

Учебная литература для студентов медицинских
и фармацевтических факультетов вузов

Е.Г. Зезеров

БИОХИМИЯ
(общая, медицинская
и фармакологическая)

Курс лекций

Допущено Учебно-методическим объединением по классическому университетскому образованию в качестве учебного пособия для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению 020400 «Биология» (профиль «Биомедицина») и смежным направлениям



Медицинское информационное агентство

Москва

2014

УДК 61:577.1
ББК 28.072
З-47

Автор:

Зезеров Евгений Гаврилович — доктор биологических наук, врач, профессор по специальности «Биологическая химия», лауреат Государственной премии СССР, академик Российской академии естественных наук, профессор кафедры биохимии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ.

Рецензенты:

Кушлинский Николай Евгеньевич — заведующий кафедрой клинической биохимии и лабораторной диагностики факультета последипломного образования ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава РФ, заведующий лабораторией клинической биохимии централизованного клинико-лабораторного отдела ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Российской академии медицинских наук, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Российской академии медицинских наук.

Шишкин Сергей Сергеевич — заведующий лабораторией биомедицинских исследований ФГБУ «Институт биохимии им. А.Н. Баха» Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор.

Гомазков Олег Александрович — главный научный сотрудник лаборатории структурно-функционального конструирования лекарств ФГБУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» Российской академии медицинских наук, доктор биологических наук, профессор.

Зезеров Е.Г.

З-47 Биохимия (общая, медицинская и фармакологическая): Курс лекций / Е.Г. Зезеров. — М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2014. — 456 с. + CD-ROM.

ISBN 978-5-9986-0179-8

Настоящий курс лекций основан на 24-летнем опыте чтения автором полного курса лекций по биохимии студентам медицинских факультетов 1-го МГМУ им. И.М. Сеченова на русском языке и в течение нескольких лет на французском языке для студентов фармацевтического отделения факультета подготовки иностранных специалистов. В 2009 г. был издан аналогичный книжный вариант на французском языке и на портале 1-го МГМУ размещена его электронная версия на французском языке (<http://www.mma.ru/articles/73099/>), рекомендованные Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебных пособий для студентов. Этот курс соответствует официальным программам по биохимии для вузов и выработанным десятилетиями на кафедре биохимии 1-го МГМУ рабочему плану указанных лекций.

Для студентов, обучающихся по специальностям 060101 65 — «Лечебное дело», 060301 (060108) 65 — «Фармация», 060105 65 — «Медико-профилактическое дело», 060103 65 — «Педиатрия», а также по направлению 020400 «Биология» (профиль «Биомедицина») и смежным направлениям.

УДК 61:577.1
ББК 28.072

ISBN 978-5-9986-0179-8

© Зезеров Е.Г., 2014
© Оформление. ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2014

Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в какой-либо форме без письменного разрешения владельцев авторских прав.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	5
Введение	7
Часть I (первый семестр обучения)	13
Лекция 1/1. Введение в биохимию. Аминокислоты и белки	15
Лекция 2/1. Сложные и олигомерные белки. Миоглобин и гемоглобин	27
Лекция 3/1. Ферменты (структура, классификация, механизм действия, специфичность)	40
Лекция 4/1. Регуляция активности ферментов. Ингибиторы, лекарства и ферменты. Энзимодиагностика	52
Лекция 4/1 (дополнительная). Разнообразие белков	66
Лекция 5/1. Нуклеиновые кислоты. Репликация и репарация ДНК.....	78
Лекция 6/1. Биосинтез РНК (транскрипция) и белка (трансляция)	93
Лекция 7/1. Ингибиторы матричных биосинтезов. Регуляция действия генов.....	107
Лекция 8/1. Полиформизм белков и генов. Молекулярная генетика.....	119
Лекция 9/1. Мембраны клеток.....	135
Лекция 10/1. Энергетический обмен. Дыхательная цепь митохондрий.....	151
Лекция 11/1. Общий путь катаболизма.....	162
Лекция 12/1. Углеводы. Переваривание углеводов. Метаболизм гликогена	173
Лекция 13/1. Гликолитический путь распада глюкозы.....	188

Лекция 14/1. Глюконеогенез. Регуляция гликолиза и глюконеогенеза	200
Лекция 15/1. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы. Обмен глюкозы в разных тканях. Изменение уровня глюкозы крови в норме и при патологии.....	210
Лекция 16/1. Межклеточный матрикс.....	222
Часть II (второй семестр обучения)	237
Лекция 1/2. Липиды: структура, функции, переваривание и ассимиляция	239
Лекция 2/2. Биосинтез жирных кислот и жиров.....	252
Лекция 3/2. Мобилизация жира и катаболизм жирных кислот. Кетоновые тела. Эйкозаноиды	267
Лекция 4/2. Холестерол и его функции	282
Лекция 5/2. Патология обмена липидов	296
Лекция 6/2. Переваривание белков. Катаболизм аминокислот	307
Лекция 7/2. Обмен аммиака. Биосинтез мочевины и заменимых аминокислот	319
Лекция 8/2. Обмен алифатических аминокислот	331
Лекция 9/2. Обмен ароматических и гетероциклических аминокислот	342
Лекция 10/2. Нуклеотиды. Метаболизм пуриновых нуклеотидов.....	353
Лекция 11/2. Пиримидиновые нуклеотиды. Дезоксирибонуклеотиды	365
Лекция 12/2. Гормоны	373
Лекция 13/2. Инсулин. Регуляция метаболизма в случае сахарного диабета и голодания	387
Лекция 14/2. Роль гормонов в регуляции метаболизма воды и солей.....	398
Лекция 15/2. Детоксикация ксенобиотиков. Катаболизм гема. Биотрансформация лекарств. Химический канцерогенез	411
Лекция 16/2. Биохимия крови	429
Лекция 17/2. Свертывание крови.....	443
Предметно-тематический указатель.....	452

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД	— артериальное давление
АДФ	— аденозиндифосфат
АК	— аминокислота
АЛТ	— аланинаминотрансфераза
апоЛП	— аполипопротеины
АТФ	— аденозинтрифосфат
АХ	— ацетилхолин
АХЭ	— ацетилхолинэстераза
АЦС	— аденилатциклазная система
БИФ	— бифункциональный фермент
ГАГ	— гликозаминогликаны
ГТФ	— гуанозинтрифосфат
ДАГ	— диацилглицеролы
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖК	— жирные кислоты
ИФС	— инозитолфосфатная система
КК	— креатинкиназа
КТ	— кальцитриол
ЛДГ	— лактатдегидрогеназа
ЛП	— липопротеины
ЛВП	— липопротеины высокой плотности
ЛНП	— липопротеины низкой плотности
ЛОНП	— липопротеины очень низкой плотности
МАГ	— $\beta(2)$ -моноацилглицеролы

Список сокращений

ММ	— межклеточный матрикс
мРНК	— матричная РНК
НАДФ	— никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НАДФН	— никотинамидадениндинуклеотидфосфат, восстановленная форма
ОПК	— общий путь катаболизма
ПГ	— протеогликаны
ПДК	— пируватдегидрогеназный комплекс
ПКА	— протеинкиназа А
ПЦР	— полимеразная цепная реакция
рРНК	— рибосомальная РНК
ТАГ	— триацилглицеролы
тРНК	— транспортная РНК
ХМ	— хиломикроны
ХС	— холестерол
ЦПЭ	— цепь переноса электронов
ЭР	— эндоплазматический ретикулум
ЭХС	— эфиры холестерина
2,3-БФГ	— 2,3-бисфосфоглицерат
Нб	— гемоглобин
НбА	— гемоглобин взрослого человека
НбF	— эмбриональный (фетальный) гемоглобин
Мб	— миоглобин
MetНб	— метгемоглобин

ВВЕДЕНИЕ

Лекция как одна из форм обучения существовала еще в Древней Греции и в Древнем Риме и стала основной формой обучения в средневековых университетах. М.В. Ломоносов очень любил читать лекции в Императорском Московском университете и повторял: «*Viva vox docet*» (лат.), т.е. «живой голос учит». Наши современники — педагоги и ученые — считают лекцию ведущей организационной формой обучения. «Лекция подчас является единственным способом передачи студентам новейшей научной и необходимой учебной информации» (заведующая кафедрой педагогики и психологии Российского государственного медицинского университета М.С. Дианкина, 2002).

В соответствии с официальными учебными программами для вузов РФ по многим дисциплинам, в том числе по биохимии, лекция для группы или потока студентов является первой и обязательной формой обучения перед практическими занятиями и индивидуальной работой преподавателя со студентом.

По дисциплине «Биохимия» для медицинских вузов в РФ издано несколько учебников. С 2003 г. кафедра биохимии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова (с 2010 г. — Первого Московского государственного медицинского университета) использует и рекомендует собственный учебник «Биохимия» (М.: Издательский дом «ГЭОТАР-МЕД»), который имеет определенную популярность в других медицинских вузах. Это по существу учебник XXI века! Однако его большой объем (около 780 страниц, несколько сокращенный вариант 2011 г. — 622 страницы), большая глубина и одновременно сложность изложения затрудняют понимание, усвоение и даже прочтение всего учебника некоторыми студентами. В этом плане лекция может облегчить студентам усвоение предмета, если лектор кратко и четко излагает минимально необходимый материал и тем самым подготавливает студентов к индивидуальной беседе с преподавателем и к сдаче тестов, коллоквиумов, зачетов и экзамена.

В 2004–2006 гг. мы провели анализ зависимости успеваемости студентов по биохимии на нашей кафедре от регулярности прослушивания ими лекций. Рассчитывали коэффициенты корреляции между показателями успеваемости каждого студента и частотой (в процентах) посещения им лекций. Использовали два показателя предэкзаменационной успеваемости: А — количественный (процент сданных студентом тестов и коллоквиумов до начала экзаменационной сессии) и В — качественный показатель (сумма баллов-оценок за коллоквиумы). Величины коэффициентов корреляции составили для показателя А +0,88 (2005) и +0,76 (2006), а для показателя В — +0,85 (2005) и +0,72 (2006). Достоверность этих величин статистически существенна ($p < 0,01$), а такую корреляцию принято считать в статистике сильной*. Следовательно, лекции, прочитанные разными преподавателями нашей кафедры, в том числе мною, вносят значительный вклад в успеваемость студентов по дисциплине «Биохимия».

Предлагаемый вашему вниманию курс лекций основан на 24-летнем опыте ежегодного чтения мною полного курса (33–34 лекции) на русском языке студентам медицинских факультетов 1-го МГМУ им. И.М. Сеченова (лечебный, медико-профилактический, а в последние годы и педиатрический факультеты). В течение нескольких лет этот же курс был прочитан мною и на французском языке студентам фармацевтического отделения факультета подготовки иностранных специалистов и издан отдельно в ММА на французском языке в книжном (2009) и электронном (2009) вариантах на портале ММА (<http://www.mma.ru/article/id54700>) и на портале 1-го МГМУ (<http://www.mma.ru/articles/73099/>).

В 2010 г. в процессе реального чтения полного курса лекций студентам лечебного факультета 1-го МГМУ я записал и далее сформировал на CD аудиокурс, который в 2011 г. издан массовым тиражом Издательским домом «Равновесие», а также размещен в Интернете (<http://salebook.ru/index.php?cd=2819>). Аналогичный переработанный аудиокурс лекций (в виде диска CD-ROM) прилагается к книжному варианту моего курса лекций.

Настоящее учебное пособие предназначено для студентов медицинских и фармацевтических факультетов вузов России, обучающихся по указанным в аннотации (стр. 2) специальностям. В со-

* Материалы научно-методических конференций сотрудников ММА им. И.М. Сеченова. — 2005. — С. 56–59; 2006. — С. 81–83.

ответствии с этими специальностями составлен и заключительный «Предметно-тематический указатель» (стр. 452–453), включающий разделы «Медицинские и клинические аспекты биохимии», «Механизм действия лекарств» и «Биохимия детского возраста». Каждая лекция содержит фрагменты общей биохимии (статическая, динамическая и функциональная биохимия), а также фрагменты, необходимые и актуальные для будущих врачей (молекулярные основы патологии человека, биохимические принципы и методы лабораторной диагностики заболеваний и их лечения, механизм действия лекарств). Эти разделы лекций пополнены информацией, предоставленной крупными специалистами-биохимиками Москвы в процессе чтения ими лекций на элективе МГМУ им. И.М. Сеченова «Медицинская биохимия», которым я руководил и также читал лекции (1995–2010). Из прочитанных мною на элективе лекций хочу особенно выделить две лекции по биохимии атеросклероза и одну лекцию по биохимии алкоголизма, которые записаны во время электива и представлены в аудиокурсе. В книжном варианте курса эти темы рассмотрены более кратко из-за дефицита времени.

Официальная продолжительность одной лекции (одной темы) для студентов — 60 минут. Поэтому приходилось строго отбирать минимально необходимый материал и, в отличие от учебников, кратко и сжато объяснять сущность проблем, не дублируя основной учебник, не повторяя его длинных схем и не представляя длинных метаболических цепей с их формулами.

Этот курс имеет следующие особенности. Во-первых, я не отдаю предпочтение какому-либо отдельному разделу биохимии, даже если в этой области работал лично и имею опубликованные научные труды.

Во-вторых, я врач, окончил Военно-медицинскую академию в Ленинграде, имею контакты с клиническими кафедрами 1-го МГМУ, а с 1996 г. занимаюсь научной экспериментальной работой совместно с кафедрой урологии 1-го МГМУ. К 2012 г. соответствующие результаты в области молекулярно-биологических аспектов онкоурологии отражены более чем в 40 научных работах. Эти работы посвящены проблеме биохимических механизмов ранних стадий предрака и рака предстательной железы человека, а также ранних метастазов этого рака, с разработкой соответствующих клинически ценных молекулярно-биологических маркеров: активность теломеразы в ткани простаты, содержание в крови антиоксидантов (витаминов E и C, ликопина, каротиноидов, германия) и проокси-

дантов (диеновых конъюгатов, алюминия), а также клеток с мРНК ПСА как микрометастазов. В 2007–2008 гг. три аспиранта защитили кандидатские диссертации по двум специальностям — «Урология» и «Биохимия» при моем участии как соруководителя. Поэтому в каждой своей лекции я рассматриваю медицинское значение данного раздела биохимии для будущих врачей.

В-третьих, в 1999 г. мною проанализированы все Нобелевские премии в области биохимии, присужденные в XX веке по физиологии и медицине, а также химии (Вопросы биол., мед., фарм. химии. — 1999. — № 4. — С. 50–52), а далее — и премии XXI века. К сожалению, из 71 Нобелевской премии (1902–2012) по биохимии ни одна не была присуждена достойным этого ученым России, СССР и РФ. Но количество и предмет этих премий ярко свидетельствуют о значении биохимии в медицине и биологии по сравнению с другими дисциплинами. Поэтому в моих лекциях имеются упоминания почти обо всех Нобелевских премиях в области биохимии и об их авторах. Ни в одном учебнике по биохимии на русском, английском или французском языках я не обнаружил такой полной информации за два века существования Нобелевских премий.

В-четвертых, подготавливаясь к юбилею 250-летия ММА им. И.М. Сеченова, заведующий кафедрой биохимии ММА, член-корр. РАН, профессор Е.С. Северин предложил мне в 2007 г. изучить хронику нашей кафедры и составить небольшие статьи о жизненном и научно-педагогическом пути выдающихся биохимиков, которые учились в нашем вузе или работали на нашей кафедре в XIX–XXI веках. Соответствующий сборник был мною составлен и издан кафедрой в год юбилея («Биохимики — ученые и педагоги XIX, XX и XXI веков медицинского факультета Императорского Московского университета — медицинского факультета 1-го МГУ — 1-го Московского медицинского института — Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова», 2008). Статьи из этого сборника, в том числе об авторе настоящего курса, были включены в юбилейный «Библиографический словарь. 250 лет Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова» (М.: Изд-во «Шико», 2008). Соответственно я считаю своим приятным долгом упомянуть моих бывших и настоящих коллег по кафедре, указав их фамилии в тех разделах биохимии, в которых они оставили память о себе как о наших отечественных ученых и педагогах-биохимиках.

Наша кафедра была создана А.Д. Булыгинским в 1863 г. в составе медицинского факультета Императорского Московского

университета. Первоначальное название кафедры — «кафедра медицинской химии и физики», а с 1884 г. — «кафедра медицинской химии». А.Д. Булыгинский работал в области биохимии пищеварения, изучал желчные кислоты и состав мочи. Считаю интересным сопоставить год (1892) создания аналогичной кафедры медицинской (физиологической) химии в Медико-хирургической академии в Санкт-Петербурге (позже — Военно-медицинская академия), первым заведующим которой был А.Я. Данилевский. Он также оставил научные труды в области биохимии пищеварения и биохимии белков.

Я в качестве слушателя (студента) занимался в течение пяти лет научной работой под руководством будущего академика АМН СССР и РАМН А.Н. Климова на кафедре биохимии Военно-медицинской академии, которую окончил в 1957 г. Тема моих студенческих работ — «Реакции гликолиза, дыхание и синтез АТФ в связи с токсическим действием антибиотиков на организм человека». В последующие годы (1957–1990) в НИУ МО СССР под руководством академика АМН СССР и РАМН И.П. Ашмарина я занимался исследованиями в области биохимии и иммунохимии вирусов и риккетсий, за что в 1982 г. мне и троим ученикам моей научной школы была присуждена Государственная премия СССР. Часть соответствующих трудов (микрометоды биохимического анализа, выделение и критерии очистки нуклеиновых кислот микроорганизмов в связи с их биологической активностью, биохимический и иммунохимический состав некоторых вирусов и риккетсий в аспекте молекулярных или химических вакцин нового типа, биохимия анабиоза, биостатистика) опубликована в научных журналах и в монографии «Стандартизация методов вирусологических исследований» (М.: Медицина, 1974).

Перечисляю всех заведующих нашей кафедрой и соответствующие годы:

- Булыгинский Александр Дмитриевич (1863–1907);
- Гулевич Владимир Сергеевич (1907–1933), имя В.С. Гулевича носит наша кафедра;
- Збарский Борис Ильич (1934–1952);
- Мардашев Сергей Руфович (1952–1973);
- Николаев Александр Яковлевич (1973–1994);
- Северин Евгений Сергеевич (1994–2009);
- Северин Сергей Евгеньевич (с 2009 г.).

По известным мне данным, кафедра биохимии ММА им. И.М. Сеченова (с 2010 г. Первого Московского государственного медицин-

ского университета) имеет в своем активе научные труды в следующих разделах биохимии (с указанием сотрудников кафедры):

- мышечные белки — И.И. Иванов;
- ферменты и регуляция их активности — С.Р. Мардашев, Т.Т. Березов, А.А. Покровский, С.С. Дебов, Е.С. Северин, С.Е. Северин, С.А. Силаева, Н.П. Волкова, Л.Е. Андрианова;
- энзимодиагностика заболеваний человека — С.Р. Мардашев, Т.Т. Березов, С.С. Дебов, А.А. Покровский, А.Я. Николаев, В.А. Буробин, С.Е. Северин;
- репликация (И.И. Вотрин) и репарация (В.А. Голенченко) ДНК;
- обмен нуклеиновых кислот и модификация ДНК — С.С. Дебов, А.И. Глухов, Г.В. Рубцова;
- теломераза — А.И. Глухов, С.Е. Северин, Е.Г. Зезеров;
- полимеразная цепная реакция и ее использование в медицинской практике — А.И. Глухов, Е.С. Северин, С.Е. Северин, О.М. Забежинская;
- трансляция — А.Я. Николаев, И.И. Вотрин, П.З. Хасигов;
- генная инженерия — С.С. Дебов, И.И. Вотрин;
- углеводы — Л.М. Броуде, С.Е. Северин-старший;
- желчные кислоты, состав мочи — А.Д. Булыгинский;
- перекисное окисление липидов — А.Е. Губарева, Е.Г. Зезеров;
- обмен аминокислот и белков — Б.И. Збарский, С.Р. Мардашев, А.Я. Николаев, Е.С. Северин, Т.Т. Березов, Л.И. Обельчук, Н.А. Павлова;
- обмен гистидина — С.Р. Мардашев, В.А. Буробин, С.А. Федоров, Е.В. Осипов, Н.В. Лихачева, О.В. Корлякова;
- нуклеотиды и их обмен — С.С. Дебов, А.Я. Николаев, С.А. Силаева, Л.В. Авдеева, С.Н. Силуянова;
- свертывание крови — Е.С. Зыкова;
- в области канцерогенеза (молекулярные механизмы, диагностика и лечение заболеваний) работали или работают Б.И. Збарский, С.С. Дебов, Т.Т. Березов, С.Р. Мардашев, Ю.М. Васильев, Е.С. Северин, С.Е. Северин, А.И. Глухов, Е.Г. Зезеров, С.А. Силаева, Н.Н. Белушкина, Д.В. Астахов, А.В. Родина, О.М. Забежинская.

*Е.Г. Зезеров
Москва, 2014 г.*

ЧАСТЬ I
(ПЕРВЫЙ СЕМЕСТР ОБУЧЕНИЯ)

Лекция 1/1

ВВЕДЕНИЕ В БИОХИМИЮ. АМИНОКИСЛОТЫ И БЕЛКИ

Студенты!

Вы теперь занимаетесь на кафедре биохимии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова. Наша дисциплина является очень сложной и трудной для вас, но она и очень важна для будущего врача. Каждый врач, фармаколог или фармацевт должны знать биохимию.

Медицинская биохимия включает:

- 1) биохимию здорового человека;
- 2) биохимию больного человека;
- 3) биохимические аспекты механизма действия лекарств.

Объект медицинской биохимии — человек. Предмет биохимии — различные молекулярно-биологические признаки. А именно:

- 1) химический состав, т.е. статическая биохимия;
- 2) метаболизм, т.е. динамическая биохимия;
- 3) связь химического состава организма и метаболизма с генетическими признаками, т.е. функциональная биохимия.

Биохимия необходима для врача потому, что она рассматривает:

- 1) биохимический (молекулярный) механизм наследственных и ненаследственных заболеваний человека, т.е. их причину;

- 2) методы лабораторной биохимической диагностики болезней;
- 3) принципы лечения заболеваний глазами биохимика и биохимический механизм действия лекарств.

Значение биохимии для фармаколога и фармацевта заключается в том, что биохимия дополнительно изучает:

- 1) биохимический механизм действия лекарств, включая их биотрансформацию в организме человека и ферменты, которые являются мишенями для медикаментов;
- 2) возможные методы получения лекарств с помощью ферментов, бактерий и генной инженерии;
- 3) методы анализа с использованием ферментов.

Вы уже знакомы с элементами биохимии в школах, колледжах и на первом курсе университета. Мы с вами рассмотрим биохимию полностью.

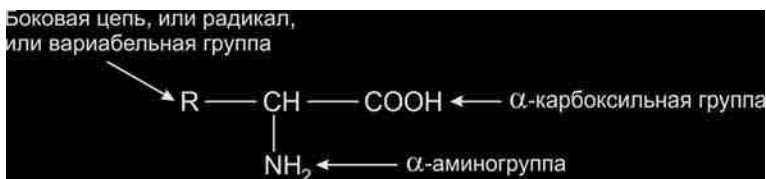
Я, Зезеров Евгений Гаврилович, профессор кафедры биохимии, врач, что определяет особенности моего курса лекций, отмеченные во введении.

Я прошу вас посещать каждую лекцию и каждое практическое занятие по биохимии. Иначе у вас будет много отработок и будут проблемы с успеваемостью. Не опаздывайте на лекции и занятия! Вы можете также принять участие в научной работе нашей кафедры во время учебы и после окончания университета, а также поступить в аспирантуру по биохимии.

АМИНОКИСЛОТЫ

Вспомните или изучите и запомните.

1. Химическую классификацию аминокислот (АК). Вы должны знать формулы 20 кодируемых аминокислот и их сокращения. Общая формула всех кодируемых АК (кроме пролина и оксипролина):



2. Вторая классификация АК основана на различиях в физико-химических свойствах их радикалов (табл. 1/1.1). Выучите! В противном случае вы не сможете решать наши задачи.

Таблица 1/1.1

Физико-химические свойства радикалов аминокислот

Радикал или переменная группа, или боковая цепь	Аминокислота и ее символ
Радикал гидрофобный, неполярный или алифатический	Изолейцин – Иле Фенилаланин – Фен Валин – Вал Лейцин – Лей Триптофан – Три Метионин – Мет Аланин – Ала Глицин – Гли Пролин – Про
Радикал гидрофильный, полярный, незаряженный	Цистеин – Цис Тирозин – Тир Треонин – Тре Серин – Сер Глутамин – Глн Аспарагин – Аспн
Радикал гидрофильный, полярный, заряженный	Глутаминовая кислота – Глу ⁻ Аспарагиновая кислота – Асп ⁻ Лизин – Лиз ⁺ Аргинин – Арг ⁺ Гистидин – Гис ⁺

БЕЛКИ

Белки – это биополимеры, состоящие из 20 АК.

Особенности белков

1. Множество белков: человек содержит около 35 000 различных белков (кроме антител), которые составляют 45% сухой массы тела человека.

2. Большая молекулярная масса белков: от 6000 до 6 млн Да.

3. Белки дают много химических реакций благодаря разным химическим особенностям их радикалов.

4. Белки обладают разнообразными функциями: структурными, ферментативными, гормональными, регуляторными, ре-

цепторными, способны переносить эндогенные и экзогенные вещества (лекарства), защитные функции (антитела).

Таблица 1/1.2

Терминология, связанная с белками

Термин	Число аминокислот
Пептид или олигопептид	До 10–50
Полипептид или белок	Более 50
Белок минимальный (инсулин)	51
Средний белок	200–500

Структура белков — это повторение школьного курса и первого курса университета. И все-таки рассмотрите еще раз табл. 1/1.3: четыре структуры белков и виды химических связей, которые эти структуры формируют.

I. Первичная структура. Это полипептидная цепь из 20 различных кодируемых аминокислот.

Остов или «скелет» цепи (без радикалов):



Определение: первичная структура — последовательность аминокислот в полипептидной цепи, а точнее — последовательность различных радикалов аминокислот в этой цепи.

II. Вторичная структура формируется благодаря водородным связям между α-карбонильными (C = O) и α-иминогруппами (HN-) остова цепи, т.е.

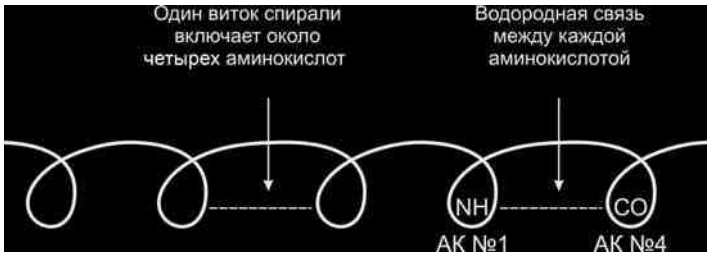


Виды различных структур белка

	Конформация одной пептидной цепи		Четвертичная структура (количество цепей — две и более)			
	Первичная структура	Вторичная структура		Третичная структура (одна цепь)		
Понятие	Порядок чередования аминокислот в полипептидной цепи	Способ укладки полипептидной цепи в форме α -спирали или β -структуры	Объединение в определенном порядке двух или большого количества протомеров в молекуле олигомерного белка. Взаимное узнание протомеров обусловлено особой комплементарной структурой контактных поверхностей			
Связи, участвующие в формировании структуры	Пептидные	Водородные	Межрадикальные			
				Дисульфидные	Ионные	Гидрофобные
Группы, участвующие в образовании связей	α -амино- и α -карбок- сильные	α -спираль; NH-группа данного остатка аминокислоты и -CO-группа четвертого от него остатка в пептидном остове.	Сульфгидрильные или тиольные	Противоположно заряженные	Алифатические, ароматические	Группы, при сближении которых протон расположен между двумя электроотрицательными элементами

Два вида вторичных структур:

1) правая α -спираль:



2) β -конформация или β -складчатая структура:



Не все АК участвуют в образовании водородных связей β -складчатой структуры в отличие от α -спирали. Возможно также образование клубков без какой-либо определенной структуры.

Как итог в большинстве белков имеются:



Некоторые белки отличаются преобладанием вторичной структуры в виде α -спиралей (глобины, тропомиозин, инсулин, лизоцим) или β -структур (трипсин, химотрипсин, РНКаза). Среди последних (с преобладанием β -структур) следует отметить также такие патологические белки, как инфекционные β -прионы (болезни людей — куру, «бешенство коров» или болезнь Крейтц-

фельдта—Якоба и др.) и β -амилоид, который образует нерастворимые в воде и клеточных жидкостях фибриллы, устойчивые к протеазам, и вызывает болезнь нервной системы (Альцгеймера) и амилоидоз ряда органов (почек, сердца, сахарный диабет 2-го типа).

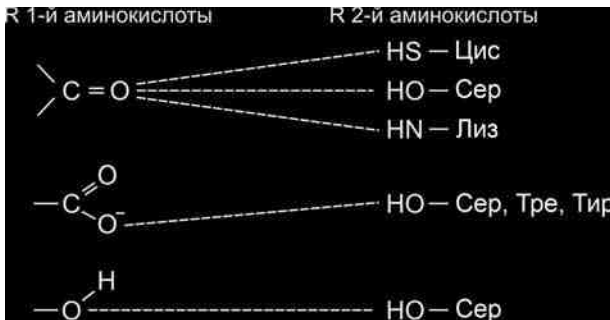
Варианты вторичной структуры формируют третичную структуру.

III. Третичная структура

В форме	Глобулярной	Фибриллярной
Примеры белков	Альбумин, глобулины, многие ферменты	Миозин, коллаген, эластин, кератин

Третичная структура белков формируется при участии следующих химических связей между радикалами аминокислот: водородная, ионная, гидрофобная нековалентные слабые связи и ковалентная дисульфидная связь (см. табл. 1/1.3).

В противоположность одному варианту водородной связи для вторичной структуры для третичной структуры существует несколько вариантов межрадикальной водородной связи:



Заключительное определение: «Конформация белков является трехмерной структурой, т.е. это совокупность вторичной,

третичной и четвертичной структур». Однако для более точного и строгого формирования пространственной структуры данного белка в процессе синтеза и после его синтеза в рибосомах необходимо участие других белков цитозоля — шаперонов, которые обеспечивают фолдинг формирующегося белка.

Иногда выделяют особый вид — супервторичную структуру белка, которая по существу является вариантом третичной структуры, так как в ее основе лежат межрадикальные связи. Это «цинковые пальцы» ДНК-связывающих белков, «лейциновая застёжка» между гистонами в нуклеосомах клеточных ядер.

В отличие от органической химии белков для биохимии существуют две собственные проблемы, связанные с белками:

- 1) специфичность белков;
- 2) механизм работы белков.

Первый вопрос. Формулировка: «Специфичность белков определяется их первичной структурой». Эта специфичность очень высокая. Почему?

Существует 20 кодируемых аминокислот. Количество аминокислот в молекуле белка и их множественные комбинации — вот две причины разнообразия и специфичности белков.

Таблица 1/1.4

Демонстрация разнообразия белков

Количество разных АК в данном белке	Число вариантов белка (при условии включения каждой АК однократно); расчет по n -факториалу
2	2
3	$3 \times 2 \times 1 = 6$
20	10^{18}

Современный человек имеет около 35 000 разных белков и соответствующих генов, не считая 10^7 возможных разных иммуноглобулинов (антител).

Два примера.

Первый пример

А. Нормальный основной гемоглобин HbA здорового человека и его нормальные овальные эритроциты.

Б. Мутантный гемоглобин HbS находится в серповидных эритроцитах человека, имеющего наследственное заболевание —

серповидноклеточную анемию, встречающуюся достаточно часто в южных странах в очагах малярии. Симптомы этой болезни: головные боли, одышка, частое сердцебиение, боли в верхних и нижних конечностях, т.е. признаки гипоксии.

Причина этой болезни — мутация типа замены нуклеотидов в гене β -глобина гемоглобина и последующее изменение в первичной структуре β -глобина (рис. 1/1.1).

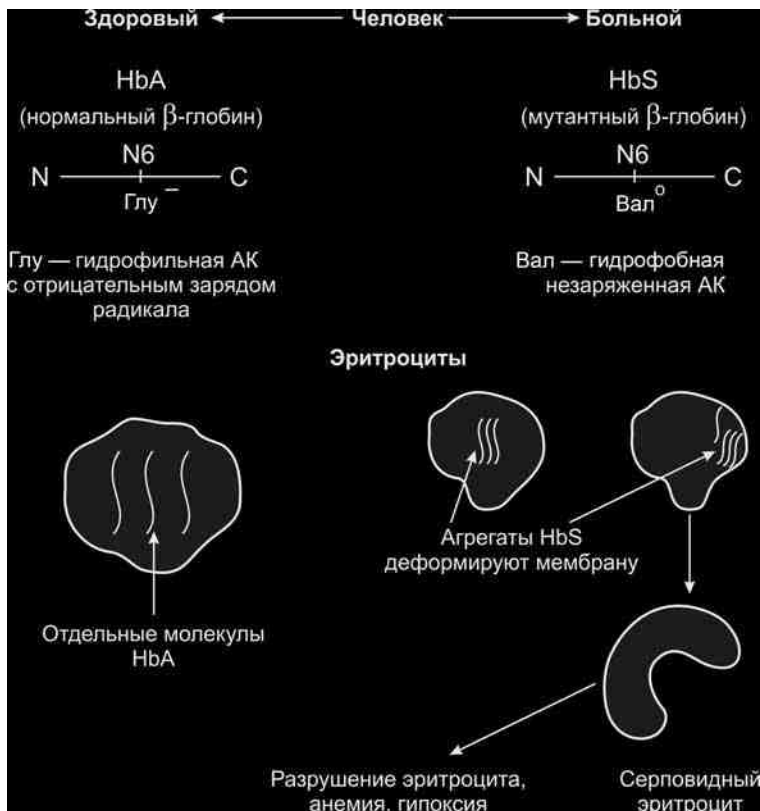


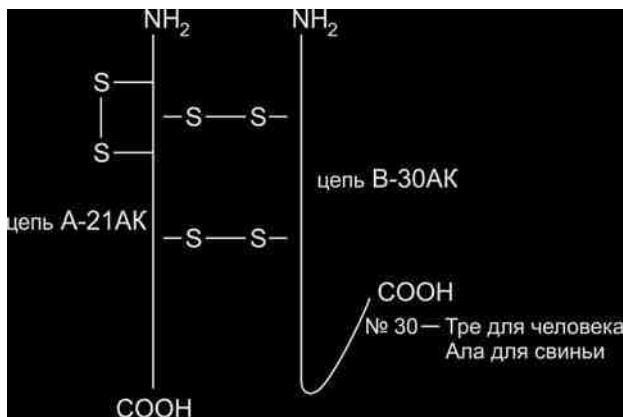
Рис. 1/1.1. Особенности мутантного гемоглобина НбS

Заключение, вытекающее из этого примера: обратите внимание на принципиальную роль первичной структуры белка для формирования других более высоких структур белка и для функций белка.

