимости смертности от ИБС и концентрации холестерина установлено, что смертность удваивается при увеличении концентрации холестерина с 5,2 до 6,5 ммоль/л, и увеличивается в 4 раза при концентрации холестерина 7,8 ммоль/л.

Европейское общество по борьбе с атеросклерозом разделяет уровень холестерина по степеням тяжести:

- легкая гиперхолестеринемия – 200-250 мг/дл (5,2-6,5 ммоль/л),
- умеренная гиперхолестеринемия – 250-300 мг/дл (6,5-7,8 ммоль/л),
- высокая гиперхолестеринемия – свыше 300 мг/дл (7,8 ммоль/л).

Это имеет значение для оценки степени риска развития атеросклероза и ИБС и, соответственно, определения тактики ведения пациентов.

Однако изолированное определение уровня общего холестерина в настоящее время не рекомендуется проводить, даже для скрининга. Как известно, общий холестерин представляет собой суммарную концен-

трацию холестерина основных классов липопротеинов: ХС-ЛПВП, ХС-ЛПОНП и ХС-ЛПНП. На практике проводится определение общего холестерина, холестерина ЛПВП и триацилглицеринов, на основании полученных результатов рассчитывают ХС-ЛПОНП и ХС-ЛПНП (порядок расчета изложен в работе "Расчет индекса атерогенности липидов"). Исходя из полученных результатов, определяют тип гиперлипотеинемии.

Гиперхолестеринемия может быть первичной или семейной, обусловленной генетической предрасположенностью (например: из-за отсутствия или недостатка рецепторов к ЛПНП) или преобладанием в рационе продуктов, богатых холестерином (животные жиры, яйца, твердые сыры и др.).

Но значительно чаще встречается вторичная гиперхолестеринемия, т.е. обусловленная различными заболеваниями. Наиболее часто гиперхолестеринемия наблюдается при: гипотиреозе, холестазах, ожирении, заболеваниях почек, сахарном диабете, приеме некоторых лекарственных препаратов (пероральные контрацептивы, гипотензивные препараты и др.),

Гипохолестеринемия – т.е. снижение концентрации менее 3,65 ммоль/л (у взрослых) имеет значительно меньшее клинико-диагностическое значение, наблюдается при: голодании, злокачественных новообразованиях, гипертиреозе, тяжелых заболеваниях печени и т.д.

5. МЕТОД ФЕРМЕНТАТИВНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРИАЦИЛГЛИЦЕРИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Принцип метода состоит в том, что триацилглицерины гидролизуются липопротеинлипазой до глицерина и жирных кислот, глицерин через ряд реакций взаимодействует с глицеролкиназой, а затем с глицеринфосфатоксидазой с высвобождением перекиси водорода, которая в присутствии пероксидазы превращает 4-хлорфенол и 4-аминофеназон в производное хиноноимидаина, имеющего красную окраску, интенсивность которой пропорциональна концентрации триацилглицеринов.

Реактивы, исследуемый материал:

1. Рабочий реактив.
2. Стандартный раствор глицерина.
3. Исследуемая сыворотка.

Ход работы: В три пробирки (холостая, стандартная и исследуемая пробы) вносят по 1 мл рабочего реактива, затем в исследуемую пробу добавляют 0,01 мл сыворотки крови, в стандартную - 0,01 мл стандартного раствора глицерина, инкубируют в течение 10 минут при 37 °С и колориметрируют при 500 нм против холостой пробы.

Процедура ручного пипетирования:

	холостая проба	исследуемая проба	стандартная проба
Рабочий реагент	1 мл	1 мл	1 мл
Сыворотка	-	0,01 мл	-
Стандарт	-	-	0,01 мл

Концентрация триацилглицеринов рассчитывается по формуле:

$$C_{\text{оп}} = (E_{\text{оп}} * C_{\text{ст}}) / E_{\text{ст}}$$

где $C_{\text{оп}}$ – концентрация триацилглицеринов в исследуемой пробе, $E_{\text{оп}}$ – оптическая плотность исследуемой пробы, $C_{\text{ст}}$ – концентрация триацилглицеринов в стандартной пробе, $E_{\text{ст}}$ – оптическая плотность стандартной пробы

Нормальный уровень триацилглицеринов в крови – 0,50 - 1,80 ммоль/л;

Диагностическое значение: В настоящее время установлено, что повышение концентрации триацилглицеринов (*гипертриацилглицеринемия*) является самостоятельным фактором риска развития атеросклероза и ИБС.

Европейское общество по борьбе с атеросклерозом и Международный комитет по оценке гипертриацилглицеринемии как сосудистого фактора риска (1996) разделяют уровень триацилглицеринов по степеням тяжести:

легкая гипертриацилглицеринемия - 1,81-2,25 ммоль/л;

умеренная гипертриацилглицеринемия - 2,26-4,50 ммоль/л;

высокая гипертриацилглицеринемия - > 4,50 ммоль/л.

Гипертриацилглицеринемия может быть первичной или семейной, обусловленной генетической предрасположенностью (например: из-за отсутствия или недостатка липопротеинлипазы) или преобладанием в рационе некоторых продуктов (простые углеводы, алкоголь, животные жиры и др.).

Но значительно чаще встречается вторичная гипертриацилглицеринемия, т.е. обусловленная различными заболеваниями. Наиболее часто гипертриацилглицеринемия наблюдается при: сахарном диабете, ожирении, заболеваниях почек (нефротический синдром и хроническая почечная недостаточность), приеме некоторых лекарственных препаратов (пероральные контрацептивы, мочегонные, β -блокаторы и др.),

Гипотриацилглицеринемия, т.е. снижение концентрации менее 0,5 ммоль/л (у взрослых), имеет значительно меньшее клинико-диагностическое значение и наблюдается при: голодании, злокачественных новообразованиях, тяжелых заболеваниях печени и т.д.

6. РАСЧЕТ ИНДЕКСА АТЕРОГЕННОСТИ ЛИПИДОВ (ИА) НА ОСНОВАНИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ОБЩЕГО ХОЛЕСТЕРИНА, ХС-ЛПВП И ТРИАЦИЛГЛИЦЕРИНОВ

Индекс атерогенности (ИА) – это отношение холестерина атерогенных классов липопротеинов к холестерину антиатерогенных классов липопротеинов:

$$\text{ИА} = (\text{ОХС} - \text{ХС-ЛПВП}) / \text{ХС-ЛПВП} \text{ (абсолютных единиц).}$$

Диагностическое значение: Установлено, что атерогенные гиперлипидемии являются одним из основных факторов риска развития атеросклероза. К настоящему времени во всем мире пришли к заключению, что для практической деятельности достаточно определения концентрации общего холестерина (ОХС), холестерина ЛПВП (ХС-ЛПВП), триацилглицерин (ТГ), определение липопротеина (а). Кроме того, рассчитывается индекс атерогенности (ИА) и уровень холестерина ЛПНП (ХС-ЛПНП).

Индекс атерогенности используется для оценки степени риска развития атеросклероза, ИБС.

Норма – до 3

низкий риск – 3-4

средний риск – 4-5

высокий риск – более 5.

Для определения тактики ведения пациента необходимо рассчитать ХС-ЛПНП:

$$\text{ХС-ЛПНП} = \text{ХС}_{\text{общ}} - \text{ХС-ЛПВП} - \text{ХС-ЛПОНП}$$

$$\text{ХС-ЛПОНП} = \text{ТГ} * 0,458$$

По классификации Европейского общества по борьбе с атеросклерозом уровень ХС-ЛПНП разделяется по степеням тяжести:

нормальный уровень ХС-ЛПНП - 1,91-2,60 ммоль/л;

легкое увеличение уровня ХС-ЛПНП - 2,61-3,40 ммоль/л;

умеренное увеличение уровня ХС-ЛПНП - 3,41-5,05 ммоль/л;

выраженное увеличение уровня ХС-ЛПНП - > 5,05 ммоль/л.

Диагностическое значение определения уровня ХС-ЛПНП:

1. По уровню увеличения ХС-ЛПНП проводится общая стратификация ведения пациентов: т.е. определяют, подходят ли пациенту диетические мероприятия или нужна сразу медикаментозная терапия.
2. Уровень увеличения ХС-ЛПНП оказывает влияние на жесткость и длительность диетических мероприятий
3. При проведении гиполипидемической терапии целевыми уровнями являются ХС-ЛПНП и общий холестерин.

7. МЕТОД ФЕРМЕНТАТИВНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЧЕВИНЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Принцип метода: Уреаза гидролизует мочевины с образованием аммиака и углекислого газа. Выделенный аммиак с хромогеном и гипохлоритом натрия образует окрашенный продукт химической реакции, интенсивность окраски которого определяют фотометрически.

Реактивы, исследуемый материал:

1. Реактив №1 (ферментный реагент), реактив №2 (хромоген), реактив №3 (натрия гипохлорит).
2. Стандартный раствор мочевины.
3. Исследуемая сыворотка.

Ход работы: В опытной пробирке смешивают 0,01 мл сыворотки с 0,25 мл рабочего раствора №1, в контрольной пробирке - 0,01 мл стандартного раствора мочевины и 0,25 мл рабочего раствора №1 инкубируют в течение 10 минут при 37 °С

Процедура ручного пипетирования:

	холостая проба	исследуемая проба	стандартная проба
Рабочий реагент №1	0,25 мл	0,25 мл	0,25 мл
Сыворотка,	-	0,01 мл	-
Стандарт	-	-	0,01 мл

После инкубации во все пробы последовательно добавляют по 0,5 мл реактива №2, затем реактива №3, инкубируют 5 минут при 37 °С и колориметрируют при 590 нм против холостой пробы.

Концентрация мочевины рассчитывается по формуле:

$$C_{\text{оп}} = (E_{\text{оп}} * C_{\text{ст}}) / E_{\text{ст}}$$

где $C_{\text{оп}}$ – концентрация мочевины в исследуемой пробе, $E_{\text{оп}}$ – оптическая плотность исследуемой пробы, $C_{\text{ст}}$ – концентрация мочевины в стандартной пробе, $E_{\text{ст}}$ – оптическая плотность стандартной пробы

Нормальное содержание мочевины:

в сыворотке крови 2,5-8,3 ммоль/л, в моче – 333,0-587,7 ммоль/л.

Диагностическое значение: Мочевина синтезируется в печени, это продукт общего обезвреживания аммиака. Ее выделение с мочой – главный путь экскреции азота.

Повышение уровня мочевины в сыворотке крови наблюдается чаще всего при заболеваниях почек: при почечной недостаточности, нефритах, рефлексорной анурии, почечно-каменной болезни и др. Однако увеличение концентрации мочевины может быть обусловлено целым рядом причин, не связанных с заболеваниями почек:

1. Увеличение образования мочевины:

- потребление большого количества белка,
- усиление катаболизма белка.

2. Усиление реабсорбции:

- при значительном обезвоживании.

Следует отметить такие заболевания, как болезнь Аддисона, тяжелые инфекционные заболевания, сопровождающиеся интенсивным распадом белков, ожоги, перитониты.

Уменьшение содержания мочевины в крови наблюдается при нарушении мочевинообразовательной функции печени в результате паренхиматозной желтухи, острой дистрофии органа, декомпенсированного цирроза.

8. БЕНЗИДИНОВАЯ ПРОБА НА КРОВЬ

Принцип реакции: Гемоглобин расщепляет перекись водорода с высвобождением атомарного кислорода, который окисляет бензидин. Образующиеся продукты окисления бензидина имеют синюю или зеленую окраску.

Реактивы, исследуемый материал:

1. Дефибринированная кровь, разведенная водой.
2. Раствор бензидина, 50 г/л (в ледяной уксусной кислоте, свежеприготовленный).
3. Раствор перекиси водорода, 30 г/л.

Ход работы: В одну пробирку налить 5 капель разведенной дефибринированной крови и 5 капель бензидина, затем добавить 5 капель раствора перекиси водорода. В другую пробирку прилить 5 капель дистиллированной воды, 5 капель бензидина и 5 капель перекиси водорода.

Сравнить полученные результаты.

Диагностическое значение: Реакция очень чувствительна и используется для обнаружения даже небольших количеств крови. В клинической практике эта реакция положена в основу обнаружения скрытой крови в кале, а также для контроля предстерилизационной очистки инструментария и посуды.

9. КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА САХАР В МОЧЕ

Принцип реакции: Для качественного обнаружения сахара в моче используют реактив Ниландера, содержащий азотнокислый висмут. В щелочной среде образуется гидрат окиси висмута, который восстанавливается глюкозой до металлического висмута, окрашивающего жидкость в черно-бурый цвет.

Реакция Ниландера специфично используется для обнаружения сахара в моче, т.к. азотнокислый висмут не восстанавливается мочевой кислотой (нормальный компонент мочи) в отличие от гидрата окиси меди (реакция Троммера и с жидкостью Фелинга).

Реактивы, исследуемый материал:

1. Моча, содержащая глюкозу, и нормальная моча
2. Реактив Ниландера.

Ход работы: К 20 каплям исследуемой мочи прилить 20 капель реактива Ниландера и кипятить 1-2 минуты.

Диагностическое значение: Моча здорового человека содержит минимальное количество глюкозы, которое обычными методами не определяется, поэтому принято считать, что в норме глюкозы в моче нет. Обнаружение глюкозы в моче называется **глюкозурия**. При превышении почечного порога (это **7,8-9,99 ммоль/л** глюкозы в крови) глюкоза появляется в моче.

Почечный порог выделения – это концентрация вещества в крови, превышение которой ведет к прекращению его реабсорбции в почечных канальцах.

Почечный порог глюкозы может увеличиваться – при атеросклеротическом поражении сосудов почек, а также уменьшаться – при так называемом почечном диабете (эссенциальная почечная глюкозурия – аутосомно-рецессивное заболевание), когда глюкозурия появляется при нормальной концентрации глюкозы в крови.

Глюкозурия может быть:

- физиологическая – при стрессах, повышенном приеме углеводов пожилыми людьми,
- экстраренальная – т.е. не связанная с заболеваниями почек. Она встречается при сахарном диабете, панкреатитах, феохромоцитомах, гипертиреозе, инсультах, отравлениях окисью углерода, морфием, хлороформом и т.д.,
- ренальная – почечный диабет, хронические нефриты, острая почечная недостаточность, гестозы беременных, отравления фосфором.

10. КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА ФЕНИЛПИРОВОГРАДНУЮ КИСЛОТУ (ПРОБА ФЕЛИНГА)

Принцип пробы Фелинга: Фенилпировиноградная кислота с ионами трехвалентного железа образует комплексное соединение синезеленого цвета.

Реактивы, исследуемый материал:

1. Раствор хлорного железа, 100 г/л.
2. Моча.
3. Фильтровальная бумага.

Ход работы На фильтровальную бумагу нанести несколько капель мочи, добавить 8-10 капель раствора хлорного железа. Оценить результат.

Диагностическое значение: В норме основным путем превращения фенилаланина в тканях (в основном в печени) является его окисление фенилаланингидроксилазой в тирозин. Вследствие дефекта гена, ответственного за выработку в печени этого фермента, не происходит его синтеза. Фенилаланин начинает превращаться по компенсаторному пути – вступает в переаминирование с образованием фенилпировиноградной кислоты. Фенилпироват накапливается в крови, тканях, выводится с мочой; развивается фенилкетонурия. Вследствие накопления фенилпировата нарушается синтез миелина и миелинизация нервных волокон, а вследствие недостатка тирозина отмечается дефицит Т₃, Т₄, дофамина и катехоламинов, в результате дети отстают в умственном развитии, развивается фенилпировиноградная олигофрения. Своевременное выявление этой ферментопатии позволяет изменить характер питания (ограничение поступления фенилаланина, в том числе и с молоком матери) и предупредить развитие олигофрении.

Проба Фелинга до недавнего времени была обязательным элементом скрининга. Однако, для того, чтобы фенилпироват в моче присутствовал в обнаруживаемых этим методом количествах, необходимо длительное время (не ранее 2-х месячного возраста ребенка), к этому времени уже развивается уже стадия выраженного заболевания, а терапевтические мероприятия необходимо проводить с первых жизни. К 2 месяцам жизни у ребенка с фенилкетонурией уже имеется развернутая клиническая картина заболевания. Особенно это заметно у смуглокожих и темноволосых детей: наступает гипопигментация кожи, начинают заметно светлеть волосы и глаза. К 4-х месячному возрасту уже видны проявления энцефалопатии: у ребенка исчезает "комплекс оживления", возникающий в норме на обращение к нему взрослого.

В настоящее время для ранней диагностики фенилкетонурии проводят пробу Гатри. Она заключается в том, что диск с кровью, новорожденного, помещают на питательную среду с бактериями, нуждающимися для роста в фенилаланине. При наличии этой аминокислоты в крови при фенилкетонурии идет рост этих микроорганизмов.

11. КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ НА КЕТОНОВЫЕ ТЕЛА В МОЧЕ

Принцип реакции: Ацетон и ацетоуксусная кислота в щелочной среде образуют с нитропруссидом натрия оранжево-красное окрашивание (проба Легаля). После подкисления концентрированной уксусной кислотой образуется соединение вишневого цвета.

Реактивы, исследуемый материал:

1. Моча.
2. Раствор нитропруссид натрия, 100 г/л.
3. Концентрированная уксусная кислота.
4. Раствор едкого натра, 100 г/л.

Ход работы: В пробирку налить 1 каплю мочи, 1 каплю раствора едкого натра и 1 каплю свежеприготовленного нитропруссид натрия. Наблюдать появление оранжево-красного окрашивания. Добавить 3 капли концентрированной уксусной кислоты.

Оценить результат.

Диагностическое значение: Нормальная моча содержит незначительные количества кетоновых тел (20-50 мг в сутки), которые не обнаруживаются обычными качественными пробами. Наличие кетоновых тел в моче называется **кетонурия**. Кетоновые тела – это продукты неполного окисления липидов и белков: β -гидрооксимасляная кислота, ацетоуксусная кислота и ацетон. Кетоновые тела синтезируются в печени. Их определение имеет наибольшее значение для диагностики метаболической декомпенсации сахарного диабета. Обычно кетонурия появляется при уровне глюкозы в крови 13,5-16,7 ммоль/л и/или при глюкозурии более 3 %. Кетонурия может определяться при:

- некомпенсированном диабете,
- гиперкетонемической коме,
- несбалансированном питании (голодание, диета, направленная на похудание, употребление преимущественно белковой пищи, исключение из рациона углеводов),
- гиперпродукция кортикостероидов (опухоли гипофиза или надпочечников),
- дизентерия, токсикозы в детском возрасте, приводящие к кетоацидозу.

12. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ГЛЮКОЗЫ, КЕТОНОВЫХ ТЕЛ, БЕЛКА И ПРИМЕСЕЙ КРОВИ В МОЧЕ МЕТОДОМ "СУХОЙ" ХИМИИ ПРИ ПОМОЩИ ТЕСТ-ПОЛОСОК ФИРМЫ BOEHRINGER MANNHEIM

Принцип метода: Тест-полоска представляет собой полифункциональную диагностическую тест-систему, с помощью которой проводится не только качественное, но и полуколичественное определение показателей, позволяющих оценить физико-химические свойства мочи. На полоске имеется несколько зон индикации (количество зависит от марки тест-полоски, фирма **BOEHRINGER MANNHEIM** производит около 50 наименований). Зоны пропитаны различными веществами, которые взаимодействуют с метаболитами мочи, при этом развивается цветное окрашивание зоны индикации, интенсивность которого пропорциональна концен-

трации исследуемых веществ. На упаковке имеется шкала индикации, с которой сравнивают исследуемую тест-полоску.

Ход работы: В пробирку налить примерно около 10-15 мл мочи. Окунуть в нее на несколько минут тест-полоску. После развития окраски сравнить со шкалой нанесенной на коробке тест-полосок.

Диагностическое значение: **Глюкоза** - при патологии имеет место **глюкозурия**, которая обусловлена:

–повышением содержания глюкозы в крови выше пороговых величин (7,8-9,9 ммоль/л); может наблюдаться при сахарном диабете, стероидном диабете и ряде других процессов;

–при дефекте белка-переносчика, участвующего в реабсорбции глюкозы в проксимальных канальцах (почечный диабет).

Кетоновые тела - выделение определяемых количеств называется **кетонурией**. При сахарном диабете ежедневно может выделяться до 150 г кетоновых тел. С мочой всегда выделяются вместе ацетон и ацетоуксусная кислота; β -гидроксимасляная кислота появляется в моче лишь при сильном увеличении экскреции кетоновых тел. Кетонурия бывает при диабете, голодании, тиреотоксикозе (усиленный распад углеводов), при инфекционных заболеваниях.

Белок - повышение белка в моче - **протеинурия**. Источники белка мочи — белки плазмы крови и белки почечной ткани (при патологии). Протеинурии делятся на почечные и внепочечные. При почечных протеинуриях белки плазмы крови попадают в мочу из-за органического повреждения нефрона, увеличения размеров пор почечного фильтра и замедления тока крови в клубочках. Внепочечные протеинурии связаны с поражением мочевых путей или предстательной железы. В моче возможно определение белков-ферментов, например, при панкреатитах находят повышение активности α -амилазы, трипсина.

Кровь в моче — **гематурия**. Аналогично протеинурии может быть почечная и внепочечная. Почечная обусловлена патологией почек. Внепочечная - патологией мочевыделительных путей.

13. РАСЧЕТ СУТОЧНОЙ ДОЗЫ ИНСУЛИНА ДЛЯ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

До недавнего времени суточную дозу инсулина рассчитывали исходя из суточной глюкозурии или по содержанию глюкозы в крови. Однако в настоящее время, доза инсулина подбирается в зависимости от веса больного с учетом длительности заболевания.

Принцип метода: Для поддержания гомеостаза человеку необходимо в среднем 20-40 ЕД инсулина в сутки. Расчет суточной дозы инсулина (СДИ) больным производится исходя из расчета на фактическую

массу тела больного с учетом длительности заболевания. Ориентировочно это соответствует:

0,3 – 0,5 ЕД/кг/сутки – при стаже диабета менее 10 лет.

0,7 – 0,9 ЕД/кг/сутки – при стаже диабета более 10 лет.

Доза вводимого препарата подбирается и корректируется с учетом уровня гликемии. Нормальные колебания гликемии в течение суток от 4,0 до 9,5 ммоль/л.

В прекоматозном и коматозном состоянии, независимо от стажа заболевания, доза инсулина может увеличиваться от 0,9 – до 1,0 ЕД/кг/сутки.

Суточная доза распределяется на 3 инъекции в соотношении 3:2:1 или 50%, 35%, 15%. Например, 40 ед. инсулина распределяются: 20 ед. перед завтраком. 14 - перед обедом и только 6 ед. перед ужином.

Клинический пример:

1. Больной 29 лет, болен сахарным диабетом в течение 12 лет, вес больного 72 кг.

$0,8 \cdot 72 = 57,6$ ЕД/сутки. Эта доза разделяется на 3 приема: 28,8 ЕД – перед завтраком, 19,2 ЕД – перед обедом, 9,6 ЕД – перед ужином.

2. Больной 16 лет, болен сахарным диабетом 2 года, вес 30 кг.

$0,3 \cdot 30 = 9$ ЕД/сутки. Эта доза разделяется на 3 приема: 4,5 ЕД – перед завтраком, 3,0 ЕД – перед обедом, 1,5 ЕД – перед ужином.

14. КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКА В МОЧЕ (ПРОБА ГЕЛЛЕРА)

Принцип метода: Концентрированная азотная кислота вызывает денатурацию белка. Выпадение белка в виде осадка (или мутного кольца) связано с денатурацией белковых частиц и образованием комплексных солей белка с кислотами.

Реактивы, исследуемый материал:

1. Моча, содержащая белок, и нормальная моча.
2. Концентрированная азотная кислота с хлористым натрием.

Ход работы: При проведении пробы Геллера с концентрированной азотной кислотой надо работать осторожно. В пробирку налить с помощью капельницы приблизительно около 1 мл (20 капель) концентрированной азотной кислоты. Затем осторожно наложить примерно равный объем профильтрованной мочи из пипетки по стенке пробирки так, чтобы жидкость не смешивалась! Оценить результат.

Диагностическое значение: В моче здорового человека содержится 0,005-0,008 г/л белка, это количество не определяется применяемыми методами исследования. В норме могут определяться следы белка – 0,025-0,1 г/л. Наличие белка в моче называется **протеинурия**. Потеря белка свыше 3 г/л считается массивной.

Протеинурия бывает функциональной (или физиологической), при этом содержание белка в моче, как правило, не превышает 0,3 г/л и патологической, т.е. возникающей при различных заболеваниях.

Физиологическая протеинурия – это временное появление белка в моче, не связанное с заболеванием. Может наблюдаться:

после значительной физической нагрузки; после переохлаждения; сильного стресса; при обильном приеме сырого яичного белка; ортостатическая юношеская протеинурия (т.е. у молодых людей утром при сборе мочи в положении лежа – белка нет, а при сборе в вертикальном положении – появляется белок в моче); при попадании в мочу крови или спермы. Обычно при физиологической протеинурии белок в моче обнаруживается только в утренней порции.

Патологическая протеинурия по механизму возникновения подразделяется на:

1. Ренальную, которая бывает
 - клубочковой – она связана с повышенной проницаемостью почечных клубочков, это наблюдается при гломерулонефритах, артериальной гипертензии и т.д.
 - канальцевой (тубулярной) – она связана с неспособностью канальцев реабсорбировать белки и аминокислоты, наблюдается при амилоидозе, интерстициальном нефрите и др.
2. Преренальная – когда усилен распад белка тканей (обычно это белок Бенс-Джонса, миоглобин или гемоглобин), наблюдается при лейкозах, миеломной болезни, наследственных заболеваниях мышц, гемолизе эритроцитов и др.
3. Постренальная – при поражении мочевыводящих путей и половых органов (при циститах, уретритах и т.д.).

Протеинурию всегда следует рассматривать как симптом, который встречается при большом количестве заболеваний, не имеющий самостоятельного диагностического значения.

15. ОЦЕНКА ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ ЛИПОПРОТЕИНОВ

Электрофорез липопротеинов относится к унифицированным методам исследования и используется для правильного фенотипирования гиперлипопропротеинемий. Схематически расположение фракций липопротеинов изображено на рисунке.

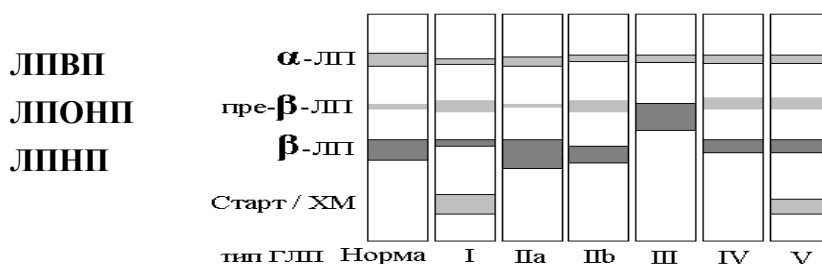


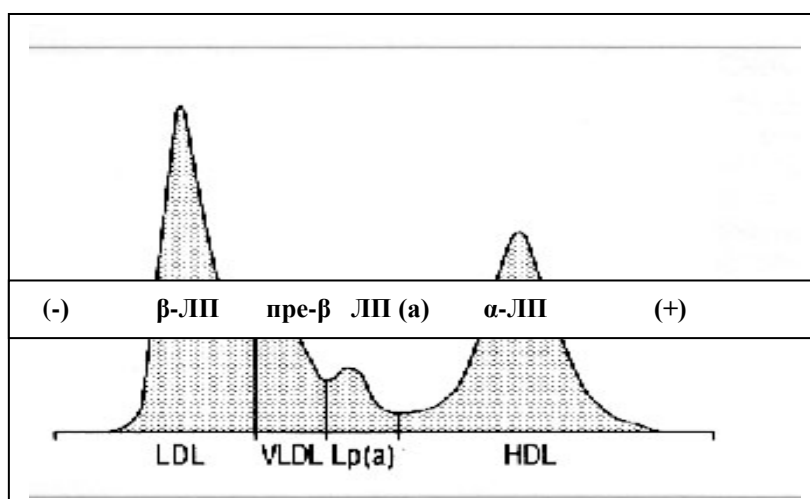
Схема электрофореграмм липопротеинов при использовании в качестве носителей ацетатцеллюлозы и гель-агарозы

Быстрее всех движутся α -липопротеины, за ними следует ЛП (а), если он есть, затем пре- β -липопротеины и β -липопротеины; хиломикроны остаются на старте (в норме обнаруживаются только после еды – постпрандиальная гиперлипидемия).

Нормальное содержание липопротеинов при электрофорезе на гель-агарозе:

α -липопротеины – 22,3-53,3 %; липопротеин (а) – 0 %; пре- β -липопротеины – 4,4-23,1 %; β -липопротеины – 38,6-69,4 %; хиломикроны – 0 %.

Электрофореграмма липопротеинов сыворотки крови выглядит так:



Диагностическое значение: I тип ГЛП (в литературе встречаются синонимы гиперхиломикронемия, гиперлипемия, экзогенная гиперлипемия) обусловлен дефектом или отсутствием фермента липопротеинлипазы (ЛПЛ), что приводит к накоплению в плазме крови хиломикронов (ХМ) и высокому уровню ТГ. Встречается очень редко. Вторичная форма ГЛП I типа может быть обусловлена сахарным диабетом, дисглобулинемией, системной красной волчанкой.

На электрофореграмме определяется широкая полоса хиломикронов и увеличенная полоса пре- β -липопротеинов, полосы β - и α -липопротеинов ослаблены.

Степень поражения атеросклерозом: атеросклероз не встречается.

ГЛП II типа (синонимы гипербеталипопротеинемия или семейная гиперхолестеринемия) наследуется по аутосомно-доминантному типу, поэтому она часто бывает семейной. Вторичная ГЛП II типа встречается при избыточном потреблении холестерина и насыщенных жирных кислот, при кетогенной диете, микседеме, гипотиреозидизме,

нефротическом синдроме, множественной миеломе, дисгаммаглобулинемии, обструктивных заболеваниях печени, порфирии, при лечении андрогенными стероидами.

При этом типе ГЛП первичным дефектом является недостаток или полное отсутствие клеточных рецепторов к апо-В и апо-Е, и накопление холестерина связано с активным не рецепторным захватом клетками ЛПНП. У гомо- и гетерозигот уровень липемии различный. ГЛП II типа может сопровождаться гипертриглицеридемией (IIб тип) или же проявляться только гиперхолестеринемией (IIа тип).

IIа тип ГЛП. *На электрофореграмме* определяется интенсивно окрашенная полоса β -ЛП, пре- β - не видны или в норме, ХМ нет, полоса α -липопротеинов нормальная или сниженная.

IIб тип ГЛП. *На электрофореграмме* определяется интенсивно окрашенная полоса β -ЛП, увеличенная полоса пре- β -липопротеинов, ХМ нет, полоса α -липопротеинов нормальная или сниженная.

Степень поражения атеросклерозом: Этот тип ГЛП при рассмотрении риска развития атеросклероза является наиболее опасным вариантом. Гомозиготы умирают в большинстве случаев в молодом возрасте, для гетерозигот риск развития атеросклеротически обусловленных заболеваний достаточно высок и с возрастом он увеличивается.

ГЛП III типа (семейная дисбеталипопротеинемия) встречается редко, почти всегда наблюдается первичная семейная форма. Вторичная форма ГЛП III типа очень редка и может наблюдаться при микседеме и дисгаммаглобулинемии.

Этот тип ГЛП характеризуется наследственной аномалией аполипопротеина Е, вследствие чего накапливаются аномальные, богатые триглицеридами бета-липопротеины («флотирующие» ЛПНП), что приводит к гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии.

На электрофореграмме не определяется полоса β -ЛП, а наблюдается широкая полоса пре- β -липопротеинов, ХМ нет, полоса α -липопротеинов нормальная или сниженная (Рис. 2). Диагноз можно поставить только на основании электрофоретического исследования сыворотки.

Степень поражения атеросклерозом: После семейной гомозиготной гиперхолестеринемии семейная дисбеталипопротеинемия занимает второе место по частоте развития раннего атеросклероза, после ГЛП II типа.

ГЛП IV типа. (Синоним: эндогенная гиперлипидемия) Характеризуется умеренным повышением уровня ЛПОНП и ТГ, что обусловлено как повышенными процессами синтеза, так и нарушением катаболизма пре-бета-липопротеинов. Это может объясняться следующими механизмами: повышение липогенеза из углеводов, повышение образования ЛПОНП и ТГ в печени, снижение активности липопротеинлипа-

зы (ЛПЛ). IV тип ГЛП чаще всего бывает вторичным. Первичные формы встречаются крайне редко. Вторичная ГЛП IV типа является одним из наиболее часто встречающихся нарушений обмена липопротеинов. Эта ГЛП имеет место при ожирении, сахарном диабете, панкреатите, микседеме, нефротическом синдроме, злоупотреблении алкоголем, регулярном приеме пероральных контрацептивов, гликогенозах, болезни Гоше, болезни Ниммана-Пика, лечении кортикостероидами.

На электрофореграмме полоса β -ЛП нормальная или снижена, а увеличена полоса пре- β -липопротеинов, ХМ нет, полоса α -липопротеинов сниженная или нормальная (Рис 2).

Степень поражения атеросклерозом: эта ГЛП считается менее атерогенной, чем II и III тип. Однако если сопутствуют другие факторы риска развития атеросклероза - ожирение, артериальная гипертензия, сахарный диабет и т. д., то межтиповые различия исчезают. Кроме того, повышенная концентрация ТГ в крови приводит к ускоренному катаболизму апо А-I и апо А-II, что в свою очередь обуславливает развитие гипоальфа-липопротеинемии, а, как известно, высокий уровень ЛПВП является антириск-фактором.

ГЛП V типа характеризуется повышенным содержанием хиломикронов и ЛПОНП. Это обусловлено снижением активности липопротеинлипазы и дефицитом аполипопротеина С-II. Первичная форма встречается крайне редко. Вторичная форма ГЛП V типа может быть обусловлена сахарным диабетом, нефротическим синдромом, злоупотреблением алкоголя, миеломной болезнью.

На электрофореграмме полоса β -ЛП нормальная или снижена, а увеличена полоса пре- β -липопротеинов, определяется полоса ХМ, полоса α -липопротеинов снижена (рис 2).

Степень поражения атеросклерозом: степень атерогенности такая же, как и при ГЛП IV типа.

16. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С В ХВОЕ ИЛИ ШИПОВНИКЕ

Принцип метода: Метод основан на способности аскорбиновой кислоты окисляться 2,6-дихлорфенолиндофенолом в дегидроаскорбиновую кислоту. Определение проводят в кислой среде, которая предохраняет аскорбиновую кислоту от разрушения.

Реактивы, исследуемый материал:

1. Раствор натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола, 0,001н. 2. Раствор соляной кислоты, 20 г/л. 3. Сухой шиповник или хвоя.

Ход работы: 0,5 г сухой хвои или шиповника тщательно растереть в фарфоровой ступке с 2 мл раствора соляной кислоты, перемешать и осторожно через воронку перенести содержимое ступки в мерную

колбу емкостью 50 мл. Ступку и пестик обмыть раствором соляной кислоты и промывную жидкость присоединить к общей порции вытяжки. Объем жидкости в мерной колбе довести дистиллированной водой до метки, колбу закрыть пробкой и содержимое ее несколько раз перемешать. Небольшую порцию вытяжки (5-10 мл) профильтровать через бумажный фильтр и фильтрат использовать для титрования. В 2 колбочки емкостью 50 мл отмерить по 2 мл вытяжки из шиповника или по 10 мл вытяжки из хвои (к вытяжке из шиповника добавить 8 мл раствора соляной кислоты). Содержимое колбочек титровать раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 секунд.

Для расчета содержания аскорбиновой кислоты использовать формулы:

$$0,088 \times a \times 50 \times 1000 / V \times 0,5 = X \text{ мг/кг}$$

$$0,0005 \times a \times 50 \times 1000 / V \times 0,5 = X \text{ ммоль/кг}$$

где 0,088 (0,0005) – количество мг (ммоль) аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001 н. раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола; а – количество раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола, пошедшее на титрование; 50 – общее количество вытяжки; 0,5 – масса вещества в граммах, взятого для анализа; 1000 – коэффициент на кг вещества; V – количество вытяжки (мл), взятой для титрования.

Диагностическое значение: Метод используется для определения содержания аскорбиновой кислоты в пищевых продуктах, биологических жидкостях (сыворотка крови, моча).

17. РЕЗУЛЬТАТЫ БИОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ И МОЧИ БОЛЬНЫХ С ПАТОЛОГИЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНОВ И СИСТЕМ, КОТОРЫЕ СТУДЕНТЫ ДОЛЖНЫ УМЕТЬ ИНТЕРПРЕТИРОВАТЬ

РЕЗУЛЬТАТ №1 биохимического исследования крови и мочи

Ф.И.О. больного	Волконская П.Н.		
Пол.	ж	Возраст	68
Рост	158 см	Масса	85 кг
		Индекс Кетле	34,0
Холестерин	4,15 мМ/л	КФК	107 Е/л
Триглицериды	1,12 мМ/л	Общий белок	79 г/л
Мочевина	6,32 мМ/л	Мочевая к-та	0,23 мМ/л
Билирубин общ.	13,8 мкМ/л	Глюкоза	4,0 мМ/л
Билирубин пр	3,2 мкМ/л	ЛДГ	265 Е/л
Калий	3,8 мМ/л	АСТ	33 Е/л
Натрий	138 мМ/л	АЛТ	32 Е/л
Амилаза сыв.	22 г/(ч*л)	Альбумин	49 г/л

Амилаза мочи	104 г/(ч*л)	Гемоглобин	130 г/л
<i>Электрофорез белков:</i>			
Альбумины	58 %		
Глобулины: α_1	4,5 %		
α_2	8,5 %		
β	9,4 %		
γ	19,6 %		

Заключение и комментарии.

Изменений в представленных показателях не обнаружено, следовательно, можно предположить, что это результат здорового человека.

РЕЗУЛЬТАТ №2 **биохимического исследования крови и мочи**

Ф.И.О. больного	<u>Багрова Г.И.</u>		
Пол. <u>ж</u>	Возраст <u>60</u>		
Рост 165 см	Масса 90 кг	Индекс Кетле	33,1
Холестерин	9,12 мМ/л	КФК	900 Е/л
Триглицериды	3,02 мМ/л	Общий белок	68 г/л
Мочевина	7,32 мМ/л	Мочевая к-та	0,23 мМ/л
Билирубин общ	16,8 мкМ/л	Глюкоза	5,11 мМ/л
Билирубин пр	4,21 мкМ/л	ЛДГ	615 Е/л
Калий	3,95 мМ/л	АСТ	139 Е/л
Натрий	137 мМ/л	АЛТ	20 Е/л
Амилаза сыв.	21 г/(ч*л)	Альбумин	36 г/л
Амилаза мочи	84 г/(ч*л)	Гемоглобин	135 г/л
<i>Электрофорез белков:</i>			
Альбумины	44 %		
Глобулины: α_1	7,5 %		
α_2	14,2 %		
β	13,8 %		
γ	20,5 %		

Заключение и комментарии.

Наблюдается выраженная гиперхолестеринемия, гипертриацилглицеринемия, увеличение фракции α_1 и α_2 глобулинов, значительное повышение активности креатинфосфокиназы, лактатдегидрогеназы, аспартатаминотрансферазы.

Гиперлипидемия рассматривается как самостоятельный фактор риска развития атеросклероза и ишемической болезни сердца. Обнаруженная диспротеинемия характерна для острого воспалительного или некротического процесса. Повышение активности приведенных ферментов является органоспецифичным для сердечной мышцы, кроме того, механизм повышения их активности только один – повреждение клеток. Следовательно, у данного больного можно предположить заболевание сердца, вероятнее всего речь идет об инфаркте миокарда.

РЕЗУЛЬТАТ №3
биохимического исследования крови и мочи

Ф.И.О. больного	<u>Галушко Е.И.</u>		
Пол. <u>ж</u>	Возраст	<u>55</u>	
Рост <u>162 см</u>	Масса	<u>80 кг</u>	Индекс Кетле <u>30,5</u>
Холестерин	5,9 мМ/л	КФК	175 Е/л
Триглицериды	0,88 мМ/л	Общий белок	78,3 г/л
Мочевина	1,32 мМ/л	Мочевая к-та	0,21 мМ/л
Билирубин общ	25,8 мкМ/л	Глюкоза	5,13 мМ/л
Билирубин пр	4,2 мкМ/л	ЛДГ	525 Е/л
Калий	4,15 мМ/л	АСТ	39,3 Е/л
Натрий	141 мМ/л	АЛТ	250 Е/л
Амилаза сыв.	21,2 г/(ч*л)	Альбумин	25,2 г/л
Амилаза мочи	79,5 г/(ч*л)	Гемоглобин	134 г/л

Электрофорез белков:

Альбумины	41,5 %
Глобулины: α_1	3,5 %
α_2	4,5 %
β	18,3 %
γ	32,2 %

Заключение и комментарии.

Наблюдается легкая гиперхолестеринемия, незначительная гипербилирубинемия, за счет непрямого билирубина, снижение концентрации мочевины и альбумина; при электрофорезе белков – увеличение фракции γ - и β - глобулинов на фоне снижения α_2 глобулинов и альбумина; повышение активности лактатдегидрогеназы и аланинаминотрансферазы.

Повышение активности приведенных ферментов является органоспецифичным для печени, кроме того, механизм повышения их активности только один – повреждение клеток. Повышение концентрации билирубина за счет непрямого может говорить о неспособности печени конъюгировать билирубин, снижение уровня мочевины и альбумина – о снижении ее синтетической функции. Выявленная диспротеинемия характерна для цирроза. Следовательно, у данного больного можно предположить заболевание печени.