Второй пример

Минимальный белок — инсулин (51 АК) — синтезируется в поджелудочной железе (Нобелевские премии 1923 и 1958 гг.). Мы используем также инсулин человека и инсулин животных как лекарство для лечения сахарного диабета 1-го типа.

Инсулин состоит из двух полипептидных цепей, связанных дисульфидными связями (S-S).



Первичная структура инсулина человека и инсулинов животных несколько различается (табл. 1/1.5).

Таблица 1/1.5

Различие инсулинов человека и животных

Инсулин	Различие по числу АК	Эффективность как лекарства для больных с сахарным диабетом
Человека	—	Максимальная
Свиней	1	Меньше
Коров	3	Еще меньше
Овец	4	Без эффекта
Кур	6	Без эффекта

Поэтому терапевтическая эффективность человеческого инсулина для больных людей является более высокой.

Итак, замещение даже одной или нескольких аминокислот в первичной структуре белков изменяет их специфичность и биологическую активность.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ БЕЛКОВ

Рассмотрим второй вопрос. Как работают белки и почему эта работа специфична?

На поверхности молекулы белка имеется полость, сформированная третичной структурой (в случае антител и миозина — четвертичной структурой) белка, т.е. радикалами аминокислот. Это активный центр белка (фермента) или центр связывания лиганда (субстрата).



Лиганд взаимодействует с активным центром по принципу комплементарности — стереометрическому (по форме) и химическому (максимальное число связей) соответствию.

Лиганды являются различными молекулами: белки, аминокислоты, жирные кислоты, другие органические вещества, металлы, лекарства. Лиганды могут быть:

- а) естественные эндогенные вещества: субстраты для ферментов, молекулы, транспортируемые внутри организма (гормоны, жирные кислоты) и регулирующие активность ферментов и белков (гормоны);
- б) искусственные — экзогенные вещества: лекарства, металлы, токсины, яды.

Как правило, связи между активным центром белка и лигандом являются нековалентными и слабыми. Взаимодействие активного центра и лиганда и есть работа белка (фермента). Например, это катализ для фермента, транспорт веществ и лекарств, регуляция функций белков (ферментов).

Почему функционирование белков очень специфично? Ответ: активный центр и его лиганд точно соответствуют друг другу по принципу комплементарности.

Этот принцип — фундамент специфичности функционирования белков (ферментов).

В процессе работы белков, т.е. в момент взаимодействия их активного центра и его лиганда, изменяется конформация этого белка. А именно происходит разрыв одних и образование других слабых связей в активном центре и в других участках молекулы белка. Это феномен лабильности конформации белков и ферментов, который усиливает комплементарность между белком и его лигандом (иначе — это индуцированное соответствие) и, следовательно, увеличивает специфичность функционирования белков (ферментов).

В заключение рассмотрите итоговую схему: ген (часть молекулы ДНК) → первичная структура ДНК (гена) → первичная структура белка (фермента) определяет вторичную и третичную структуру (конформацию) этого белка и его активного центра → специфичность активного центра → его взаимодействие с лигандом на основе их комплементарности, определяющей специфичность взаимодействия → специфическая функция белка (фермента) → это фундамент генетических признаков биологических видов, включая человека.

Следовательно, первичная структура белков обеспечивает их разнообразие и специфичность. Она детерминирует вторичную, третичную и четвертичную структуры белков и их активного центра. Но непосредственно активный центр формируется третичной (реже — четвертичной) структурой.

В заключение суммирую примеры, показывающие важную роль первичной структуры для строения и функционирования белков:

- 1) строение и функции HbA и HbS;
- 2) инсулины человека и животных;
- 3) сравнение строения и функций двух гормонов — антидиуретического гормона (неточное старое название — вазопрессин) и окситоцина (рассмотрите этот пример по учебным материалам);
- 4) феномен ренатурации (ренативации) белков (в следующей лекции).

Лекция 2/1

СЛОЖНЫЕ И ОЛИГОМЕРНЫЕ БЕЛКИ. МИОГЛОБИН И ГЕМОГЛОБИН

Простые белки состоят только из аминокислот. Сложные белки состоят из аминокислот и из других органических или неорганических (металлы) веществ (табл. 2/1.1).

Таблица 2/1.1

Сложные белки

Простетическая группа	Сокращенное обозначение белка	Связи между белковой и небелковой частями
Нуклеиновые кислоты	НП	Нековалентные
Липиды	ЛП	
Металлы	МП	
Углеводы	ГП	Ковалентные
Фосфор	ФП	
Йод	ИП	

Необходимо знать некоторую терминологию, характерную для сложных белков:

- сложный белок или холопротеин ↔ апопротеин (из аминокислот) + простетическая группа;
- или для фермента — сложного белка: холоэнзим (холофермент) ↔ апоэнзим (апофермент) + кофактор.

Если сложный белок является стабильным, т.е. две его части связаны ковалентными или множеством слабых нековалентных связей, то равновесие в указанных уравнениях смещено влево

(ФАД-зависимые дегидрогеназы) и наоборот (НАД-зависимые дегидрогеназы).

Понятие о доменных белках. Такие белки содержат в одной протяженной полипептидной цепи (более 200 аминокислот) несколько разных доменов, т.е. центров связывания (активных центров) для разных лигандов, и они могут выполнять разные функции. Такой белок является полифункциональным, но его кодирует один ген.



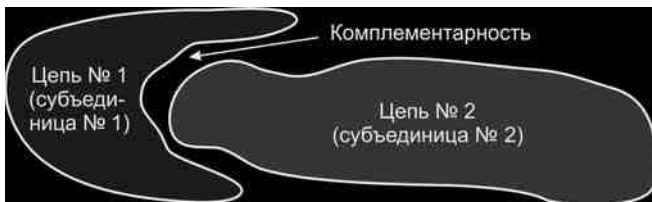
Примеры подобных белков-ферментов: пальмитилсинтаза (содержит семь активных центров в одной цепи), КАД-фермент (три центра), УМФ-синтаза (два центра). Доменные белки, имеющие важное медицинское значение: легкая и тяжелая цепи иммуноглобулинов, глобины гемоглобина (Hb) и альбумин.

Альбумин плазмы крови — глобулярный гликопротеин, состоит из одной полипептидной цепи (585 аминокислот) с 17 дисульфидными связями и имеет не только много цистеина, но и дикарбоксильных аминокислот и поэтому несет на поверхности 18 отрицательных зарядов. Последнее обуславливает изоэлектрическую точку этого белка в районе рН 4,5. Альбумин имеет разные центры связывания для переноса гормонов (альдостерона, йодтиронинов), жирных кислот (одна молекула альбумина имеет два соответствующих центра), металлов (Na, Ca, Cu, Mg, Zn).

Олигомерные белки или белки с высшей четвертичной структурой имеют нескольких полипептидных цепей, соединенных между собой различными и прежде всего межрадикальными связями (см. табл. 1/1.3 в предыдущей лекции). В случае гомоолигомеров полипептидные цепи Р идентичны: пируваткиназа 4Р, гексокиназа 2Р, лактатдегидрогеназа 4Р (ЛДГ₁ и ЛДГ₅). Гетероолигомерные белки состоят из разных полипептидных цепей: гемоглобин включает два α- и два β-глобина плюс четыре гема, миозин 2А + 4В, IgG 2L + 2H.

Свойства олигомерных белков.

1. После синтеза в рибосомах отдельных полипептидных цепей они объединяются друг с другом по принципу химической и геометрической комплементарности.



В случае инсулина в рибосомах β -клеток поджелудочной железы синтезируется большой предшественник — препроинсулин, который после частичного протеолиза образует цепи А и В, соединяющиеся дисульфидными и другими межрадикальными связями (см. предыдущую лекцию).

2. Биологическая или ферментативная активность олигомерных белков регулируется аллостерическим способом. Поэтому эти белки называют еще *аллостерическими*.

У некоторых белков и ферментов очень сложные структурно-функциональные взаимосвязи. Определенные домены в двух полипептидных цепях гексокиназы и трипсина, в легкой и тяжелой цепях иммуноглобулина IgG формируют один активный центр. В молекуле миозина 2A4В домены одной цепи А и двух цепей В образуют ферментативный активный центр 1A2В, обладающий активностью АТФазы, обеспечивающей мышцу энергией АТФ для ее сократительной функции. По существу в этих случаях активный центр формируется на уровне четвертичной структуры белка.

МИОГЛОБИН (МЬ) И ГЕМОГЛОБИН (НЬ)

(Нобелевская премия 1962 г.) (Иванов И.И.)

Эти два белка обладают способностью связывать кислород (табл. 2/1.2). А именно:

O_2 воздуха \rightarrow легкие \rightarrow эритроциты с НЬ \rightarrow НЬ O_2 \rightarrow ткани и органы
 \downarrow
 мышцы с МЬ O_2

MbO₂ мышц выполняет функции кислородного депо, во-первых, обеспечивающего мышцы кислородом при длительной работе, и, во-вторых, иногда это депо кислорода для других органов (мозга!), если концентрация кислорода в крови становится недостаточной. Поэтому у сердечно-сосудистых больных, альпинистов, йогов, способных долго находиться под водой, компенсаторно происходит увеличение содержания миоглобина в гиперфигурованных миоцитах.

Очень детально белки мышц изучал И.И. Иванов — ассистент (1934–1937), а затем и профессор (1945–1952) кафедры биохимии 1-го МГМУ.

Таблица 2/1.2

Сравнение свойств миоглобина и гемоглобина

Показатель	Миоглобин	Гемоглобин
Высшая структура	Третичная	Четвертичная
Число полипептидных цепей	1	4
Белок	Сложный	Сложный
Простетическая группа	1 гем	4 гема
Общая структура	1 апо Mb + 1 гем	2 α-глобина 2 β-глобина 4 гема
Итог	Сложный неолгомерный белок	Сложный олигомерный доменный белок

Схема 2/1.1. Структура молекул гемоглобина

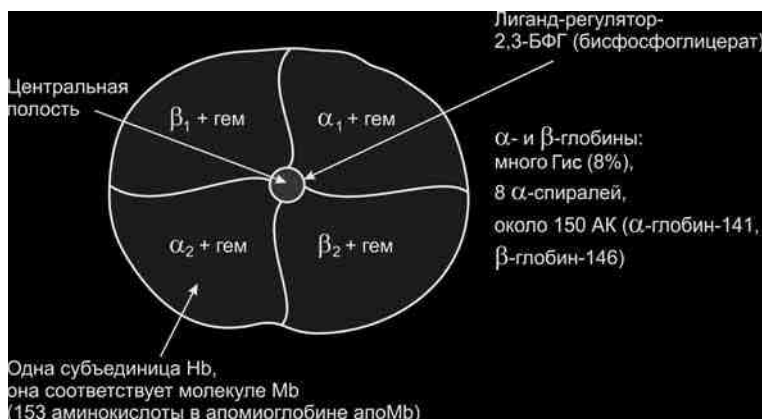
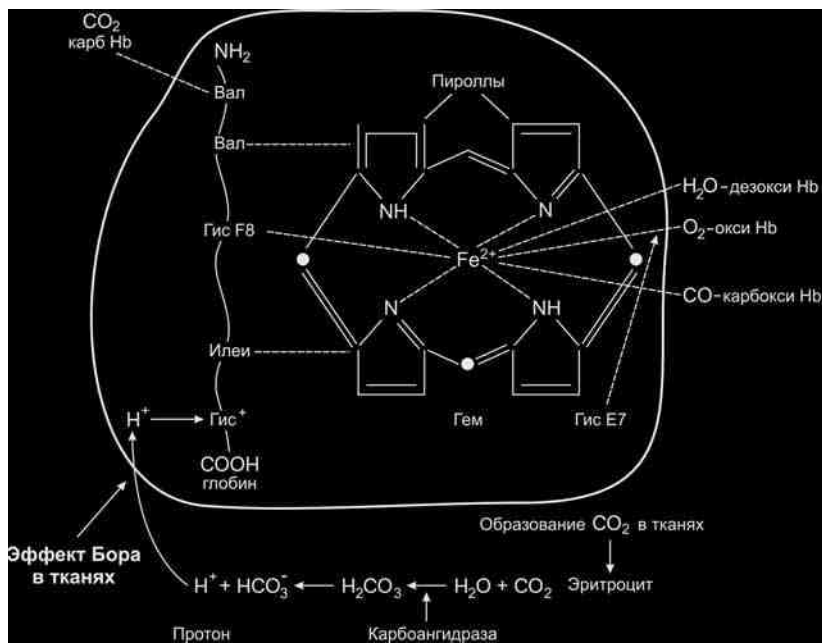


Схема 2/1.2. Структура одной субъединицы гемоглобина



Белки Hb — глобины — содержат много гистидина (8%), который выполняет важную структурно-функциональную роль. α -глобин состоит из 141 аминокислоты, а β -глобин — из 146. В молекуле обоих глобинов имеется восемь α -спиралей, включающих 7–23 аминокислоты. Эти спирали обозначаются латинскими буквами. Выделяют роль следующих гистидинов: ГисF8 находится в 6-й F- α -спирали (8-я АК), занимая 87-е место в α -глобине и 92-е место в β -глобине, считая от N-конца глобина. ГисF8 играет «анатомическую» роль в субъединице молекулы Hb, образуя координационную якорную связь с железом гема (схема 2/1.2). ГисE7 (7-е место в 5-й α -спирали) облегчает связывание кислорода с железом гема и несколько уменьшает сродство гема к монооксиду углерода CO. Оба глобина Hb и белки мембраны эритроцитов должны постоянно иметь свободные сульфгидрильные SH-группы. Если они окисляются и превращаются в дисульфидные -S-S-группы, то такой Hb агрегирует в тельца Хайнца, а эритроциты с мембранами, модифицирован-

ными тельцами Хайнца, легче поглощаются макрофагами и наступает гемолиз. Образующийся в эритроците восстановитель НАДФН прямо или опосредованно поддерживает нужный уровень SH-групп в Hb, защищает мембрану эритроцитов от окисления и обеспечивает их нормальное функционирование.

Железо гема должно быть всегда со степенью окисления +2 (Fe^{2+}), оно связывает гистидин F8 глобина и четыре пиролла с помощью координационных связей. Шестой координационной связью железо присоединяет поочередно три рабочих (эффеторных) лиганда: кислород, воду или ингибитор оксид углерода CO. Четвертый рабочий лиганд — углекислый газ CO_2 (диоксид углерода) присоединяется в тканях ковалентной связью к N-концу глобина, образуя карбгемоглобин, и далее карбгемоглобин транспортируется кровью в легкие вместе с CO_2 , растворенной в плазме крови. Большая часть CO_2 (примерно 80%) переносится кровью из тканей в легкие в форме HCO_3^- (см. схему 2/1.2). Регуляторными лигандами являются протон H^+ и 2,3-бисфосфоглицерат (2,3-БФГ) (см. схемы 2/1.1 и 2/1.2).

Как функционирует гемоглобин в составе эритроцитов?

1. В тканях: при низкой концентрации кислорода железо гема связывает воду и образуется дезоксигемоглобин.
2. В легких: дезоксигемоглобин присоединяет четыре молекулы O_2 , превращаясь в оксигемоглобин.
3. Оксигемоглобин в составе эритроцитов перемещается в капилляры тканей. Тканевой углекислый газ формирует протон (см. схему 2/1.2), который связывается с гистидином глобинов, увеличивая их положительный заряд. Поэтому количество ионных связей внутри молекулы гемоглобина между его субъединицами увеличивается, сродство гемоглобина к кислороду уменьшается и свободный кислород поступает в ткани для метаболизма. Это и есть эффект Бора в тканях, т.е. углекислый газ в тканях (а точнее протон) вытесняет кислород из гемоглобина. И напротив, в легких кислород освобождает CO_2 из эритроцитов и плазмы крови.

Следовательно, гемоглобин выполняет функции: 1) транспорт кислорода воздуха через легкие в ткани; 2) обратный транспорт углекислого газа.

Второй лиганд-регулятор — 2,3-БФГ (см. схему 2/1.1) имеет пять отрицательных зарядов и образует в венозной крови (в тканях) ионные связи в центральной полости Нб между двумя молекулами β -глобина. Эти связи дополнительно к протонам также уменьшают сродство гемоглобина к кислороду и увеличивают поступление последнего в клетки. Повторим, что оба регулятора — протон и 2,3-БФГ функционируют только в тканях, но не в легочной крови.

Моноксид углерода СО (продукт неполного сгорания органических веществ, компонент табачного дыма и автомобильных выхлопов) имеет примерно в 200 раз более высокое сродство к Нб, чем O_2 , конкурентно ингибирует связывание кислорода эритроцитами и поэтому токсичен, вызывая при большой концентрации в воздухе гипоксию и даже смерть. Считается, например, что постоянное курение выключает примерно 10% гемоглобина, стоит напомнить также о 25% риске возникновения рака легких.

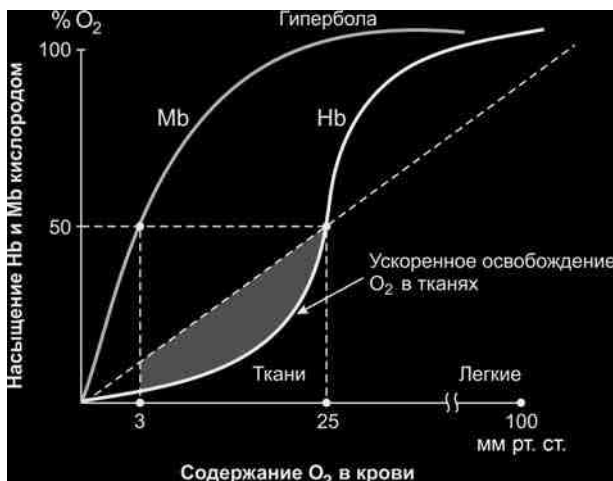


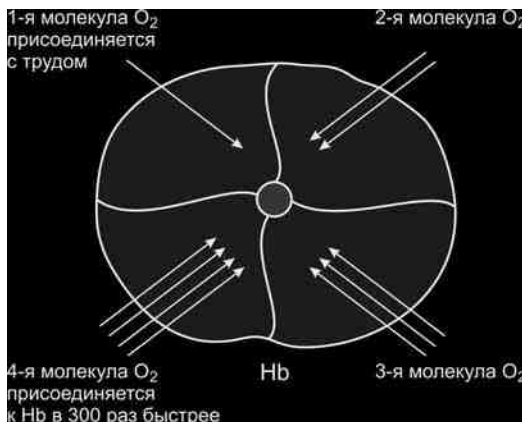
Рис. 2/1.1. Кривые диссоциации оксигемоглобина и оксимиоглобина

Представленные классические кривые (рис. 2/1.1) показывают, что Нб в легких очень быстро связывает кислород, а в венах и тканях он также быстро его освобождает в отличие от Мб. Кривая Нб является S-образной, а кривая Мб — это гипербола.

Индекс 50% насыщения кислородом составляет для Mb 3 мм рт. ст., для Hb — 25 мм рт. ст. Почему?

Три фактора объясняют это эволюционно целесообразную физиологическую особенность работы гемоглобина по сравнению с миоглобином.

1. Гемоглобин — олигомерный, миоглобин — неолигомерный белки. Благодаря четвертичной структуре в молекуле Hb при последовательном присоединении в легких по одной молекуле кислорода происходит кооперативное изменение конформации четырех субъединиц, и каждая последующая молекула кислорода присоединяется к своей субъединице (протомеру) легче, чем предыдущая (последняя в 300 раз быстрее, чем первая). В тканях все происходит наоборот: по мере снижения концентрации кислорода первая молекула кислорода освобождается из Hb с трудом, а последняя — значительно быстрее. Иначе — сродство Hb к кислороду в легких возрастает по мере последовательного присоединения кислорода к субъединицам, а в тканях это сродство постепенно уменьшается при последовательном удалении кислорода из протомеров. Для Mb это нехарактерно, так как его высшая третичная структура не обладает способностью к такому изменению конформации.



2. Наличие для Hb аллостерических лигандов-регуляторов — H^+ и 2,3-БФГ, которые работают только при низкой концентрации кислорода в крови, т.е. в тканях, и еще больше увеличивают

S-образный характер кривой Hb и усиленное освобождение кислорода в тканях.

Некоторые вещества могут смещать кривую диссоциации оксиHb влево или вправо. 2,3-БФГ, повышение концентрации протонов (снижение pH) при ацидозе и кавинтон (или винпоцетин) смещают кривую вправо, т.е. уменьшают сродство Hb к кислороду и ускоряют поступление последнего в ткани (рис. 2/1.2). Поэтому при адаптации к высокогорью жителей горных районов и альпинистов и у сердечно-сосудистых больных можно отметить увеличение количества 2,3-БФГ в крови. А кавинтон является лекарством, которое назначается при инсульте для уменьшения гипоксии мозга. Напротив, алкалоз (при гиперальдостеронизме или синдроме Конна) и избыточное содержание глюкозы в крови (при сахарном диабете) и соответственно увеличение гликированного (гликозилированного) Hb сдвигают кривую влево и приводят к гипоксии. В гликированном Hb глобин связан ковалентной связью с глюкозой (HbA_{1c}), глюкозо-6-фосфатом (HbA_{1b}) и фруктозой (HbA_{1a}). Имеются предположения, что такой Hb повышает свое сродство к кислороду и в тканях плохо его освобождает.

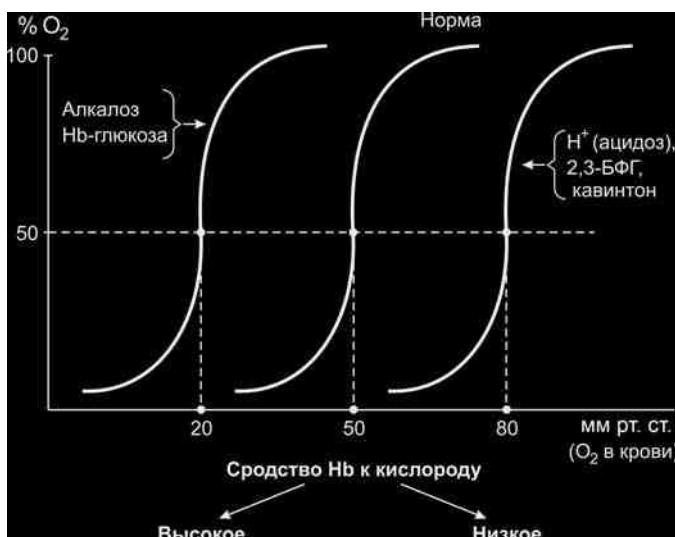


Рис. 2/1.2. Факторы, изменяющие сродство гемоглобина к кислороду

ГЕМОГЛОБИНОПАТИИ

Гемоглинопатии связаны с различными нарушениями в структуре или функционировании гемоглобина.

Ненаследственные гемоглинопатии могут быть при сахарном диабете, алкалозе, отравлениях Hb оксидом углерода CO или окислителями с образованием метгемоглобина (MetHb), в котором железо окислено $-Fe^{3+}$. Такой Hb образуется при отравлениях пищевыми нитритами, другими пищевыми добавками или лекарствами (фенацетин). MetHb не выполняет функции нормального гемоглобина, не может транспортировать кислород. При хронической почечной недостаточности может развиваться анемия с уменьшением содержания Hb в крови вследствие нарушения синтеза почечного гормона эритропоэтина, который стимулирует эритропоэз и возможно ускоряет синтез гема.

Наследственные гемоглинопатии: серповидноклеточная анемия, мутации гена MetHb-редуктазы, уменьшающей количество MetHb, талассемии, при которых снижен или отсутствует синтез α - или β -глобина и другие мутации.

ДЕНАТУРАЦИЯ БЕЛКОВ

Денатурация белков происходит под действием различных денатурирующих агентов, которые разрушают вторичную, третичную и четвертичную структуры белка и соответствующие связи, но не затрагивают пептидные связи (табл. 2/1.3).

Таблица 2/1.3

Денатурация белков

Денатурирующие агенты	Разрушаемые связи
Высокая температура	Водородные, гидрофобные
Кислоты, щелочи	Водородные, ионные
Спирты, фенол, мочевины	Водородные, гидрофобные
Цистеин — SH, меркаптоэтанол — SH, тиогликолевая кислота	Дисульфидные
Тяжелые металлы (Pb, Hg и др.), серебро, алкалоиды	Формируют новые прочные связи

Механические воздействия, растирания и гомогенизация образцов тканей, их сушка также денатурируют белки. При де-

натурации в белках и ферментах разрушается центр связывания (активный центр) и они теряют свою биологическую (ферментативную) активность.

Разрушение конформации приводит к раскрытию и разворачиванию молекулы белка, увеличению его объема и энтропии системы, появлению скрытых ранее функциональных групп и гидрофобных радикалов и соответственно к: 1) увеличению реакционной способности белка за счет обнаженных радикалов; 2) уменьшению растворимости белка в водных средах за счет гидрофобных радикалов; 3) к большей доступности пептидных связей для гидролитического действия протеолитических ферментов. Так, денатурация пищевых белков при тепловой обработке пищи или под действием соляной кислоты желудка ускоряет распад белков до отдельных аминокислот при участии протеаз желудочно-кишечного тракта.

Но денатурация некоторых белков при определенных условиях может быть обратимой благодаря сохранению ими пептидных связей. Такой процесс ренативации (ренатурации) белков и восстановления ими центров связывания лигандов и, следовательно, биологической активности возможен из-за детерминирующей роли первичной структуры для других более высоких структур, в том числе для структуры центров связывания лигандов.

Примеры

1. При высокой температуре трипсин теряет свою активность, но при медленном охлаждении и других условиях может восстановить свой активный центр и ферментативную активность.

2. Ниже приведена схема «химической» денатурации (разрыв дисульфидных и водородных связей) в молекуле рибонуклеазы (Нобелевская премия 1972 г.) и ренативация фермента при удалении денатурантов (рис. 2/1.3).

Области использования денатурирующих агентов.

1. В научных и технологических целях денатурирующие вещества применяются для разделения и очистки белков, особенно спирты и знаменитая (для биохимиков) трихлоруксусная кислота.
2. Ряд химических веществ легко денатурируют белки и ферменты бактерий и используются для лечения гнойных ран (березовый деготь в мази Вишневского, содержащий

активный фенол), поверхностные антисептики — сулема (HgCl_2), ляпис (AgNO_3), колларгол (коллоидное серебро) и др.

3. Обработка предметов при высокой температуре является методом их полной стерилизации (асептика).
4. Эпиляция волос с помощью R-SH-агентов, восстанавливающих дисульфидные связи в фибриллах α -кератина волос и этим разрушающих прочную структуру волос.



Рис. 2/1.3. Денатурация и ренатурация рибонуклеазы (РНКазы)

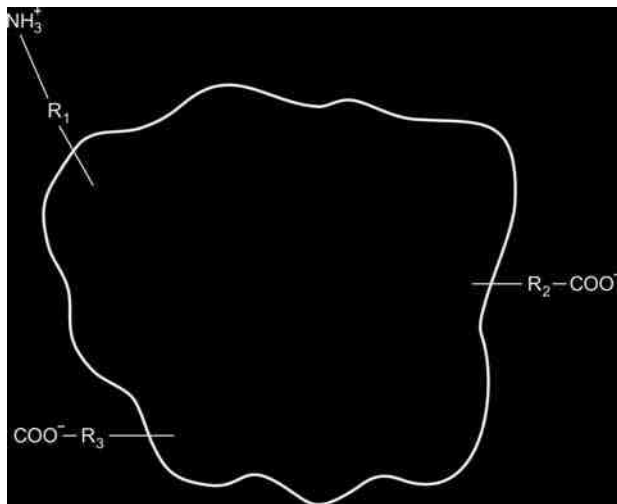
Наконец, следует отметить, что белки, содержащие много гидрофобных аминокислот, и белки с преобладанием β -структур устойчивы денатурации. Последние являются природными антифризами, защищающими насекомых и растения от действия низких температур.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ

Этот раздел я излагаю кратко и тезисно, потому что соответствующую информацию вы получили на кафедрах 1-го курса.

1. Аминокислоты в водных растворах и в клетке являются би- или многополярными ионами (или традиционно цвиттер-ионами на немецком языке), и поэтому их называют амфотерными соединениями, обладающими кислотными и основными группами. Аминокислоты и белки могут реагировать и как кислоты, и как щелочи.

2. Отсюда возникло понятие об изоэлектрической точке pI белков с их ионизированными аминокислотами. pI есть величина индекса pH вокруг молекулы белка, при котором суммарный заряд этой молекулы равен нулю, например $pI = 4-5$ для многих белков клетки и крови. Схема строения поверхностного слоя такого белка:



Молекула имеет суммарный заряд $\Sigma = 1^+ + 2^- = 1^-$, поэтому $pI < 7$.

3. Растворимость белков в воде и крови зависит от выраженности гидратной оболочки вокруг молекулы белка. Эта оболочка зависит от:

- а) свойств молекулы белка: первичной структуры и особенностей аминокислот, формы молекул, размера и молекулярной массы белка;
- б) свойств окружающей среды: температуры, величины pH , количества и качества солей.

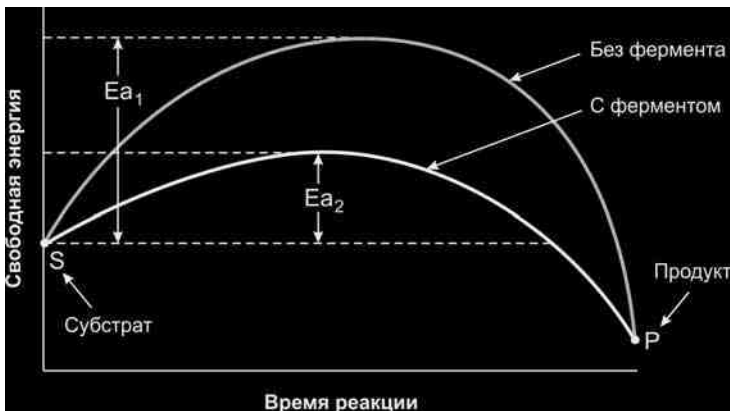
Методы разделения, очистки и получения индивидуальных белков в лекции я не рассматриваю.

Лекция 3/1

ФЕРМЕНТЫ (СТРУКТУРА, КЛАССИФИКАЦИЯ, МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ, СПЕЦИФИЧНОСТЬ)

Химические реакции $A + B \rightarrow C$ протекают часто очень медленно. Но катализаторы увеличивают скорость этих реакции, в частности биологические катализаторы – ферменты ускоряют реакции в $10-10^6$ раз. Все химические реакции являются теоретически обратимыми, и катализаторы ускоряют как прямую, так и обратную реакции, не смещая подвижное равновесие в системе, т.е. не нарушая законов термодинамики. Как происходит увеличение скоростей реакций?

Катализаторы (ферменты) понижают энергию активации реакции E_a , иначе уменьшают энергетический барьер реакции: S (субстрат) \leftrightarrow P (продукт):



При этом ферменты снижают E_a в большей мере, чем небиологические катализаторы. Например, для реакции разложения перекиси водорода:



энергия активации без катализаторов составляет 67, с платиной как катализатором — 49, а в случае катализа ферментом — каталазой E_a — уменьшается до 23 кДж/моль.

По сравнению с ферментами небиологические катализаторы (металлы) имеют меньшую активность и специфичность, для них не существует специальных регуляторов их активности, но они более устойчивы к экстремальным факторам внешней среды.

Уже в историческом плане следует упомянуть одну из первых Нобелевских премий (1907 г.), полученную Эдуардом Бюхнером, доказавшим ферментативную активность бесклеточного экстракта дрожжей. Выделение в чистом виде белков-ферментов, способных к кристаллизации, также было оценено в виде Нобелевской премии в 1946 г.

СТРОЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ

Существует два типа ферментов.

1. Ферменты — простые белки, которые состоят только из аминокислот. Это, например, трипсин, пепсин, РНКаза и др.

2. Ферменты — сложные белки, которые включают две части: холофермент (холоэнзим) ↔ апофермент (апоэнзим) + кофактор.

Кофакторы являются:

а) органическими веществами, как правило, производными витаминов (в этом случае они называются коферментами) или это другие соединения (гем, глутатион);

б) ионами металлов — Mg, Cu, Mo, Zn, Fe.

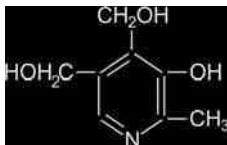
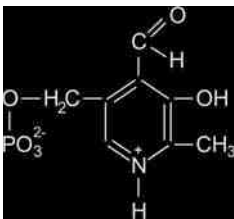
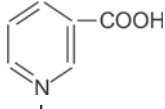
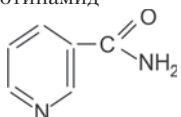
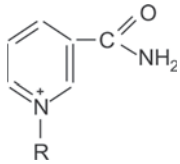
Железо входит в состав многих ферментов: каталаза и пероксидаза (железо как компонент гема), НАДН-дегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа (для двух последних железо в составе сопряженных FeS-белков) и ксантиноксидаза. Ксантиноксидаза является ферментом очень сложного состава — белковым димером: 2 белковые цепи + 2 ФАД + 2 Mo^{2+} + 8 Fe^{3+} .

Кофакторы участвуют в катализе вместе с апоферментами, в перемещении атомов или групп атомов, в модификации конформации фермента и субстрата.

Для превращения в коферменты витамины должны быть подвергнуты химической модификации, за исключением биотина. Соответствующие наиболее важные примеры представлены в табл. 3/1.1.

Таблица 3/1.1

Некоторые наиболее распространенные витамины и коферменты

Витамин	Кофермент	Фермент
<p>В₆ или пиридоксин</p>  <p>Гетероцикл — пиридин</p>	<p>Пиридоксальфосфат</p>  <p>Биполярный ион</p>	<p>Аминотрансферазы, декарбоксилазы аминокислот, фосфорилаза гликогена мышц, Δ-аминолевулинатсинтаза</p>
<p>РР или никотиновая кислота</p>  <p>Никотинамид</p>  <p>Гетероцикл — пиридин</p>	 <p>НАД⁺ или НАДФ⁺</p>	<p>Дегидрогеназы</p>

Связи между апоферментом и коферментом обычно нековалентные. Но у некоторых ферментов имеется большое количество таких слабых связей, и поэтому эти комплексы апофермент–кофермент являются прочными, и равновесие в приведенном выше

уравнении смещено влево. Примеры: флавиновые дегидрогеназы (витамин В₂, или рибофлавин, образует коферменты ФАД и ФМН) и аминотрансферазы (витамин В₆, или пиридоксин, формирует пиридоксальфосфат, Северин Е.С.). Если рассматриваемых связей немного, то комплексы непрочные, равновесие реакции сдвинуто направо и свободные коферменты в катализируемых реакциях выступают в качестве отдельных реагентов. Примеры: НАД- и НАДФ-зависимые дегидрогеназы на основе витамина РР, ацилтрансферазы с коферментом А (КоА) — производным пантотеновой кислоты. Поэтому в уравнениях соответствующих реакций присутствуют эти коферменты в отличие от реакций для ферментов — прочных комплексов.