РЕЗУЛЬТАТ №4
биохимического исследования крови и мочи

Ф.И.О. больного	<u>Капралов С.С.</u>		
Пол. <u>м</u>	Возраст	<u>52</u>	
Рост <u>178 см</u>	Масса	<u>76 кг</u>	Индекс Кетле <u>24,0</u>
Холестерин	7,29 мМ/л	КФК	102 Е/л
Триглицериды	3,25 мМ/л	Общий белок	75,3 г/л

Мочевина	10,3 мМ/л	Мочевая к-та	0,19 мМ/л
Билирубин общ	14,8 мкМ/л	Глюкоза	16,9 мМ/л
Билирубин пр	3,28 мкМ/л	ЛДГ	198 Е/л
Калий	4,32 мМ/л	АСТ	27,3 Е/л
Натрий	143 мМ/л	АЛТ	28,0 Е/л
Амилаза сыв.	22,6 г/(ч*л)	Альбумин	42,5 г/л
Амилаза мочи	110 г/(ч*л)	Гемоглобин	150 г/л

Электрофорез белков:

Альбумины	59,9 %
Глобулины: α_1	4,5 %
α_2	8,3 %
β	11,7 %
γ	15,6 %

Заключение и комментарии.

Наблюдается гипергликемия, выраженная гиперхолестеринемия, гипертриацилглицеринемия, повышение концентрации мочевины.

Такая выраженная гипергликемия позволяет предположить наличие сахарного диабета. Повышение концентрации мочевины также характерно для этого заболевания вследствие повышенного распада белков. Гиперлипидемия обуславливается усиленным образованием атерогенных классов липопротеинов и, с другой стороны, нарушением их катаболизма, вследствие снижения активности липопротеинлипазы.

РЕЗУЛЬТАТ №5
биохимического исследования крови и мочи

Ф.И.О. больного Косолапова И.В.
 Пол. ж Возраст 58
 Рост 165 см Масса 68 кг Индекс Кетле 25,0

Холестерин	5,78 мМ/л	КФК	115 Е/л
Триглицерины	1,28 мМ/л	Общий белок	69,9 г/л
Мочевина	6,0 мМ/л	Мочевая к-та	0,21 мМ/л
Билирубин общ	92,3 мкМ/л	Глюкоза	4,95 мМ/л
Билирубин пр	72,2 мкМ/л	ЛДГ	188 Е/л
Калий	5,5 мМ/л	АСТ	23 Е/л
Натрий	147 мМ/л	АЛТ	26 Е/л
Амилаза сыв.	26,9 г/(ч*л)	Альбумин	45,3 г/л
Амилаза мочи	86,5 г/(ч*л)	Гемоглобин	132 г/л

Электрофорез белков:

Альбумины	40,3 %
Глобулины: α_1	2,2 %
α_2	14,5 %
β	17,9 %
γ	25,1 %

Заключение и комментарии.

Наблюдается легкая гиперхолестеринемия, гипербилирубинемия преимущественно за счет прямого билирубина; при электрофорезе белков – увеличение фракции α_2 -, γ - и β - глобулинов на фоне снижения альбумина;

Повышение концентрации билирубина преимущественно за счет прямого может говорить о холестатической желтухе. Обнаруженная диспротеинемия также характерна для желтухи.

РЕЗУЛЬТАТ №6
биохимического исследования крови и мочи

Ф.И.О. больного Косова И.В.
 Пол. ж Возраст 58
 Рост 165 см Масса 68 кг Индекс Кетле 25,0

Холестерин	5,78 мМ/л	КФК	115 Е/л
Триглицериды	1,28 мМ/л	Общий белок	69,9 г/л
Мочевина	6,0 мМ/л	Мочевая к-та	0,21 мМ/л
Билирубин общ	102,3 мкМ/л	Глюкоза	4,95 мМ/л
Билирубин пр	12,2 мкМ/л	ЛДГ	588 Е/л
Калий	6,5 мМ/л	АСТ	53 Е/л
Натрий	147 мМ/л	АЛТ	26 Е/л
Амилаза сыв.	26,9 г/(ч*л)	Альбумин	45,3 г/л
Амилаза мочи	86,5 г/(ч*л)	Гемоглобин	92 г/л

Электрофорез белков:

Альбумины	40,3 %
Глобулины: α_1	2,2 %
α_2	14,5 %
β	17,9 %
γ	25,1 %

Заключение и комментарии.

Наблюдается легкая гиперхолестеринемия, гипербилирубинемия преимущественно за счет непрямого билирубина; гиперкалиемия, незначительное повышение активности аспартатаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы; при электрофорезе белков – увеличение фракции α_2 -, γ - и β - глобулинов на фоне снижения альбумина;

Повышение концентрации билирубина преимущественно за счет непрямого может говорить о гемолитической желтухе. Гиперкалиемия, незначительное повышение активности аспартатаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы объясняются их выходом в кровь из эритроцитов. Обнаруженная диспротеинемия также характерна для желтухи.

РЕЗУЛЬТАТ №7
биохимического исследования крови и мочи

Ф.И.О. больного Мальцев И.И.

Пол. м Возраст 49
 Рост 179 см Масса 98 кг Индекс Кетле 30,6

Холестерин	5,18 мМ/л	КФК	125 Е/л
Триглицерины	12,4 мМ/л	Общий белок	78,2 г/л
Мочевина	6,5 мМ/л	Мочевая к-та	0,20 мМ/л
Билирубин общ	14,7 мкМ/л	Глюкоза	6,51 мМ/л
Билирубин пр	3,2 мкМ/л	ЛДГ	329 Е/л
Калий	4,2 мМ/л	АСТ	27 Е/л
Натрий	145 мМ/л	АЛТ	29 Е/л
Амилаза сыв.	126 г/(ч*л)	Альбумин	48,3 г/л
Амилаза мочи	374 г/(ч*л)	Гемоглобин	156 г/л

Электрофорез белков:

Альбумины	57,2 %
Глобулины: α_1	3,5 %
α_2	9,9 %
β	10,1 %
γ	19,3 %

Заключение и комментарии.

Наблюдается выраженная гипертриглицеридемия, незначительная гипергликемия; повышение активности амилазы сыворотки и мочи.

Повышение активности приведенных ферментов является органоспецифичным для поражения поджелудочной железы. Гипергликемия может быть обусловлена снижением выработки инсулина вследствие поражения β -клеток поджелудочной железы. Уровень триацилглицеринов свыше 11 ммоль/л часто может служить причиной панкреатита. Следовательно, у данного больного можно предположить острый панкреатит.

РЕЗУЛЬТАТ №8 **биохимического исследования крови и мочи**

Ф.И.О. больного Маркин С.П.
 Пол. м Возраст 38
 Рост 181 см Масса 85 кг Индекс Кетле 25,9

Холестерин	4,69 мМ/л	КФК	125 Е/л
Триглицерины	1,62 мМ/л	Общий белок	69,8 г/л
Мочевина	7,32 мМ/л	Мочевая к-та	0,86 мМ/л
Билирубин общ	18,8 мкМ/л	Глюкоза	5,16 мМ/л
Билирубин пр	3,2 мкМ/л	ЛДГ	253 Е/л
Калий	4,15 мМ/л	АСТ	25,2 Е/л
Натрий	144 мМ/л	АЛТ	24,6 Е/л
Амилаза сыв.	25,3 г/(ч*л)	Альбумин	46 г/л
Амилаза мочи	124 г/(ч*л)	Гемоглобин	160 г/л

Электрофорез белков:

Альбумины	56,0 %
Глобулины: α_1	3,8 %

α_2	8,2 %
β	13,5 %
γ	18,5 %

Заключение и комментарии.

Наблюдается выраженная гиперурикемия, все остальные показатели в пределах нормальных значений.

У данного больного можно предположить подагру.

РЕЗУЛЬТАТ №9 биохимического исследования крови и мочи

Ф.И.О. больного Волков И.И.
 Пол. м Возраст 55
 Рост 180 см Масса 94 кг Индекс Кетле 29,0

Холестерин	10,10 мМ/л	КФК	156 Е/л
Триглицериды	5,2 мМ/л	Общий белок	55 г/л
Мочевина	22,4 мМ/л	Мочевая к-та	0,23 мМ/л
Билирубин общ	16,3 мкМ/л	Глюкоза	5,05 мМ/л
Билирубин пр	3,7 мкМ/л	ЛДГ	228 Е/л
Калий	2,13 мМ/л	АСТ	33,0 Е/л
Натрий	126 мМ/л	АЛТ	21,9 Е/л
Амилаза сыв.	24,6 г/(ч*л)	Альбумин	28 г/л
Амилаза мочи	100,1 г/(ч*л)	Гемоглобин	130 г/л

Электрофорез белков:

Альбумины	45 %
Глобулины: α_1	5,1 %
α_2	16,4 %
β	25,3 %
γ	8,2 %

Заключение и комментарии.

Наблюдается выраженная гиперхолестеринемия, гипертриацилглицеринемия, увеличение концентрации мочевины и снижение уровня альбумина, калия, натрия; при электрофорезе белков – увеличение фракции - α_2 и β - глобулинов на фоне снижения γ глобулинов и альбумина;

Значительное повышение уровня мочевины может быть связано с нарушением выделительной функции почек. Снижение концентрации альбумина, калия и натрия – о повышенном выведении этих веществ почками. Гиперлиппротеинемия при поражении почек развивается вследствие гиперпродукции липопротеинов и нарушения их катаболизма за счет снижения активности липопротеинлипазы. Тип диспротеинемии характерен для нефротического синдрома.

Следовательно, у данного больного можно предположить заболевание почек.

РЕЗУЛЬТАТ №10
биохимического исследования крови и мочи

Ф.И.О. больного Волокитина П.Н.
Пол. ж Возраст 68
Рост 158 см Масса 85 кг Индекс Кетле 34,0

Холестерин	4,15 мМ/л	КФК	107 Е/л
Триглицериды	1,12 мМ/л	Общий белок	79 г/л
Мочевина	6,32 мМ/л	Мочевая к-та	0,23 мМ/л
Билирубин общ.	13,8 мкМ/л	Глюкоза	4,0 мМ/л
Билирубин пр	3,2 мкМ/л	ЛДГ	265 Е/л
Калий	3,8 мМ/л	АСТ	33 Е/л
Натрий	138 мМ/л	АЛТ	32 Е/л
Амилаза сыв.	22 г/(ч*л)	Альбумин	49 г/л
Амилаза мочи	104 г/(ч*л)	Гемоглобин	84 г/л

Электрофорез белков:

Альбумины	58 %
Глобулины: α_1	4,5 %
α_2	8,5 %
β	9,4 %
γ	19,6 %

Заключение и комментарии.

Обнаружено снижение уровня гемоглобина, остальные биохимические показатели в пределах нормы. Можно предположить у данной больной анемию.

18. ОСНОВНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И МОЧИ

Показатель, нормальное значение, единица измерения	Краткое клиническое значение
КРОВЬ	
<p>Калий сыворотки крови, 3,5-5,5 ммоль/л</p>	<p>Калий является внутриклеточным веществом. Концентрация его в плазме примерно в 25 раз ниже, чем в клетках. Сывороточная концентрация калия обусловлена:</p> <ul style="list-style-type: none"> – общим количеством калия в организме, – величиной рН плазмы – действием регуляторных механизмов. <p>Гипокалиемия может наблюдаться при синдроме Конна (первичный альдостеронизм), при недостатке его поступления с пищей и при избыточном его выведении (заболевания ЖКТ, почек, кровотечения).</p> <p>Гиперкалиемия может наблюдаться при почечной недостаточности, усиленном распаде тканей, при избыточном введении калия.</p> <p>Нарушения концентрации калия приводят к изменениям на ЭКГ, которые необходимо дифференцировать от ишемических нарушений. В этих случаях методом выбора является экспресс анализ с использованием "сухой химии".</p>
<p>Натрий сыворотки крови, 130-150 ммоль/л</p>	<p>Натрий в организме содержится в основном во внеклеточной жидкости. Более того, ее объем прямо зависит от общего содержания натрия в организме. Большинство клеточных мембран плохо проницаемо для натрия. Поступление натрия в организм и его выведение строго сбалансированы. Натриевый баланс поддерживается путем регуляции экскреции натрия почками. Выведение зависит от:</p> <ul style="list-style-type: none"> – скорости гломерулярной фильтрации; – канальцевой реабсорбции, которая зависит от концентрации выделяемого альдостерона в ответ на активацию ренин-ангиотензиновой системы и концентрации натрийуретического гормона (НУГ). <p>Альдостерон стимулирует реабсорбцию натрия, а НУГ действует двояко: угнетает реабсорбцию и снижает секрецию ренина (и, соответственно, альдостерона).</p> <p>Клинические проявления гипонатриемии – преимущественно следствие снижения объема внеклеточной жидкости.</p> <p>Причины гипонатриемии:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Чрезмерные потери натрия (через <i>почки</i> – острый некроз почечных канальцев, лечение диуретиками, недостаточность минералокортикостероидов; <i>кожу</i> – муковисцидоз, сильное потоотделение, ожоги, генерализованный дерматит; <i>кишечник</i> – рвота, понос, кишечная непроходимость) 2. Неадекватное поступление натрия (оно развивается, только если имеются его избыточные потери).

	<p>3. Задержка воды в организме Гипернатриемия может возникать при:</p> <ul style="list-style-type: none"> – потере воды (несахарный диабет, неадекватное питье) – потере воды и натрия (сахарный диабет, чрезмерное потоотделение, диарея, особенно у детей) – при увеличении поступления натрия. – накопление натрия во внеклеточной жидкости (первичный гиперальдостеронизм (с-м Конна)). <p>Гипернатриемия встречается гораздо реже, чем гипонатриемия.</p>
<p>Кальций сыворотки крови, 2-3 ммоль/л</p>	<p>В плазме кальций представлен 3 формами:</p> <ul style="list-style-type: none"> – связанный с белками (с основным с альбумином); – в комплексе с фосфатом и цитратом – в виде свободных ионов. Эта форма является физиологически активной. <p>Концентрация кальция поддерживается в узких пределах с помощью контролирующей системы, в состав которой входят паратиреоидный гормон и кальцитриол. Паратиреоидный гормон секретируется паращитовидными железами в ответ на снижение концентрации кальция в крови. Т.о. действие паратиреоидного гормона направлено на повышение концентрации кальция и снижение содержания фосфата в крови. Кальцитриол также увеличивает концентрацию кальция в крови: в кишечнике он стимулирует абсорбцию кальция и фосфатов из пищи, стимулирует синтез в энтероцитах кальций связывающего белка; в костях – стимулирует резорбцию костной ткани остеокластами; в почках – ингибирует свой синтез и незначительно стимулирует реабсорбцию кальция.</p> <p>Причины гиперкальциемии:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Первичный гиперпаратиреоз 2. Злокачественные опухоли с метастазами в кости или без них. <p>Эти две причины – это 90% всех гиперкальциемий.</p> <p>Значительно реже: тиреотоксикоз, прием тиазидовых диуретиков, интоксикация витамином D, надпочечниковая недостаточность и т.д.</p> <p>Гипокальциемия обусловлена: дефицитом или нарушением метаболизма витамина D; почечной недостаточностью, гипопаратиреозом и гипомагниемией.</p> <p>Следует помнить, что транспортной формой кальция является комплекс альбумин-кальций. Поэтому из-за гипоальбуминемии отмечается скрытый дефицит кальция, даже при определении в крови нормальной концентрации кальция.</p>
<p>Аланинаминотрансфераза (АлАт), 0,10-0,68 ммоль/ (ч•л) до 40 Е/л</p>	<p><u>Аланинаминотрансфераза (АлАт)</u>, другое название глутаматпироваттрансаминаза (GPT), переносит аминокетильные группы с аланина на α-кетоглутарат с образованием глутамата и пировиноградной кислоты.</p> <p>Механизм увеличения активности – повреждение клеток.</p> <p>Основной источник АлАт в сыворотке: печень, сердце, скелетные мышцы, почки и нервная ткань.</p> <p>Обычно при большинстве заболеваний, связанных с повышением</p>

	<p>ем активности аминотрансфераз, наблюдается одновременное увеличение активности обеих трансаминаз. Однако при одних заболеваниях преимущественно увеличивается активность АлАт, а при других – АсАт. Активность АлАт превышает активность АсАт при гепатитах и других заболеваниях печени, желчевыводящих путей. При вирусном гепатите активность АлАт в сыворотке может повышаться за 1-4 недели до клинических проявлений заболевания и за 7-10 дней до увеличения концентрации билирубина.</p> <p style="text-align: center;">Причины увеличения активности АлАт</p> <p>Превышение нормы более чем в 10 раз</p> <ul style="list-style-type: none"> – острый гепатит и некроз печени, – тяжелый синдром сдавления, – тяжелая гипоксия тканей <p>Превышение нормы в 5-10 раз</p> <ul style="list-style-type: none"> – инфаркт миокарда, – после хирургических вмешательств, – заболевания скелетных мышц, – холестаза, – хронический гепатит <p>Превышение нормы менее чем в 5 раз</p> <ul style="list-style-type: none"> – физиологическое – у новорожденных, – другие заболевания печени, – панкреатит, – гемолиз (in vivo и in vitro).
<p style="text-align: center;">Аспаргатамино- трансфераза (АсАт) 0,10-0,45 ммоль/ (ч•л) до 40 Е/л</p>	<p><u>Аспаргатаминотрансфераза (АсАт)</u>, другое название глутамат-оксалоацетаттрансаминаза (GOT), переносит аминогруппы с аспарагиновой кислоты на α-кетоглутарат с образованием глутамата и щавелевоуксусной кислоты.</p> <p>Механизм увеличения активности – повреждение клеток.</p> <p>Основной источник АсАт в сыворотке: сердце, печень, скелетные мышцы, почки и нервная ткань.</p> <p style="text-align: center;">Причины увеличения активности АсАт</p> <p>Превышение нормы более чем в 10 раз</p> <ul style="list-style-type: none"> – острый гепатит и некроз печени, – тяжелый синдром сдавления, – тяжелая гипоксия тканей, <p>Превышение нормы в 5-10 раз</p> <ul style="list-style-type: none"> – инфаркт миокарда, – после хирургических вмешательств, – заболевания скелетных мышц, – холестаза, – хронический гепатит. <p>Превышение нормы менее чем в 5 раз</p> <ul style="list-style-type: none"> – физиологическое – у новорожденных, – другие заболевания печени, – панкреатит, – гемолиз (in vivo и in vitro).

	<p>АсАт в сыворотке крови представлена двумя изоферментами: митохондриальной и растворимой в цитозоле. В клинике, как правило, идентификация этих изоформ не проводится.</p> <p>Если есть возможность измерять только одну из трансаминаз, то следует определять активность АсАт. Иногда активность повышена АсАт у пациентов без клинических проявлений повреждения тканей. В этих случаях обычно подозревают употребление алкоголя. Если все другие показатели нормальные и нет никаких очевидных причин такого повышения, анализ обычно повторяют через 1-2 недели. Повышение активности АсАт является также чувствительным индикатором отторжения трансплантата при пересадке печени.</p>
<p>Амилаза (α-амилаза), 16-30 г/л*ч</p>	<p>Это секреторный, а не внутриклеточный фермент, осуществляет гидролитическое расщепление полисахаридов.</p> <p>Богаты амилазой поджелудочная железа, слюнные железы, секреторится также фаллопиевыми трубами, кишечником, почками, печенью, легкими, жировой тканью.</p> <p><i>Основной источник амилазы в крови:</i> поджелудочная железа (Р-амилаза) и слюнные железы (S-амилаза). <i>С мочой</i> выделяется в основном панкреатическая амилаза. У здоровых людей содержание S-амилазы и Р-амилазы в крови приблизительно одинаково, а в моче уровень Р-амилазы в 2 раза выше.</p> <p>Клиническое значение определения амилазы связано с дифференциальной диагностикой «острого живота», т.е. острых абдоминальных болей.</p> <p style="text-align: center;">Причины увеличения активности амилазы</p> <p><i>Превышение нормы более чем в 10 раз</i></p> <ul style="list-style-type: none"> – острый панкреатит <p><i>Превышение нормы в 5-10 раз</i></p> <ul style="list-style-type: none"> – прободная дуоденальная язва, – кишечная непроходимость, – другая острая хирургическая патология брюшной полости, – острая почечная недостаточность с олигурией, – диабетический кетоацидоз. <p><i>Превышение нормы менее чем в 5 раз.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> – поражение слюнных желез (камни и паротиты, в том числе и эпидемический паротит), – хроническая почечная недостаточность, – введение морфина, адреналина, гистамина, фуросемида и др. <p>При диагностике острого панкреатита степень увеличения активности амилазы не всегда говорит о тяжести процесса, например: уровень амилазы при панкреонекрозе значительно ниже, чем при отечной форме острого панкреатита.</p> <p>После приступа панкреатита, после того, как активность амилазы крови возвращается к норме, в моче она может оставаться повышенной еще до 7 суток.</p>
<p>Альбумин,</p>	<p>Причины гипоальбуминемии:</p>

<p>35-52 г/л</p>	<ul style="list-style-type: none"> – <u>Снижение синтеза</u> вследствие: недостаточного питания, дефектов пищеварения, нарушения абсорбции, заболеваниях печени. Печень является местом синтеза альбумина, поэтому снижение его концентрации может служить тестом для оценки ее функционального состояния, так, например: гипоальбуминемия при хроническом гепатите и циррозе имеет неблагоприятное прогностическое значение. – <u>Увеличение потери альбумина</u> при кровотечениях, анафилактическом шоке, альбуминурии (т.е. выделении с мочой), при образовании выпотов в серозные полости, при хронических поносах. Особое внимание следует обратить на гипоальбуминемия при хронических заболеваниях почек, например при нефротическом синдроме, когда концентрация альбумина в крови может достигать 5 г/л при уровне общего белка 25-30 г/л. В хирургической практике гипоальбуминемия наблюдается при так называемых болезнях оперированного желудка (после гастрэктомии или резекции 2/3 желудка), при кишечной непроходимости, остром панкреатите, холецистите, острых флегмонах, абсцессах легких. Выраженная гипоальбуминемия или ее усугубление в динамике при тяжело протекающих хирургических заболеваниях расценивается как крайне неблагоприятный прогностический фактор. Это объясняется двумя причинами: <ol style="list-style-type: none"> 1. уровень альбумина служит показателем эндогенной интоксикации, и чем выраженнее интоксикация, тем ниже уровень альбумина, 2. гипоальбуминемия приводит к снижению биологической доступности и длительности нахождения в кровеносном русле используемых фармацевтических препаратов, в частности антибиотиков, гормонов, сульфаниламидов и некоторых других. – <u>Усиление катаболизма альбуминов</u> наблюдается у больных гипертиреозом, гиперкортизолиемией, длительной лихорадкой, обширными травмами. <p>Чаще всего изменения содержания альбумина в плазме бывают вторичными, т.е. причиной являются какие-либо заболевания. Первичные нарушения очень редки и представляют собой наследственные заболевания. К ним относится анальбуминемия (т.е. отсутствие альбумина) и двойная альбуминемия.</p> <p>Гиперальбуминемия. Абсолютная гиперальбуминемия практически не встречается. Относительная связана с гипо- или дегидратацией, т.е. когда наблюдается снижение объема циркулирующей жидкости.</p>
<p>Белок общий, 65-85 г/л</p>	<p>Причинами гипопроотеинемии являются:</p> <ul style="list-style-type: none"> – алиментарный фактор (т.е. недостаточное поступление белка с пищей): голодание, недоедание, связанные как со всевозможными диетами, так и такими заболеваниями, как стеноз пищевода, стеноз пилорического отдела желудка. – неусваивание белка вследствие различных заболеваний желудочно-кишечного тракта, например: хронические энтериты – нарушение биосинтеза белка: гепатиты, циррозы, выражен-

	<p>ные интоксикации, врожденные нарушения синтеза отдельных белков – анальбуминемия, болезнь Вильсона-Коновалова.</p> <ul style="list-style-type: none"> – потеря белка с кровью (острые и хронические кровотечения) и мочой (нефротический синдром). – перемещение белка в другие ткани – это образование отеков, переход в так называемое третье пространство (выпоты в серозные полости, в просвет кишечника, на ожоговую поверхность). – Повышение распада белка в организме: опухоли, повышенная функция щитовидной железы, всегда имеет место при кишечной непроходимости. – физиологическое снижение концентрации белка, например, в последние месяцы беременности и в период лактации. <p>Относительное снижение концентрации общего белка может наблюдаться при увеличении объема циркулирующей жидкости: большое введение жидкостей внутривенно-капельно, прекращении или резком уменьшении диуреза; гиперпродукции антидиуретического гормона гипоталамуса, сердечной декомпенсации. Гиперпротеинемия встречается редко. Абсолютная гиперпротеинемия (т.е. не связанная с нарушением водного баланса) наблюдается при миеломной болезни, хронических полиартритах, длительно протекающих воспалительных процессах. Относительная (т.е. вызванная снижением объема циркулирующей жидкости) - при тяжелых ожогах, перитоните, неукротимой рвоте и поносе, несахарном диабете, непроходимости кишечника, хронической почечной недостаточности, усиленном потоотделении.</p> <p>Следует помнить, что при некоторых заболеваниях, в частности кишечной непроходимости, разлитом перитоните возникающая относительная гиперпротеинемия, обнаруживаемая в биохимическом анализе крови, <u>маскирует характерный для этой патологии дефицит белка.</u></p> <p>Гипопротеинемия почти всегда связана с гипоальбуминемией, а гиперпротеинемия – почти всегда с гиперглобулинемией.</p>
Белковые фракции:	
- альбумины, 53-66 %	Смотри в строке "Клиническое значение альбумина"
- глобулины:	
- α_1 - 2,0-5,5 %	<p>Представлены в основном следующими белками:</p> <p>α_1 – <i>серомукоиды</i> (синонимы: орозомукоид, α_1 кислый гликопротеин) - роль его неясна, α_1 – <i>антитрипсин</i> – ингибирует трипсин и химотрипсин.</p> <p>Количество их <u>повышается</u> при:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Патологических процесса, связанных со значительным распадом клеток (инфекционные, гнойные, некротические процессы) – Злокачественных новообразованиях – воспалительные процессы

	<p><u>Снижение</u> отмечается при:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Заболеваниях печени (вирусный гепатит А, портальный цирроз, токсические гепатиты, при отравлении грибами) – Гломерулонефриты и нефрозы, за исключением амилоидоза, что можно использовать для дифференциальной диагностики. – Эндокринные заболевания (гипофизарная и надпочечниковая недостаточность). – Врожденная недостаточность α_1 – антитрипсина. Клинически проявляется симптомами диффузной прогрессирующей эмфиземы, поражающей в основном нижние доли легкого, хроническим бронхитом, бронхоэктазиями. Диагноз подтверждается определением α_1 – антитрипсина в крови. Это редкое аутосомно-рецессивное заболевание. <p><i>α-фетопротеин.</i> Это первый α-глобулин, появляющийся в крови млекопитающих. По своим физико-химическим свойствам близок к альбумину.</p> <p>Биологическая роль до конца не выяснена. Но предполагают, что в крови молодого эмбриона замещает альбумин и поддерживает осмотическое давление. Способен избирательно связываться с эстрогенами. В крови здоровых доношенных новорожденных не определяется.</p> <p>Появляется в крови при:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Первичных карциномах печени – Тератомах – Тяжелых заболеваниях печени, когда после деструкции происходит регенерация. <p>С фракцией α_1 глобулинов движутся также α-липопротеины (более богатые апопротеином AI).</p>
<p>- α_2 - 6,0-12,0 %</p>	<p><i>Гаптоглобины.</i> Участвует в деполяризации гликопротеинов в основном веществе соединительной ткани – обратная зависимость от гиалуронидазы. Определяя гаптоглобин можно судить о процессах, происходящих в соединительной ткани. Считается, что из биологических показателей указывающих на тяжелое повреждение соединительной ткани в период выздоровления гаптоглобин приходит в норму наиболее поздно. Гаптоглобин способен соединяться со свободным гемоглобином сыворотки крови. Комплекс гаптоглобин-гемоглобин имеет большие размеры и не может проходить через почечный фильтр. Гемоглобин не выделяется с мочой, пока весь гаптоглобин не будет насыщен, т.о. предупреждается потеря железа организмом.</p> <p><u>Повышается при:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> – Воспалительных процессах – Коллагенозах – Сепсисе – Некрозах тканей – Новообразованиях <p><u>Понижается при:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> – У новорожденных