На примере пиридоксальфосфата можно убедиться, что этот кофермент в данном частном случае не обладает специфичностью, так как он входит в состав четырех следующих ферментов, которые катализируют совершенно разные реакции: аминотрансферазы, декарбоксилазы аминокислот, мышечная гликогенфосфорилаза, аминолевулинатсинтаза. В этих ферментах специфичность определяет их белковая часть — апофермент.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

Механизм действия ферментов представлен в табл. 3/1.2 с соответствующими пояснениями, которые следует дополнить следующим.

1. При функционировании фермента (как и других белков), т.е. при взаимодействии активного центра с субстратом, происходит изменение конформации молекулы фермента и его активного центра (феномен конформационной лабильности) и увеличивается комплементарность между центром и субстратом. Это повышает специфичность и активность фермента (феномен индуцированного соответствия).
2. После образования комплекса ES (с коротким временем жизни) небольшая часть молекул субстрата S в комплексе получает дополнительную энергию S⁺, которая нужна для разрыва или образования новых связей и для образования продукта P.

Таблица 3/1.2

Механизм действия ферментов

<p>Образование субстрата ферментом по принципу комплементарности E – S</p>	<p>Взаимное изменение конфигурации субстрата и фермента, возникновение строгой комплементарности между субстратом и активным центром фермента (индуцируемое соответствие)</p>	<p>Дестабилизация связей в молекуле субстрата</p>	<p>Образование продуктов реакции, отсутствие комплементарности E–P</p>	<p>Выход продуктов из области активного центра фермента</p>
<p>The diagram illustrates the mechanism of enzyme action in five stages:</p> <ul style="list-style-type: none"> Stage 1: E + S: Shows a rectangular enzyme with a positive (+) charge on the left and a negative (-) charge on the right, and a separate substrate with a positive (+) charge on the left and a negative (-) charge on the right. Stage 2: ES: Shows the substrate bound to the enzyme's active site. Stage 3: ES⁺: Shows the enzyme and substrate bound, with dashed lines indicating strain in the substrate. Stage 4: EP: Shows the product bound to the enzyme's active site. Stage 5: E + P: Shows the enzyme and product separate. 				

3. Каждая молекула фермента используется для катализа повторно несколько раз.

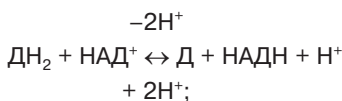
Можно выделить также два молекулярных механизма действия ферментов. Во-первых, это более редкий ковалентный катализ, при котором в ходе самого катализа образуются ковалентные связи между активным центром фермента и субстратом (для трипсина и химотрипсина) или между апоферментом, коферментом и субстратом (аминотрансферазы). Во-вторых, это нековалентный кислотно-основной катализ с образованием, например, ионных связей между ферментом и субстратом.

КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

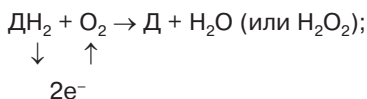
Классификация ферментов основана на типе катализируемой ферментом реакции. Поэтому в соответствии с шестью основными типами химических реакций выделяют шесть классов ферментов.

Класс 1 — оксидоредуктазы, который включает три подкласса.

- 1) дегидрогеназы или редуктазы, переносящие атомы водорода:

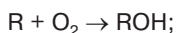


- 2) оксидазы переносят электроны на атом кислорода:

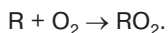


- 3) оксигеназы катализируют внедрение атомов кислорода в органические вещества:

— монооксигеназы или гидроксилазы (вставка одного атома кислорода):

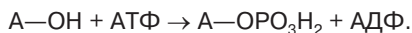


— и диоксигеназы (вставка двух атомов кислорода):



Класс 2 — трансферазы катализируют перенос групп атомов между разными молекулами и включают несколько подклассов, например:

- 1) аминотрансферазы, переносящие аминогруппы;
- 2) фосфотрансферазы, переносящие остатки фосфорной кислоты, в частности подподкласс киназ:



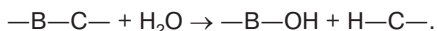
Если А — это белок, то такую же реакцию (по ОН-группам серина, треонина или тирозина) катализируют очень важные в биохимии протеинкиназы.

Класс 3 — лигазы или синтетазы катализируют синтезы с использованием энергии АТФ:



Если источником энергии для синтеза являются другие макроэргические соединения, то соответствующий фермент называют синтазой.

Класс 4 — гидролазы катализируют разрушение ковалентной связи с участием воды (гидролиз):



Класс 5 — изомеразы катализируют образование изомеров одного и того же вещества, т.е. перенос атомов или групп атомов внутри одной молекулы. Выделяют подклассы изомераз, которые переносят водород и кислород (альдозы ↔ кетозы), и подкласс мутаз, переносящих другие группы, например фосфогруппы.

Класс 6 — лиазы участвуют в разрыве ковалентных связей С—С, С—О, С—S, С—N без участия воды, а также в присоединении к двойным связям воды и аммиака без разрыва связей.

ЕДИНИЦЫ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

I. Количественные единицы широко используются в клинической практике при лабораторной энзимодиагностике различных заболеваний.

А. Одна количественная или международная единица — это такое количество фермента, которое катализирует превращение

в продукт P одного микромоля субстрата S или образование одного микромоля P за одну минуту:

$$1 \text{ ME} = 1 \text{ мкмоль } S(P)/\text{мин.}$$

Б. Аналогичное определение дается для другой количественной единицы — катал, но имеющей другую размерность:

$$1 \text{ кат} = 1 \text{ моль } S(P)/\text{с.}$$

Это очень крупная единица и поэтому в клинической практике используют более мелкую (в 10^9 раз) единицу — нанокатал (нкат). Переход между этими единицами: $1 \text{ ME} = 17 \text{ нкат}$.

II. Качественные единицы — это критерии качества молекул ферментов для научной работы биохимиков, которые пока не используются клиницистами.

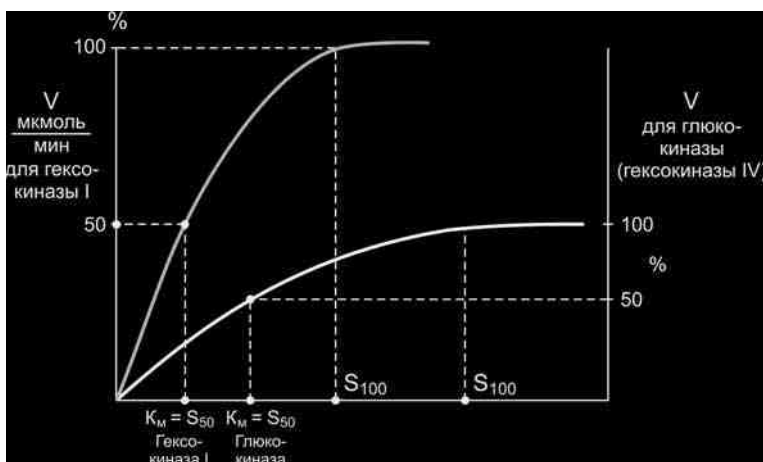
А. Одна единица удельной активности фермента соответствует одной ME фермента, содержащейся в одном миллиграмме белка очищенного фермента: $1 \text{ ед. у.а.} = 1 \text{ мкмоль } S(P)/\text{мин} \times \text{мг}$. Например, в пробирке имеется 25 ME активного фермента с массой 5 мг. Соответственно его удельная активность составляет $25/5 = 5 \text{ ед. у.а.}$

Б. Молярная активность фермента, или «число оборотов», показывает, сколько молекул S(P) трансформируется одной молекулой фермента за одну минуту. Для расчета этой величины надо знать молекулярную массу молекулы фермента.

В. Константа Михаэлиса K_M определяет степень сродства (аффинитет) фермента к субстрату, т.е. способность фермента образовывать комплекс с субстратом и, следовательно, скорость реакции. Большая величина константы характеризует низкое качество фермента, а для фермента высокого качества величина K_M меньше. Это можно понять при геометрическом анализе зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата S. На рисунке представлены соответствующие кривые для двух изоферментов гексокиназы с разным качеством молекул и с разными величинами K_M .

В точке S_{100} (насыщающая концентрация S) все молекулы фермента связаны с субстратом S. Поэтому при этом скорость реакции максимальна V_{100} или V_{\max} и дальнейшее увеличение S не увеличивает эту скорость. В точке S_{50} или K_M 50% молекул

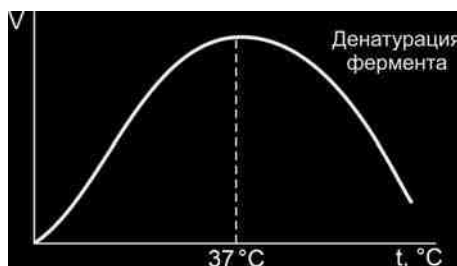
фермента свободны. Отсюда определение: K_M численно равна концентрации субстрата S_{50} , при которой скорость реакции V_{50} равна половине от максимальной V_{100} .



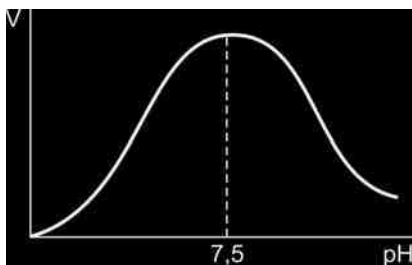
Условия определения активности ферментов в клинических биохимических лабораториях должны быть оптимальными и должны обеспечивать выявление всей активности исследуемого фермента для полноценной диагностики.

1. Концентрация S в анализируемой пробе должна быть насыщающей — S_{100} для выявления максимальной активности фермента V_{100} .

2. Температура реакции — $37\text{ }^\circ\text{C}$.



3. Значение pH среды реакции должно быть оптимальным для данного фермента (для пепсина — 1,5–2,0; для трипсина — 7,5–8,0).



Указанные зависимости студент должен уметь объяснить на основе своих знаний о физико-химических свойствах белков и об их денатурации и ионизации.

4. Продолжительность реакции (инкубации пробы при 37 °С) должна быть небольшой, так как постепенно реакция замедляется во времени или из-за обратной реакции, или из-за изменения рН, или от других причин.



5. Целесообразно использовать несколько доз сыворотки (несколько доз фермента) для повышения точности расчета скорости V.



СПЕЦИФИЧНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ

Специфичность ферментов является значительно более высокой, чем у небιологических катализаторов. Различают следующие виды специфичности ферментов.

1. Специфичность по отношению к субстрату может быть трех видов.

А. В случае абсолютной субстратной специфичности фермент катализирует реакцию только с одним субстратом $1E \rightarrow 1S$. Например, аргиназа, аланинаминотрансфераза (АЛТ), уреазы. Эти два последних фермента используются в клинической практике для диагностики заболеваний печени (АЛТ), оценки риска язвы желудка и двенадцатиперстной кишки (уреазы *Helicobacter pylori*, Нобелевская премия 2005 г.).

Б. Ферменты с относительной субстратной специфичностью катализируют превращения разных субстратов, но с близкой структурой. Такими являются протеазы, гликозидазы, липазы, функционирующие соответственно с разными белками, углеводами и жирами, но гидролизующие идентичные связи в каждой группе.

В. Стереоспецифичность: фермент катализирует реакцию только с одним изомером данного субстрата, например главные ферменты обмена аминокислот человека — с L-изомерами аминокислот, а ферменты обмена углеводов — с D-изомерами гексоз.

2. Каталитическая специфичность или специфичность путей превращения одного и того же субстрата: один субстрат S (например, глюкозо-6-фосфат) узнают разные ферменты E_{1-4} , они имеют одинаковую субстратную специфичность, но катализируют превращение этого субстрата в разные продукты P_{1-4} (глюкоза, глюкозо-1-фосфат, фруктозо-6-фосфат, 6-фосфоглюконовая кислота). Представленная ниже модельная схема предполагает, что в активном центре такого набора ферментов имеется одинаковая «якорная» или акцепторная зона для комплементарного связывания единого субстрата и вторая каталитическая зона, которая отличается у этих ферментов по третичной структуре и поэтому обладает разной каталитической активностью.

3/1. Ферменты (структура, классификация, механизм действия, специфичность)



Лекция 4/1

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ. ИНГИБИТОРЫ, ЛЕКАРСТВА И ФЕРМЕНТЫ. ЭНЗИМОДИАГНОСТИКА

ЭНДОГЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

Существует два главных способа эндогенной регуляции — качественная и количественная регуляция (табл. 4/1.1), а также регуляция, зависящая от наличия в клетке субстратов и коферментов. В настоящей лекции рассматриваем подробно качественную регуляцию.

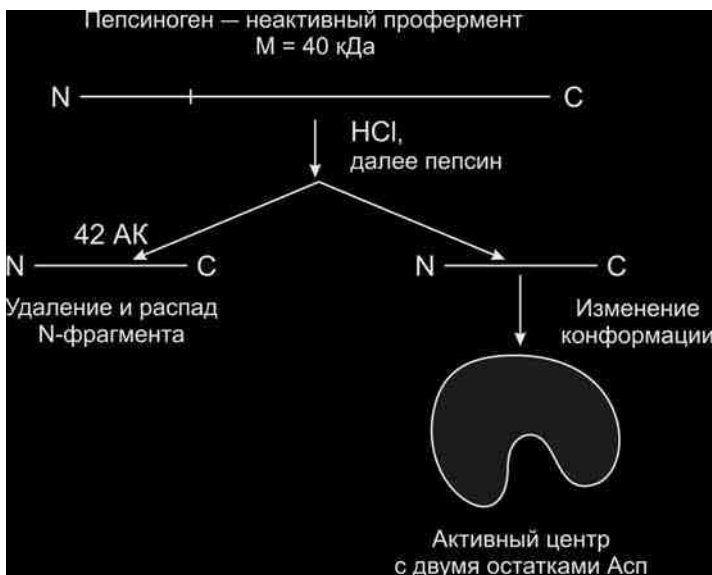
Таблица 4/1.1

Качественная и количественная регуляция активности ферментов (Е)

Регуляция	Клетка № 1 2	Активность фермента в клетке № 2	Скорость регуляции	Уровень регуляции
Количественная		Выше	Более медленная	Транскрипция или трансляция
Качественная		Выше или ниже	Более высокая	Модификация молекулы фермента

Четыре типа качественной регуляции

I. Необратимая регуляция способом частичного протеолиза неактивных проферментов на примере пепсина происходит по следующей схеме:



Или для трипсина и для гормона инсулина:

удаление 6 аминокислот (АК)



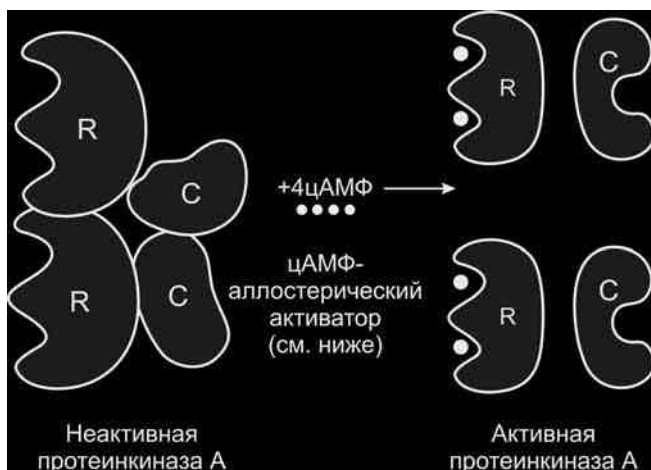
неактивный трипсиноген → активный трипсин

препроинсулин из 110 АК → активный гормон инсулин из 51 АК

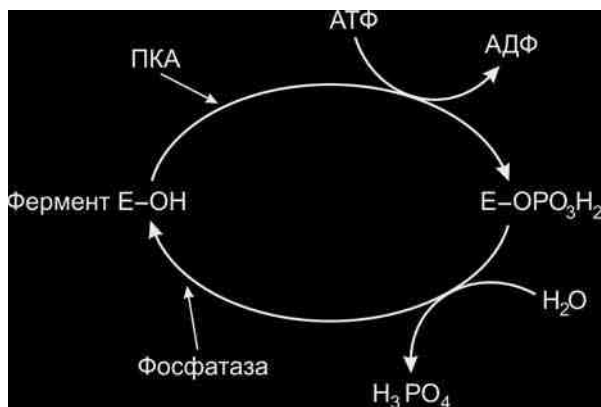
II. Обратимая регуляция путем взаимодействия белок—белок:

- а) белок-активатор повышает активность белка-фермента, например α -субъединица G-белка с ГТФ взаимодействует с аденилатциклазой (АЦ) и последняя после активации катализирует реакцию: АТФ → циклическая АМФ (цАМФ) + пирофосфат;
- б) белок-ингибитор, например регуляторные субъединицы R, ингибируют ферментативную активность каталитических субъединиц С, которые обладали активностью фермента протеинкиназы А (ПКА).

Другие примеры белков-ингибиторов: антитромбин III, α_2 -макроглобулин, гирудин пиявок аналогично ингибируют ключевой фермент системы гемостаза — тромбин — и далее уменьшают свертывание крови.



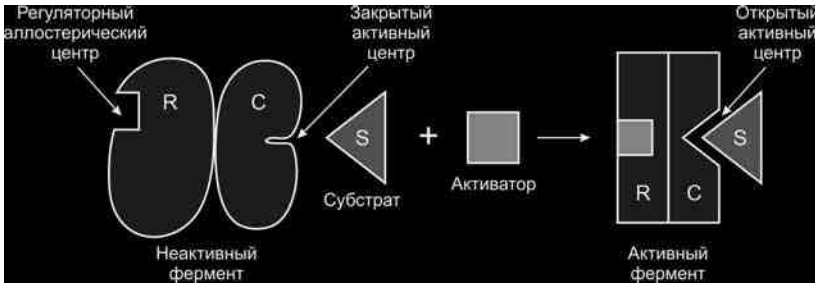
III. Обратимая регуляция фосфорилированием-дефосфорилированием ферментов по ОН-группам серина или треонина в активном центре фермента при участии регулирующих ферментов ПКА и фосфатазы:



После фосфорилирования активность одних ферментов увеличивается (фосфоорилаза гликогена, ТАГ-липаза и др.) или уменьшается (гликогенсинтаза, ГМГ-КоА-редуктаза и др.) и наоборот.

IV. Аллостерическая обратимая регуляция характерна для олигомерных ферментов, у которых в одной или в несколь-

ких регуляторных субъединицах R имеется другой, или аллостерический, регуляторный центр связывания лиганда-регулятора. Эти регуляторы могут быть активаторами или ингибиторами каталитических субъединиц C. В последних имеется свой каталитический (или активный) центр связывания лиганда-субстрата:



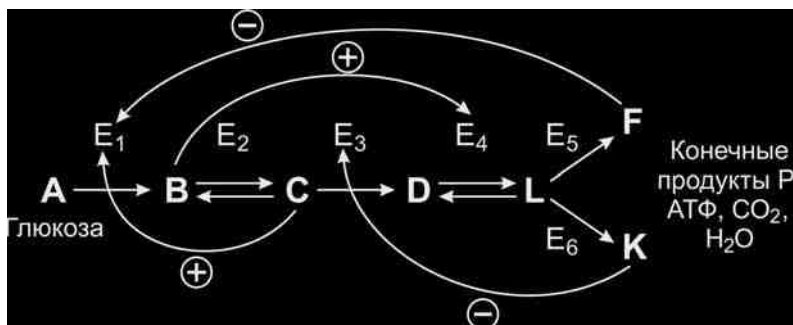
Регулятор-активатор изменяет конформацию R, далее эти изменения передаются на C («кооперативное изменение конформации протомеров»), и каталитический центр в C становится доступным для субстрата S. Это аллостерическая активация. И аналогично происходит аллостерическое ингибирование. Выделяют гетеротропную аллостерическую регуляцию в случаях разной структуры субстрата фермента и лиганда-регулятора (соответствующие многочисленные примеры будут представлены далее в нашем курсе) и более редкую гомотропную регуляцию: для Hb кислород является и рабочим лигандом (типа S), и регулятором (лекция 2/1). Рассмотренные ферменты и белки часто называют аллостерическими, имеющими, как правило, высшую четвертичную структуру.

В научной литературе выделяли еще адсорбционный механизм регуляции активности ферментов в зависимости от нахождения в цитозоле или в мембранах клетки. Этот механизм близок к аллостерической регуляции.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЦЕПИ (ПУТИ)

В клетке практически отсутствуют отдельные изолированные реакции типа $S \rightarrow P$. Чаще всего происходит серия последова-

тельных реакций: при аэробном гликолизе — 10, при синтезе холестерина из глюкозы — 39 реакций с соответствующим количеством ферментов.



Естественно, в процессе эволюции был создан механизм регуляции таких метаболических цепей путем изменения активности отдельных ферментов в этих цепях. Последние принято чаще называть регуляторными (лучше — регулируемыми) и их отличительными признаками могут быть один из следующих: 1) ферменты 1-й реакции (E₁ на схеме); 2) ферменты для необратимых реакций (E₁, E₃); 3) ферменты для реакций на разветвлении (E₅, E₆). Соответствующая реакция будет самой медленной или самой быстрой.

Наиболее распространенный вариант регуляции: при избытке конечного продукта P катаболизма или синтеза (F или K на схеме) это вещество P (избыток АТФ при распаде глюкозы или холестерина при его синтезе) ингибирует активность одного или реже нескольких регуляторных ферментов. По векторности это отрицательная обратная связь продукта P с регуляторным ферментом (E₁ или E₃ на схеме). Более редкими случаями регуляции являются положительная обратная связь, например в каскаде свертывания крови промежуточный продукт C (тромбин) активирует фермент начальных реакций E₁ (фактор-фермент VII); или положительная прямая связь в системе гликолиза (B активатор для E₄).

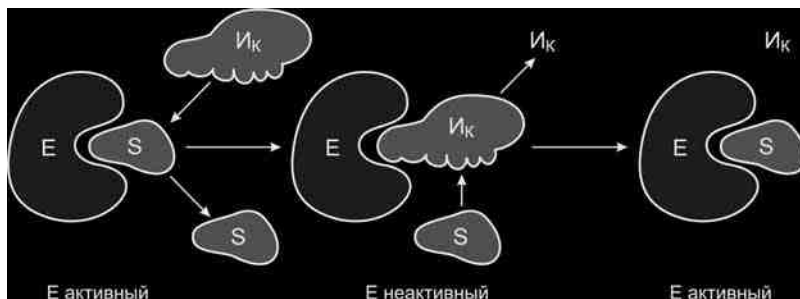
Рассмотренные регуляторные ферменты имеют, как правило, четвертичную структуру и являются аллостерическими по названию механизма своей регуляции.

ЭКЗОГЕННЫЕ ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ

	Ингибиторы ферментов (И)	
	↓	↓
	Обратимые	Необратимые
	↓	↓
Связи между ингибитором и ферментом	Нековалентные	Ковалентные
Уравнение катализа без ингибитора	$E + S \leftrightarrow ES \rightarrow E + P$; фермент активен	
Уравнение в присутствии ингибитора	$E + I \rightarrow EI \rightarrow \text{блок}$; фермент неактивен	

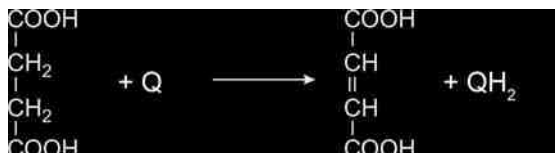
Виды обратимых ингибиторов

1. *Конкурентный ингибитор* I_k является по структуре аналогом субстрата для фермента.



Субстрат S и конкурентный ингибитор I_k конкурируют за активный центр фермента, и ингибитор вытесняет субстрат из активного центра, если количество ингибитора I_k превышает количество субстрата S . Наоборот, при увеличении доли субстрата относительно ингибитора последний покидает активный центр и его место занимает субстрат с восстановлением активности фермента. Этот методический прием используется для дифференциации конкурентного и неконкурентного обратимых ингибиторов (см. ниже).

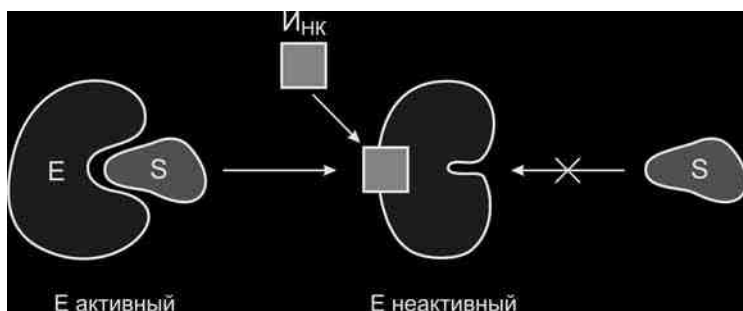
Пример: малоновая кислота $\text{COOH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ по структуре близка к другой дикарбоксильной янтарной кислоте (к сукцинату), которая является субстратом для сукцинатдегидрогеназы.



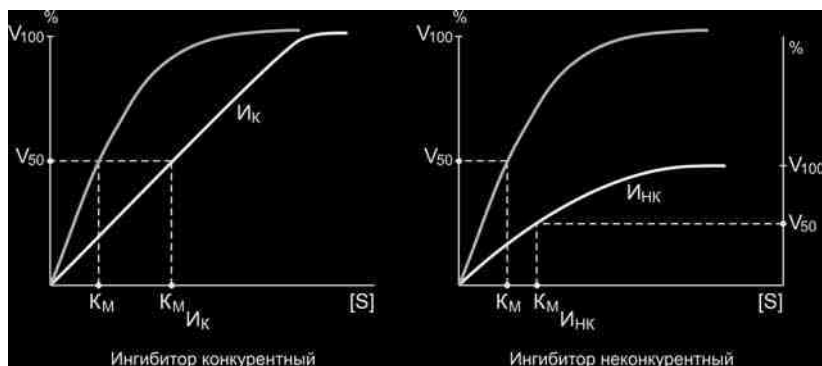
Сукцинат Убихинон Фумарат Убихинол

Поэтому малоновая кислота — конкурентный обратимый ингибитор этого фермента.

2. *Ингибитор неконкурентный* $I_{\text{нк}}$ связывается с ферментом вне его активного центра, изменяет конформацию всей молекулы фермента, в том числе конформацию активного центра, который перестает функционировать.



Несколько избыточная информация для будущих врачей. Рассмотрите в учебнике кривые зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата в отсутствие ингибиторов и при их наличии в реакционной смеси. Вы убедитесь, что обратимый конкурентный ингибитор увеличивает константу Михаэлиса K_m , т.е. ухудшает качество фермента, но не влияет на максимальную скорость реакции V_{100} при насыщающей концентрации субстрата S . Обратимый неконкурентный ингибитор снижает сродство фермента к субстрату по обоим критериям: увеличивает K_m и уменьшает V_{100} .



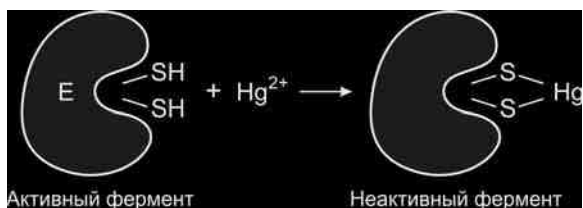
3. *Ингибитор — плохой субстрат.* Фермент может медленно катализировать реакцию с некоторыми аналогами основного субстрата. При этом комплекс фермент–субстрат является долгоживущим (в отличие от комплекса с нормальным субстратом), и молекула фермента «замораживается» в этих аномальных комплексах. Поэтому основная реакция с собственным субстратом происходит медленно, т.е. фермент частично ингибирован.

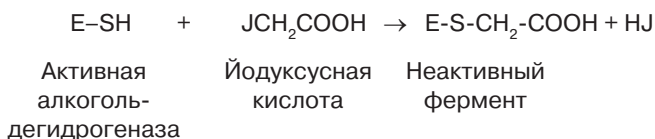
4. Целесообразно вспомнить (см. выше) об обратимых аллостерических ингибиторах, которые являются не экзогенными, а эндогенными регуляторами активности ферментов.

НЕОБРАТИМЫЕ ИНГИБИТОРЫ, В ТОМ ЧИСЛЕ МЕДИКАМЕНТЫ

Эти ингибиторы образуют различные ковалентные связи со следующими химическими группами преимущественно в активном центре фермента.

1. Тиольная или сульфгидрильная группа E–SH. Металлы и органические вещества образуют ковалентную связь с этой группой, инактивируя фермент.

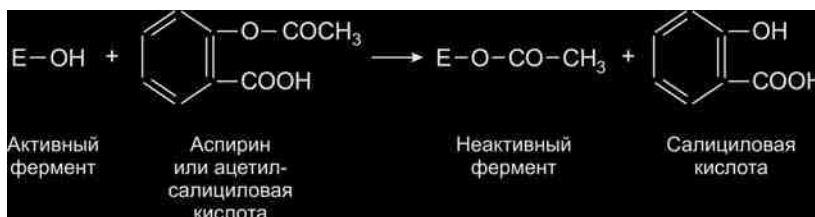




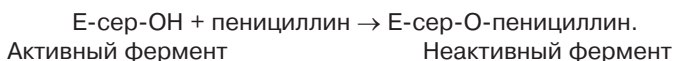
Специфичность таких ингибиторов двойственная: они специфичны по отношению к тиольной группе, но могут взаимодействовать с любой тиольной группой в молекуле фермента (и не только в активном центре), и в этом плане они неспецифичны.

2. Гидроксильная группа E-OH в активном центре. Примеры специфических ингибиторов:

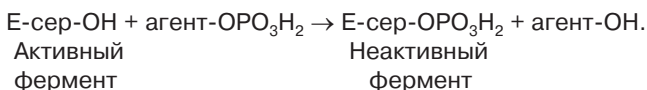
А. Аспирин (противовоспалительное лекарство) как ингибитор циклооксигеназы I:



Б. Пенициллин (Нобелевская премия 1945 г.) ингибирует гликопептидотрансферазу грамположительных бактерий и соответственно — синтез пептидогликанов бактериальной стенки и размножение бактерий:



В. Фосфорилирующие агенты: армин, применявшийся ранее для лечения глаукомы глаз, химические отравляющие вещества (зарин, заман), диизопропилфторфосфат (используется для изучения структуры ферментов). Эти реагенты обычно фосфорилируют белки-ферменты по гидроксильной группе серина в активном центре:



Фармакологические и токсические эффекты ингибиторов ферментов полезно подробнее рассмотреть на примере ацетил-

холинэстеразы (АХЭ) с гидроксильной ОН-группой серина в каталитическом активном центре фермента.

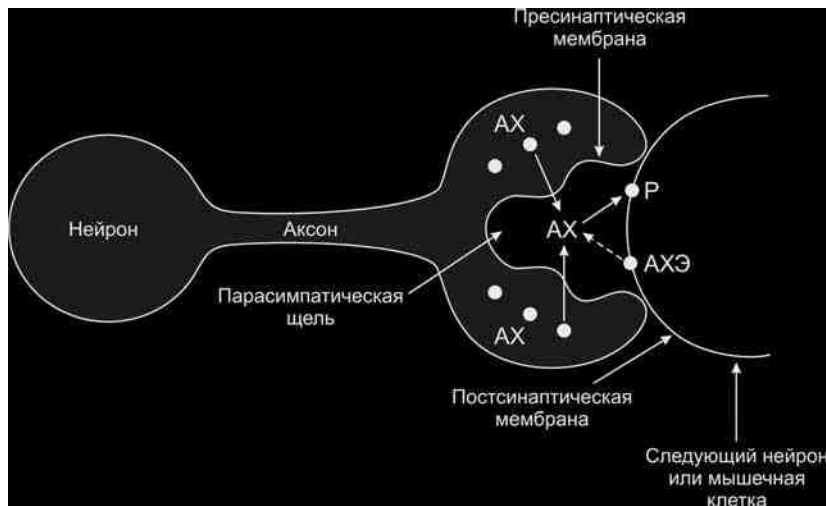
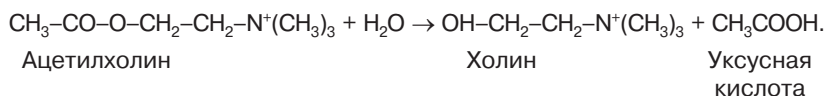


Рис. 4/1.1. Строение парасимпатического синапса

В парасимпатических синапсах функцию возбуждающего медиатора выполняет ацетилхолин (АХ). После его импульсного выброса в парасимпатическую щель и его взаимодействия со своим рецептором Р (для последующей передачи импульса на клетки) АХ разрушается и передача импульса прекращается. Этот распад катализирует АХЭ:



Существует ряд веществ и медикаментов — ингибиторов АХЭ и ингибиторов рецептора Р для АХ. Акцентирую для лучшего понимания студентами фармакологии, что ингибиторы АХЭ усиливают, а ингибиторы рецептора АХ блокируют парасимпатическую трансмиссию (иннервацию).

Ингибиторы ацетилхолинэстеразы

1. Обратимые конкурентные ингибиторы — прозерин и калимин (по формуле близкие к АХ) используются как лекарства

при атонии кишечника и мочевого пузыря, при параличах мускулатуры после инфекций (энцефалит) и травм.

2. Необратимые ингибиторы АХЭ — армин для лечения глаукомы в предшествующие годы, зарин и заман как боевые отравляющие вещества нервно-паралитического действия.

При ингибировании АХЭ в синапсе создается избыток АХ, который усиливает иннервацию органов и даже при большом избытке в нервной системе (после указанных отравляющих веществ) вызывает патологическое перевозбуждение и далее блокаду нервных (дыхательного) центров и смерть.

Известные ингибиторы холинорецепторов Р для АХ являются чаще всего обратимыми конкурентными ингибиторами, близкими по структуре к АХ. Для мускариновых рецепторов P_m — это токсин мухамора, атропин, платифиллин, для никотиновых рецепторов P_n — никотин, кураре, яд змей, дитилин. Последний состоит из двух остатков ацетилхолина и используется в хирургической и эндоскопической практике для временной блокады дыхательных мышц, но только для тех людей, у которых активен фермент, разрушающий постепенно к концу операции этот блокатор. Для гладкой мускулатуры внутренних органов характерны рецепторы P_m , а для скелетных мышц — P_n . Сам АХ взаимодействует с обоими видами рецепторов.

ПОЛИМОРФИЗМ ФЕРМЕНТОВ

Полиморфные белки-ферменты (или изоферменты, или изоимы) — это серия родственных ферментов, которые обладают близкой первичной структурой, катализируют одну и ту же реакцию и часто обладают высшей четвертичной структурой. Между собой отдельные изоферменты имеют следующие отличия:

- 1) по первичной структуре белка-фермента и первичной структуре своего гена (ДНК);
- 2) по константе Михаэлиса и уровню ферментативной активности;
- 3) по способности преимущественно катализировать свою реакцию в одну или в другую сторону;
- 4) по различию в регулирующих факторах-эффекторах (ингибиторах и активаторах);

5) по различию в распределении в разных органах одного человека.