	<ul style="list-style-type: none"> - Гемолизе - Поражении печени (синтезируется печенью) <p><i>α₂-макроглобулин.</i> Является одним из основных компонентов α₂ глобулинов. Ингибитор плазмина и трипсина, связывает инсулин и др. низкомолекулярные вещества. Участвует в развитии воспаления. Физиологическое значение около 3,5 г/л.</p> <p><u>Повышается</u> при:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Острых и хронических воспалительных процессах - Нефротическом синдроме - Сахарном диабете - Эмфиземе - Синдроме Дауна - Фибринолитической терапии - Беременности. <p><u>Понижается</u> при:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Миеломной болезни - Ревматоидном артрите. <p><i>Церуллоплазмин.</i> Связывает и участвует в транспорте меди, обеспечивает ее нормальную концентрацию в тканях. Окисляет аскорбиновую кислоту, адреналин и др.</p> <p><u>Повышается</u> при:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Гепатитах - Инфаркте миокарда - Беременности (почти в 3 раза) - Острых и хронических инфекциях - приеме пероральных контрацептивов. <p><u>Понижается</u> при:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Болезни Вильсона-Коновалова - Врожденном дефекте синтеза - У новорожденных (т.к. не проникает через плацентарный барьер)
<p>- β - 8,0-15,0 %</p>	<p><i>Трансферрин.</i> В соответствии с электрофоретической подвижностью различают 15 типов. Служит для переноса железа (это его транспортная форма), регулирует содержание сывороточного железа, играет роль в защите организма от инфекций. Концентрация в норме около 2,9 г/л.</p> <p><u>Повышается</u> при:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Железодефицитной анемии - Острых воспалительных процессах <p><u>Понижается</u> при:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Заболеваниях печени - Нефротическом синдроме и хронической почечной недостаточности - Гастроэнтеропатиях - Злокачественных новообразованиях <p>С β-глобулинами движутся <i>фибриноген</i> (белок свертывающей системы), <i>гемопексин</i> (связывается с гемоглобином, как и гаптоглобин), <i>β-липопротеиды, белки системы комплемента.</i></p>

	В случае, когда β фракция подразделяется на две, то β_1 это в основном – трансферрин и гемопексин, а β_2 - β -липопротеиды, белки системы комплемента.
- γ - 11,0-22,0 %	<p>Это иммуноглобулины пяти типов (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE), сходных по своей структуре: молекула состоит из легкой и тяжелой цепи, соединенных дисульфидными мостиками.</p> <p><u>Повышается</u> при:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Заболеваниях печени – Хронических инфекциях – Системной красной волчанке – Миеломах – Макроглобулинемии Вальденстрема – Лимфомах <p><u>Понижается</u> при:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Хроническом лимфолейкозе – Лечении цитостатиками – Синдроме иммунодефицита – У пожилых
Билирубин: - общий, 3,5-20,5 мкмоль/л	<p>Билирубин образуется, главным образом, из гема, который высвобождается из гемоглобина, когда старые эритроциты выводятся ретикулоэндотелиальной системой из кровотока. Железо гема утилизируется, а тетрапиррольное кольцо разлагается до билирубина. Другими источниками билирубина являются миоглобин и цитохромы.</p> <p>Ежедневно образуется примерно 300 мг билирубина, здоровая печень способна метаболизировать и экскретировать в 10 раз больше.</p> <p>Гипербилирубинемия сопровождается, как правило, появлением желтухи – желтого окрашивания кожи и слизистых, которое развивается при уровне билирубина в крови 27-34 мкмоль/л и более.</p> <p>Тяжесть желтухи обычно соответствует уровню билирубина:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Легкая желтуха – уровень билирубина до 85 мкмоль/л – среднетяжелая – уровень билирубина 86-169 мкмоль/л – тяжелая форма – уровень билирубина свыше 170 мкмоль/л.
билирубин конъюгированный (связанный), 2,2-5,1 мкмоль/л	Повышение концентрации связанного билирубина возникает при утечке его в кровоток из гепатоцитов или желчевыводящих путей, когда нормальные пути экскреции заблокированы (желчекаменная болезнь, опухоли, в том числе и экстрагепатобилиарные). Растворимый в воде конъюгированный билирубин, поступающий в системное кровообращение, экскретируется с мочой, придавая ей насыщенную оранжево-коричневую окраску. При полной обструкции желчевыводящих путей билирубин не поступает в кишечник, уробилин не образуется и цвет фекалий становится бледным.
Свободный билирубин (неконъюгированный)	Увеличение уровня неконъюгированного билирубина обуславливается: 1) гемолизом, 2) наследственным дефектом метаболизма билирубина и 3) паренхиматозным поражением печени.

<p>1,7-17,1 мкмоль/л</p>	<p>При <i>гемоллизе</i> гипербилирубинемия возникает вследствие повышенной продукции билирубина, которая превышает способность печени конъюгировать и выводить пигмент. <i>При наследственном дефекте метаболизма</i> билирубина концентрация свободного билирубина может быть преходящей, незначительно повышенной (с-м Жильбера) и тяжелой, выраженной, сочетающейся с печеночной энцефалопатией (с-м Криглера-Найяра). <i>При паренхиматозном поражении печени</i> вследствие угнетения конъюгационных и/или выделительных механизмов снижается способность печени метаболизировать синтезируемый в нормальных количествах билирубин, вследствие чего происходит накопление обеих фракций билирубина. Неконъюгированный билирубин является нейротоксичным и может вызывать устойчивое повреждение мозга (особенно это опасно у новорожденных с гемолитической желтухой).</p>
<p>γ-глутамилтрансфераза (ГГТ) ж- 7-32, м- 11-50 Е/л</p>	<p>Другое название γ-глутамилтранспептидаза (ГГТП). Катализирует перенос γ-глутамильных групп. Это мембраносвязанный гликопротеин, катализирующий перенос аминокислот через клеточную мембрану.</p> <p>Механизмы увеличения активности:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Повреждение тканей и высвобождение фермента 2. Индукция синтеза фермента (в частности фармацевтическими препаратами и алкоголем). <p>Фермент содержится не только в наружной мембране, цитоплазме, но и в лизосомах и микросомах клеток. ГГТ содержится мембранах тех клеток, которые обладают высокой секреторной, экскреторной или реабсорбционной способностью. Это эпителиальные клетки, выстилающие желчные пути, печеночные канальцы, проксимальные канальцы нефрона, клетки экзокринных желез, ворсинчатые клетки тонкого кишечника.</p> <p><i>Основной источник ГГТ в сыворотке:</i> гепатобиллиарное дерево, почки, поджелудочная железа.</p> <p style="text-align: center;">Причины увеличения активности ГГТ</p> <p>Превышение нормы более чем в 10 раз</p> <ul style="list-style-type: none"> – холестаз, – алкогольное поражение печени. <p>Превышение нормы в 5-10 раз</p> <ul style="list-style-type: none"> – гепатит (острый и хронический), – цирроз (без холестаза), – другие заболевания печени, – панкреатит, – ушибы головного мозга с повреждением ЦНС. <p>Превышение нормы менее чем в 5 раз.</p> <ul style="list-style-type: none"> – злоупотребление алкоголем, – прием препаратов, вызывающих индукцию ферментов (фенобарбитал, противосудорожные, рифампицин, бензодиазепины и др.), – застойная сердечная недостаточность, – хронические гломерулонефриты, пиелонефриты.

<p>Гемоглобин ж –120-150 г/л; м – 130-170 г/л</p>	<p>Гемоглобин – пигмент крови транспортирующий кислород. Состоит из белка глобина и 4-х молекул гема. Глобин состоит из двух пар полипептидных цепей (основной гемоглобин взрослых – гемоглобин А (HbA) включает 2 α- и 2 β-цепи). Возможны количественные и качественные изменения гемоглобина. количественное определение гемоглобина входит в понятие общего анализа крови.</p> <p><i>Повышение концентрации</i> гемоглобина может наблюдаться при: эритремии, симптоматических эритроцитозах, снижении объема плазмы – гемоконцентрации (например, при ожогах), у новорожденных (физиологическое повышение), у здоровых людей, проживающих в высокогорных районах..</p> <p><i>Понижение концентрации</i> гемоглобина является одним из основных лабораторных симптомов различных анемий:</p> <ul style="list-style-type: none"> – постгеморрагических, – железодефицитных, – сидеробластных, – при повышении объема плазмы (гемодилуции) и др. <p><i>Обнаружение сниженного уровня гемоглобина является показанием для тщательного обследования пациента с целью установления причины.</i></p>
<p>Глюкоза, 3,65-6,11 ммоль/л</p>	<p>Различают две основных группы гипергликемий:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Инсулярные – связанные с недостаточным содержанием в организме инсулина или обусловленные неэффективностью его действия (сахарном диабете, панкреонекрозе) 2. Экстраинсулярные – не зависящие от влияния инсулина: <ul style="list-style-type: none"> – Повышенная гормональная функция щитовидной железы (гипертиреоз), надпочечников (феохромоцитома), гипофиза – Диффузные поражения печени – Механическое и токсическое поражение ЦНС – Травмы и опухоли мозга – Эпилепсия – Сильный эмоциональный стрессе – Отравления окисью углерода, стрихнином и др. веществами. <p>Наиболее существенное значение в формировании экстраинсулярных гипергликемий имеют следующие механизмы:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Усиленный распад гликогена – Повышенный глюконеогенез – Торможение синтеза гликогена – Снижение утилизации глюкозы под влиянием гормонов – антагонистов инсулина. <p>Гипогликемия</p> <p>Опасна тем, что глюкоза является жизненно важным энергетическим сырьем для головного мозга.</p> <p>Причины гипогликемии по механизму развития можно разделить на три группы:</p>

	<ol style="list-style-type: none"> 1. Сниженный выход глюкозы 2. Увеличение утилизации глюкозы 3. Сниженный выход и увеличение утилизации глюкозы <p>На практике чаще всего наблюдается при:</p> <ul style="list-style-type: none"> – передозировке инсулина или других сахароснижающих препаратов, – гипотиреозе, надпочечниковой недостаточности, – гиперфункции островков Лангерганса поджелудочной железы (аденомы, гиперплазии, гипертрофии), – алиментарная гипогликемия (голодание, длительные перерывы между приемами пищи).
<p>Креатинин, м - 44-115 мкмоль/л; ж - 44-97 мкмоль/л</p>	<p>Креатинин происходит в основном из креатинфосфата мышц и его суточная продукция относительно постоянна и в норме зависит только от общей мышечной массы.</p> <p>При получении высоких (> 130 мкмоль/л) результатов у асимптомных больных возможны следующие клинические ситуации:</p> <p>У молодых и худощавых, без хорошо развитой мускулатуры (у девушек и астеничных юношей) – это может свидетельствовать об аномалиях развития и требует исключения заболевания почек.</p> <p>У мужчин с хорошо развитой мускулатурой – это ожидаемый результат.</p> <p>У пожилых – это отражает физиологическое (возрастное) снижение СКФ.</p> <p>Если гиперкреатининемия не объясняется указанными выше причинами – возможно заболевания почек (часто протекают без выраженной клинической картины).</p> <p>Для того, чтобы концентрация креатинина возросла до 200 мкмоль/л скорость клубочковой фильтрации должна снизиться в 2 раза. Обнаружение нормальной концентрации не говорит об отсутствии патологии, а повышенная концентрация креатинина свидетельствует в большинстве случаев о патологии почек.</p> <p>Следует помнить, что изменение концентрации креатинина может происходить независимо от состояния почек при изменении мышечной массы. Так концентрация креатинина снижается при:</p> <ul style="list-style-type: none"> голодании после хирургических операций (ампутация) при лечении кортикостероидами.
<p>Креатинкиназа, (КК, КФК) м –25-200; ж – 25-175 Е/л</p>	<p>Катализирует фосфорилирование креатина в мышцах. Содержится в мышцах, головном мозге, миокарде, щитовидной железе, легких.</p> <p>Механизм увеличения активности – повреждение тканей.</p> <p>Основной источник КФК в сыворотке: скелетная мускулатура, миокард, мозг.</p> <p>Причины увеличения активности КФК</p> <p>Превышение нормы более чем в 10 раз</p> <ul style="list-style-type: none"> – инфаркт миокарда,

	<ul style="list-style-type: none"> – острый некроз скелетных мышц. <p>Превышение нормы в 5-10 раз</p> <ul style="list-style-type: none"> – последствия хирургических вмешательств, – травмы скелетных мышц, – тяжелая физическая нагрузка, – эпилепсия, – миозит, – миодистрофия, – ревматоидный артрит. <p>Превышение нормы менее чем в 5 раз.</p> <ul style="list-style-type: none"> – физиологическое – у новорожденных, – гипотиреоз. <p>В соответствие с Международным консенсусом (2000 г) активность общей КФК является достоверным диагностическим критерием инфаркта миокарда, если ее значение в 2 раза превышает допустимый уровень.</p>
<p>МВ-фракция креатинкиназы (МВ-КФК), до 24 Е/л</p>	<p>Активная молекула КФК представляет собой димер, т.е. состоит из двух субъединиц. Два мономера М и В образуют три изофермента: ВВ – локализована преимущественно в головном мозге, ММ – локализована преимущественно в скелетных мышцах и МВ - локализована преимущественно в миокарде. Определение изоформ КФК имеет большое клиническое значение в диагностике инфаркта миокарда и инсульта. Если активность МВ-КФК и общей КФК повышены, а активность МВ-КФК составляет от 6 до 25 % от общей, то вероятность инфаркта миокарда очень велика. Иногда ложное увеличение активности МВ-КФК наблюдаться при новообразованиях почек, яичников, молочной железы, когда в крови появляется ВВ-КФК.</p> <p>В соответствие с Международным консенсусом (2000г) активность МВ-КФК является достоверным диагностическим критерием инфаркта миокарда, если максимальное значение КК-МВ, превышает установленный уровень в двух последующих определениях, или однократное значение превышает верхнюю границу нормы в 2 раза в течение первых часов после начала клинического события. Уровень КК-МВ должен повышаться, а затем снижаться, уровень КК-МВ остающийся без изменения с ИМ не связан.</p>
<p>Лактатдегидрогеназа, 225-450 Е/л</p>	<p>Обратимо катализирует окисление лактата в пировиноградную кислоту. Содержится в цитозоле клетки.</p> <p>Очень широко распространена в организме. По степени убывания активности фермента органы и ткани можно расположить в следующем порядке: почки, сердце, скелетные мышцы, поджелудочная железа, селезенка, печень, легкие, сыворотка крови. Поэтому определение только общей ЛДГ не имеет большого клинического значения.</p> <p>ЛДГ сыворотки представлена 5 изоферментами. Это количество обусловлено наличием двух генетических локусов, которые ко-</p>