Например, лактатдегидрогеназа (ЛДГ) состоит из четырех полипептидных цепей двух видов — Н и М, которые кодируются двумя отдельными генами. Сочетание этих цепей по четыре создает пять изоформ ЛДГ, которые по-разному распределены по органам организма, т.е. они органоспецифичны. Поэтому изоферменты ЛДГ и другие изоферменты используются для лабораторной клинической диагностики ряда заболеваний.

Структура набора изоферментов ЛДГ и их клиническое значение представлены на схеме 4/1.1. Изофермент ЛДГ₁ особенно специфичен для сердечной мышцы и поэтому является биохимическим маркером инфаркта миокарда, а изофермент ЛДГ₅ — маркер болезней печени.

Электрод отрицательный	Направление движения →					Электрод положительный
	Символы	M ₄	M ₃ N ₁	M ₂ N ₂	M ₁ N ₃	
ЛДГ	ЛДГ ₅	ЛДГ ₄	ЛДГ ₃	ЛДГ ₂	ЛДГ ₁	
Органы	Мышцы Печень				Сердце Почки	

Схема 4/1.1. Четвертичная структура и электрофоретическая подвижность изоферментов ЛДГ

Другой клинически важный фермент, для которого также имеется набор изоферментов, — это креатинкиназа (КК). В скелетных мышцах находится преимущественно изофермент ММ, состоящий из двух цепей М, в мозгу — изофермент ВВ из двух цепей В, а для миокардиоцитов характерен изофермент МВ. В сыворотке крови здорового человека они содержатся примерно в следующем соотношении (в процентах): 98:0:2. При инфаркте миокарда в сыворотке крови увеличивается содержание как изофермента МВ (более 5%), а также суммарной КК.

ЭНЗИМОДИАГНОСТИКА

В крови человека имеются различные ферменты. Часть из них выполняет в крови определенные функции (тромбин, липопр-

теинлипаза и др.). При естественной гибели клеток разных органов другие клеточные ферменты попадают в кровь. Установлен диапазон концентрации последних в крови здорового человека. При патологических процессах в органах (воспаление, некроз клеток) уровень клеточных ферментов в крови увеличивается, и это увеличение может служить лабораторным показателем патологии конкретного органа при некоторых условиях. Во-первых, фермент должен быть органоспецифичным, т.е. характерным для одного органа или содержаться в нем в наибольшем количестве. Ферменты, которые катализируют реакции в самой крови (липопротеинлипаза, ферменты системы свертывания крови) не могут быть использованы для энзимодиагностики. Во-вторых, устойчивость фермента в пробах крови или в ее сыворотке должна быть достаточной по времени до доставки в лабораторию и проведения анализа. В-третьих, определение активности исследуемого фермента в клинической лаборатории следует проводить в оптимальных условиях, рассмотренных в предыдущей лекции.

В таблице 4/1.2 приведены примеры хорошо изученных и широко используемых для энзимодиагностики органоспецифичных ферментов.

Таблица 4/1.2

Органоспецифичные ферменты

Патология органа	Диагностические ферменты
Сердце	Лактатдегидрогеназа (изофермент ЛДГ ₁), креатинкиназа (изофермент МВ), аспартатаминотрансфераза (АСТ)
Печень	ЛДГ ₅ , аланинаминотрансфераза (АЛТ), урочаниназа, щелочная фосфатаза
Предстательная железа	Кислая фосфатаза (простатический изофермент), хитотрипсинподобная протеаза (ПСА)
Поджелудочная железа	α -амилаза
Кости (рак)	Щелочная фосфатаза

Целесообразно отдельно выделить три фермента, ценных для лабораторной диагностики инфаркта миокарда: креатинкиназа (увеличение активности выше нормального диапазона

через 4–6 ч после острого инфаркта), аспаратаминоотрасфераза (увеличение несколько позже) и лактатдегидрогеназа 1 (подъем активности через 12–24 ч). Для полноты информации по этому вопросу следует отметить также диагностическую ценность выявления в крови при инфаркте таких белков кардиомиоцитов, как миоглобин (повышение уровня регистрируется через 2–3 ч) и кардиальные тропонины I и T (подъем через 4–6 ч).

Протеинопатии и энзимопатии могут быть как наследственными, связанными с мутациями генов конкретных белков и ферментов, так и ненаследственными, приобретенными в динамике патогенеза практически любой болезни. Многочисленные примеры наследственных заболеваний мы будем рассматривать в дальнейшем курсе. Сейчас выделим варианты изменения количества субстратов и продуктов при этих заболеваниях:

- 1) уменьшение количества конечного продукта метаболических путей (альбинизм, болезнь Паркинсона);
- 2) накопление конечного продукта (подагра, гиперхиломикронемия, гиперхолестеринемия и атеросклероз);
- 3) накопление промежуточного продукта (алкаптонурия, оратацидурия);
- 4) накопление исходных веществ — гликогена при гликогенозах, в том числе при болезни Гирке; накопление β -амилоида при заболеваниях почек, мозга, сахарном диабете 2-го типа и др.

В заключение раздела — о медицинском значении ферментов.

1. Ферменты используются для лабораторной диагностики ряда заболеваний.
2. Некоторые лекарственные препараты являются ферментами (протеолитические ферменты, нуклеазы, гиалуронидаза, аспарагиназа и др.). Студентам надо подробно изучить по учебнику принцип лечения лейкозов с помощью аспарагиназы (научная работа нашей кафедры).
3. Ферменты могут быть использованы как реагенты для проведения клинических биохимических анализов, например для определения глюкозы крови с помощью глюкооксидазы.
4. На современном уровне это и энзимокосметика.

Лекция 4/1 (дополнительная)

РАЗНООБРАЗИЕ БЕЛКОВ

В этой лекции мы рассмотрим своеобразные белки, имеющие некоторые особенности. При этом оценка таких белков будет производиться с учетом принятых в биохимии белка критериев: данный белок простой или сложный, высшая структура — третичная или четвертичная (белок нелигомерный или олигомерный), белок глобулярный или фибриллярный, доменный или недоменный.

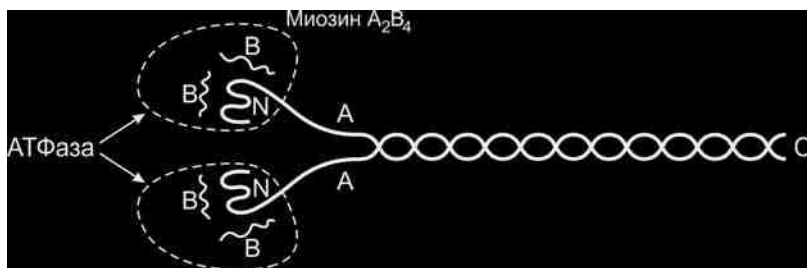
В лекции 2/1 уже приведена такая оценка для двух белков:

- 1) миоглобин — белок сложный, с высшей третичной структурой, глобулярный;
- 2) гемоглобин — белок сложный, олигомерный, доменный, глобулярный.

Рассматриваем другие белки.

МИОЗИН

Миозин — белок простой, олигомерный, фибриллярный. Он состоит из двух полипептидных цепей А с молекулярной массой около 2×10^5 Да, основная часть которых с С-конца в виде α -спиралей закручены друг с другом, формируя фибриллярную часть молекулы. С N-конца к каждой А-цепи нековалентно присоединяются две маленькие цепи В (2×10^4 Да), образуя две глобулярные головки из трех цепей.



Так создается активный центр миозина-фермента на уровне четвертичной структуры. Этот центр как АТФаза катализирует распад АТФ с освобождением энергии для сокращения мышц (Энгельгардт В.А.). Примерно 400 молекул миозина вместе с актиновыми нитями входят в состав саркомера, являющегося частью миофибриллы.

АЛЬБУМИН

Альбумин — важный в клиническом плане белок, от которого, во-первых, зависит осмотическое и онкотическое давление в жидкостях организма (отеки!), и, во-вторых, он транспортирует по крови многие гидрофобные эндогенные (жирные кислоты, билирубин, стероидные гормоны и йодтиронины) и экзогенные вещества (металлы, лекарства — некоторые гидрофобные антибиотики, салицилаты, барбитураты, сульфамиды). Альбумин — нелигномерный белок, состоит из одной полипептидной цепи (585 аминокислот), вероятно, сложный белок (по некоторым данным содержит около 1% глюкозы), глобулярный и доменный. Последнее обусловлено наличием нескольких центров связывания для переносимых альбумином веществ. Большое количество дикарбоксильных аминокислот в альбумине крови формирует на поверхности его молекулы много отрицательных зарядов (–18), что определяет роль альбумина в создании осмотического давления.

КОЛЛАГЕН

Важнейшим белком межклеточного матрикса является коллаген или тропоколлаген. Это сложный, олигмерный, фибриллярный белок. Он состоит из трех полипептидных цепей (по 1000 ами-

ноокислот), связанных между собой в основном нековалентными водородными связями за счет большого содержания гидроксипролина (Гпро) и при участии радикальных функциональных групп других аминокислот. В самом межклеточном матриксе отдельные молекулы коллагена соединены между собой ковалентными связями, образуя фибриллы и своеобразную сетку или решетку.

Одна полипептидная цепь коллагена включает очень много глицина (30%), аланин (10%), пролин (Про) и гидроксипролин (25%), лизин и гидроксизин (Глиз) (1%). Достаточно редкие для других белков аминокислоты образуют в отдельных цепях коллагена характерные триады: —{Гли-Про-Гпро или Глиз}_n—. Коллаген не содержит цистеина и триптофана, поэтому получаемая из коллагена желатина используется в учебной биохимии при постановке цветных реакций на белки и аминокислоты. Почти весь гидроксипролин в организме человека находится в коллагене. Это используется в онкологии при лабораторной диагностике рака соединительной ткани (рака костей) по избытку выделяемого с мочой Гпро.

Одна цепь коллагена образует левозакрученную спираль, в которой на один виток спирали приходится три остатка аминокислоты в отличие от классической правозакрученной более компактной α -спирали (3,6 остатков на виток). Благодаря гидроксильным группам гидроксизина образуются O-гликозидные связи с гексозами.



Существует около 30 различных отдельных цепей коллагена с несколько отличающейся первичной структурой. Из них при объединении по три цепи формируется конечная молекула тропоколлагена или коллагена. Она представляет из себя правозакрученную суперспираль, в образовании плотной упаковки которой большая роль принадлежит глицину (30%) с его маленьким радикалом. Благодаря объединению разных полипептидных

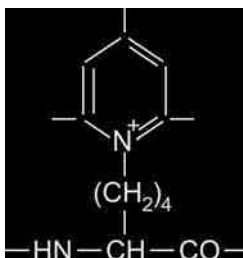
цепей в организме человека формируется 19 разных типов тропоколлагена, характерных для костей, дентина и др. (тип 1), для хрящей и стекловидного тела глаза (тип 2), для сосудов, печени, почек (тип 3), для базальных мембран (тип 4). Это полиморфизм молекул тропоколлагена.

В межклеточном матриксе молекулы тропоколлагена соединены прочными ковалентными связями трех видов. Уже после синтеза отдельных полипептидных цепей в рибосомах далее вне клетки их ϵ -аминогруппы лизина и гидроксизина в составе фибрилл тропоколлагена окисляются с образованием альдегидных групп (фермент лизиламинооксидаза с участием витаминов PP, B₆ и Cu²⁺), и эти альдегидные группы сформировавшихся молекул аллизина и гидроксиаллизина дают сшивки с соседними молекулами тропоколлагена, а именно с радикалами остатков лизина и гидроксизина. Образуются связи типа шиффовых оснований, альдольные связи и пиридиновые связки (пиридинолины и дезоксипиридинолины), включающие пиридиновые гетероциклы. Каждая молекула тропоколлагена представляет из себя определенной прочности тяж, эти молекулы спонтанно объединяются, образуя микрофибриллы, макрофибриллы и коллагеновые волокна. В итоге в межклеточном матриксе формируются фибриллярные или сетчатые структуры (лекция 16/1).

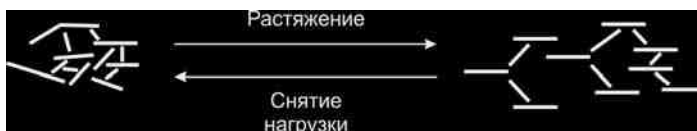
ЭЛАСТИН

Является вторым значимым белком межклеточного матрикса, обладающим большой эластичностью и характерным для сосудов, легких, связок. Это сложный белок (гликопротеин), неолигомерный, приобретающий фибриллярную третичную структуру при физической нагрузке. Белковая цепь содержит около 800 аминокислот, среди которых много гидрофобных (70%), мало гидроксипролина и нет гидроксизина, цистеина, метионина, триптофана. После синтеза в клетке предшественника-тропоэластина его пролин гидроксилируется и далее уже вне клетки в лизине окисляется радикальная аминогруппа и образуется альдегид аллизин. Аналогичные реакции происходят и при формировании коллагена. Благодаря аллизину далее между отдельными цепями эластина образуются связки-сшивки с радикалами лизина. Меж-

ду двумя цепями эластина образуется лизиннорлейцин, а между четырьмя — десмозин с пиридиновым гетероциклом. Сравните, что такие же пиридиновые связки образуются между молекулами тропоколлагена.



Сшивки-связки между отдельными цепями эластина формируют в эластичной ткани характерную сеть, которая при отсутствии нагрузки на эту ткань представляет неупорядоченную структуру.



При растяжении мышечно-суставной связки или расширения артерии эластического типа под нагрузкой система приобретает стройную резиноподобную конформацию, а цепи эластина — фибриллярную третичную структуру, оставаясь связанными между собой пиридиновыми сшивками. После снятия нагрузки эластическая ткань и молекулы эластина возвращаются в исходное хаотичное состояние.

КЕРАТИНЫ

Фибриллярный белок α -кератин, находящийся в волосах, шерсти, ногтях и в эпидермисе, состоит из трех полипептидных цепей, жестко связанных, в том числе дисульфидными связями, и образующих суперспираль. Каждая цепь имеет вторичную структуру в виде α -спиралей. Отдельные молекулы кератина формируют последовательно микро-, макрофибриллы и много-

жильные канаты, обеспечивающие высокую прочность волос и других структур. Химическая завивка волос сводится вначале к реакциям разрушения дисульфидных связей в волокнах и после механического изменения конфигурации размягченных волос — к восстановлению этих связей путем окисления сульфгидрильных групп.

β -кератины — фиброин шелка и паутина имеют β -конформацию без дисульфидных связей с частыми повторами Ала-Гли и обладают очень большой прочностью. Считается, что при одинаковой толщине шелковая нить прочнее, чем стальная нить.

ИММУНОГЛОБУЛИНЫ (Ig)

Изучение этих белков было очень плодотворным для биохимиков и иммунохимиков. В 1948 г. была присуждена Нобелевская премия за открытие гетерогенности сывороточных белков крови с выявлением фракции γ -глобулинов (антител), в 1972 г. — за открытие структуры антител (иммуноглобулинов), в 1984 г. — за моноклональные антитела и в 1987 г. — за изучение генов Ig.

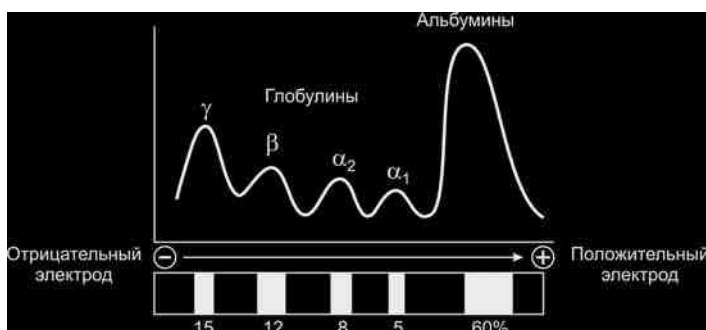
Иммуноглобулины объединены в суперсемейство белков, которое включает в себя типичные антитела, белки главного комплекса гистосовместимости, рецепторы антигенов и некоторые адгезивные белки. Все белки суперсемейства имеют в своей структуре гомологичные участки, сходную конформацию и выполняют близкие функции.

Ig-антитела — это совокупность сывороточных белков со сходной структурной организацией, способных в качестве антител специфически взаимодействовать по принципу комплементарности с антигенами и гаптенами. Ig находятся не только в сыворотке крови, но и в различных секретах (молоко, слюна, сперма). Некоторые Ig встроены в мембраны клеток, например в В- и Т-лимфоциты.

Старое название антител — γ -глобулины произошло из-за локализации антител в электрофоретической фракции γ -глобулинов.

γ -глобулины — наибольшие по размеру белки сыворотки крови, имеющие наименьший отрицательный заряд и поэтому наименее подвижные при электрофорезе. Изоэлектрическая

точка γ -глобулинов находится в области pH 6,5. Эти особенности являются причиной небольшой гидратной оболочки вокруг их молекул в составе крови и причиной легкой осаждаемости солями. При 35% насыщении сульфатом аммония происходит осаждение всех IgG, а при 50% насыщении — всех глобулинов. Альбумин сыворотки (небольшая молекулярная масса, сильно ионизированный с 18 отрицательными зарядами на поверхности, с большой гидратной оболочкой и с изоточкой около pH 4,5) высаливается сульфатом аммония только при 100% насыщении. При более тщательном ступенчатом изменении концентрации соли можно отделить γ -, β - и α -глобулины. Благодаря различиям в ионизации молекул при электрофорезе удается даже разделить антитела классов IgG, IgM и IgA. Гель-фильтрация дает возможность разделения этих классов Ig по их молекулярной массе.



Содержание γ -глобулинов в крови людей увеличивается при некоторых острых и хронических заболеваниях (гипериммуноглобулинемия) или уменьшено при первичных или вторичных иммунодефицитах вплоть до агаммаглобулинемии при врожденном дефекте В-лимфоцитов. Гипоиммуноглобулинемия временно характерна для здоровых 3–5-месячных детей.

Ig — белки олигомерные с высшей четвертичной структурой; сложные — гликопротеины, содержащие гексозы (3% — в IgG, 12% — в IgM); доменные с несколькими центрами связывания лигандов. IgG и антитела других классов содержат два основных вида полипептидных цепей — легкие L (около 200 аминокислот) и тяжелые H (450–700 аминокислот). Подчеркиваю терминологию: L и H — это виды цепей. Два типа L-цепей с разной первич-

ной структурой (χ и λ) равномерно распределены в Ig каждого класса. Пять типов H-цепей также с разной первичной структурой соответственно определяют класс Ig: тип γ входит в IgG, тип μ — в IgM, тип α — в IgA, тип ϵ — в IgE, тип δ — в IgD. Более строго: класс антител определяет первичная структура C-концевого фрагмента тяжелой H-цепи данного типа.

Каждая L- и H-цепь состоит из двух фрагментов.



C-концевой (по свободной карбоксильной группе COOH) фрагмент является консервативным или константным, его первичная структура постоянна для каждого типа цепи. N-концевой фрагмент имеет варьирующую первичную структуру в соответствии с видом антигена, к которому это антитело было индуцировано. Поэтому N-концевой фрагмент называют вариабельным V-фрагментом. Примерное соотношение длины V- и C-фрагментов по числу аминокислот: для L-цепей — 100/100, для H-цепей — 120/400–450.

IgG является биохимическим тетрамером L_2H_2 , хотя иммунологи называют его иммунологическим мономером.

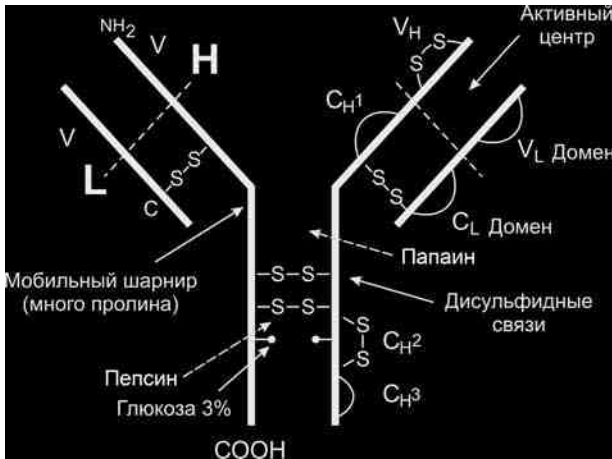


Рис. 4/1д.1. Схема строения иммуноглобулина класса IgG

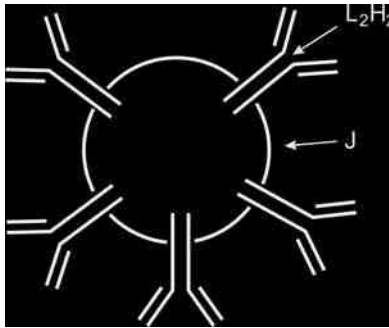
Две легкие и две тяжелые полипептидные цепи формируют олигомерную молекулу IgG с помощью четырех видов межрадикальных связей, из них наиболее важные — 16 дисульфидных связей. В области шарнира, указанного на рисунке, много пролина, который нарушает вторичную структуру белка, и поэтому верхняя N-концевая часть молекулы может свободно вращаться относительно C-концевой части. Внутрицепочечные дисульфидные связи образуют несколько доменов в каждой цепи (указаны на рисунке): переменные домены V и константные домены C. N-концевые V_H - и V_L -домены формируют активный центр данного антитела (на уровне четвертичной структуры) для комплементарного связывания антигена в реакции антитело–антиген. Активный центр антител обладает абсолютной специфичностью по отношению к антигену. При этом потенциальное количество разных антител с разными активными центрами может достигать 20 миллионов согласно клонально-селекционной теории иммуногенеза (см. лекцию 7/1). Такое разнообразие антител достигается за счет:

- 1) множества вариантов первичной структуры V_H - и V_L -доменов (мутации, соматические рекомбинации в соответствующих экзонах ДНК);
- 2) множества сочетаний этих доменов.

На рисунке показано, что IgG имеет два активных центра (обладает двумя иммунологическими валентностями) и поэтому может связывать две молекулы антигена или присоединяется двумя своими центрами к двум участкам (эпитопам) одной молекулы антигена. Гликозилированный C_H2 -домен соединяется с компонентом C1 системы комплемента и активирует систему комплемента по классическому пути (если предварительно антиген присоединился к активному центру антитела). Домен C_H3 предназначен для связывания антител с мембранами иммунокомпетентных клеток: IgM (иммунологические мономеры) и IgD — с предшественниками В-лимфоцитов, IgE — с тучными клетками, разновидности Ig — с Т- и К-лимфоцитами. Так иммуноглобулины и близкие к ним молекулы образуют на поверхности иммунокомпетентных клеток рецепторы для антигенов со свободными активными центрами, которые далее будут связывать комплементарный им антиген.

При разрушении дисульфидных и водородных связей соответственно восстанавливающими агентами (цистеин, меркаптоэтанол) и мочевиной IgG распадается на две легкие и две тяжелые цепи. Протеолиз IgG пепсином освобождает N-концевой $F_{(ab)_2}$ -фрагмент с двумя активными центрами и двумя валентностями. Папаин выделяет после протеолиза два одновалентных N-концевых фрагмента F_{ab} . Остающийся после протеолиза C-концевой фрагмент Ig обозначают как F_C -фрагмент.

Иммуноглобулины классов М, А, Е и D имеют несколько другое, более сложное строение, чем IgG, но все содержат L- и H-полипептидные цепи и способны связывать антигены с помощью активного центра, сформированного из этих двух видов цепей. Практически важно, что на ранней стадии первичного инфекционного процесса (примерно через одну неделю) в крови появляются секреторные IgM, состоящие из 21 цепи — $(L_2H_2)_5J$, из которых J является соединительной цепью.



Это ранний иммунный ответ. Позже, примерно к 3-й неделе, максимум составляют IgG (поздний ответ). Диагностически важно при эпидемиологически опасных заболеваниях знать стадию инфекционного процесса. Это можно выяснить, выявляя не просто антитела, специфические для данной инфекции, а класс антител (IgM или IgG). Такую дифференциацию возможно сделать или с помощью моноклональных антител к этим двум классам Ig, или с помощью восстанавливающих агентов (цистеин, тиогликолевая кислота и др.). Последние быстрее разрушают и инактивируют секреторные IgM, образованные 95 дисульфидными связями, чем IgG, имеющими всего 16 таких связей.

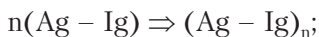
Первичная иммунизация организма, включающая ранний и поздний иммунный ответ, наступает после первой встречи с данным антигеном (первичное инфицирование или первичная вакцинация). При реинфицировании или повторной вакцинации происходит быстрый вторичный иммунный ответ — продукция IgG без образования IgM уже в течение первой недели.

Реакция антиген–антитело является высокоспецифичной благодаря абсолютной специфичности активного центра антител по отношению к своему лиганду — антигену. Фазы этой реакции:

1) 1-я фаза, быстрая и обратимая, она происходит по принципу комплементарности с образованием множества слабых связей, среди которых надо выделить взаимодействие по Ван-дер-Ваальсу (электростатическое взаимодействие диполь–диполь):



2) 2-я фаза, более медленная и необратимая, приводит к созданию сложных пространственных комплексов. Комплексы плохо растворимы и могут в пробирке образовать преципитат:



3) в организме эти комплексы поглощаются макрофагами, которые разрушают в своих лизосомах и антигены, и антитела.

Белки главного комплекса гистсовместимости (белка МНС или HLA) встроены в цитоплазматические мембраны практически всех клеток (МНС класса I) или только макрофагов и В-лимфоцитов (МНС класса II). Их структура близка к структуре иммуноглобулинов, но они являются гетеродимерами. Функция белков МНС заключается в связывании внутри клеток частично модифицированных опухолевых и вирусных антигенов (это МНС класса I) или других чужеродных антигенов (МНС класса II) и в переносе этих антигенов на поверхность клетки для дальнейшей передачи (представления) указанных антигенов Т-лимфоцитам-хелперам. Так начинается (индуцируется) иммунный ответ организма, дальнейшие этапы которого вы будете рассматривать на кафедре микробиологии.

В заключение данной лекции напомним о существовании искусственных и естественных каталитических антител или абзи-

мов, которые и по структуре, и по функциям совмещают в одной молекуле свойства и антител, и ферментов. Вначале абзимы считались только искусственно созданными учеными гибридными «уродами». Позже каталитические антитела были найдены в организме людей с различной патологией, в основном аутоиммунной природы.

Более подробная информация по сравнению свойств абзимов, антител и ферментов представлена мною в учебном пособии для студентов «Патологическая физиология и биохимия» (Под ред. акад. И.П. Ашмарина. — М.: Экзамен, 2005. — С. 326–365).

Лекция 5/1

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ. РЕПЛИКАЦИЯ И РЕПАРАЦИЯ ДНК

СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

(Нобелевские премии 1910 и 1957 гг.)

Нуклеиновые кислоты — это полимеры, состоящие из мономеров — нуклеотидов. Структура нуклеотида:



Надо знать формулы азотистых оснований и уметь писать формулы нуклеотидов и нуклеозидов.

Структура нуклеозидов в РНК (цитидин, аденозин, гуанозин, уридин) и в ДНК (тимидин, дезоксицитидин, дезоксиаденозин, дезоксигуанозин):



Структура полинуклеотидной цепи из четырех разных нуклеотидов:



Первичная структура нуклеиновых кислот — это последовательность нуклеотидов в полинуклеотидной цепи:

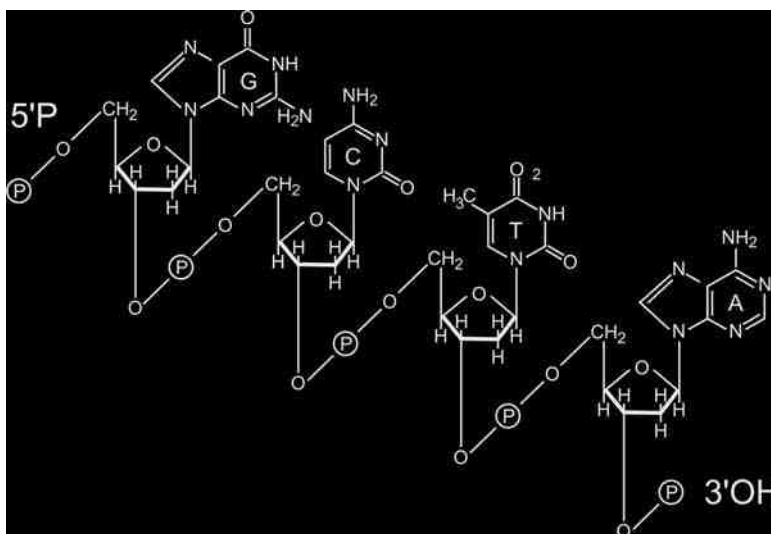
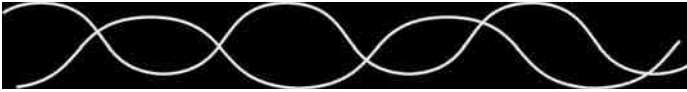
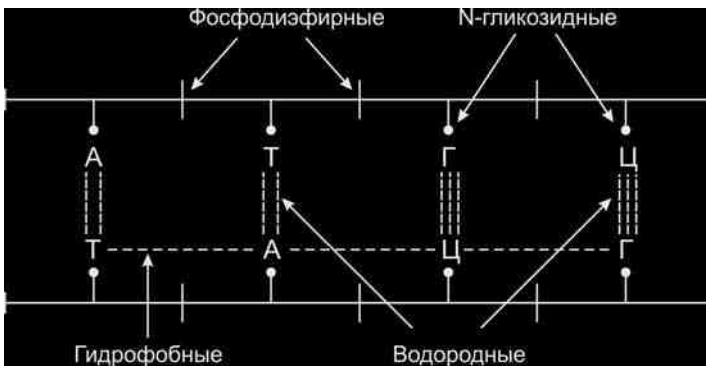


Рис. 5/1.1. Фрагмент ДНК

Классическая дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) является молекулой, состоящей из двух комплементарных и антипараллельных цепей, которые соединены между собой водородными связями в виде правозакрученной спирали что и является вторичной структурой ДНК (Нобелевская премия 1962 г.):



Полная структура ДНК и четыре вида связей в ней:



Водородные связи между азотистыми основаниями противоположных цепей являются основой комплементарности этих цепей. Между А и Т две таких связи, между Г и Ц — три связи. Отсюда следуют два правила: 1) равенство количества оснований $A = T$ и $G = C$ в ДНК; 2) равенство количества пуринов ($A + G$) и пиримидинов ($T + C$).

Третичная структура ДНК представляет из себя различные суперспирали двойной цепи ДНК, образующиеся при взаимодействии отрицательно заряженной ДНК с ядерными белками — гистонами. Последние имеют избыток положительных зарядов благодаря большому содержанию лизина и аргинина. Простейшая модель третичной структуры — ДНК делает примерно два витка (1,75) вокруг комплекса из восьми молекул гистонов четырех типов. Так в ядре образуются нуклеосомы (ДНК плюс гистоны), благодаря чему ДНК становится сжатой (более компактной) примерно в 10 раз.



Существуют и другие, более эффективные способы компактизации ДНК, обеспечивающие в целом ее сжатие в 10^7 раз. В среднем длина одной молекулы (одной хромосомы) ДНК в ядре составляет 5 нм, а после ее потенциально возможного выделения из ядра — 5 см (расчетные данные). Все 23 пары хромосом человека содержат около 35 000 генов (10% ДНК) и множество служебных последовательностей, не являющихся генами (90% ДНК). Для сравнения: курица имеет примерно 23 000 генов. Другая форма третичной структуры ДНК — циркулярные молекулы бактериальных плазмид.

Некоторые положения, ставшие афоризмами в молекулярной биологии: каждый ген специфичен, его специфичность определяет первичная структура ДНК, т.е. последовательность нуклеотидов, аналогично тому, как последовательность аминокислот определяет специфичность белка.

Схема доктрины молекулярной биологии: ген → первичная структура ДНК (гена) → первичная структура матричной РНК (мРНК) → первичная структура соответствующего белка → третичная (реже четвертичная) структура активного центра белка (фермента) → комплементарное взаимодействие активного центра с лигандом (субстратом) → специфическая функция белка (фермента) → генетические и фенотипические признаки биологического вида.

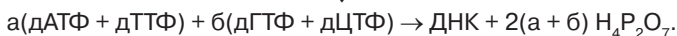
ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ БИОСИНТЕЗА ДНК, РНК, БЕЛКОВ (РЕПЛИКАЦИЯ, РЕПАРАЦИЯ, ТРАНСКРИПЦИЯ, ТРАНСЛЯЦИЯ)

1. Все эти синтезы являются матричными, т.е. они происходят на базе матрицы — одной нити ДНК или РНК.

Длительность всего цикла 10–24 ч, S-фазы — 6–10 ч. Регуляторы цикла циклины и циклинзависимые протеинкиназы обеспечивают синтез необходимых ферментов в G₁-фазу цикла.

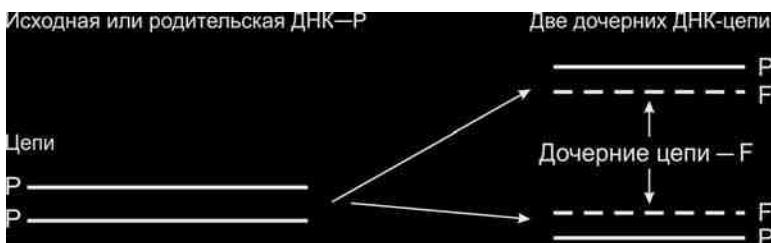
Суммарное уравнение репликации:

ДНК-полимеразы (набор изоферментов)
кофакторы — Mg и Zn



дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (дНТФ)
являются субстратами и источниками
энергии для синтеза

Общая схема репликации:



Принципы репликации:

- 1) синтез полуконсервативный, т.е. в дочерней молекуле ДНК одна нить родительская Р, другая нить дочерняя или новая F;
- 2) обе родительские нити Р являются матрицами для синтеза дочерних цепей F;
- 3) обе цепи в молекуле ДНК комплементарны и антипаралельны.

На рисунке 5/1.2 приведена детальная информация о трех этапах репликации: инициации, элонгации и терминации.

В репликации участвуют девять различных белковых молекул, обозначенных на рис. 5/1.2 арабскими цифрами: четыре ДНК-полимеразы (№ 4, 5, 6, 8), ДНК-лигаза (№ 9), ферменты, расплетающие ДНК — ДНК-топоизомераза и ДНК-хеликаза (№ 1, 2), РНКаза (№ 7) и белки, связывающиеся с цепями односторонней ДНК и стабилизирующие их как матрицу для синтеза (№ 3).