	<p>дируют синтез двух олигомеров – субъединицы М (muscle) и субъединицы Н (heart). Эти две субъединицы комплексуясь в тетрамеры образуют 5 изоформ: ЛДГ₁ (НННН), ЛДГ₂ (НННМ), ЛДГ₃ (ННММ), ЛДГ₄ (НМММ), ЛДГ₅ (ММММ).</p> <p>Так как ЛДГ₁ имеет большую каталитическую активность в отношении α-гидроксibuтирата, а не лактата, то этот фермент принято называть α-гидроксibuтиратдегидрогеназа.</p> <p>Механизм увеличения активности – повреждение тканей.</p> <p><i>Основной источник сывороточной ЛДГ</i>: считается, что ЛДГ₁ происходит в основном из сердечной мышцы, а ЛДГ₅ – из печени.</p> <p>Определение ЛДГ и α-гидроксibuтиратдегидрогеназы имеют наибольшее диагностическое значение для диагностики инфаркта миокарда.</p>
<p>Мочевая кислота, м – 0,20-0,415; ж - 0,12-0,34 ммоль/л</p>	<p>Мочевая кислота у человека является конечным продуктом распада пуринов. Повышение концентрации мочевой кислоты в крови называется гиперурикемия. Мочевая кислота и ее соли (ураты) – плохо растворимы в воде, поэтому при повышении концентрации быстро кристаллизуются и агрегируют, следствием чего является подагра, нефролитиаз и нефропатия.</p> <p>К повышению концентрации мочевой кислоты приводят как многие состояния и заболевания, так и наследственный дефект пуринового обмена. Следовательно, различают гиперурикемию первичную и вторичную.</p> <p>Первичная гиперурикемия может быть обусловлена:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Снижением экскреции почками – имеется в виду идиопатическая первичная гиперурикемия – Увеличением продукции: идиопатическая первичная гиперурикемия; дефицит ферментов: глюкозо-6-фосфотазы (гликогеноз I типа) и гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы (синдром Леша-Нихана) <p>Вторичная гиперурикемия развивается вследствие:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Снижения экскреции почками – почечная недостаточность, усиление канальцевой реабсорбции (дегидратация, прием диуретиков), угнетение механизмов канальцевой секреции (кетонацидоз, лактоацидоз, прием салицилатов). – Увеличения продукции – усиленное пищевое поступление (мясо, бобы, помидоры, щавель и др.); усиленный обмен нуклеиновых кислот (миело- и лимфопролиферативные состояния); увеличенное расщепление АТФ (этанолиндуцированная гиперурикемия, тяжелобольные пациенты). <p>При беременности концентрация мочевой кислоты в сыворотке снижается, однако при снижении ренального клиренса (такие гестозы, как эклампсия и преэклампсия) – повышается. В настоящее время установлена корреляционная связь гиперурикемии у беременных и перинатальной смертностью.</p> <p>В случае, когда кристаллы мочевой кислоты и уратов откладываются в синовиальной жидкости суставов и возникают периодически повторяющиеся приступы острого артрита говорят о таком заболевании, как подагра. Не у всех больных с гиперури-</p>

	кемией развивается подагра, но у всех больных подагрой обнаруживается гиперурикемия.
Мочевина, 2,50-8,32 ммоль/л	<p>Мочевина синтезируется в печени, главным образом, как продукт общего обезвреживания аммиака. Ее выделение с мочой – главный путь экскреции азота. Определение содержания мочевины имеет наибольшее значение для диагностики заболеваний почек. Хотя в норме азот мочевины составляет около 50% остаточного азота сыворотки крови, при почечной патологии содержание мочевины растет быстрее других компонентов и может увеличиться до 90%.</p> <p>Повышение уровня мочевины в сыворотке крови наблюдается чаще всего при заболеваниях почек: при почечной недостаточности, нефритах, рефлукторной анурии, почечнокаменной болезни и др.</p> <p>Однако увеличение концентрации мочевины может быть обусловлено целым рядом причин, не связанных с заболеваниями почек:</p> <ol style="list-style-type: none"> 3. Увеличение образования мочевины <ul style="list-style-type: none"> – потребление большого количества белка – усиление катаболизма 4. Усиление реабсорбции <ul style="list-style-type: none"> – при значительном обезвоживании. <p>Следует отметить такие заболевания, как болезнь Аддисона, тяжелые инфекционные заболевания, сопровождающиеся интенсивным распадом белков, ожоги, перитониты.</p> <p>Уменьшение содержания мочевины в крови наблюдается при нарушении мочевинообразовательной функции печени в результате паренхиматозной желтухи, острой дистрофии органа, декомпенсированного цирроза.</p>
Триацилглицерины, 0,5-1,8 ммоль/л	<p>Гипертриацилглицеринемия может быть первичной, семейной, обусловленной генетической предрасположенностью (например: из-за отсутствия или недостатка липопротеинлипазы) или преобладанием в рационе некоторых продуктов (простые углеводы, алкоголь, животные жиры и др.).</p> <p>Но значительно чаще встречается вторичная гипертриацилглицеринемия, т.е. обусловленная различными заболеваниями. Наиболее часто гипертриацилглицеринемия наблюдается при: сахарном диабете, ожирении, заболеваниях почек (нефротический синдром и хроническая почечная недостаточность), приеме некоторых лекарственных препаратов (пероральные контрацептивы, мочегонные, β-блокаторы и др.),</p> <p>Гипотриацилглицеринемия, – т.е. снижение концентрации менее 0,5 ммоль/л (у взрослых) имеет значительно меньшее клинико-диагностическое значение и наблюдается при: голодании, злокачественных новообразованиях, тяжелых заболеваниях печени и т.д.</p>
Фосфатаза щелочная, до 117 Е/л	<p><i>Содержится</i> в печени, костях, кишечнике, плаценте, почках.</p> <p><i>Основной источник сывороточной ЩФ</i> – гепатобилиарное дерево и кости.</p>

	<p>Механизм повышения активности ЩФ связан:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. С индукцией фермента в печени вследствие холестаза 2. С увеличением секреции фермента некоторыми клетками, например: остеобластами. <p>Причины увеличения активности ЩФ:</p> <p><u>Физиологические:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> – Беременность – за счет синтеза фермента микроворсинками трофобласта. Во втором и третьем триместре беременности может увеличиваться в 2 раза. – Детский возраст – за счет роста костей. При рождении активность высока, затем быстро падает, но продолжает превышать норму взрослых в 2-3 раза. В подростковом возрасте снова значительно увеличивается. <p><u>Патологические:</u></p> <p>Превышение нормы более чем в 5 раз</p> <ul style="list-style-type: none"> – болезнь Педжета, – остеомалация и рахит, – холестаз (особенно экстрагепатобиллиарный), – цирроз. <p>Превышение нормы менее чем в 5 раз.</p> <ul style="list-style-type: none"> – опухоли кости (первичные и метастазы), – почечная остеодистрофия, – гиперпаратиреоз, – заживающие переломы, – остеомиелит, – объемные поражения печени, – гепатиты, – ревматоидный артрит, – язвенный колит, – карцинома бронхов, легких и молочной железы, – гипернефрома. <p>Считается, что при злокачественных новообразованиях увеличение активности ЩФ связано с тем, что многие опухолевые клетки способны сами синтезировать щелочную фосфатазу. Иногда у пожилых людей определяется повышенная активность ЩФ без каких-либо клинических проявлений, в этих случаях предполагают скрытый остеопороз.</p>
<p>Холестерин общий, 3,65-5,2 ммоль/л</p>	<p>Повышенная концентрация холестерина крови (гиперхолестеринемия) – это один из главных факторов риска развития атеросклероза. При оценке зависимости смертности от ИБС и концентрации холестерина установлено, что смертность удваивается при увеличении концентрации холестерина с 5,2 до 6,5 ммоль/л, и увеличивается в 4 раза при концентрации холестерина 7,8 ммоль/л.</p> <p>Гиперхолестеринемия может быть первичной, семейной, обусловленной генетической предрасположенностью (например: из-за отсутствия или недостатка рецепторов к ЛПНП) или преобладанием в рационе продуктов, богатых холестерином (животные жиры, яйца, твердые сыры и др.).</p>

	<p>Но значительно чаще встречается вторичная гиперхолестеринемия, т.е. обусловленная различными заболеваниями. Наиболее часто гиперхолестеринемия наблюдается при: гипотиреозе, холестазах, ожирении, заболеваниях почек, сахарном диабете, приеме некоторых лекарственных препаратов (пероральные контрацептивы, гипотензивные препараты и др.),</p> <p>Гипохолестеринемия – т.е. снижение концентрации менее 3,65 ммоль/л (у взрослых) имеет значительно меньшее клинико-диагностическое значение, наблюдается при: голодании, злокачественных новообразованиях, гипертиреозе, тяжелых заболеваниях печени и т.д.</p>
<p>Холестерин –ЛПВП (α-холестерин) м- 0,9-1,9; ж- 1,0-2,0 ммоль/л</p>	<p>ЛПВП представляют собой антиатерогенный класс липопротеинов. Синтезируются ЛПВП в гепатоцитах, энтероцитах и внутрисосудистом пространстве. ЛПВП представляет собой гетерогенный класс липопротеинов.</p> <p>В настоящее время признано, что высокий уровень холестерина ЛПВП является самостоятельным анти-риск фактором развития атеросклероза.</p> <p><i>Факторы, обуславливающие низкий уровень ХС-ЛПВП:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - принадлежность к мужскому полу; - прогестины; - ожирение; - гипертриглицеридемия; - высокое потребление углеводов; - сахарный диабет у взрослых; - низкая физическая активность; - курение. <p>Гипо-α-липопротеинемия может наблюдаться при следующих патологических процессах:</p> <p>Острый гепатит, цирроз печени, острый холецистит, сахарный диабет, нефротический синдром, острые бактериальные и вирусные инфекции, воспалительные заболевания легких, врожденная гипо-α-липопротеинемия (Танжерская болезнь), прием прогестинов, пробукола, гидрохлортиазида, лимфогранулематоз, общие тяжелые состояния, хронические энтероколиты.</p> <p>Гипо-α-липопротеинемия особое значение имеет у больных ИБС на фоне нормального уровня общего холестерина и триацилглицеринов. В этом случае уровень ХС-ЛПВП, как предиктор, несет даже большую информацию, чем уровень общего ХС или ХС-ЛПНП.</p> <p><i>Факторы, обуславливающие высокий уровень ХС-ЛПВП</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - принадлежность к женскому полу - эстрогены - высокая физическая активность - снижение массы тела - употребление алкоголя. <p>Гипер-α-липопротеинемия может наблюдаться при следующих патологических состояниях:</p>

	<p>Злоупотребление алкоголем (увеличение уровня ХС-ЛПВП одновременно с увеличением уровня ТГ и активности γ-ГТ являются патогномичным для злоупотребления алкоголем), длительный прием эстрогенов, воздействие пестицидов, токсические гепатиты, нарушения функции щитовидной железы, прием противоэпилептических препаратов</p> <p>Гиперальфахолестеринемия может быть семейной. Этот синдром связан, как правило, с низкой частотой развития ИБС и не требует специальной терапии.</p>
МОЧА	
<p>белок, г/л (или г/сутки), нет</p>	<p>В моче здорового человека содержится 0,005-0,008 г/л белка, это количество не определяется применяемыми методами исследования. В норме могут определяться следы белка – 0,025-0,1 г/л. Наличие белка в моче называется протеинурия. Потеря белка свыше 3 г/л считается массивной.</p> <p>Протеинурия бывает функциональной (или физиологической), при этом содержание белка в моче, как правило, не превышает 0,3 г/л и патологической, т.е. возникающей при различных заболеваниях.</p> <p>Физиологическая протеинурия – это временное появление белка в моче, не связанное с заболеванием. Может наблюдаться:</p> <ul style="list-style-type: none"> после значительной физической нагрузки; после переохлаждения; сильного стресса; при обильном приеме сырого яичного белка; ортостатическая юношеская протеинурия (т.е. у молодых людей утром при сборе мочи в положении лежа – белка нет, а при сборе в вертикальном положении – появляется белок в моче); при попадании в мочу крови или спермы. <p>Обычно при физиологической протеинурии белок в моче обнаруживается только в утренней порции.</p> <p>Патологическая протеинурия по механизму возникновения подразделяется на:</p> <ul style="list-style-type: none"> Ренальную, которая бывает <ul style="list-style-type: none"> клубочковой – она связана с повышенной проницаемостью почечных клубочков, это наблюдается при гломерулонефритах, артериальной гипертензии и т.д. канальцевой (тубулярной) – она связана с неспособностью канальцев реабсорбировать белки, наблюдается при амилоидозе, интерстициальном нефрите и др. Преренальная – когда усилен распад белка тканей (обычно это белок Бенс-Джонса, миоглобин или гемоглобин), наблюдается при лейкозах, миеломной болезни, наследственных заболеваниях мышц, гемолизе эритроцитов и др. Постренальная – при поражении мочевыводящих путей и половых органов (при циститах, уретритах и т.д.).

	<p>Протеинурию всегда следует рассматривать как симптом, который встречается при большом количестве заболеваний, не имеющий самостоятельного прогностического</p>
<p>глюкоза, ммоль/сут, нет</p>	<p>Моча здорового человека содержит минимальное количество глюкозы, которое обычными методами не определяется, поэтому принято считать, что в норме глюкозы в моче нет. Обнаружение глюкозы в моче называется глюкозурия. При превышении почечного порога (это 7,8-9,99 ммоль/л в крови) глюкоза появляется в моче.</p> <p><i>Почечный порог выделения</i> – это концентрация вещества в крови, превышение которой ведет к прекращению его реабсорбции в почечных канальцах.</p> <p>Почечный порог глюкозы может увеличиваться – при атеросклеротическом поражении сосудов почек, а также уменьшаться – при так называемом почечном диабете (эссенциальная почечная глюкозурия – аутосомно-рецессивное заболевание), когда глюкозурия появляется при нормальной концентрации глюкозы в крови.</p> <p><u>Глюкозурия</u> может быть:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Физиологическая – при стрессах, повышенном приеме углеводов пожилыми людьми. – Экстраренальная – т.е. не связанная с заболеваниями почек. Она встречается при сахарном диабете, панкреатитах, феохромоцитомах, гипертиреозе, инсультах, отравлениях окисью углерода, морфием, хлороформом и т.д. – Ренальная – почечный диабет, хронические нефриты, острая почечная недостаточность, гестозы беременных, отравления фосфором.
<p>билирубин, нет</p>	<p>В норме присутствующий в плазме билирубин по большей части (примерно 95 %) не конъюгирован, и поскольку он связан с белками, то не фильтруется почечными клубочками и в моче здоровых людей не обнаруживается. Билирубинурия отражает повышение концентрации конъюгированного билирубина в плазме, и это всегда — признак патологии. Наблюдается при паренхиматозной и обтурационной желтухах.</p>
<p>уробилиноген, 0,08-4,23 мкмоль/сутки</p>	<p>В кишечнике билирубин, под действием бактерий, превращается в бесцветный уробилиноген, некоторое количество уробилиногена всасывается в кишечнике и попадает в портальную кровь. Печень поглощает его не полностью, и небольшое количество уробилиногена попадает в системную циркуляцию и выводится с мочой. При гемолитической и паренхиматозной желтухах повышается. Полное отсутствие говорит о полном нарушении поступления желчи в кишечник.</p>
<p>Ванилил-миндальная кислота (ВМК), 0,7-3,8 мг/сут или 2,5-38,0 мкмоль/сут</p>	<p>ВМК является одним из конечных продуктов обмена катехоламинов. Конечные продукты образуются в результате оксиметилирования и окислительного дезаминирования катехоламинов. Небольшое преходящее повышение свидетельствует о повышении функциональной активности симпатoadреналовой системы, стойкое повышение наблюдается при феохромоцитоме. Кроме того, увеличение концентрации ВМК в моче наблюдается при:</p>

	<p>гипертонических кризах, остром инфаркте миокарда, обострении язвенной болезни, а также под влиянием курения, выраженной физической нагрузки и стрессах.</p> <p>Снижение экскреции ВМК наблюдается при болезни Аддисона, коллагенозах, лейкозах, острых инфекционных заболеваниях, когда имеет место подавление деятельности хромоаффинных клеток мозгового вещества надпочечников.</p>
<p>α-амилаза, 28-160 г/л*ч</p>	<p><i>С мочой</i> выделяется в основном панкреатическая амилаза. У здоровых людей содержание Р-амилазы в моче в 2 раза выше, чем S-амилазы. Поэтому наибольшее значение увеличение амилазы мочи имеет для диагностики острого панкреатита.</p> <p>После приступа панкреатита, после того, как активность амилазы крови возвращается к норме, в моче она может оставаться повышенной еще до 7 суток.</p> <p>При исследовании амилазы в моче следует помнить, что исследование ее разовой порции менее информативно, чем исследование амилазы в суточной моче.</p>

Перечень практических навыков для лечебного факультета

1. Метод ферментативного определения глюкозы в сыворотке крови
2. Определение общего белка в сыворотке крови биуретовым методом
3. Метод определения альбумина в сыворотке крови с бромкрезоловым зеленым
4. Метод ферментативного определения общего холестерина в сыворотке крови
5. Метод ферментативного определения триацилглицеринов в сыворотке крови
6. Расчет индекса атерогенности липидов (ИА)
7. Метод определения мочевины в сыворотке крови
8. Бензидиновая проба на кровь
9. Качественная реакция на сахар в моче
10. Качественная реакция на фенилпировиноградную кислоту (проба Фелинга)
11. Качественная реакция на кетоновые тела в моче
12. Качественное определение белка в моче (проба Геллера)
13. Определение количества глюкозы, кетоновых тел, белка и примесей крови в моче методом "сухой" химии при помощи тест-полосок фирмы Boehringer Mannheim
14. Расчет суточной дозы инсулина для больных сахарным диабетом
15. Оценка электрофоретического разделения липопротеинов
16. Оценка результатов биохимического исследования крови

Перечень практических навыков для стоматологического факультета

1. Определение общего белка в сыворотке крови биуретовым методом
2. Метод определения мочевины в сыворотке крови
3. Бензидиновая проба на кровь
4. Качественная реакция на сахар в моче
5. Качественная реакция на фенилпировиноградную кислоту (проба Фелинга)
6. Качественная реакция на кетоновые тела в моче
7. Качественное определение белка в моче (проба Геллера)
8. Определение количества глюкозы, кетоновых тел, белка и примесей крови в моче методом "сухой" химии при помощи тест-полосок фирмы Boehringer Mannheim
9. Расчет суточной дозы инсулина для больных сахарным диабетом
10. Оценка результатов биохимического исследования крови

Перечень практических навыков для фармацевтического факультета

1. Определение общего белка в сыворотке крови биуретовым методом
2. Определение мочевины в сыворотке крови
3. Бензидиновая проба на кровь
4. Качественная реакция на фенилпировиноградную кислоту (проба Фелинга)
5. Качественная реакция на сахар в моче
6. Качественное определение белка в моче (проба Геллера)
7. Качественная реакция на кетоновые тела
8. Количественное определение витамина С в хвое или шиповнике
9. Расчет суточной дозы инсулина для больных сахарным диабетом
10. Оценка результатов биохимического исследования крови

Список литературы

1. Ашмарин И.П. Молекулярная биология. М.: 1977.
2. Балткэйс Я.Я., Фатеев В.А. Взаимодействие лекарственных веществ. - М., Медицина, 1991.
3. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. - М.: Медицина. 1990.- 528 с.
4. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. – 3-е изд. - М.: Медицина. 1998. - 704 с.
5. Биохимия: учебник / под ред. Северина Е.С.. – 4-е изд.-М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 768 с.
6. Биохимия мембран // Под ред. Болдырева А.А. Кн.2. Глебов Р.Н. Эндоцитоз и экзоцитоз. - М.: Высш. шк., 1987. – 95 с.
7. Биологическая химия: учебник / А.Д. Таганович и др. / под общ. ред. А.Д. Тагановича. – Минск: Высш. школа, 2013 – 671 с.
8. Бышевский А.Ш., Терсенов О.А. Биохимия для врача. - Екатеринбург. Ур. раб. , 1994.
9. Василенко Ю.К. Биохимические основы фармации. Метаболизм лекарств. Пятигорск, 2001.
10. Введение в биомембранологию // Под ред. Болдырева А.А. - М.: Изд-во МГУ, 1990. - 208с.
11. Веселин, Петков. Лекарство, организм, фармакологический эффект. Мед. и физкультура. София, 1974.
12. Витамины // Под ред. Смирнова М.И. - М.: Мед. 1974.
13. Герасимов Г. А. Лабораторные методы в диагностике заболеваний щитовидной железы // Клиническая лабораторная диагностика. – №6, 1998. – С. 25-32.
14. Горбачев В.В., Горбачева Н.В. Витамины, микро- и макроэлементы. Справочник. - Мн.: Книжный Дом; Интерпрес-сервис 2002. - 544 с.
15. Гормонотерапия: Пер. с нем./Под ред. Шамбаха Х., Кнаппе Г., Карола В. – М.: Медицина, 1988. – 416 с.
16. Зайчик А.Ш., Чурилов Л. П. Общая патология. Ч.2. Основы патохимии (Учебное пособие для медицинских ВУЗов). – Спб., 2000. – 688 с.
17. Зайчик А.Ш., Чурилов Л. П. Общая патофизиология. (Учебник для студентов медВУЗов). – Спб., 2005. – 656 с.
18. Клиническая эндокринология: Руководство / Под ред. Н. Т. Старковой. – М.: Медицина, 2002. – 512 с.
19. Кнорре Д.Г. Биохимия нуклеиновых кислот.- СОЖ, 1996. - №3, - С. 11-16.

20. Конев С.В. Структурная лабильность биологических мембран и регуляторные процессы. - Мн.: Наука и техника, 1987. - 240с.
21. Кулаева О.Н. Белки теплового тока и устойчивость растений к стрессу // СОЖ, 1996. - №2, - С. 5-13.
22. Кулинский В.И. Обезвреживание ксенобиотиков // СОЖ, 1999. - №1. - С. 8-12.
23. Лакин К.М., Крылов Ю.Ф. Биотрансформация лекарственных веществ. М., Медицина, 1981.
24. Лелевич В.В. Особенности энергетического обмена в ткани головного мозга // Вести АН Беларуси, 1996. - №2, - С. 113-118.
25. Ленинджер А. Основы биохимии. - М.: Мир. 1985. - т. 1-3.
26. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т. 2. – М.: Мир, 1993. – 415 с.
27. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Т.1. – М.: Мир, 1993. – 384 с.
28. Мецлер Д. Биохимия. Т.1-3. Пер. с англ. под ред. Браунштейна А.Е. и др. М.: Мир, 1980.
29. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А. П. Авцын, А. А. Жаворонков, М. А. Риш, Л. С. Строчков. АМН СССР. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
30. Морозкина Т.С. Витамины: Краткое руководство для врачей и студентов мед., фармацевт. и биолог. специальностей. - Мн.: ООО «Асар», 2002.-112 с.
31. Муравьев И.А., Козьмин В.Д., Кудрин А.А. Несовместимость лекарственных веществ. М. Мед. 1978.
32. Наградова Н.К. Внутриклеточная регуляция формирования нативной пространственной структуры белков // СОЖ, 1996. - №7. - С. 10-18.
33. Николаев А.Я. Биологическая химия. - Мединфоагентство, М. - 2004.- 565 с.
34. Николаев Л.А. Лекарствоведение. - Мн. Выш. школа, 1988.
35. Ньюсхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма.- М.: Мир. -1977.
36. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов / Под ред. Ю. А. Ершова. – М.: Высш. шк., 1993. – 560 с.
37. Парк Денис. Биохимия чужеродных соединений.- М.- 1973.
38. Раевский К.С., Георгиев В.П. Медиаторные аминокислоты. М.: Мед. -1986.
39. Розенфельд Е.Л., Попова И.А. Врожденные нарушения обмена гликогена. - М.: Мед.- 1989.
40. Сергеев П.В., Николаев Л.А. и др. Биохимическая фармакология.- М. Высшая школа.- 1982.

41. Соловьев А. И., Стефанов А. В. Фармакология и токсикология оксида азота: два лица одной и той же молекулы // Современные проблемы токсикологии. - №1, 1998. - С. 35-38.
42. Строев Е.А. Биологическая химия : Учебник для фармац. инт-тов и фармац. фак. мед. ин-тов. - М.: Высш. шк., 1986. - 479 с.
43. Торбенко В.П. Касавина Б.С. Функциональная биохимия костной ткани.- М. Мед.- 1977.
44. Уайт А., Хендлер. Основы биохимии.- М.: Мир.-1981. - т. 1-3
45. Федоров Н.А., Разумовский М.Г., Чехович Г.Е. Циклические нуклеотиды и их аналоги в медицине. – М., Медицина, 1990. – 176 с.
46. Физиология человека / Под ред. В. М. Покровского, Г. Ф. Коротко. – М.: Медицина, 1998. – Т.1. – 448 с.
47. Шайтан К.В. Конформационная подвижность белка с точки зрения физики // СОЖ, 1999. - №5, - С. 8-13.
48. Шрейбер В. Патофизиология желез внутренней секреции. – Авиценнум, Прага, 1987. – 493 с.
49. Щитовидная железа. Фундаментальные аспекты / под ред. проф. А. И. Кубарко и проф. S.Yamashita.-Минск-Нагасаки, 1998. - 368 с.
50. Bile acids - Cholestasis - Gallstones: Advances in basic and clinical bile acids research / Ed. by H. From, U. Leuschner. - Kluwer Acad. Publ., 1996. – 361 p.
51. Champe P. C., Harvey R. A. Lippincotts Illustrated Reviews: Biochemistry. – 4 ed. – J. B. Lippincott Comp., 2007. – 483 p.
52. Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects / Ed. W. J. Marshall., S. R. Bargart. – Churchill Livingstone, N. Y., 1995. – 854 p.
53. Murray R. K., Granner D K., Mayes P. A., Rodwell V., W. Harper's Biochemistry. – 26 ed. – McGraw-Hill, N-Y, 2003. – 617 p.
54. Zubay G. Biochemistry. - 3-ed. - Dubuque: Wm. C. Brown Publishers, 1993. – 1024.

Учебное издание
Коневалова Наталья Юрьевна
Гребенников Игорь Николаевич
Козловская Светлана Петровна и др.

БИОХИМИЯ

(под ред. **Н.Ю. Коневаловой**)

Пособие

(4-е издание)

Редактор **Н.Ю. Коневалова**
Компьютерная верстка **В.Г. Букатая**
Корректор **Г.Н. Фомченко, В.Г. Букатая**

Подписано в печать _____. Формат бумаги 62x84 1/16.
Бумага типографская № 2. Печать – ризография. Гарнитура ТАЙМС.
Усл. печ. л. _____ Уч.-изд.л. _____. Тираж _____ экз.
Заказ № _____

Издатель и полиграфическое исполнение
УО «Витебский государственный медицинский университет».
ЛП № 02330/453 от 30.12.2013 г.

Пр. Фрунзе, 27, 210023, г. Витебск