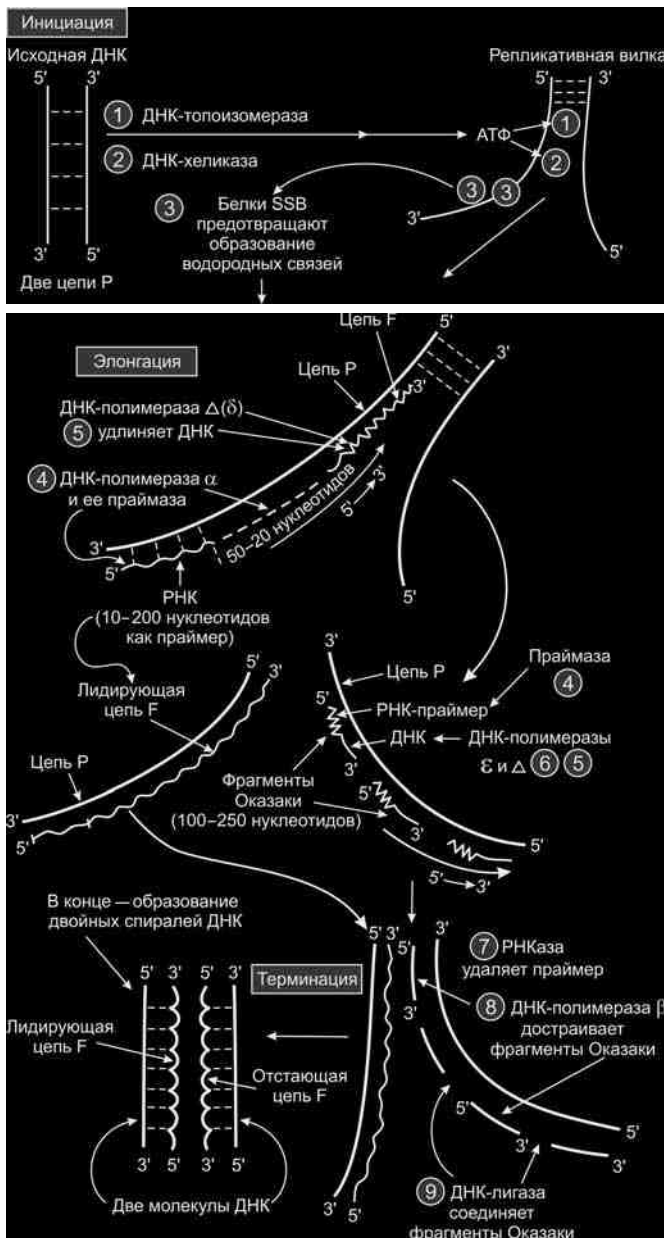


Рис. 5/1.2. Биосинтез ДНК — репликация

На этапе инициации на концах и внутри молекул ДНК два фермента (№ 1, 2) расплетают двойную спираль ДНК и формируют на концах молекул типичные репликативные вилки, а внутри — локально денатурированные участки также со свободными зонами отдельных цепей (ориджины или точки инициации репликации). Если бы репликация начиналась только с одного конца молекулы ДНК путем образования одной репликативной вилки (как на рис. 5/1.2), то весь процесс удвоения молекул ДНК продолжался бы около 10 суток. Однако S-фаза синтеза ДНК занимает всего 6–10 ч. Для ускорения репликации процесс и начинается одновременно во многих ориджинах (ori) (рис. 5/1.3). Считается, что в ДНК дрожжей имеется около 400 ori. Рисунок 5/1.3 раскрывает также понятие о репликоне — о расстоянии между соседними ori.

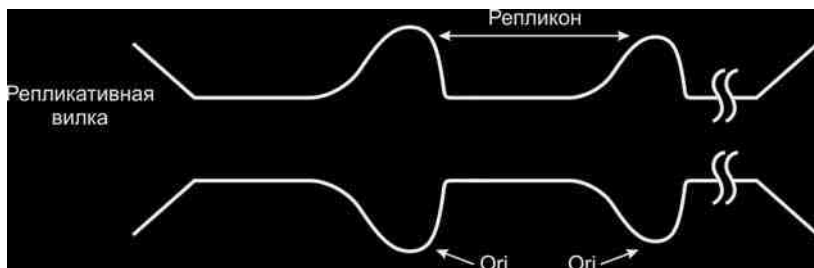


Рис. 5/1.3. Множественные точки начала репликации в молекуле ДНК

Этапы элонгации и терминация

1. Полный непрерывный синтез лидирующей цепи начинается на матрице — на 3'-конце первой матричной родительской нити ДНК с образования 5'-концевого РНК-праймера (10–200 нуклеотидов) с помощью праймазы, субъединицы ДНК-полимеразы α . Затем другие субъединицы последней удлиняют праймер (от 5'-конца к 3'-концу) на 20–50 мономеров олигодезоксинуклеотида, далее ДНК-полимераза δ завершает синтез лидирующей цепи ДНК.

2. Вторая отстающая (по времени синтеза) нить ДНК синтезируется в виде коротких фрагментов Оказаки (100–250 нуклеотидов). Их образование происходит в противоположном направлении по отношению к лидирующей цепи по мере расплетания

и освобождения второй родительской матричной нити ДНК. Каждый фрагмент начинается также с РНК-праймера (фермент праймаза) и продолжается как олигодезоксинуклеотид (ферменты ДНК-полимеразы δ и ϵ). Затем РНКаза удаляет РНК-праймер, ДНК-полимераза β достраивает фрагмент по матрице и ДНК-лигаза соединяет модифицированные фрагменты Оказаки, образуя новую полную отстающую цепь ДНК.

3. Завершается репликация образованием водородных связей попарно между родительской и новой дочерней цепями с формированием двух двойных спиралей (полуконсервативный синтез).

ПОСТРЕПЛИКАТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ДНК

В синтезированных цепях ДНК происходит метилирование аденина по азоту N_6 в последовательности 5' ГАТ 3', а также части цитозина по углероду C_5 . Это необходимо для регуляции репарации, транскрипции и для формирования структуры хромосом (Нобелевская премия 1993 г.).

Изменение длины цепей ДНК (Нобелевская премия 2009 г.). После каждого цикла репликации синтезированная цепь ДНК становится более короткой, чем ее матричная родительская нить, из-за распада РНК-праймера на 5'-конце дочерней цепи. Концевые участки молекулы ДНК или так называемая теломерная ДНК не содержат кодирующих генов, их последовательность состоит из многократных повторов идентичных гексануклеотидов ГГТТА. Поэтому укорочение новых цепей ДНК после репликации не сказывается на функциях ДНК, пока укорочение не достигнет участков-генов, кодирующих РНК. В этом случае (обычно после 25–30 делений) клетка погибает. Поэтому некоторые ученые считают длину теломерной ДНК биологическими часами клетки, определяющими время наступления их гибели (рис. 5/1.4).

Однако в стволовых, половых, в опухолевых и некоторых других клетках сразу после удаления РНК-праймера происходит застройка укороченного 5'-конца новой цепи ДНК при участии специального фермента теломеразы, а также ДНК-полимеразы и ДНК-лигазы (см. рис. 5/1.4). Поэтому такие клетки условно

считаются бессмертными. В клинической практике обнаружение в биоптатах органов или в операционном материале паренхиматозных органов активной теломеразы принято рассматривать как ранний маркер инициации злокачественной опухоли (стадия предрака) или как маркер наличия раковых клеток.

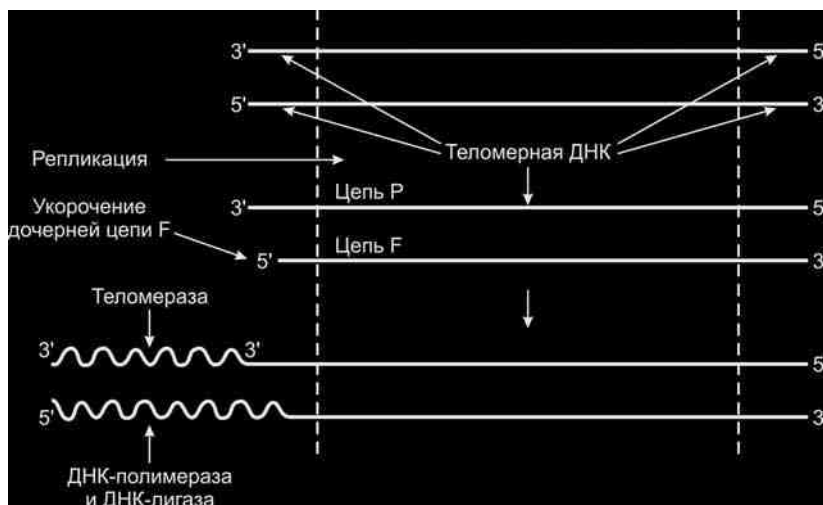


Рис. 5/1.4. Теломерная ДНК и теломераза

РЕПАРАЦИЯ ДНК

Второй вид матричных биосинтезов — репарация ДНК, которая исправляет неправильную структуру ДНК. Когда этот процесс необходим?

1. Иногда во время своей работы ДНК-полимеразы ошибаются, и в первичной структуре новой цепи появляются нуклеотиды, нарушающие правило комплементарности с матричной родительской нитью (А—Т, Г—Ц). Такие ошибки связаны, например, с химической неизбежностью существования азотистых оснований в разных таутомерных формах: наиболее частые — это кето- и аминотомы, обеспечивающие нормальное спаривание оснований при репликации, и очень редкие окси- и иминоформы, нарушающие указанное выше правило. Исправление подобных эндогенных ошибок возможно до того момента, пока синтези-

рованная нить ДНК не подверглась метилированию. ДНК-полимеразы δ и ϵ могут вырезать ошибочный нуклеотид и далее его заменить на правильный комплементарный нуклеотид. Или существуют специальные белки mut, которые находят ошибку и также ее исправляют. Так происходит репликативная репарация.

2. После репликации множество эндогенных и экзогенных (внешних) факторов могут вызвать повреждения структуры ДНК: кислоты, окислители, алкилирующие агенты, ионизирующая радиация, ультрафиолетовые лучи и другие. Если в клетках человека и животных репарация повреждений ДНК не происходит, то эти повреждения реализуются в измененную первичную структуру ДНК, что и является причиной мутаций или гибели клеток (летальные мутации).

Существуют разные способы репарации повреждений ДНК или замены ошибочных нуклеотидов, реализуемые после репликации. Это пострепликативная или эксцизионная репарация, заключающаяся в вырезании (фр. *excision*) азотистых оснований или нуклеотидов. Мини-способ такой репарации не требует разрыва фосфодиэфирной связи в репарируемой нити. Этот способ заключается в удалении поврежденного азотистого основания при участии ДНК-N-гликозидазы (катализирует распад N-гликозидной связи между основанием и 2'-дезоксирибозой) и в последующей вставке необходимого основания, катализируемой ДНК-инсертазой. Более сложный способ репарации связан с работой четырех-пяти ферментов, которые, во-первых, находят аномальный нуклеотид (ДНК-N-гликозидаза и эндонуклеаза), далее удаляют этот (ДНК-N-гликозидаза или экзонуклеаза) и прилегающие нормальные нуклеотиды (экзонуклеаза). Образующаяся брешь застраивается ДНК-полимеразой β по противоположно расположенной матрице и завершает репарацию ДНК-лигаза (рис. 5/1.5). Если повреждена и вторая нить ДНК — матрица, то репарация по данному участку невозможна. Второй способ пострепликативной репарации является универсальным, который может исправлять любые нарушения и повреждения ДНК, в том числе индуцированные ультрафиолетовыми лучами.

УФ-лучи вызывают образование ковалентных связей T-T и T-C в одной цепочке ДНК, образуя димеры типа T-T. Они

могут быть удалены, во-первых, с помощью универсального рассмотренного выше способа. Во-вторых, в некоторых клетках имеется фермент фотолиаза, который катализирует распад ковалентных связей в димерах, и нативная структура ДНК восстанавливается (рис. 5/1.6).

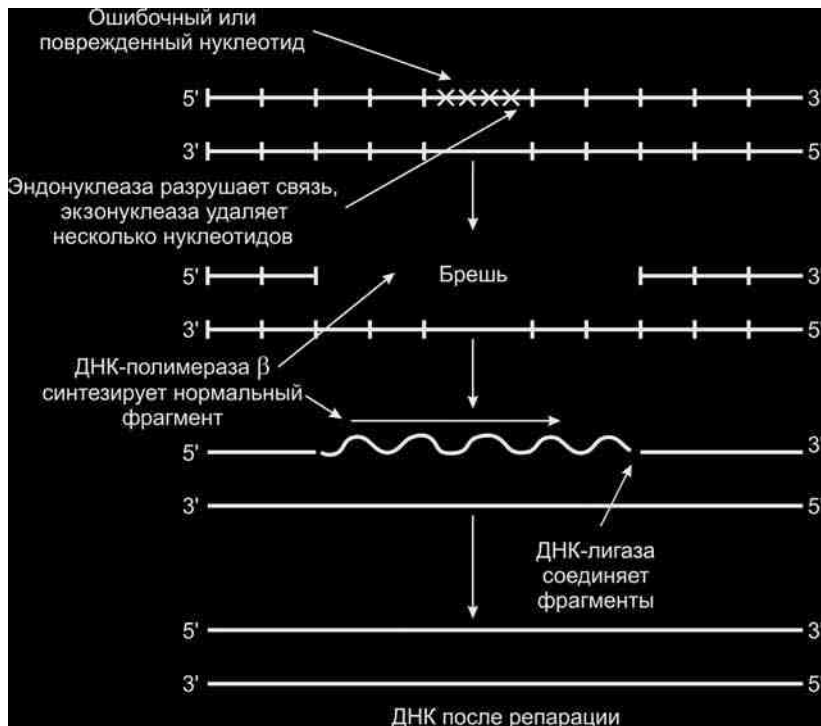


Рис. 5/1.5. Универсальный способ пострепликативной репарации ДНК

Существуют наследственные заболевания, возникающие вследствие дефектов ферментов пострепликативной (эксцизионной) и репликативной репарации. К первым относятся трихотриодистрофия (нарушение структуры белков из-за недостатка серы, особенно в волосах, инфантилизм) и пигментная ксеродерма. Оба заболевания обусловлены слабым удалением ультрафиолетовых димеров тимина. При ксеродерме (вероятен мутационный дефект УФ-эндонуклеазы, рис. 5/1.6) кожа очень чувствительна

к солнечному свету, возникают дерматит, раны, язвы и рак кожи. При нарушении репликативной репарации возможны такие заболевания, как телеангиэктазия (синдром Луи—Барр) и синдром Блума. Последнее заболевание («красная бабочка» на лице) обусловлено дефектом фермента репликации ДНК-хеликазы.

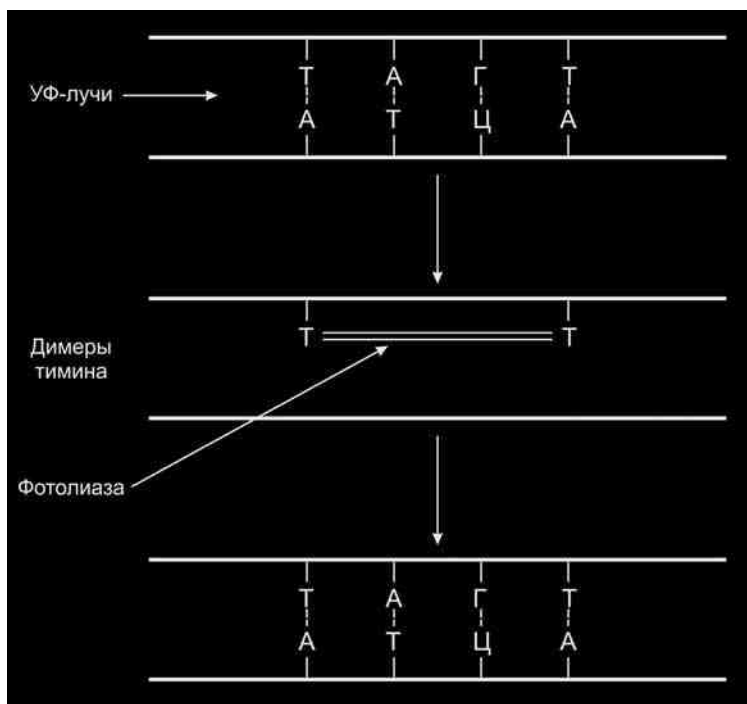


Рис. 5/1.6. Специфическая репарация ультрафиолетовых повреждений в ДНК

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ

(Нобелевская премия 1993 г.) (Глухов А.И.)

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) проводится в пробирке, помещенной в специальный термостат с автоматически заданной регуляцией времени и температуры. Далее выявляется продукт реакции (если реакция положительная) при электрофорезе в геле агарозы. По существу это та же репликация (мини-реп-

ликация), но не всей длинной молекулы ДНК, а небольшого ее фрагмента, комплементарного части (экзону) исследуемого нормального или мутантного гена хромосомы человека или одного из генов микроба, инфицирующего организм человека. Для целей такой ДНК-диагностики обязательным условием является знание первичной структуры исследуемого гена или его части, для того чтобы синтезировать и использовать в реакции специфический праймер (затравку), комплементарный выявляемому фрагменту ДНК. Праймер — это олигодезоксинуклеотид, обычно из 15–30 нуклеотидов, и именно он определяет специфичность поиска и анализа. Например, праймер на мутантный ген конкретного наследственного заболевания человека или на вирусы ВИЧ, гепатита В и С.

Этапы реакции (рис. 5/1.7)

1. В пробирке готовится реакционная смесь, содержащая исследуемую ДНК человека, два праймера, четыре дНТФ, термостабильную Taq-полимеразу и буферный раствор.
2. Далее в регулируемом термостате проводится нагревание (90–96 °С) для денатурации ДНК и разделения ее цепей. Это этап денатурации.
3. На этапе гибридизации при пониженной температуре (50–60 °С) каждый праймер комплементарно присоединяется к 3'-концу соответствующего ему участка (экзона) ДНК.
4. Следующий этап — элонгация: при 70–72 °С термостабильная ДНК-полимераза удлиняет каждый праймер, наращивая на его 3'-конец олигодезоксинуклеотид, комплементарный матрице — исследуемой ДНК. Это первый цикл ПЦР, всего проводится 20–30 циклов. Синтезированные два конечных олигодезоксинуклеотида, начинающиеся со своих праймеров, соединены водородными связями, образуя фрагмент мини-ДНК (продукт реакции), который выявляется в гель-электрофорезе.

Широко применяемая в медицинской практике ПЦР высокоспецифична и имеет очень большую чувствительность. Например, для идентификации ДНК достаточно материала одного волоса, 20 сперматозоидов или остатков слюны на одной сигарете.

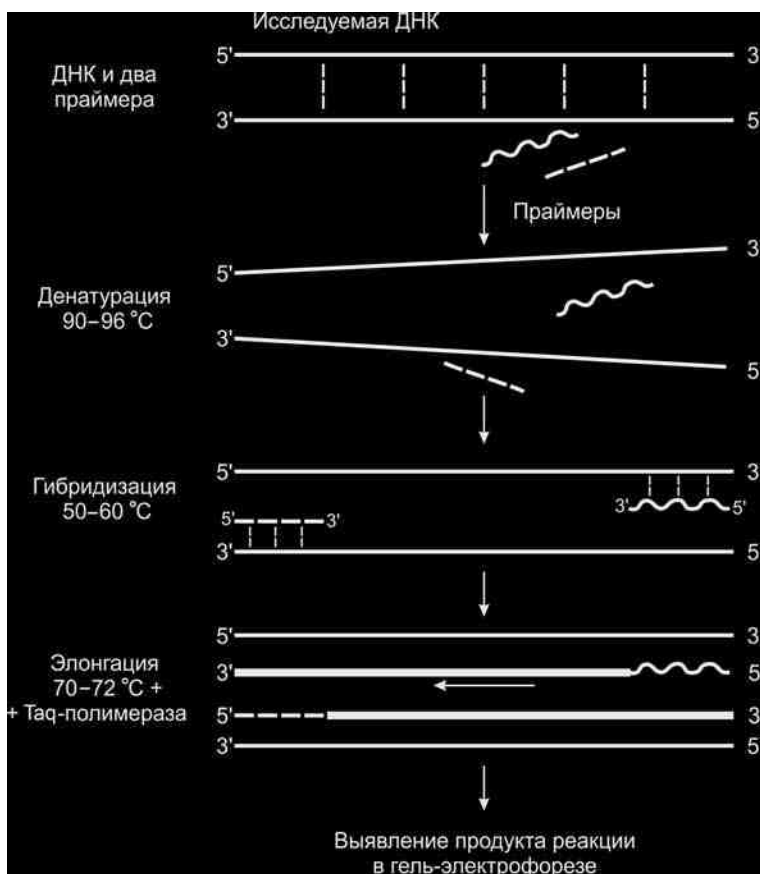


Рис. 5/1.7. Этапы полимеразной цепной реакции

ПЦР используется также для увеличения массы ДНК, если ее количество в биологических образцах недостаточно. В этом случае применяют неспецифические праймеры в связи с тем, что в данной ситуации проводится не ДНК-диагностика, а наработка (амплификация) материала для дальнейшего изучения. Так были приготовлены для генетических исследований образцы ДНК из костей останков семьи последнего русского царя и из костей древних мамонтов.

Лекция 6/1

БИОСИНТЕЗ РНК (ТРАНСКРИПЦИЯ) И БЕЛКА (ТРАНСЛЯЦИЯ)

БИОСИНТЕЗ РНК

(Нобелевская премия 2006 г.)

Существует три вида РНК (табл. 6/1.1).

Таблица 6/1.1

Виды РНК

Вид РНК	Содержание в клетке, %	Место синтеза в ядре	Вид РНК-полимеразы
Матричная, мРНК	5	Нуклеоплазма	II (B)
Рибосомальная, рРНК (28S; 18S; 5,8S)	80	Ядрышко	I (A)
Транспортная, тРНК Рибосомальная, 5S рРНК	15 –	Нуклеоплазма	III (C)

Наиболее важная РНК-полимераза II человека является олигомерным ферментом, состоящим из пяти субъединиц в комплексе с кофакторами Mg и Zn:

Субъединицы	2α	$\beta \beta'$	δ
Роль субъединиц	Инициация синтеза	Катализ синтеза	Связывание промотора в гене — ДНК

Все виды РНК синтезируются в ядре в форме больших предшественников, после модификации которых образуются конечные РНК. Суммарное уравнение транскрипции:



Рассмотрим этапы синтеза РНК на примере мРНК (рис. 6/1.1 и 6/1.2).

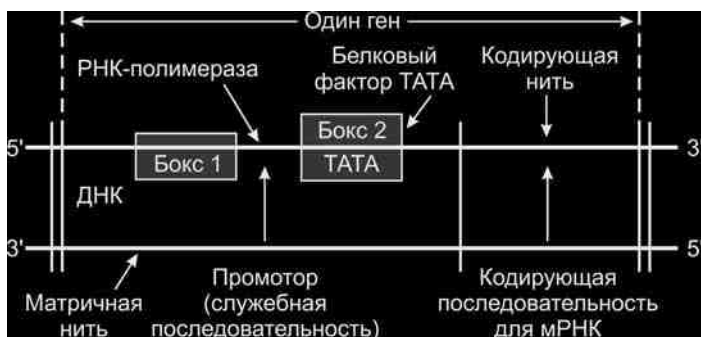


Рис. 6/1.1. Инициация синтеза мРНК

РНК-полимераза II присоединяется в соответствующем гене к промотору и вместе с факторами инициации транскрипции (включая белковый фактор ТАТА) расплетают ДНК. Далее происходит элонгация, т.е. синтез РНК на матрице только одной нити ДНК — на матричной нити. Вторая нить ДНК в этом процессе считается кодирующей (см. рис. 6/1.2).

Роль РНК-полимеразы:

- разрушает водородные связи в ДНК и раскручивает ДНК;
- перемещается направо (по модельной схеме — см. рис. 6/1.2);

- в) синтезирует первичный транскрипт (предшественник мРНК) на базе матричной нити ДНК в соответствии с принципом комплементарности.

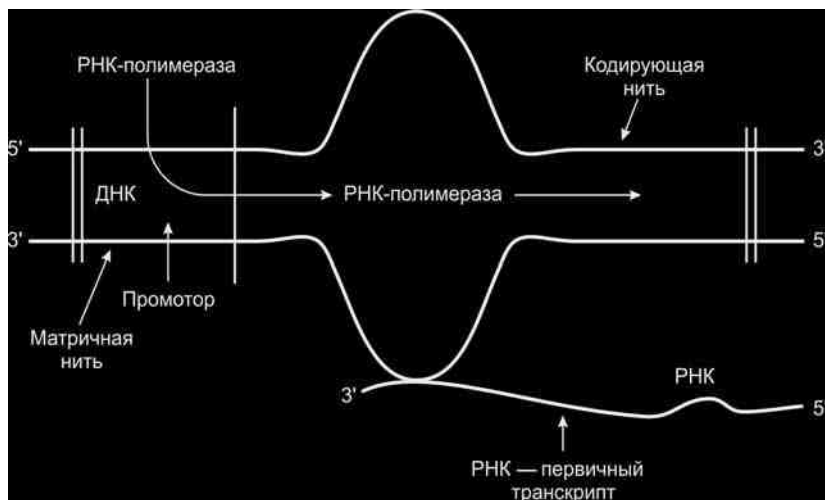


Рис. 6/1.2. Элонгация

И наконец, наступает фаза терминции, когда РНК-полимераза достигнет конца кодирующей части гена и первичный транскрипт освобождается в ядре клетки. Сигналами для окончания синтеза являются белковые факторы терминции и специальные последовательности в конце гена.

Следующая фаза для всех видов РНК — модификация первичного транскрипта или «созревание» конечной РНК. На рисунке 6/1.3 представлена довольно сложная схема для мРНК.

В матричной нити ДНК имеются «немые» участки, не содержащие кода для структуры белка. Роль этих фрагментов пока неизвестна. Это интроны из 80–100 нуклеотидов. Остальные участки — экзоны являются кодирующими фрагментами гена. При транскрипции матричная нить ДНК полностью копируется, поэтому первичный транскрипт также содержит интроны и экзоны (см. рис. 6/1.3). На следующем этапе модификации транскрипта из него удаляются интроны с помощью особого механизма — сплайсинга (Нобелевская премия 1993 г.): малые

ядерные РНК функционируют как фермент-рибозим, и они, образуя структуру типа лассо (сплайсосома), катализируют разрыв фосфодиэфирных связей с двух сторон интронов и их удаляют. Формируется пре-мРНК, в которой еще в процессе элонгации происходит образование 5'-концевой метилированной «шапочки», и позже присоединяется 3'-конец, состоящий из 50–200 остатков адениловой кислоты –АМФ (см. рис. 6/1.3).

Роль концевых участков мРНК:

- 1) 5'-конец мРНК, во-первых, защищает структуру мРНК против разрушения молекулы РНКазами и, во-вторых, при инициации синтеза белка связывает мРНК с 40S-субъединицей рибосом;
- 2) 3'-полиА «хвост» также стабилизирует структуру мРНК и является направляющей частью мРНК при ее выходе из ядра в цитозоль.

Существует еще альтернативный сплайсинг, который обеспечивает в процессе модификации первичного транскрипта возможность получения с одного транскрипта минимум двух разных мРНК, кодирующих несколько разных по первичной структуре белков и ферментов с разными функциями. Это достигается путем выборочного объединения разных экзонов с образованием разных мРНК. Так могут возникать изоформы белков и ферментов (полиморфные формы – в лекции 8/1). Другой пример – один и тот же ген в результате альтернативного сплайсинга кодирует в щитовидной железе мРНК и белок-гормон кальцитонин, а в мозгу – другую мРНК и белок, отвечающий за вкусовые ощущения.

И еще одна разновидность тканеспецифической посттранскрипционной модификации РНК, называемая редактированием РНК. В гепатоцитах и энтероцитах образуется одинаковый первичный транскрипт для белка аполипопротеина В (апоВ). В гепатоцитах мРНК на основе этого транскрипта кодирует белок апоВ-100 (4563 аминокислоты). В клетках кишечника внутри того же первичного транскрипта происходит дезаминирование цитозина кодона 2153 и образуется стоп-кодон УАА. Поэтому в энтероцитах при трансляции формируется укороченный белок апоВ-48 (2152 аминокислоты), входящий в состав хиломикроннов. АпоВ-100 является белком других липопротеинов.

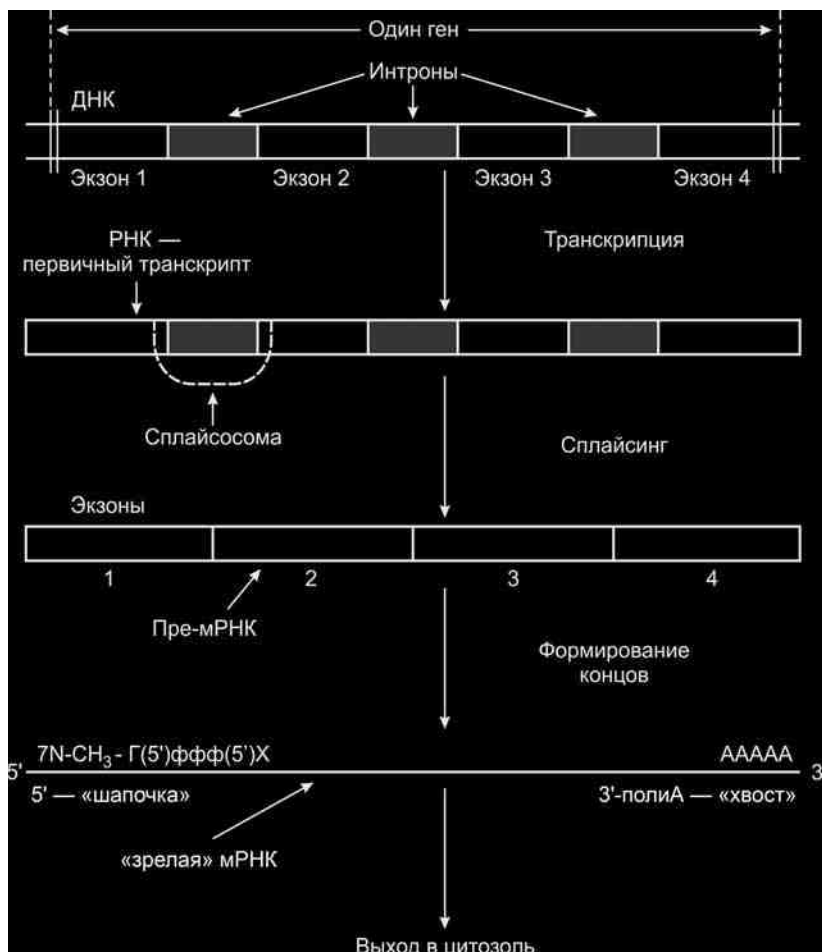


Рис. 6/1.3. «Созревание» мРНК

Рибосомальная рРНК и транспортная тРНК формируются также в две фазы: синтез первичного транскрипта и его модификация. В процессе созревания тРНК из соответствующего первичного транскрипта удаляется только один имеющийся интрон, 5'- и 3'-концы транскрипта укорачиваются, а на 3'-конце тРНК образуется одинаковый для всех тРНК акцепторный триплет 5'-ЦЦА-3', присоединяющий далее свою аминокислоту сложно-

эфирной макроэргической связью. Созревание рРНК рассмотрено ниже.

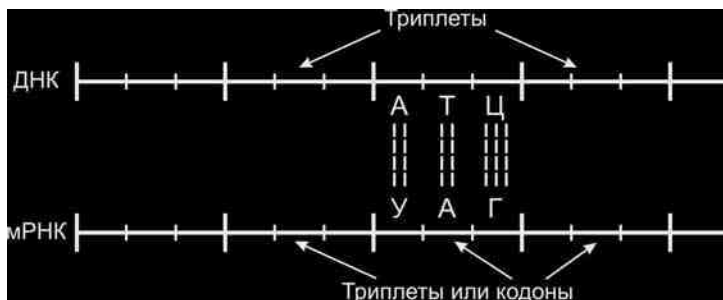
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД

(Нобелевская премия 1968 г.)

Определение: генетический код — это молекулярный механизм перевода генетической информации, т.е. первичной структуры ДНК, в фенотипическую информацию, т.е. в первичную структуру мРНК и далее в первичную структуру белка, которая определяет генетические (биологические) признаки организмов.

Свойства генетического кода

1. Код состоит из отдельных троек нуклеотидов — триплетов в ДНК и из комплементарных им триплетов в мРНК. Последние принято называть кодонами. Из четырех разных рибонуклеотидов (А, У, Г, Ц) образуются 64 разных кодона (смотри соответствующую таблицу в учебнике), три из которых (УАГ, УАА, УГА) не кодируют структуру белка и являются сигналами для окончания чтения рибосомой мРНК. Это нонсенс- или стоп-кодона. Каждый из остальных 61 кодона в мРНК и является инструментом генетического кода. Кодон АУГ выполняет двойную роль: он обязательно находится в начальной 5'-области всех мРНК, обеспечивая инициацию трансляции и начало синтеза полипептидной цепи с N-концевого метионина. Позже этот метионин удаляется. Если кодон АУГ содержится в других участках мРНК, он обеспечивает стабильное включение метионина в белок, как и другие кодона. Соответственно имеются две разные тРНК для кодона АУГ в зависимости от его локализации в мРНК.



2. Код специфический, т.е. один кодон в мРНК детерминирует определенную аминокислоту (АК) в белке.

3. Код вырожденный: 61 кодон кодируют 20 АК, т.е. несколько разных кодонов могут кодировать одну АК.

4. Рибосома читает мРНК и ее триплеты нуклеотидов (кодона) от 5'- к 3'-концу мРНК, т.е. код однонаправленный.

5. Код универсальный — практически одинаков для разных биологических видов.

6. Код в мРНК непрерывный, без знаков препинания.

7. Код неперекрывающийся, т.е. один кодон не заходит за границу другого кодона. Эти границы между кодонами в мРНК называют рамками чтения генетического кода.

8. Колинеарность: кодон в мРНК соответствует своей аминокислоте в белке.

ТРАНСПОРТНЫЕ РНК (тРНК)

Представляют из себя небольшие молекулы (70–90 нуклеотидов А, У, Г, Ц). Часть нуклеотидов тРНК химически модифицированы, например метилированы, и эта модификация стабилизирует особую пространственную структуру тРНК. А именно вторичная структура тРНК содержит шпильки, образованные спиралями с водородными связями, а третичная структура по форме напоминает клеверный лист.

тРНК имеет два главных центра связывания: на рис. 6/1.4 символом А обозначен акцепторный центр (3'-ОН-А-Ц-Ц-) на 3'-конце молекулы для образования макроэргической сложноэфирной связи с аминокислотой; символ В — антикодон-триплет, три нуклеотида которого комплементарно образуют водородные связи со своим кодоном в мРНК.

В связи с вырожденностью генетического кода число тРНК с индивидуальными антикодонами в принципе равно числу значащих кодонов (61), хотя эта 61 тРНК обслуживает всего 20 АК. Следовательно, для включения одной АК в белок может существовать несколько так называемых изоакцепторных тРНК, например шесть разных кодонов для серина и шесть изоакцепторных тРНК с несколько отличающимися антикодонами.

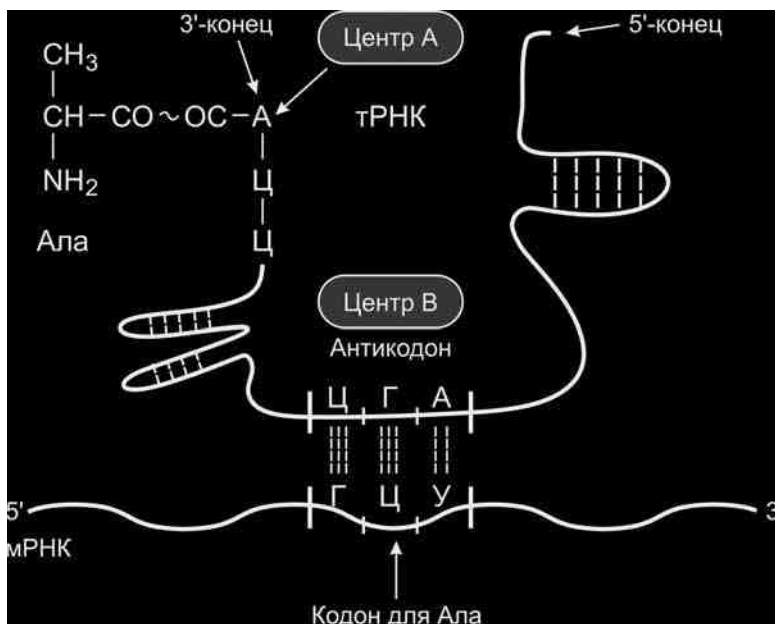


Рис. 6/1.4. Взаимодействие тРНК с мРНК и аминокислотой

Роль тРНК:

- 1) связывает ковалентно свою АК в цитозоле и транспортирует ее в рибосомы;
- 2) с помощью своего антикодона читает кодоны в мРНК и находит свой комплементарный кодон, образуя с ним водородные связи;
- 3) в итоге тРНК является адаптором (посредником) между первичной структурой мРНК (ДНК) и первичной структурой белка.

РИБОСОМЫ

Рибосомы являются цитоплазматическими органеллами, содержащими четыре рибосомальных РНК (рРНК) и около 80 разных белков. Рибосомы человека с константой седиментации 80S состоят из двух субъединиц — 60S и 40S (рис. 6/1.5) (Нобелевская премия 2009 г.).

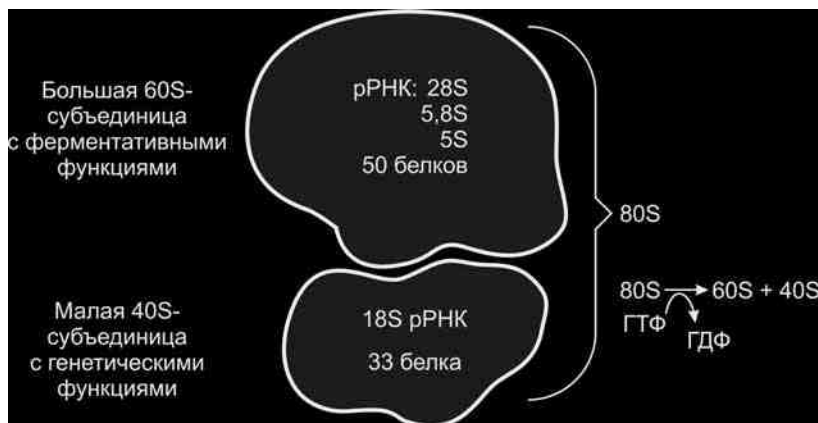


Рис. 6/1.5. Строение рибосом

Четыре рРНК закодированы в двух генах. На одном гене с помощью РНК-полимеразы I в ядрышке образуется первичный транскрипт, из которого путем нарезания без сплайсинга формируются 28S, 18S и 5,8S рРНК.

РНК-полимераза III в нуклеоплазме катализирует синтез 5S рРНК на базе другого гена.

Роль рРНК:

- 1) формируют остов («скелет») рибосомы;
- 2) 18S рРНК обеспечивает взаимодействие малой 40S-субъединицы с 5'-концом мРНК;
- 3) 28S рРНК большой субъединицы является небелковым ферментом — рибозимом, который катализирует образование пептидной связи в процессе трансляции (табл. 6/1.2) (Нобелевская премия 1989 г.).


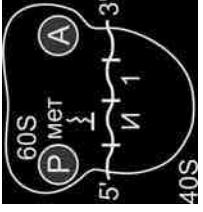
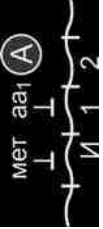
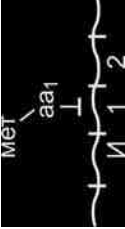
СИНТЕЗ БЕЛКА (ТРАНСЛЯЦИЯ)

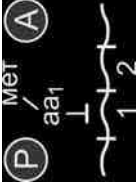
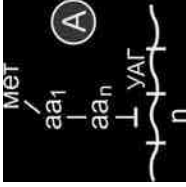
(Николаев А.Я., Вотрин И.И., Хасигов П.З.)

Подробно все этапы синтеза белка представлены в табл. 6/1.2. Рассматриваю и разъясняю детально трансляцию по этой таблице.

Таблица 6/1.2

Этапы биосинтеза белка

Этапы трансляции	Схематическое изображение	Пояснение	Источники энергии	Внерибосомальные факторы
Активация аминокислоты (aa) — образование aa-тРНК	$\text{aa} + \text{тРНК} + \text{АТФ} \rightarrow \text{aa-тРНК} + \text{АМФ} + \text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 	Аминокислота присоединяется карбоксильной группой к 3'-гидроксильной группе акцепторного участка тРНК	АТФ	-
Инициация		С малой (40S) субъединицей рибосомы последовательно связывается: мРНК, мет-тРНК и большая субъединица (60S). Формируются два функциональных центра: пептидильный Р и связывания А	ГТФ АТФ	IF — 10 видов
Элонгация а) связывание aa-тРНК		В центр связывания А присоединяется aa ₁ -тРНК, комплементарная первому смысловому кодону мРНК	ГТФ	EF — 1
б) образование пептидной связи		Остаток метионина мет-тРНК переносится на аминокислоту остатка aa ₁ -тРНК (пептидтрансферазная реакция)	Макроэргическая связь в мет-тРНК	-

Этапы трансляции	Схематическое изображение	Пояснение	Источники энергии	Внерибосомальные факторы
в) транслокация		Перемещение рибосомы на один кодон по мРНК в направлении от 5'- к 3'-концу. Дипептидил-тРНК оказывается в области пептидильного центра рибосомы Р. Центр связывания А освобождается	ГТФ	EF – 2
Все стадии элонгации повторяются столько раз, сколько смысловых кодонов содержит мРНК				
Терминация		В области центра связывания оказывается один из терминирующих триплетов. Синтез белка прекращается	ГТФ	RF

Некоторая дополнительная информация.

1. Активация АК. Ферменты аминокил-тРНК-синтетазы имеют абсолютную субстратную специфичность и поэтому их число примерно соответствует 20 кодируемым АК. Эти ферменты энергетически активируют АК и связывают их с тРНК по второму (для больших АК) или по третьему (для небольших АК) атому углерода рибозы 3'-концевого аденозина тРНК. Они являются регуляторными ферментами: в дефосфорилированной форме активны, а в фосфорилированной неактивны.

2. Инициация трансляции состоит из двух фаз: вначале 40S-субъединица рибосомы связывается с 5'-концом мРНК благодаря своей 18S-рРНК и перемещается по мРНК, используя энергию АТФ, достигает иницирующего кодона АУГ (для метионина). Затем к этому комплексу присоединяется 60S-субъединица с затратой энергии ГТФ, формируется 80S-рибосома, внутри которой находится транслируемая часть мРНК (около 80 нуклеотидов).

3. Первой АК в любой растущей полипептидной цепи человека является метионин. На стадии инициации его доставляет в рибосому собственная инициаторная тРНК в составе комплекса мет-тРНК^{мет}. По завершении синтеза N-концевой метионин удаляется.

4. Комплексы последующих АК со своими тРНК поступают в А-центры рибосомы, а Р-центр связывает растущую белковую цепь. Когда рибосома достигнет 3'-концевой области мРНК и находящихся там нонсенс- или стоп-кодонов, то при участии факторов терминации RF происходит разрыв сложноэфирной связи между последней тРНК и последней аминокислотой белковой цепи, а также диссоциация 80S рибосомы на ее субъединицы.

5. Малая 40S-субъединица рибосом выполняет генетическую функцию (связывает мРНК, читает ее генетический код и обеспечивает взаимодействие кодонов мРНК с антикодонами тРНК). Большая 60S-субъединица имеет ферментативную функцию, она содержит небелковый фермент — пептидилтрансферазу, являющуюся 28S рРНК, которая катализирует образование пептидной связи при синтезе белка.

6. На всех этапах трансляции участвуют вне ribосомные белковые факторы инициации (около 10), элонгации и термина-

ции (см. табл. 6/1.2), часть из которых (EF1, EF2, RF) является ГТФазами, освобождающими необходимую для синтеза белка энергию ГТФ.

7. Синтез белка требует больших затрат энергии: для включения только одной АК в полипептидную цепь необходимо затратить шесть макроэргических молекул (2 АТФ и 4 ГТФ).

Синтез некоторых важных белков, необходимых в большом количестве (секретируемые белки), происходит в полирибосомах (полисомах), которые обеспечивают одновременный синтез нескольких белковых цепей несколькими рибосомами на одной молекуле мРНК (рис. 6/1.6).

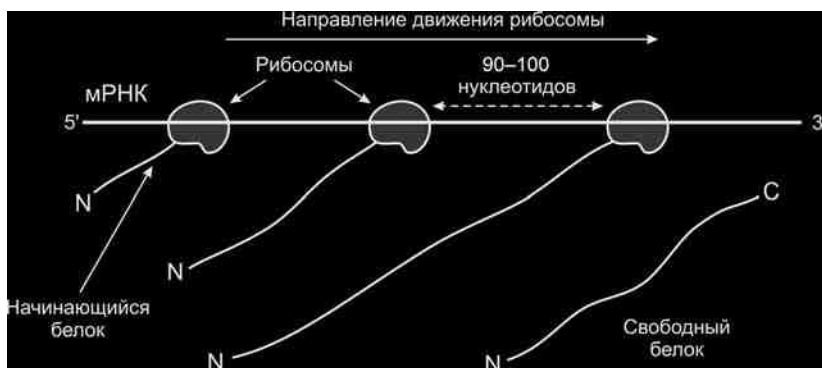


Рис. 6/1.6. Работа полирибосом

Отдельные рибосомы перемещаются по одной мРНК от ее 5'-конца к 3'-концу с постепенным удлинением полипептидной цепи от N-конца к С-концу последней.

Как и в случае других матричных биосинтезов, трансляция завершается модификацией синтезированной молекулы белка.

1. Уже в процессе синтеза, т.е. образования первичной структуры белка, связанная с рибосомой белковая цепь подвергается конформационным изменениям с формированием вторичной и третичной структуры. Этот процесс фолдинга белка завершается на свободных цепях, в том числе при участии так называемых шаперонов, контролирующих процесс создания правильной пространственной структуры белка.

2. Удаление метионина с N-конца синтезированной цепи.
3. Формирование сложных белков (присоединение простетической группы).
4. Формирование четвертичной структуры для олигомерных белков (объединение нескольких полипептидных цепей-протомеров).
5. Химическая модификация первичной структуры белка — частичный протеолиз, образование радикальных гидроксильных, карбоксильных, дисульфидных групп, присоединение ковалентной связью глюкозы, фосфорной кислоты, йода.

Лекция 7/1

ИНГИБИТОРЫ МАТРИЧНЫХ БИОСИНТЕЗОВ. РЕГУЛЯЦИЯ ДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ

ИНГИБИТОРЫ БИОСИНТЕЗОВ

После рассмотрения матричных биосинтезов в практических целях следует изучить некоторые ингибиторы этих процессов, среди которых имеются и лекарства. В таблице 7/1.1 приведены такие ингибиторы трансляции, транскрипции и репликации в клетках человека, животных и бактерий, а также кратко механизм их действия.

Таблица 7/1.1

Ингибиторы матричных биосинтезов, в том числе лекарства

Объект	Ингибитор	Механизм действия
<i>Ингибиторы трансляции</i>		
Бактерии	Антибиотики	См. табл. 7/1.2 данной лекции
Бактерии, клетки человека и животных	Пуромидин — аналог Тир — тРНК ^{тип}	Преждевременная терминация
Человек	Экзотоксин дифтерии	АДФ — рибозилирование и ингибирование фактора транслокации EF2
Человек и животные	Интерфероны — лекарства против генерализации вирусной инфекции	Фосфорилирование и инактивация фактора инициации IF2, разрушение РНК, нарушение сплайсинга мРНК

Продолжение ↪

Окончание табл. 7/1.1

Объект	Ингибитор	Механизм действия
Человек и животные	Рицин (N-гликозидаза)	Удаление аденина и инактивация 28S рРНК
<i>Ингибиторы транскрипции</i>		
Бактерии	Рифамицины	Ингибиторы β -субъединицы РНК-полимеразы
Человек	Токсин грибов α -аманитин	Ингибитор РНК-полимеразы II
<i>Ингибиторы репликации и/или транскрипции</i>		
Человек и животные	Противоопухолевые препараты («антибиотики»)	Интеркаляция в ДНК (дауномицин и др.), ингибиторы ДНК-топоизомеразы II (новобеоцин) и др.

Ингибиторы синтеза белка. Фрагмент дифтерийного токсина как фермент катализирует АДФ-рибозилирование фактора элонгации EF2 в клетках зева и гортани человека, чем его инактивирует и останавливает трансляцию на этапе элонгации, в фазе транслокации, индуцируя характерную патологию. Белок клещевины рицин, как N-гликозидаза, нарушает структуру 28S-рРНК, ингибирует синтез белка и поэтому вызывает токсикоз вплоть до гибели человека.

Существует несколько интерферонов, относящихся к системе неспецифической резистентности организма. Вирусы, некоторые бактериальные продукты и индуцируемые или медикаментозные вещества (двухтяжевая РНК) провоцируют синтез интерферонов в клетках человека и животных. Интерфероны — небольшие белки, часть из них — гликопротеины. Как гормоны (цитокины) местного действия они тормозят инфицирование клеток вирусами и даже могут ингибировать размножение бактерий. Интерфероны специфичны в отношении клеток-хозяина, т.е. интерферон человека защищает только клетки человека, но малоспецифичны по отношению к виду вируса. Интерфероны синтезируются в лейкоцитах (α -), фибробластах (β -) и Т-лимфоцитах (γ -интерфероны). Они имеют разнообразную активность: антивирусную (α - и β -), антиопухолевую, антипролиферативную, радиопротекторную. γ -интерферон представляет собой иммуномодулятор,

способный влиять на активность Т-, В-лимфоцитов и макрофагов в отношении синтеза антител и фагоцитоза. Противовирусное, а возможно, и противоопухолевое действие интерферонов связано со следующим.

1. В зараженных вирусом клетках они индуцируют синтез протеинкиназы, которая фосфорилирует и инактивирует фактор инициации трансляции IF2; в рибосомах зараженных клеток прекращается синтез вирусных, и клеточных белков (вирусы не имеют собственных рибосом); клетка погибает, распространение вируса в организме прекращается.
2. Интерфероны индуцируют синтез олигоаденилатсинтетазы, катализирующей образование 2',5'-олигоА, который, во-первых, нарушает созревание (сплайсинг) мРНК и, во-вторых, активирует латентные РНКазы, разрушающие все РНК.

Ингибиторы трансляции у бактерий представлены в табл. 7/1.2, которую нужно рассматривать в совокупности с данными табл. 6/1.2 предыдущей лекции.

Ингибиторы транскрипции рассмотрены в табл. 7/1.1. Антибактериальные рифамицины (против туберкулеза, гонореи и др.) ингибируют бактериальную РНК-полимеразу.

Ингибиторы транскрипции и/или репликации — это большая и очень важная группа противоопухолевых препаратов, условно называемых антибиотиками. Среди них имеются лекарства с разным механизмом действия.

1. Интеркаляторы (дауномицин, доксорубин) встраиваются внутрь молекулы ДНК между гуанином и цитозином противоположных цепей и тормозят репликацию и транскрипцию и, следовательно, деление клеток. Аналогично действует и актиномицин D, но он реже используется в онкологии из-за большой токсичности.
2. Ингибиторы ДНК-топоизомеразы II (новобеоцин, даунорубин, эпирубин, идарубин) ингибируют один из ферментов репликации, а также индуцируют образование токсических гидроксильных радикалов.
3. Азидотимидин — 3'-аномальный нуклеозид с измененной 2'-дезоксирибозой после фосфорилирования до дНТФ

включается в ДНК и останавливает репликацию (удлинение цепи по 3'-углероду пентозы). Особенно эффективен этот препарат для ингибирования кДНК вируса ВИЧ.

4. Аномальный нуклеозид цитарабин, превращаясь в организме в дНТФ, ингибирует ДНК-полимеразы.

Рассмотренные противоопухолевые препараты тормозят размножение и злокачественных клеток, и в меньшей мере здоровых клеток, так как в последних синтез ДНК и митозы проходят с меньшей скоростью. Так эти неспецифические цитостатики проявляют свой побочный эффект. Кроме того, их действие на опухолевые клетки происходит быстрее благодаря большей проницаемости мембран перерожденных раковых клеток.

Во втором семестре при изучении синтеза нуклеотидов мы будем рассматривать другие противоопухолевые препараты, которые ингибируют непосредственно синтез нуклеотидов и уже вторично — нуклеиновых кислот. Это 5-фторурацил, дезоксиаденозин и его производные, аминоптерин и метотрексат.

Таблица 7/1.2

Антибиотики — ингибиторы синтеза белка бактерий

Антибиотик	Мишень для действия антибиотика в процессе трансляции согласно табл. 6/1.2 лекции 6/1	Антибиотик эффективен против
Стрептомицин	Инициация	Возбудителя туберкулеза
Тетрациклин	Элонгация, фаза а	Бактерии Gr+, Gr- и риккетсии Gr-
Амфениколы (хлорамфеникол)	Элонгация, фаза б	Бактерии Gr+ и Gr-, риккетсии Gr-
Макролиды (эритромицин)	Элонгация, фаза в	Бактерии Gr+

Итог — ингибиторы матричных биосинтезов (табл. 7/1.1 и 7/1.2) вызывают:

- 1) гибель бактерий и раковых клеток (это антибиотики);
- 2) гибель клеток, зараженных вирусами (это интерфероны);
- 3) инфекционные болезни (это, например, экзотоксин дифтерии);

- 4) отравления (это токсин гриба бледной поганки α -амани-тин).

РЕГУЛЯЦИЯ ДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ

(Нобелевские премии 1965 и 2006 гг.)

I. Регуляция репликации происходит в клеточном цикле путем поэтапного изменения активности циклинзависимых протеинкиназ, которые в свою очередь путем фосфорилирования негистоновых ядерных белков-факторов транскрипции регулируют синтез ферментов репликации и обеспечивают синтез ДНК только в S-фазу клеточного цикла.

II. Перестройка генов. Амплификация или увеличение числа соответствующих генов рРНК, тРНК и некоторых белков, необходимых в больших количествах для усиленного синтеза белка, например, при развитии и росте организма, регенерации и выздоровлении после болезни. Амплифицированные гены располагаются рядом в виде блоков.

При созревании эмбриональных предшественников В-лимфоцитов происходит перестройка ДНК в хромосомах 2, 14, 22 и формируются гены иммуноглобулинов-антител. Подробнее это рассмотрено в конце лекции.

III. Утрата генов наблюдается в процессе созревании клеток эритроидного ряда: при превращении ядерных полноценных эритробластов (в них идет транскрипция, синтез гема, глобинов и Hb) в нормобласты в ядре последних происходит конденсация ДНК (синтез Hb продолжается); на следующем этапе ретикулоциты уже не имеют ядер, митохондрий и генов, но в них продолжается синтез Hb и глобина на основе накопленной и хранящейся в информосомах мРНК глобина; конечные эритроциты не имеют органелл, ядер, генов и синтетических процессов.

IV. Регуляция транскрипции и трансляции непосредственно связана с регуляцией метаболизма в организме и может быть названа количественной регуляцией, так как она приводит к изменению количества молекул ферментов и белков в клетке. В лекции 4/1 мы уже кратко упоминали о количественной и качественной регуляции активности ферментов. Последняя не является регуляцией действия генов в отличие от первой.

Рассмотрим вначале *краткосрочную, или физиологическую, или адаптивную регуляцию*, которая происходит на уровне транскрипции и реге — на уровне трансляции. Эта регуляция метаболизма является временной и соответствует физиологическому или патологическому состоянию человека.

Примеры регуляции на уровне трансляции

1. Для синтеза Hb необходим координированный синтез гема и глобинов. Если количество гема в эритроидных клетках понижено (по разным причинам), то уменьшается и синтез глобинов. Механизм этой регуляции связан с фосфорилированием и инаktivацией фактора инициации трансляции IF2. При избытке гема ситуация и механизм противоположные. Детальнее: избыток гема связывается со специальной протеинкиназой (гемкиназой) и уменьшает ее способность фосфорилировать фактор IF2, поэтому нефосфорилированный фактор IF2 продолжает иницировать синтез глобина.

2. Сложный белок ферритин, состоящий из белка апоферритина и Fe^{3+} , является депо для хранения железа в органах. В зависимости от количества поступившего в клетку железа синтез апоферритина регулируется на уровне трансляции.

Адаптивная физиологическая регуляция на уровне транскрипции является более частой и связана с изменением количества мРНК в клетке. Общая схема такой регуляции и ее отдельные элементы представлены на рис. 7/1.1.

Рассмотрим отдельные примеры такой регуляции.

Пример 1. При голодании концентрация глюкозы в крови понижается и это является химическим сигналом для синтеза и секреции кортизола. Последний по механизму, изображенному на рис. 7/1.1, образует комплекс со своими внутриклеточными рецепторами в гепатоцитах, и этот комплекс взаимодействует в служебной части гена с последовательностями ДНК-усилителями (энхансерами), которые активируют промотор этого гена или увеличивают сродство РНК-полимеразы к промотору. Далее происходит транскрипция — образование мРНК, на основе которой в клетках печени синтезируется регуляторный фермент глюконеогенеза — карбоксикиназа фосфоенолпирувата и происходит синтез глюкозы из лактата и гликогенных аминокислот.

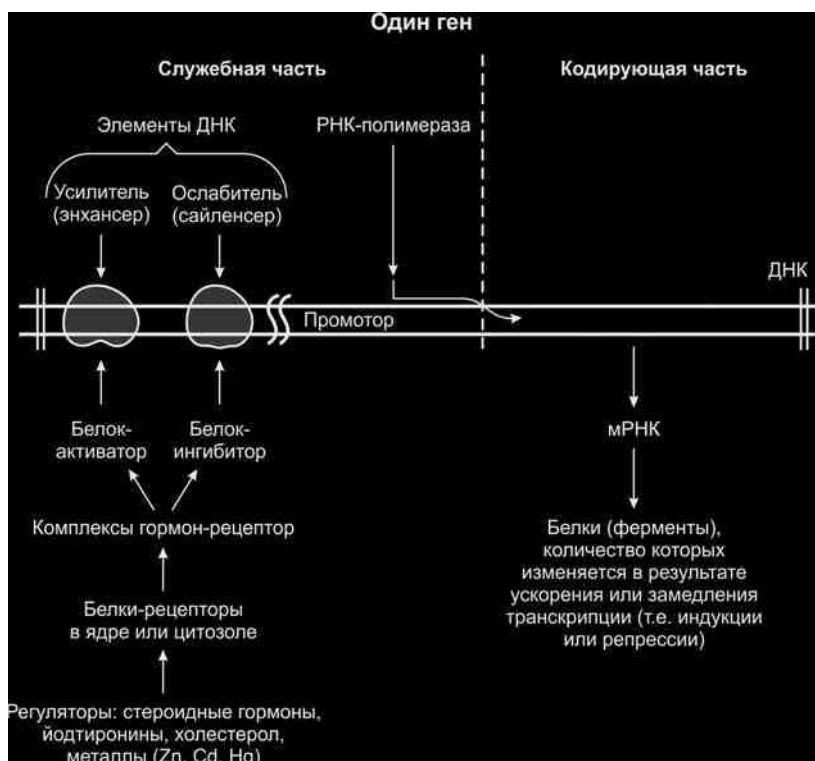


Рис. 7/1.1. Адаптивная регуляция работы генов на уровне транскрипции

Пример 2. Некоторые металлы при их избытке токсичны для организма. В соответствии с рис. 7/1.1 они индуцируют синтез мРНК и особого белка — металлотионеина — из 60–80 аминокислот, из которых 30% — цистеин. Одна молекула металлотионеина связывает до восьми атомов токсичных металлов через SH-группы цистеина. В клетках создается депо указанных металлов, что, во-первых, лишает их токсичности, а во-вторых, при необходимости отдельные металлы могут быть использованы клеткой для полезных целей — синтеза ферментов (Zn).

Возможен другой механизм увеличения количества молекул металлотионеина — атомы металлов включают амплификацию и увеличивают количество генов этого белка.

Кратко об адаптивной физиологической регуляции работы некоторых генов бактерий — только на уровне транскрипции. Это теория и модель оперона, за что в 1965 г. Жакоб и Моно получили Нобелевскую премию (рис. 7/1.2). Принцип этой регуляции примерно соответствует аналогичной регуляции в клетках эукариот. Для выполнения одной функции (например, усвоения лактозы) у бактерий имеется блок близкорасположенных и взаимосвязанных негенных служебных последовательностей ДНК (оператор, промотор), регуляторных (ген-регулятор) и основных генов, кодирующих белки и ферменты, необходимые для выполнения функции оперона (например, усвоения лактозы, как на рис. 7/1.2, или синтеза аминокислоты триптофана). В клетках человека соответствующие элементы ДНК могут находиться на различных расстояниях друг от друга.

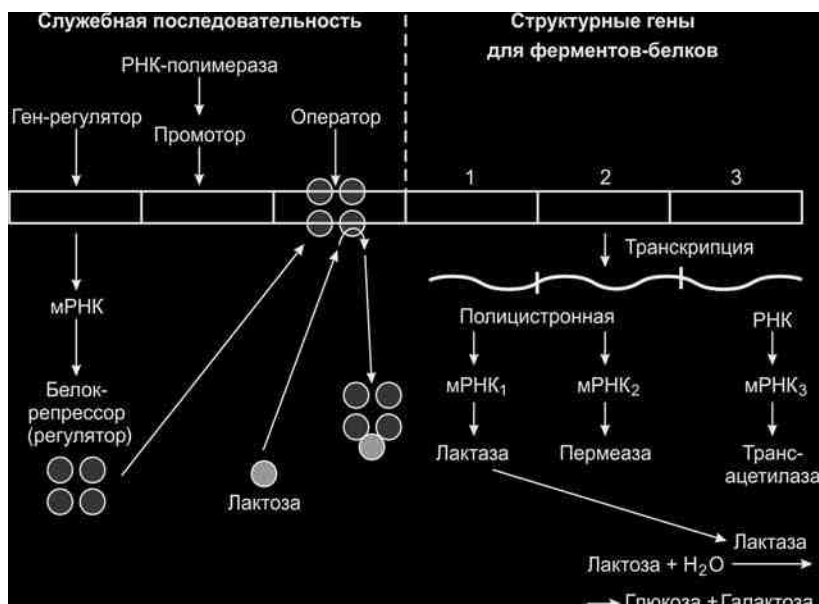


Рис. 7/1.2. Строение лактозного оперона бактерий

Два вида оперонов:

- 1) опероны индуцибельные, обслуживающие катаболизм бактериями экзогенных питательных веществ. Эти вещества

при их наличии в питательной среде (лактоза) включают оперон на уровне транскрипции;

- 2) опероны репрессибельные для синтеза бактериями различных веществ, например аминокислот. Избыток ненужных более аминокислот выключает оперон.

Так, в отсутствие лактозы *Escherichia coli* (см. рис. 7/1.2) не синтезирует три белка-фермента, необходимые для усвоения лактозы, потому что белок-репрессор имеет большое сродство к оператору, соединяется с ним и мешает РНК-полимеразе пройти путь от промотора через оператор к структурным основным генам. Последние в этом случае не кодируют синтез мРНК и соответствующих белков-ферментов, которые не нужны бактерии при отсутствии в среде лактозы. Появилась лактоза, она, связываясь с белком-репрессором, уменьшает его сродство к оператору, освобождает оператор, и РНК-полимераза катализирует синтез мРНК необходимых белков-ферментов. Синтезированная лактаза обеспечивает гидролиз лактозы до глюкозы и галактозы и последующий гликолиз для снабжения бактерий энергией (АТФ) и другими метаболитами. Репрессибельный оперон имеет аналогичное строение, но функционирует противоположным образом.

Длительная или онтогенетическая регуляция работы генов на уровне транскрипции обеспечивает стойкую дифференциацию клеток в процессе индивидуального развития организма эукариот. Клетки приобретают способность синтезировать свои специфические белки, ферменты и другие вещества, приобретают определенную морфологию и другие особенности. Эта регуляция сохраняется в процессе митозов до конца жизни данных специализированных клеток или до их опухолевого перерождения.

Из одной оплодотворенной диплоидной человеческой зиготы с одним набором из 23 пар хромосом образуется в процессе онтогенеза около 200 дифференцированных клеток. Проблема, требующая объяснения: почему все эти клетки (кроме В-лимфоцитов) имеют одинаковый набор хромосом и генов, но синтезируют разные белки и ферменты. Краткий ответ: в разных клетках происходит стойкая репрессия и индукция разных генов (рис. 7/1.3).

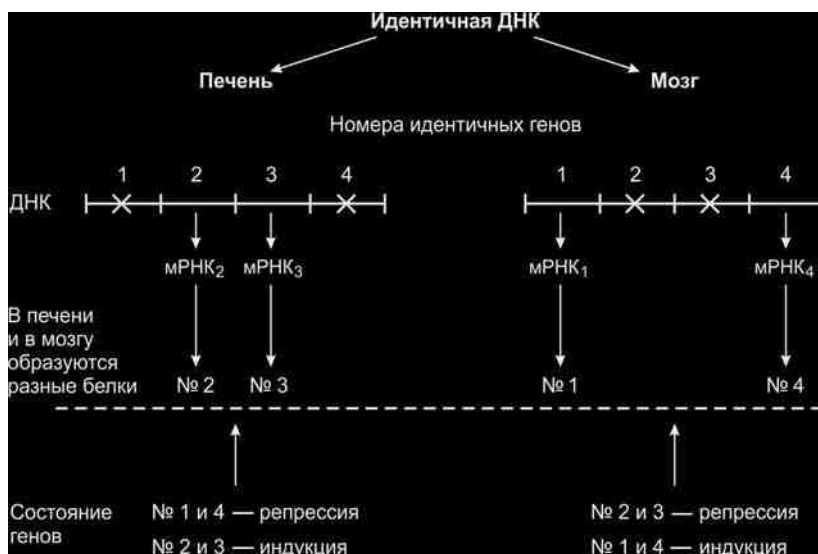


Рис. 7/1.3. Механизм дифференциации клеток эукариот в онтогенезе

Молекулярные механизмы репрессии генов (длительного выключения транскрипции)

1. Метилирование следующих азотистых оснований ДНК — аденина ($\text{CH}_3\text{—N}_6\text{-аденин}$) и цитозина ($\text{CH}_3\text{—C}_5\text{-цитозин}$) с помощью ДНК-метилаз. Метилирование участков ДНК приводит к «инактивации» (выключению транскрипции) генов и их регуляторов (например, супрессоров опухолей).

2. Конденсация ДНК при участии ДНК-топоизомераз, образование суперспиралей, в результате становится невозможным даже локальное расхождение нитей ДНК, необходимое для транскрипции. Такие зоны неактивного гетерохроматина в хромосоме могут чередоваться с зонами активного эухроматина или вся хромосома может быть целиком гетерохроматинизирована и выключена из транскрипции, как в случае одной из двух X-хромосом женщин (тельца Барри или женский половой хроматин).

3. Усиление взаимодействия положительно заряженных ядерных гистонов и отрицательно заряженной ДНК уменьшает возможность расхождения цепей ДНК и синтеза на свободных

участках одной цепи ДНК комплементарных молекул РНК. Гистоны содержат много катионообразующих лизина и аргинина и соответственно много положительных зарядов как в радикалах этих аминокислот, так и на N-концах молекул. Часть NH_2 -групп гистонов модифицированы путем присоединения ацетильных и других групп, что уменьшает их положительный заряд и взаимодействие с ДНК. Специальные ядерные ферменты — деацетилазы, синтез которых в свою очередь также регулируется, удаляют ацетил и увеличивают положительный заряд гистонов, их взаимодействие с ДНК и тем самым выключают транскрипцию.

Молекулярные механизмы стойкой длительной активации других генов в специализированных клетках прямо противоположны. В частности, ацетилтрансферазы ацетилируют гистоны, уменьшают их заряд, освобождают отдельные участки (гены) ДНК и так активируют транскрипцию. Уменьшают положительный заряд гистонов и увеличивают скорость транскрипции другие химические модификации: метилирование гистонов (метилтрансферазы), их фосфорилирование, АДФ-рибозилирование, присоединение маленького белка убиквитина. В стимулированных В-лимфоцитах, точнее, в антителообразующих или плазматических клетках специальный промотор или энхансер активирует работу генов, кодирующих синтез в каждом В-лимфоците минимум двух видов цепей — легкой L- и тяжелой H-цепей антител. Гены других белков в этих клетках репрессированы.

Наконец, при специализации клеток в онтогенезе наблюдается для некоторых клеток явление чередования последовательной (во времени) индукции и репрессии генов. Пример: при развитии человеческого эмбриона и далее у взрослого человека серия генов (блок генов) в хромосоме 11, кодирующих второй глобин для гемоглобина (кроме α -глобина), подвергается последовательному выключению и включению на уровне транскрипции. Этот механизм обеспечивает поэтапный синтез в клетках эритроидного ряда HbE—HbF—HbA и HbA₂. Подробнее эти изоформы Hb будут рассмотрены в следующей лекции.

Представленная выше информация показывает, что в каждой специализированной клетке, в каждом органе работает только часть специфических для данного органа генов, а остальные гены репрессированы. Очень интересно, что в мозгу доля функцио-

нирующих генов является максимальной и достигает 80%, что связано с множеством функций нервных клеток по сравнению с другими клетками и тканями.

Выше я отмечал, что при созревании и дифференцировке эмбриональных предшественников В-лимфоцитов происходят перестройки ДНК в хромосомах 2, 14, 22 и формируются в каждом зрелом В-лимфоците гены для легкой L- (типы λ и χ) и тяжелой H- (тип μ) цепей будущего иммуноглобулина. Следовательно, в данном случае имеет место исключение из общего правила о том, что во всех специализированных клетках ДНК идентична. В результате такой перестройки формируется примерно по 4000 генов как для легких, так и для тяжелых цепей. Указанные варианты L- и H-генов распределены соответственно по разным зрелым В-лимфоцитам, образующим 2×10^7 клонов. Каждый клон способен синтезировать свой специфический иммуноглобулин-антитело. Теоретически считается, что такое количество клонов зрелых В-лимфоцитов уже существует в организме человека до встречи с иммунизирующим антигеном. После попадания инфекционного или неинфекционного антигена в организм происходит стимуляция соответствующих этому антигену зрелых В-лимфоцитов, которые после бласттрансформации и размножения превращаются в антителопродуцирующие клетки, синтезирующие и секретирующие антитела (класса IgM и позже классов IgG, IgA и др.), комплементарные антигену-индуктору. В этом суть клонально-селекционной теории иммуногенеза.

Несколько более детально. В зародышевых клетках человека в хромосомах 2, 14, 22 имеются группы фрагментов-экзонов заготовок для генов Ig: три группы для цепей L (хромосомы 2 и 22) и четыре группы для цепей H (хромосома 14). В ходе созревания и дифференцировки эмбриональных предшественников В-лимфоцитов происходят мутации в этих экзонах, их рекомбинация между собой и транспозиция в определенный локус своей хромосомы с формированием полного гена L- и H-цепи. Количество таких соматических рекомбинаций: для L-цепей — одна, для H-цепей μ -типа — две, для других тяжелых H-цепей с учетом последующего переключения класса иммуноглобулинов — три рекомбинации (Нобелевская премия 1987 г.). Секреторные Ig классов M и A содержат еще другие полипептидные цепи.

Лекция 8/1

ПОЛИФОРМИЗМ БЕЛКОВ И ГЕНОВ. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА

Полиморфизм ферментов был рассмотрен в лекции 4/1 на примере классических пяти изоформ (изоферментов) лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и кодирующих их двух генов. Повторим с некоторыми деталями. Два несколько различающихся по первичной структуре ДНК изогена М и Н кодируют соответственно также отличающиеся по первичной структуре полипептидные цепи М и Н. Комбинация цепей М и Н по четыре в каждой молекуле ЛДГ создает пять изоформ ЛДГ. На этом примере очень хорошо демонстрируется полиморфизм гена и полиморфизм соответствующего фермента. Клиническое значение изоформ ЛДГ рассмотрено в указанной выше лекции.

Другие примеры изоферментов — креатинкиназа и кислая фосфатаза. Два гена креатинкиназы кодируют белковые цепи М и В. Сочетание двух цепей в одной молекуле олигомерного фермента формирует три изоформы ММ, МВ и ВВ, специфически преобладающие соответственно в скелетных мышцах, в сердечной мышце и в мозгу. У здорового человека в сыворотке крови соотношение этих изоферментов составляет соответственно 94–98%:2–6%:0%. При остром инфаркте миокарда уже через 4–8 ч заболевания в сыворотке крови увеличивается как суммарная активность КК, так и особенно активность изоформы МВ, что используется в лабораторной диагностике.

Наиболее яркий пример полиморфизма белков — наличие у здорового человека четырех изоформ (изобелков) гемоглобина

Нв (табл. 8/1.1). Все эти изоформы выполняют общую функцию — перенос кислорода в составе эритроцитов из легких в органы и ткани. Но, как это характерно для всех изоформ белков и ферментов, они имеют небольшие отличия в первичной структуре второго глобина, который кодируется разными генами 11-й хромосомы с образованием β -глобина и трех других его изоформ (см. табл. 8/1.1). α -глобин, закодированный в 16-й хромосоме, не имеет отличий у разных изоформ Нв. Содержание в крови человека разных изоформ Нв и их значение на разных этапах онтогенеза также представлено в табл. 8/1.1. Как было указано в предыдущей лекции, изменение первичной структуры второго глобина (β , γ и др.) при возрастном развитии человека вызвано чередованием репрессии и индукции соответствующих генов в хромосоме 11.

Таблица 8/1.1

Изоформы (изобелки) гемоглобина человека

Изоформа гемоглобина	Содержание в крови взрослого человека, %	Структура
НвА (главный)	96	2 α -, 2 β -глобина; 4 гема ↓ АК 21 — Гис ⁺
НвА ₂	2	2 α -, 2 Δ -глобина; 4 гема
Эмбриональный НвF, главный для эмбриона и для ребенка в течение первого года жизни	2	2 α -, 2 γ -глобина, 4 гема ↓ АК 21 — Сер ⁰
НвЕ эмбриона в течение 6 месяцев беременности	0	2 α -, 2 ξ -глобина, 4 гема

С биохимической точки зрения интересно сравнить основной гемоглобин взрослого человека НвА и эмбриональный НвF. У последнего второй глобин — γ -глобин — имеет в 21-м положении аминокислоту серин с незаряженным радикалом, а в НвА у соответствующего β -глобина эту позицию занимает гистидин с положительно заряженным радикалом. Поэтому менее заряженный эмбриональный НвF слабее образует ионные связи с 2,3-бисфосфоглицератом, который несет 5 отрицательных заря-

дов и который уменьшает сродство Hb к кислороду. В итоге HbF более прочно связывает в плаценте кислород и перехватывает его у HbA матери для эмбриона.

Рассмотренные примеры полиморфизма связаны с работой разных генов. Иногда образование изоформ белков и ферментов обусловлено одновременной транскрипцией разных аллелей одного гена, если эти аллели кодоминантны. Например, в случае IV, или АВ, группы крови человека два аллеля одного гена (аллели а и b) работают одновременно и кодируют образование двух несколько отличающихся мРНК и соответственно двух изоферментов А и В фермента гликозилтрансферазы. Эти изоферменты одновременно катализируют в одной клетке-предшественнице эритроцита синтез гликолипидов-антигенов А и В, которые встраиваются в цитоплазматическую мембрану и таким образом формируют далее в эритроцитах IV группу крови.



Три гликолипида-антигена А, В, 0, находящиеся в мембране разных эритроцитов и создающие в разных сочетаниях четыре группы крови системы АВ0, имеют общий липидный якорь — церамид, встроенный в мембрану эритроцита, и отличаются структурой поверхностного олигосахарида. Структура последнего определяется соответствующей гликозилтрансферазой.

Другой пример. У больных серповидноклеточной анемией, гетерозигот, в одном эритроците находятся HbA и HbS примерно в равном количестве. Такой полиморфизм также обусловлен одновременной транскрипцией еще на стадии эритробластов и нормобластов двух разных аллелей гена, кодирующих нормальный β -глобин и его мутантную форму, в которой находится Вал₆ вместо Гл₆.

НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ

Наследственность является свойством макро- и микроорганизмов, которое обеспечивает постоянство биологических (генетических) признаков вида от одной генерации к другой. Различают генотип и фенотип.

Генотип организма представляет собой совокупность генетической информации, содержащейся во всех генах. А фенотип можно определить как совокупность биологических признаков вида. Генотип определяет фенотип, но при модифицирующем воздействии внегеномных эндогенных и экзогенных факторов.

Связь между генотипом (ДНК) и фенотипом (белки и ферменты) отражена в классической схеме молекулярной биологии (лекция 1/1):

ДНК (гены) → РНК → белок (фермент) → биологические признаки.

Изменчивость генов и соответственно биологических признаков, а также два вида изменчивости (генотипическая и фенотипическая) отражены в табл. 8/1.2.

Таблица 8/1.2

Молекулярные основы изменчивости биологических видов

Изменчивость Характеристика	Генетическая или наследственная	Фенотипическая, или ненаследственная, или модификационная
Молекулярный механизм	Изменение первичной структуры ДНК или геномной РНК	Изменение первичной структуры мРНК и белка
Уровень процесса изменчивости	Рекомбинация в процессе кроссинговера, ошибки репликации, нерепарируемые повреждения ДНК, мутации	Ошибки процессов транскрипции и трансляции под действием экзогенных и эндогенных факторов

Главное для биохимика — наследственная или генотипическая изменчивость на молекулярном уровне происходит в результате изменения первичной структуры ДНК или геномной

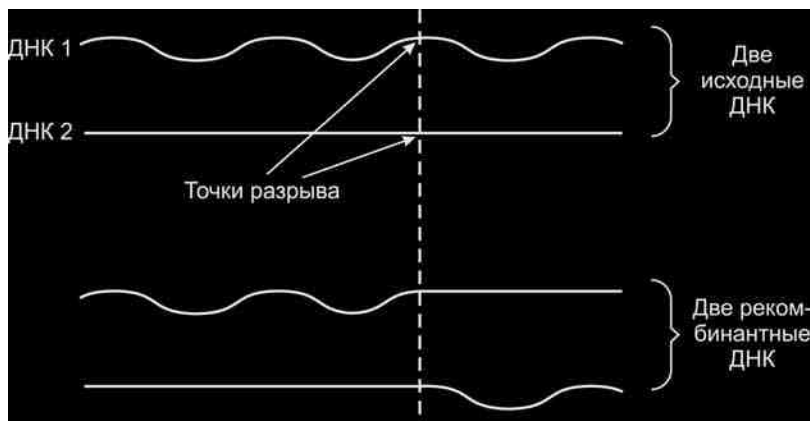
РНК для некоторых вирусов. Фенотипическая или ненаследственная изменчивость — это результат изменения первичной структуры РНК и/или белка при постоянстве структуры ДНК (генов). Если модифицирующие факторы, вызывающие ненаследственную изменчивость, удаляются или прекращают свое действия, то фенотипические изменения биологических признаков не передаются по наследству.

В процессе эволюции биологических видов происходило увеличение размеров и разнообразия их генома (ДНК или РНК) в результате сочетания рекомбинаций и мутаций. Условно выделяют дихотомическую эволюцию, т.е. появление новых генных локусов и генов в структуре ДНК (неравный кроссинговер, дубликации генов), и филетическую эволюцию. Последняя — это мутации идентичных, дублицированных генов с возникновением новых генов. Такое сочетание двух эволюционных процессов привело к тому, что у современной кишечной палочки небольшой размер ДНК ($3,8 \times 10^6$ нуклеотидных пар (н.п.) и молекулярная масса 2×10^9 Да) и общее количество белков и генов около 3000, а у человека, соответственно, в ДНК (в гаплоидном наборе всех хромосом) $3,8 \times 10^9$ н.п., 2×10^{12} Да, а количество белков (не считая иммуноглобулинов) и их кодирующих генов — около 35 000. При этом в процессе эволюции постоянно возрастало количество служебных последовательностей в ДНК, которые не кодируют белки, и эта доля негенных участков у человека, вероятно, составляет около 90%. В митохондриях человека содержится собственная ДНК со своими генами, например некоторыми генами ферментов энергетического обмена. Митохондриальная ДНК человека примерно в 10 000 раз меньше, чем средняя хромосомная ДНК, и поэтому митохондриальные ДНК, наследуемые по материнской линии, — более удобный объект для проведения некоторых видов генной диагностики, как, например, при анализе останков российской царской семьи.

РЕКОМБИНАЦИИ

Рекомбинации создают рекомбинативную изменчивость у эукариот в ходе кроссинговера во время созревания гамет и обеспечивают изменение первичной структуры ДНК во всех хромосомах

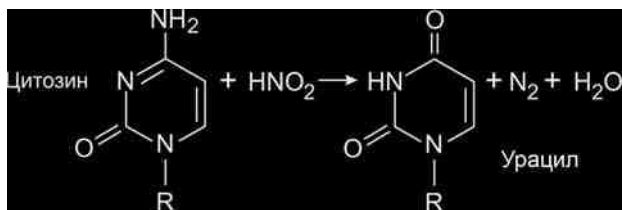
потомства. При рекомбинации происходит разрыв фосфодиэфирных связей в двух родительских хромосомах-молекулах ДНК (при участии эндонуклеаз) и последующее соединение разных родительских фрагментов ДНК, катализируемое ДНК-лигазами. Так на одном из этапов созревания гамет (кроссинговер) создаются рекомбинантные гаметы. Обычно кроссинговер бывает равным, когда длина рекомбинантных ДНК не изменяется:



При неравном кроссинговере разрывы в двух хромосомах происходят в несимметричных участках и из двух рекомбинантных ДНК одна короче исходной, а другая длиннее. В этом один из механизмов увеличения длины и объема ДНК для процесса эволюции.

МУТАЦИИ

Мутации известны биологам и особенно генетикам уже более 100 лет, но их молекулярный механизм мог быть выяснен только в эру молекулярной биологии после открытия роли нуклеиновых кислот. В истории молекулярной генетики первый пример экспериментального мутагенеза — химический мутагенез на изолированной инфекционной геномной РНК вируса табачной мозаики. При обработке *in vitro* очищенной вирусной РНК азотистой кислотой происходит дезаминирование цитозина РНК и его превращение в урацил:



В итоге получается геномная вирусная РНК с измененной первичной структурой (замена Ц на У). При заражении этой РНК листьев табака репродуцируются вирусные частицы-мутанты, у которых изменена первичная структура важных белков и соответственно изменен характер инфекционного процесса. Эта изменчивость сохраняется в вирусном потомстве, следовательно, является наследственной мутационной изменчивостью. По молекулярному механизму это индуцированная мутация типа замен нуклеотидов с изменением смысла кодонов (миссенс-мутация).

Мутации у ДНК-геномных организмов (человек, животные, растения) реализуются по аналогичному механизму: мутагены изменяют первичную структуру ДНК, мРНК, белков и далее изменяются биологические (генетические) признаки особи. Разработаны разнообразные методы индуцированного химического и физического мутагенеза для ДНК-содержащих эукариот (Нобелевская премия 1993 г.).

Существует много классификаций мутаций. Во-первых, цитологическая классификация (рис. 8/1.1), которая базируется на морфологических изменениях хромосом (хромосомные aberrации), на изменении их числа (полиплоидия и гетероплоидия), а при отсутствии видимых под микроскопом изменений хромосом, но при наличии наследственных изменений биологических признаков цитологии-генетики ввели термин «точечных» мутаций.

Во-вторых, в эру становления генетики и борьбы с фальсификацией биологии и генетики представителями Т.Д. Лысенко было актуально выделять спонтанные и индуцированные мутации. К первым относили случаи, при которых вызывающий мутацию агент-мутаген был неизвестен в отличие от известного естественного или искусственного (экспериментального) мутагена для индуцированных мутаций. Сегодня эта классификация

не имеет смысла, так как в обоих случаях действуют одни и те же факторы: естественная или искусственная радиация и ультрафиолет, вредные химические вещества, лекарства, вредные и токсические компоненты некачественной или неправильно приготовленной пищи (красители, окислители, измененные азотистые основания, окисленный холестерол, нитраты, нитриты), воды и воздуха (нитраты, нитриты, пестициды, гербициды, компоненты табачного дыма и автомобильных выхлопов). Например, различные окислители вызывают образование в ДНК 8-оксогуанина, который при репликации ДНК приводит к неправильному спариванию оснований и к синтезу дочерних нитей ДНК с измененной первичной структурой (мутации по типу миссенс-замен, табл. 8/1.3).

Кроме указанных мутагенных факторов, повреждающих ДНК, мутации могут быть следствием нерепарированных ошибок репликации, в том числе связанных с неизбежностью существования таутомерных изомеров азотистых оснований (лекция 5/1).



Рис. 8/1.1. Цитологическая классификация мутаций

Молекулярная классификация мутаций (рис. 8/1.2, табл. 8/1.3), во-первых, заменяет термин «точечные мутации» на термин «мутации с изменением последовательности нуклеоти-

дов», выделяя их разные варианты. И во-вторых, это изменение числа молекул ДНК в ядре, т.е. «цитологические» поли- и гетероплоидии. К представленной в табл. 8/1.3 информации необходимо дать некоторые разъяснения.



Рис. 8/1.2. Молекулярная классификация мутаций

Рамки чтения генетического кода — это условные границы между кодонами в мРНК. При мутациях (в ДНК) по типу вставок или делеций (удаления) нуклеотидов в виде целых триплетов-кодонов в общем количестве, кратном трем нуклеотидам (3, 6, 9...), рамка в мРНК не сдвигается, а количество аминокислот в белке соответственно увеличивается или уменьшается на 1, 2, 3... за счет новых аминокислот (при вставке) или удаления имеющихся (при делециях). Одно условие — эти вставки или делеции должны происходить на границе между кодонами. Наличие и последовательность других аминокислот при этом не изменяются (рис. 8/1.3).

Напротив, при вставках и делециях нуклеотидов (на любом участке) в количестве, не кратном 3 (1, 2, 4...), а также вставках и делециях, кратного трем количества нуклеотидов, но внутри триплетов-кодонов — во всех этих случаях рамка чтения кода в мРНК изменяется (смещается), а в мутантном белке возникает

Таблица 8/1.3

Мутации типа замен, вставок и делеций (выпаждений) нуклеотидов

Общее название мутаций	Частное название мутаций	Изменение первичной структуры белка		Изменение функции белка (фермента)
		мРНК	белка	
Замены нуклеотидов в ДНК	1. «Молчащие» мутации без изменения смысла кодона	УУУ → УУЦ	Фен → Фен	→
	2. Миссенс-мутации с изменением смысла кодона	УУУ → УЦУ	Фен → Сер	↑↓→
	3. Нонсенс-мутации с образованием нонсенс-(стоп)-кодонов УАГ, УАА, УГА	УЦА → УАА	Сер → Х	Функция отсутствует
Вставки (инсерции) и делеции нуклеотидов ДНК в количестве	1. 3N, мутации без сдвига рамки чтения генетического кода	Увеличение или уменьшение числа нуклеотидов	аминокислот	↑↓→
		± 3N	± N	
	2. 1, 2, 4, 5, 7... (не кратные трем), мутации со сдвигом рамки чтения генетического кода	± 1, 2, 4, 5, 7...	Новая последовательность аминокислот после точки мутации	Функция отсутствует или является новой

Примечание. Символы изменения функций белка (фермента): ↑ — усиление, ↓ — ослабление, → — без изменений.

совершенно новая последовательность аминокислот, и этот белок или теряет свою активность, или приобретает новые свойства (рис. 8/1.4). В отличие от предыдущей ситуации (см. рис. 8/1.3) такие мутационные изменения в ДНК, мРНК и белке-ферменте являются очень выраженными.



Рис. 8/1.3. Мутация — вставка трех нуклеотидов на границе кодонов без сдвига рамки чтения генетического кода

Как меняется функциональная активность мутантных белков — ферментов? В дополнение к этой информации в последнем столбце табл. 8/1.3 добавляю следующее.

1. Если при мутации (изменении первичной структуры ДНК) функция белка не изменилась, то, вероятно, измененная аминокислота не существенна для работы центра связывания белка или изменения в белке отсутствуют из-за вырожденности генетического кода.
2. При небольшом изменении функциональной активности белка (повышении или снижении) вероятны миссенс-мутации или делеции и вставки без сдвига рамки чтения кода.
3. Полная инактивация мутантного белка-фермента возможна при нонсенс-мутациях (синтезируется укороченный

белок) и делециях и вставках со сдвигом рамки чтения кода.



Рис. 8/1.4. Мутация — вставка одного нуклеотида со сдвигом рамки чтения генетического кода

Философско-эволюционные аспекты изменчивости биологических видов были в середине прошлого века предметом ожесточенных дискуссий, особенно в СССР, и, вероятно, вы знакомы с ними из курсов биологии в школе и в нашем университете, а также из книг и СМИ. Полезные мутации в сочетании с рекомбинациями являются движущей силой эволюции, а вредные мутации — причиной ряда наследственных заболеваний, которые также вносят свою лепту в эволюционный процесс человека. Считается, что частота вредных мутаций и соответствующий так называемый мутантный груз человеческой популяции постоянно возрастают в условиях дальнейшей «цивилизации» нашего общества.

Однако следует подчеркнуть, что далеко не все мутационные изменения ДНК реализуются в фенотипически выраженные изменения биологических характеристик человека. Соответствующие причины, нейтрализующие эти генные изменения: вырож-

денность генетического кода, рецессивные мутации, репарация ДНК, обратные мутации, летальные мутации, предотвращающие рождение нежизнеспособного потомства.

В результате мутаций и рекомбинаций в процессах филогенеза и онтогенеза в популяциях биологических видов возникает громадное разнообразие генов и их аллелей. Каждый человек является гетерозиготным по многим генам белков и ферментов. Это создает большую индивидуальность людей как по генам, т.е. генотипические различия, так и по белкам-ферментам, т.е. фенотипические особенности.

ДНК-ДИАГНОСТИКА

Успехи молекулярной биологии середины XX века позволили к его концу внедрить в клиническую и судебно-медицинскую практику методы ДНК-диагностики. Последняя позволяет выявлять сходство или отличия в первичной структуре (последовательности нуклеотидов) ДНК исследуемых биологических образцов крови и тканей здорового, больного человека и других категорий людей или частей их тела.

Идеальным для медицинских целей был бы именно такой анализ непосредственно первичной структуры ДНК. Подобные методы существуют. Это химический метод Максама и Жильберта и ферментативный метод Санжера, в том числе автоматические варианты анализа. Но такие методы слишком дорогие и сложные, они использовались только для глобального картирования генома человека и в исключительных случаях, например, для полного секвенирования небольшой митохондриальной ДНК членов российской царской семьи. Для медицинских целей реально сегодня использование различных вариантов непрямого определения первичной структуры ДНК. На заре молекулярной биологии это был довольно грубый метод гибридизации ДНК и гетеродуплексного анализа молекул ДНК, а сегодня используют метод полиморфизма длины рестриционных фрагментов ДНК (метод «генной дактилоскопии»), определение мутаций с помощью аллель-специфических проб в сочетании с цепной полимеразной реакцией — ПЦР (см. лекцию 5/1). Если известна хотя бы частично первичная структура необходимых фрагментов

(генов) ДНК и возможен синтез специфических праймеров для генов человека или инфекционных агентов, то с помощью ПЦР можно выявлять соответствующие мутации или носительство/инфицирование разными микроорганизмами (вирусы ВИЧ и гепатита, хламидии и другие возбудители).

Современная пренатальная диагностика и диагностика заболеваний новорожденных детей использует разные методы, в том числе ДНК-диагностику. Еще в СССР было законодательно закреплена обязательная неонатальная диагностика трех наследственных врожденных заболеваний: галактоземии, фенилкетонурии и гипотиреоза. В РФ рекомендовано к этому списку добавить муковисцидоз и адреногенитальный синдром. Эти заболевания мы будем рассматривать в нашем курсе.

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ И ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ

Генная инженерия — это относительно новая техника в молекулярной биологии и генетике, но она уже зарекомендовала себя как основа для создания генетически измененных микроорганизмов, трансгенных растений и биотехнологий промышленного получения необходимых для человечества веществ, лекарств, вакцин и пищевых продуктов.

Принципиально генная инженерия состоит из трех этапов (рис. 8/1.5).

Во-первых, это выделение генов или химический синтез небольших генов (ДНК), кодирующих необходимые продукты, например инсулин и HBS-антиген вируса гепатита В. Количество этих фрагментов ДНК может быть увеличено с помощью ПЦР.

На следующем этапе указанные гены встраиваются в молекулы ДНК-векторов: в бактериальные плазмиды (для небольших генов), в бактериофаги, в космиды (рекомбинанты плазмид с фагами), в разные модифицированные вирусы, сохранившие способность к репродукции, но потерявшие патогенность. Этастройка проводится путем обработки исследуемых генов и ДНК-векторов рестрикционными эндонуклеазами класса II, которые узнают в молекулах ДНК свои гексануклеотиды и специфически катализируют разрыв в них фосфодиэфирных связей, создавая так называемые липкие концы, благодаря которым

далее ДНК-лигазы формируют рекомбинантные молекулы ген-вектор.

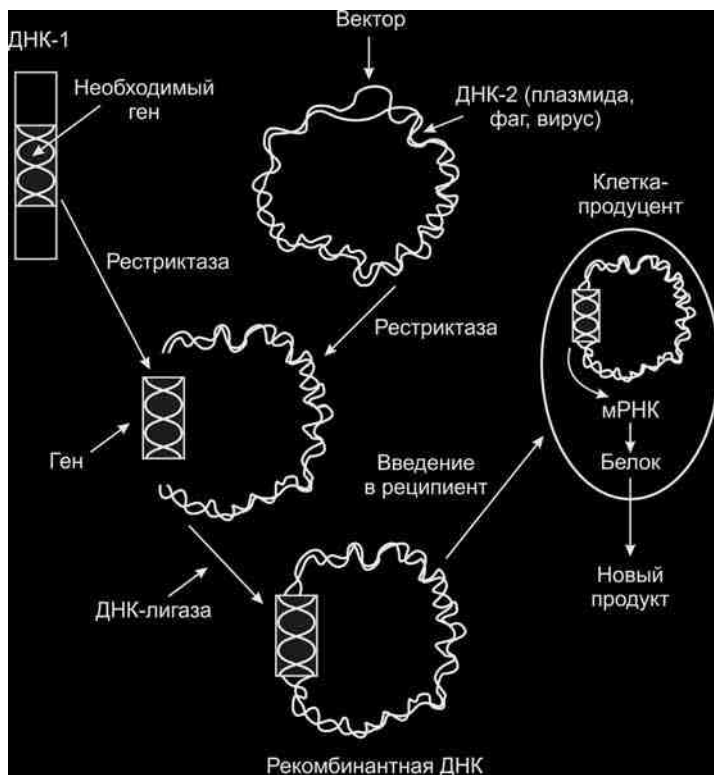


Рис. 8/1.5. Этапы метода генной инженерии

На третьем этапе конструкция ген-вектор вводится в организм-реципиент, способный размножаться и продуцировать продукт, кодируемый введенным чужим геном. Реципиенты — это бактерии (кишечная палочка и др.), дрожжи, животные и растительные клетки. Так, уже созданы промышленные продуценты необходимых человеку химических и лекарственных веществ, получение которых другими путями затруднительно или опасно. Генная инженерия позволила создать следующие препараты, использование которых разрешено в медицинской практике: человеческий инсулин, эритропоэтин, соматотропин (гормон рос-

та), тканевой активатор плазминогена, фактор VIII свертывания крови, α -интерферон, интерлейкины, вакцина против гепатита В, диагностикум СПИД.

Клетки продуцента должны культивироваться в промышленных условиях, обеспечить синтез и свободную секрецию необходимого продукта в среду культивирования в значимых количествах и не создавать проблем с экологической безопасностью.

Лекция 9/1

МЕМБРАНЫ КЛЕТОК

Структуру и свойства мембран вы изучали на предыдущем курсе на кафедрах физики, биологии и гистологии. Поэтому ограничимся характеристикой химической мозаичной структуры типовой цитоплазматической мембраны, представленной на рис. 9/1.1, который демонстрирует наличие в мембране белков, липидов и углеводов.

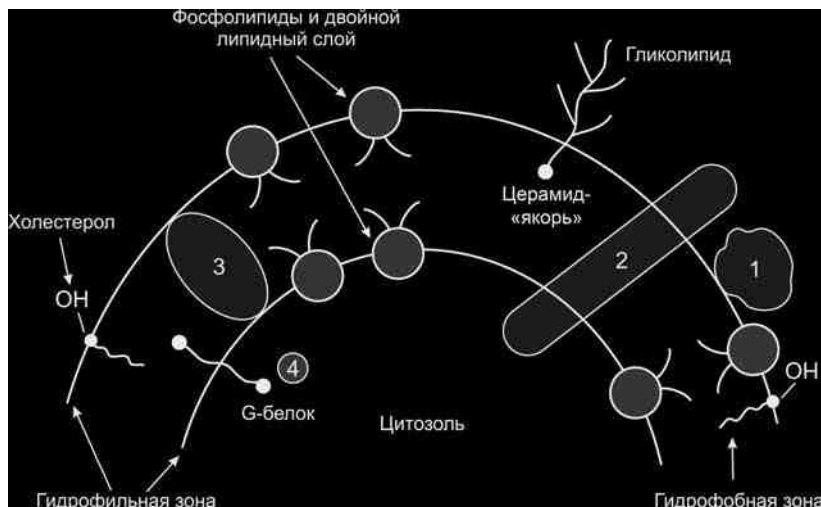


Рис. 9/1.1. Строение цитоплазматической мембраны

БЕЛКИ

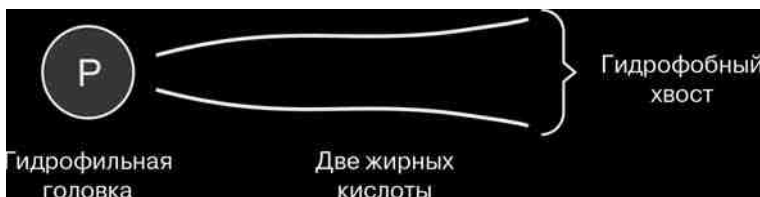
Белки составляют 50–70% от массы мембран. По особенностям расположения в мембране выделяют следующие виды мембранных белков (номера в перечислении соответствуют номерам на рис. 9/1.1):

- 1) периферические белки в комплексе с моно- и олигосахаридами, т.е. это гликопротеины;
- 2) трансмембранные белки, пронизывающие насквозь мембрану и содержащие как гидрофобные аминокислоты для формирования их связей с другими гидрофобными компонентами внутреннего участка мембран, так и гидрофильные аминокислоты на N-и C-концах цепи;
- 3) интегральные белки из гидрофобных аминокислот, полностью находящиеся в мембране;
- 4) заякоренные белки, связанные с самой мембраной липидной ножкой (например, G-белки и ацетилхолинэстераза).

ЛИПИДЫ

Виды мембранных липидов.

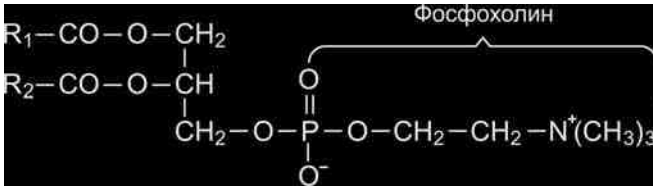
1. Амфифильные фосфолипиды, состоящие из двух частей.



Такую особенность молекул, т.е. наличие одновременно гидрофильной и гидрофобных частей, называют амфифильностью, благодаря чему эти молекулы, как и обычное мыло, обладают поверхностной активностью.

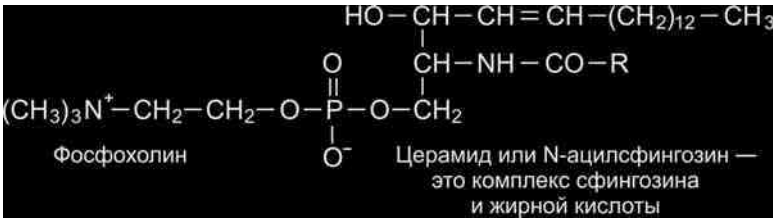
Выделяют две группы фосфолипидов:

- а) глицерофосфолипиды на основе глицерола с полярной головкой, например, фосфохолина; формула фосфатидилхолина или лецитина.



Из ряда других аналогов отметим фосфатидилсерин, который иногда выполняет функцию активатора мембранных ферментов;

- б) сфингофосфолипиды на основе аминок спирта сфингозина с полярной головкой фосфохолина в случае сфингомиелина, который является главным компонентом миелина в нервной системе.



2. Гликолипиды или амфифильные цереброзиды представляют из себя комплекс церамида с углеводами (моно- или олигосахаридами). Они расположены на поверхности клеточных мембран, но их липидная якорная ножка (церамид) закреплена во внутреннем слое мембран (см. рис. 9/1.1). Для сравнения: фосфолипиды образуют в самой мембране двойной липидный слой (см. рис. 9/1.1).



Гликолипиды детерминируют группы крови системы АВ0 вместе с мембранными гликопротеинами. Они участвуют так-

же в качестве мембранных антигенов во взаимодействии клеток с антителами и играют главную роль в рецепторном эндоцитозе. Мембраны нейронов содержат много особых гликолипидов — ганглиозидов, имеющих в качестве углеводного компонента сиаловые кислоты (например, N-ацетилнейраминовую кислоту).

3. Слабоамфифильный холестерол, который мы будем подробно рассматривать во втором семестре.

МЕМБРАННЫЕ УГЛЕВОДЫ

Мембранные углеводы, как уже ясно из вышеизложенного, находятся в мембранах только в комплексах с белками и липидами. Свободные углеводы, а также жиры (ТАГ) в мембранах отсутствуют.

Функции мембран:

- структурная роль как гидрофобной границы между клеткой и окружающей жидкостью (кровью) или межклеточным матриксом, они служат также для разделения отдельных частей клетки;
- транспорт различных веществ через мембраны;
- передача сигналов гормонов внутрь клеток;
- участие в метаболизме клеток.

Частная роль мембранных белков: структурная, ферментативная, в качестве рецепторов для гормонов, вирусов и в качестве транспортеров для переноса различных веществ.

Частная роль мембранных липидов: создание структурного двойного липидного слоя из фосфолипидов, создание гидрофобной границы клетки, участие в передаче сигналов гормонов, активация некоторых мембранных ферментов. А именно: фосфатидилсерин активирует протеинкиназу С в цитоплазматической мембране, фосфатидилхолин активирует β -гидроксibuтиратдегидрогеназу во внутренней мембране митохондрий.

ПЕРЕНОС ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ

(Нобелевские премии 1999, 2003 гг.)

Через мембраны происходит перенос питательных веществ, газов, метаболитов, гидрофобных гормонов (стероидные гормоны и йодтиронины) и лекарств.

Очень крупные молекулы и супрамолекулярные комплексы могут удаляться (секретироваться) из клетки (экзоцитоз) или поступать в клетку (рецепторный или нерцепторный эндоцитоз) с помощью специальных механизмов. В рамках лекции реально рассмотреть только механизм переноса относительно небольших молекул (рис. 9/1.2).

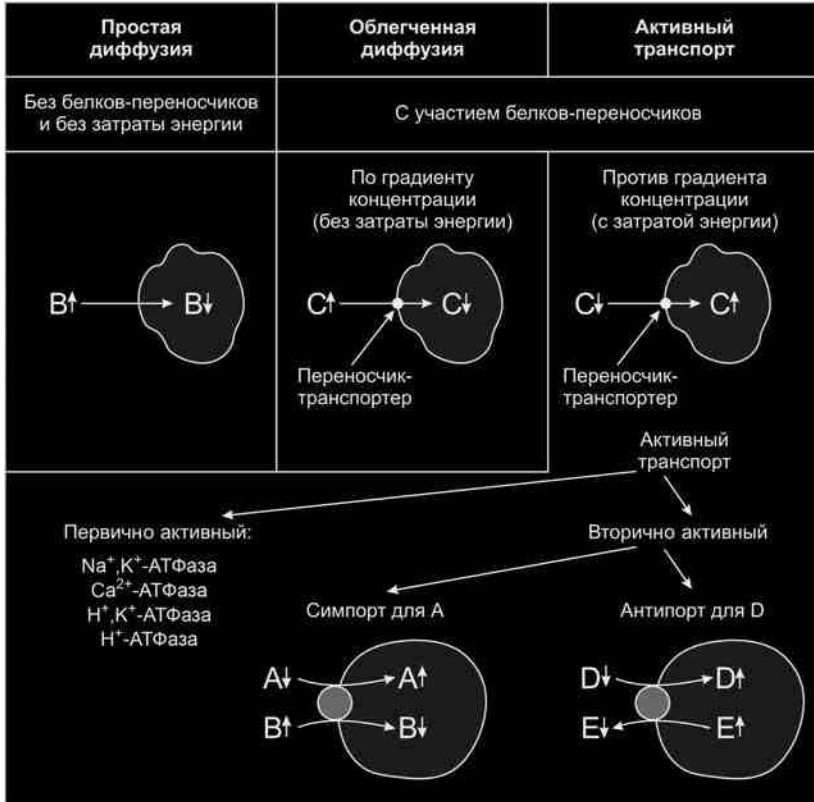


Рис. 9/1.2. Способы транспорта веществ через мембраны. *Примечание.* Символы ↑ или ↓ — повышенная или пониженная концентрация вещества

1. Различные гидрофобные вещества, содержание которых, как правило, выше вне клетки, чем в клетке, не требуют для пересечения мембран энергии, белков-переносчиков или специальных каналов. Их транспорт обеспечивает способ пассивной

простой диффузии (без затрат энергии и без белков-транспортёров) — для стероидных гормонов, йодтиронинов, гидрофобных лекарств, кислорода и др. (см. рис. 9/1.2).

2. Без специальных механизмов мембраны непроницаемы для воды, ионов, полярных гидрофильных молекул. Необходимы, во-первых, встроенные в мембраны каналы, белки-переносчики или ферменты-насосы. Во-вторых, этот перенос может быть пассивным, не требующим затраты энергии в случае транспорта по градиенту концентрации переносимого вещества, или активным с затратой энергии при переносе против градиента концентрации.

- Существуют специальные водные каналы для переноса воды через мембраны. Эти каналы представляют из себя белки-аквапорины, например для реабсорбции воды в почечных канальцах — реабсорбции из первичной мочи в кровь. Такие аквапорины имеются у многих видов — от бактерий до человека (Нобелевская премия 2003 г.).
- Для переноса ионов (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^-) необходимы селективные, специализированные для конкретного иона каналы, которые могут работать в обе стороны и которые открываются и закрываются импульсно под влиянием различных лигандов-регуляторов (гормоны, медиаторы, оксид азота, цНМФ, ИФ₃).
- Многие гидрофильные молекулы (менее 10 кДа), например глюкоза, мочевины, аминокислоты, небольшие белки, проникают внутрь клетки по градиенту концентрации без затраты энергии (если в клетке их содержание меньше, чем вне клетки), но обязательно при участии белков-переносчиков, создающих поры или каналы в гидрофобной мембране. Это пассивный способ облегченной диффузии (см. рис. 9/1.2).
- И наконец, активный транспорт против градиента концентрации переносимого вещества с затратой энергии — для гидрофильных или заряженных молекул и ионов. Этот механизм может быть в двух вариантах (см. рис. 9/1.2):
 - а) первично активный транспорт с затратой энергии АТФ, особенно характерный для переноса ионов (см. рис. 9/1.2); роль транспортёров играют ионные насосы — транспортные АТФазы, освобождающие энергию АТФ;

- б) вторично активный транспорт, при котором источником энергии является градиент (разность) концентраций другого вспомогательного вещества; например, при низкой концентрации глюкозы (вещество А на рис. 9/1.2) в полости кишечника она все равно поступает в энтероциты и в стенку кишечника за счет обычно высокой концентрации хлористого натрия (вещество В) в полости кишечника. Это вторично активный транспорт — симпорт для глюкозы А (см. рис. 9/1.2).

Возможен и вторично активный антипорт для основного вещества D при противоположном перемещении вспомогательного вещества E как источника энергии для транспорта (см. рис. 9/1.2).

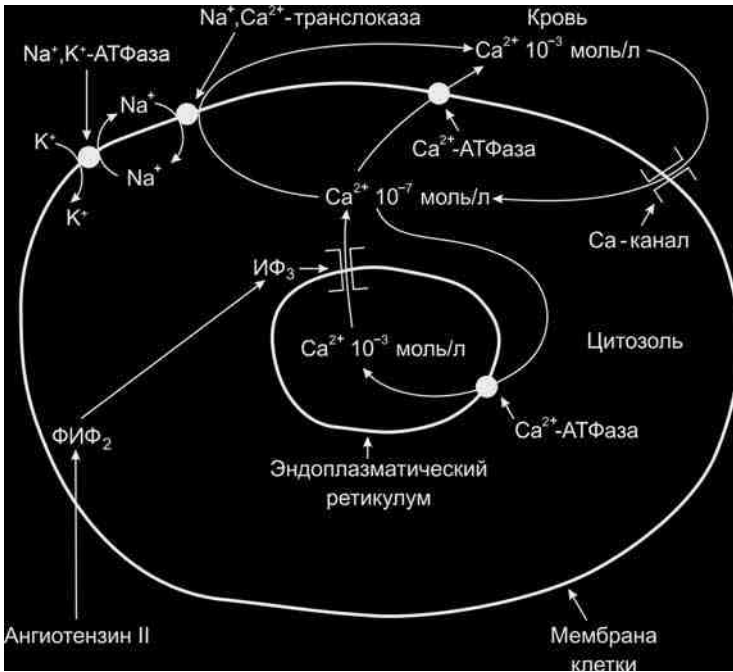


Рис. 9/1.3. Особенности транспорта ионов кальция через клеточные мембраны

Некоторые гормоны и лекарства изменяют транспорт ионов: гормон альдостерон обеспечивает перемещение ионов натрия из

первичной мочи (через эпителий почечных канальцев) в кровь; лекарство омепразол ингибирует H^+, K^+ -АТФазу в стенке желудка и поэтому уменьшает секрецию соляной кислоты у больных с гиперацидным гастритом и с язвой желудка. Своеобразны механизмы транспорта кальция в клетке. Не рассматривая этот транспорт в деталях, привожу рис. 9/1.3, на котором представлены особенности потоков кальция через клеточные мембраны и участие в их реализации ферментов и гормона ангиотензина II.

МЕХАНИЗМЫ И ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ ГОРМОНАМИ В КЛЕТКИ

Гормоны регулируют метаболизм (комплексы биохимических реакций) через их воздействие на ферменты двумя путями.



Терминология, используемая для характеристики систем передачи сигналов гормонов и близких к ним регуляторов в клетке.

1. Сигнальные молекулы или первичные вестники (первичные мессенджеры) — сами классические гормоны и функционально родственные им факторы роста, цитокины, медиаторы, эйкозаноиды.
2. Рецепторы гормонов, находящиеся в цитоплазматической мембране или внутри клетки (в цитозоле или в ядре).
3. Вторичные вестники (вторичные мессенджеры) для сигнальных молекул, не проникающих в клетки: цАМФ, цГМФ, Са, ДАГ, ИФ₃.

4. Вспомогательные (служебные) регуляторные ферменты и белки (например, протеинкиназы и фосфатазы).
5. Метаболические ферменты, которые непосредственно катализируют реакции обмена белков, липидов, углеводов и др.
6. Метаболизм (анаболизм и катаболизм) и изменение его интенсивности.

КЛАССИФИКАЦИЯ ГОРМОНОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ ПО МЕХАНИЗМУ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ ВНУТРЬ КЛЕТКИ

(Нобелевские премии 1971, 1994 гг.) (Северин Е.С., Северин-мл. С.Е.)

I. Механизм передачи через некаталитические рецепторы цитоплазматических мембран поверхности клеток:

- аденилатциклазная система (АЦС) — для адреналина, глюкагона и многих других гормонов;
- инозитолфосфатная система (ИФС) — для ангиотензина II, частично для адреналина в печени, а также для антидиуретического гормона в отношении гладкой мускулатуры артериальных сосудов.

II. Механизм передачи через каталитические рецепторы цитоплазматических мембран поверхности клеток — для инсулина и предсердного натрийуретического гормона.

Оба представленных механизма (I и II) передачи сигналов относятся к гидрофильным гормонам, которые в клетки не проникают и вызывают первично качественные изменения в структуре метаболических ферментов-белков и уже вторично — изменения их активности. Ниже рассмотрены другие особенности передачи сигнала инсулина.

III. Механизм передачи сигнала через некаталитические внутриклеточные рецепторы, находящиеся в цитозоле или ядре клетки — для стероидных гормонов и йодтиронинов. Все они являются гидрофобными молекулами, поэтому легко пересекают гидрофобную цитоплазматическую мембрану способом простой диффузии и взаимодействуют в клетке со своими внутриклеточными рецепторами. Далее комплексы гормон–рецептор соединяются с регуляторными зонами генов и на уровне транс-

крипции изменяют количество молекул ферментов в клетке и, следовательно, суммарную ферментативную активность клетки. Это количественные изменения активности ферментов в клетке. Подробнее данный механизм регуляции активности ферментов был рассмотрен в лекции 7/1.

IV. Механизм передачи сигнала инсулином более сложный, и хотя инсулин, являясь белковым гидрофильным гормоном, в клетку не проникает, но он изменяет активность ферментов качественно и количественно (см. ниже).

Таблица 9/1.1

Характеристика гормонов

Физиологическое состояние человека	Гормон	Химическая структура	Физико-химические свойства	Место синтеза
Переваривание и всасывание пищи	Инсулин	Белок	Гидрофильный	Глюкоза \uparrow → β -клетки поджелудочной железы
Голод	Глюкагон	Пептид	Гидрофильный	Глюкоза \downarrow → α -клетки поджелудочной железы
Голод	Кортизол	Стероид	Гидрофобный	Глюкоза \downarrow → надпочечники
Физическая работа (срочная)	Адреналин	Модифицированный тирозин	Гидрофильный	Надпочечники
Рост, развитие	Йодтиронины	Модифицированный тирозин	Гидрофобные	Щитовидная железа
Стресс	Адреналин Кортизол	См. выше		
Сексуальные функции	Тестостерон, эстрогены, прогестины	Стероиды	Гидрофобные	Половые железы и органы

Примечание. Символы \uparrow или \downarrow — повышенное или пониженное содержание глюкозы в крови.

Каждый гормон секретируется в кровь в повышенных количествах при определенных физиологических или патологических состояниях человека. Такое соответствие: физиологический статус человека—гормон отражено в таблице 9/1.1, как и другие особенности гормонов. Изменение уровня гормонов при различных патологических состояниях человека будет рассмотрено в последующих лекциях.

Поэтапный анализ функционирования аденилатциклязной системы передачи гормональных сигналов представлен на рис. 9/1.4. В рамках лекции детальное рассмотрение этой схемы невозможно и нецелесообразно, тем более что такой анализ отражен в учебнике и отдельные элементы содержатся в лекции 4/1. Подчеркну только итог: в результате работы гормонов по этому механизму передачи сигнала протеинкиназа А катализирует фосфорилирование конечных метаболических ферментов (по серину или треонину) и их активность или увеличивается (например, гликогенфосфорилазы и ТАГ-липазы), или уменьшается (в случае гликогенсинтазы и ацетил-КоА-карбоксилазы) (см. рис. 9/1.4). Следовательно, работа АЦС завершается одним химическим (фосфорилирование) и одним биохимическим (качественное изменение активности ферментов) эффектами.

Некоторые детали об адренорецепторах для адреналина, являющихся белками — трансмембранными гликопротеинами (Нобелевская премия 2012 г.). Существуют изоформы (типы и их подтипы) этих рецепторов, находящихся в мембранах клеток разных органов и тканей. Адреналин передает свой сигнал через АЦС с помощью следующих разновидностей адренорецепторов AR: β_1 AR — в скелетных мышцах, β_2 AR — в гепатоцитах, β_3 AR — в адипоцитах. В гепатоцитах существуют и другие α_1 AR, через которые адреналин включает инозитолфосфатную систему (ИФС) трансмиссии своего сигнала и изменяет активность ферментов обмена гликогена. Однако последние регулируются адреналином, видимо, главным образом через АЦС (β_2 AR гепатоцитов). В гладкой мускулатуре кровеносных сосудов-артерий адреналин и норадреналин через α_1 AR и через ИФС увеличивают в миоцитах концентрацию кальция, который включает механизм мышечного сокращения, ускоряя кровоток и артериальное давление.

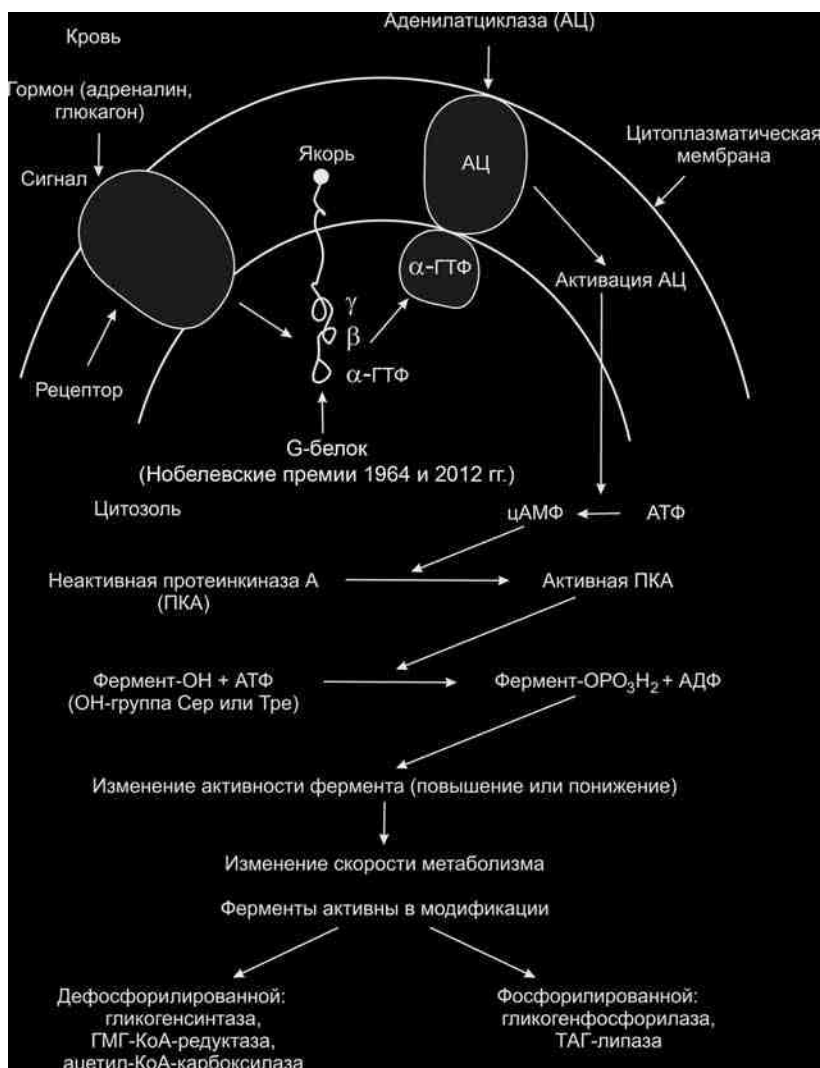


Рис. 9/1.4. Аденилатциклазная система передачи сигнала гормонами внутрь клетки

Если в АЦС вторичным вестником (мессенджером) является только цАМФ, то в ИФС передачи сигнала ангиотензина II и других гормонов (см. выше) таких вестников несколько: Са,

ИФ₃ и ДАГ (рис. 9/1.5). Из них главным вторичным вестником является кальций, благодаря которому указанные гормоны осуществляют два своих конечных эффекта: фосфорилирование белков-ферментов протеинкиназой С с изменением их активности и второй эффект — комплекс кальций–кальмодулин (это белок) активирует свои особые протеинкиназы, которые также фосфорилируют метаболические ферменты с изменением их активности.

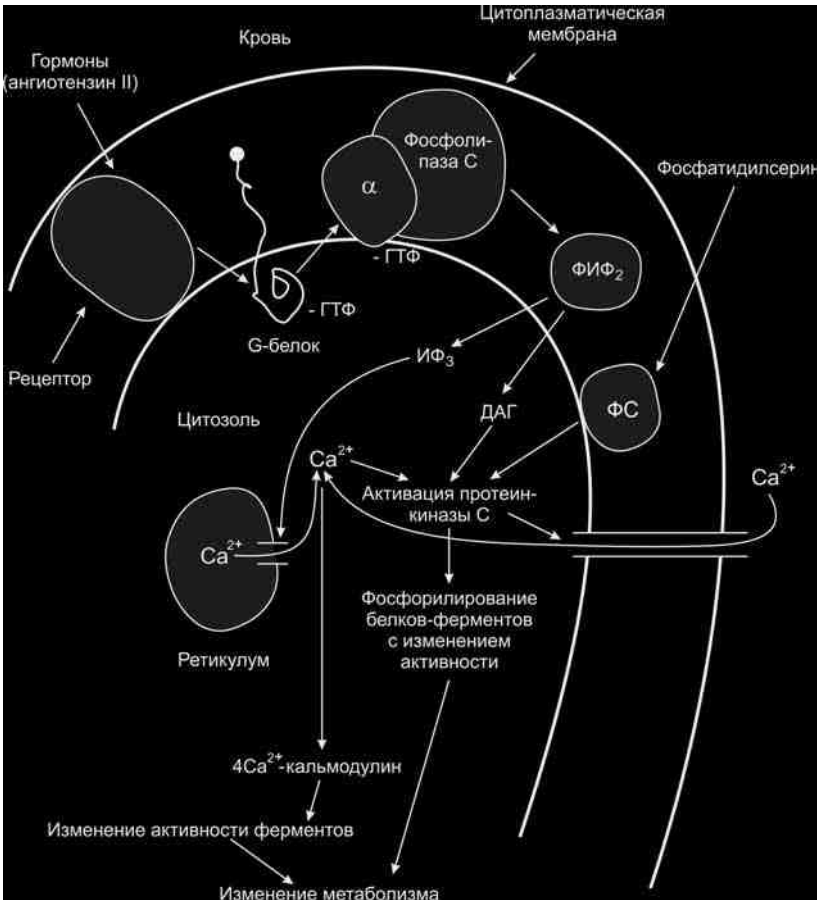


Рис. 9/1.5. Инозитолфосфатная система (ИФС) передачи сигнала гормонами внутрь клетки

Особенности функционирования гидрофобных стероидных гормонов и йодтиронинов были рассмотрены выше в данной лекции и в лекции 7/1, а в деталях представлены на рис. 9/1.6. Конечный эффект этих гормонов однозначен: они непосредственно на уровне транскрипции увеличивают или уменьшают количество мРНК регулируемого ими метаболического фермента и далее уже вторично изменяют количество молекул этого фермента в клетке без изменения его химической структуры.

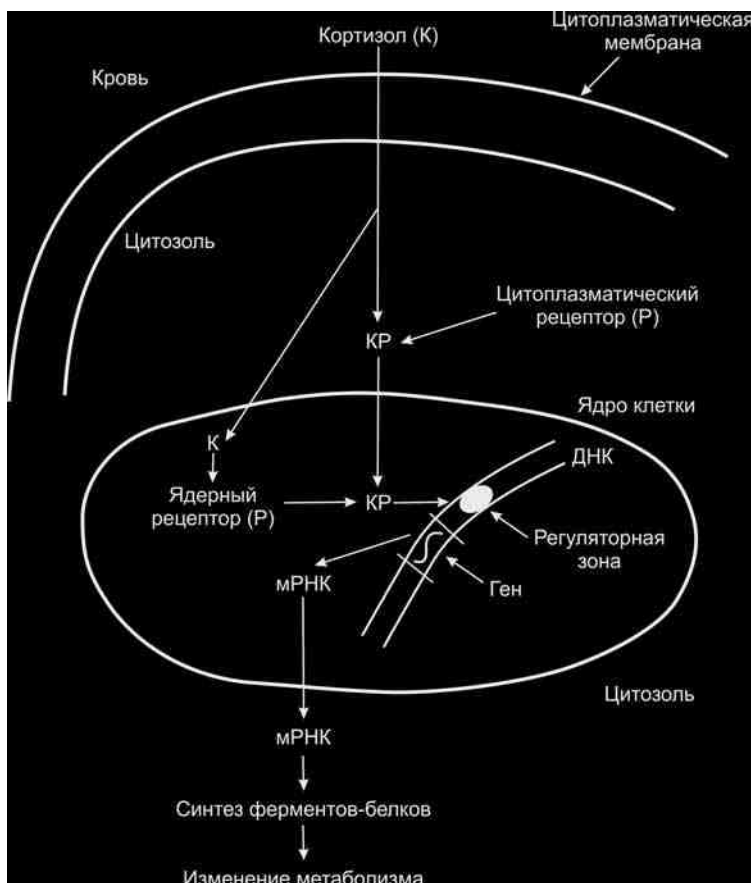


Рис. 9/1.6. Механизм передачи сигнала стероидными гормонами и йодтиронидами внутрь клетки

И наконец, очень важный в медицинском плане инсулин, с которым связан механизм возникновения и лечения сахарного диабета. Для него характерен двойной способ изменения ферментативной активности внутри клеток инсулинзависимых органов и тканей (печень, мышцы, жировая ткань) (рис. 9/1.7).

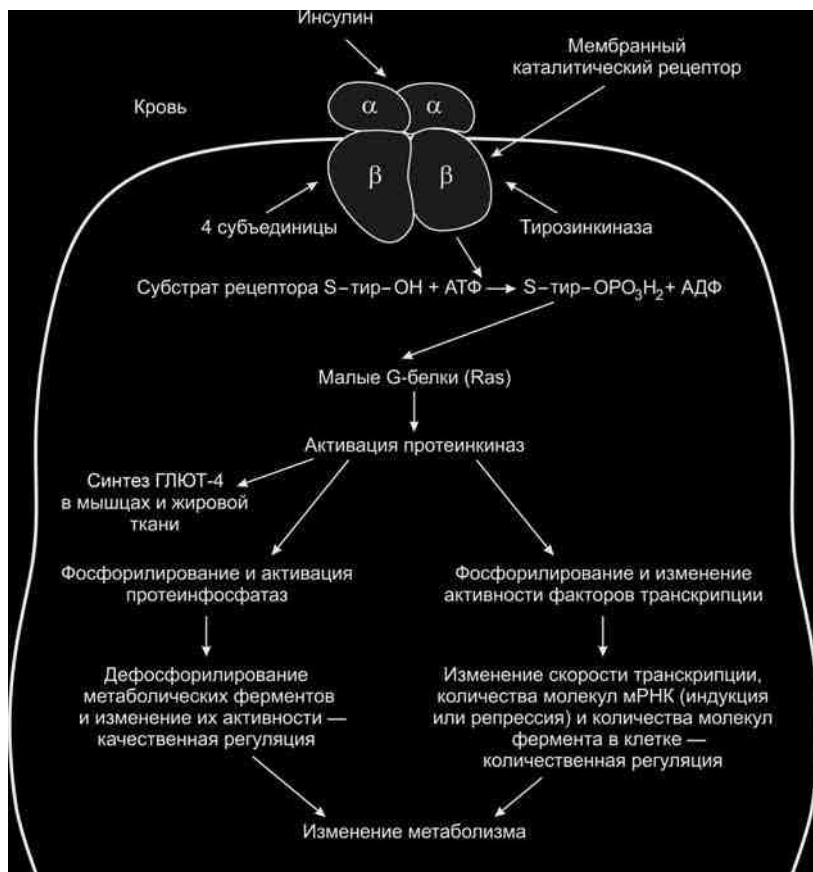


Рис. 9/1.7. Механизм регуляции инсулином ферментативной активности в клетках печени, мышц и жировой ткани

Как гидрофильный гормон инсулин не проникает внутрь клетки, а взаимодействует на ее поверхности со своим тетрамерным ($\alpha_2\beta_2$) каталитическим рецептором и активирует тирозинки-

назную активность его β -субъединиц. Эта тирозинкиназа катализирует фосфорилирование по тирозину белков — «субстратов рецептора инсулина», затем следует каскад реакций, в которых участвуют киназы и фосфатазы, формально рассматриваемые в качестве вторичных мессенджеров инсулина. Далее потоки химических сигналов раздваиваются. Во-первых, активированные фосфатазы (после их фосфорилирования протеинкиназами) дефосфорилируют ранее синтезированные (без участия инсулина) метаболические ферменты и их активность или повышается (пируваткиназа, киназа бифункционального фермента (БИФ), фосфофруктокиназа, гликогенсинтаза, ацетил-КоА-карбоксилаза, ГМГ-КоА-редуктаза и др.), или уменьшается (гликогенфосфорилаза, ТАГ-липаза и др.). Во-вторых, киназы фосфорилируют ряд факторов транскрипции, которые увеличивают или уменьшают свою способность участвовать в транскрипции. В итоге изменяется скорость транскрипции (индукция или репрессия) и таким образом косвенно инсулин или увеличивает количество молекул ферментов в клетке (глюкокиназа, пальмитилсинтаза, опять ацетил-КоА-карбоксилаза и др.), или уменьшает (карбоксикиназа фосфоенолпирувата). Следовательно, конечные эффекты инсулина на ферменты являются или качественными, как для других гидрофильных гормонов, или количественными, как для гидрофобных гормонов, хотя в отличие от последних инсулин в клетку не проникает.

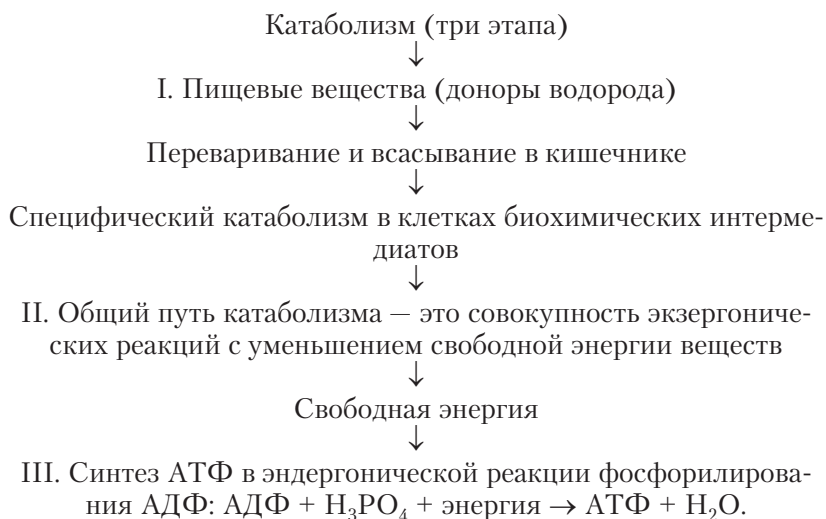
Лекция 10/1

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН. ДЫХАТЕЛЬНАЯ ЦЕПЬ МИТОХОНДРИЙ

Биохимические превращения веществ в организме, или метаболизм, состоят из следующих процессов:

- 1) катаболизм, т.е. распад питательных веществ и их интермедиатов с образованием химического кумулятора энергии — молекул АТФ;
- 2) анаболизм, или синтез различных веществ с использованием запасенной энергии в виде АТФ.

Открытия в этой области биохимии были отмечены Нобелевскими премиями в 1978 и 1997 гг. Значительный вклад в решение этой проблемы сделан также В.А. Энгельгардтом.



При этом часть энергии рассеивается в организме в виде теплоты.

В клетках имеется два источника энергии для синтеза АТФ, и соответственно существует два метода синтеза АТФ.

Энергия окисления (энергия электронов) во внутренней мембране митохондрий (в цепи переноса электронов — ЦПЭ)

← Энергия →

Энергия других макроэргических веществ с макроэргическими связями (более 30 кДж/моль): КФ, ФЭП, 1,3-БФГК, ГТФ, сукцинил-КоА



Это окислительное фосфорилирование АДФ с образованием АТФ



Это субстратное фосфорилирование АДФ с образованием АТФ

Локализация в клетке

Внутренняя мембрана митохондрий

Цитозоль и матрикс митохондрий



Кислород необходим (аэробный процесс)



Без кислорода (анаэробный процесс)



Главные ферменты

АТФ-синтаза

Киназы



Энергетическая роль

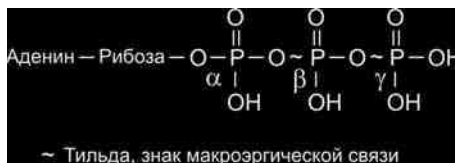
Важная (например, образуется 34 АТФ при распаде одной молекулы глюкозы)

Небольшая (всего 6 АТФ)

Цикл АТФ–АДФ. Катаболизм веществ — доноров водорода:



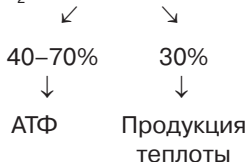
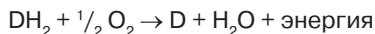
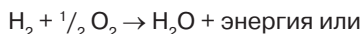
Молекула АТФ (схема):



Энергия одной макроэргической связи АТФ — 30 кДж/моль в стандартных химических условиях и 50 кДж/моль в условиях клетки.

Окислительное фосфорилирование АДФ в ЦПЭ митохондрий — главный метод синтеза АТФ — состоит из двух обязательно сопряженных процессов.

I. Первый процесс — окисление водорода в водородосодержащих веществах с переносом электронов на кислород и дробным освобождением энергии:



II. Второй процесс — синтез АТФ за счет освобожденной энергии:



Первый процесс — окисление водорода связан с перемещением атомов водорода (электронов и протонов) вдоль внутренней мембраны митохондрий в так называемой ЦПЭ. Эта цепь состоит из нескольких сложных олигомерных белков и ферментов (комплексы I–V), имеющих следующие коферменты: НАД (производное витамина РР), ФМН и ФАД (витамин В₂), гем и другие компоненты (рис. 10/1.1). Все они участвуют в транспорте вдоль ЦПЭ следующих веществ:

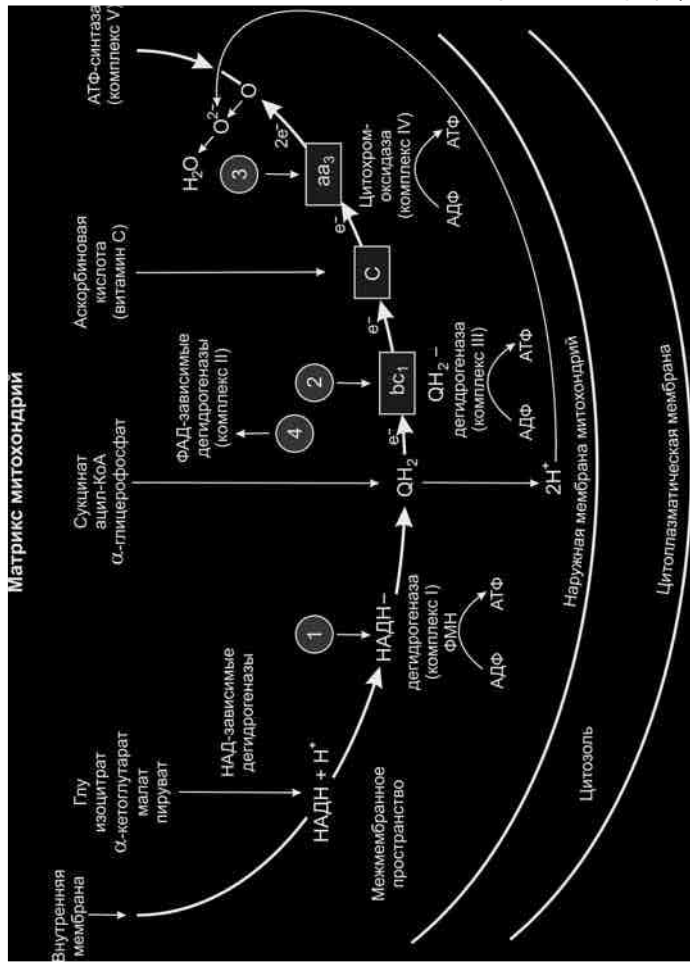
- 1) двух атомов водорода (электронов и протонов) — до уби-хинона Q;
- 2) далее два атома водорода H разделяется на:
 - а) два электрона, которые поочередно (один за другим) перемещаются по ЦПЭ до кислорода;
 - б) и на два протона H^+ , «химические» протоны, которые переходят из внутренней мембраны в межмембранное пространство и затем присоединяются к атому кислорода, получившему из цепи два электрона, с образованием воды (рис. 10/1.1).

Электроны перемещаются вдоль внутренней мембраны к кислороду (слева направо на модельной схеме — рис. 10/1.1) благодаря окислительно-восстановительному или редокс-потенциалу, т.е. благодаря самому большому (из всех других компонентов ЦПЭ) средству атома кислорода к электронам. Кислород играет роль электронного насоса. На модельной схеме ЦПЭ ее компоненты выстроены в ряд в порядке возрастания редокс-потенциала слева направо и в этом порядке электроны перемещаются к кислороду. Эта схема иначе называется как путь водорода до кислорода. Отдельные реакции, катализируемые ферментами комплексов I–IV, в лекции не рассматриваются из-за дефицита времени и в связи с их детальным представлением в учебниках.

Второй процесс — синтез АТФ связан с перемещением «векторных» протонов через внутреннюю мембрану митохондрий из матрикса в межмембранное пространство митохондрий. Этот процесс представлен на рис. 10/1.2 и 10/1.3 как хемиосмотическая теория окислительного фосфорилирования (П. Митчелл, Нобелевская премия 1978 г.), которая объясняет механизм синтеза АТФ методом окислительного фосфорилирования.

В дополнение к рисункам краткое изложение этой концепции. Комплексы ферментов ЦПЭ I, III, IV, во-первых, участвуют в перемещении электронов вдоль цепи до кислорода, а во-вторых — перекачивают протоны из матрикса в межмембранное пространство митохондрий за счет энергии электронов.

В результате на внешней поверхности внутренней мембраны митохондрий возникает положительный трансмембранный электрохимический потенциал $\delta\mu H^+$ — биофизическая форма



Примечания к рис. 10/1.1:

1. Цитохромы bc_1 входят в состав QH_2 -дегидрогеназы (комплекс III), aa_3 — в состав цитохромоксидазы (комплекс IV).
2. Активатором ЦПЭ является АДФ.
3. Ингибиторы ферментов ЦПЭ (ферменты-мишени для ингибиторов указаны арабскими цифрами): 1) амитал (аминобарбитал), ацетальдегид, рогенон; 2) антимицин А; 3) цианид, CO , H_2S ; 4) малонат.

Рис. 10/1.1. Митохондриальная дыхательная цепь — цепь переноса электронов (ЦПЭ)

энергии, являющаяся предшественником АТФ. Создающие этот потенциал протоны возвращаются через канал АТФ-синтазы в матрикс, и кинетическая энергия потока протонов (как модель) обеспечивает синтез АТФ при участии АТФ-синтазы. Таким образом, векторные протоны циркулируют по кругу (см. рис. 10/1.3). АТФ перемещается из матрикса в цитозоль, там она расходуется в разных биохимических процессах, и образующаяся АДФ возвращается в матрикс митохондрий. Это вторая часть цикла АТФ–АДФ, который происходит при участии АТФ–АДФ-транслоказы (см. рис. 10/1.3). Ингибитором АТФ-синтазы является антибиотик олигомицин.

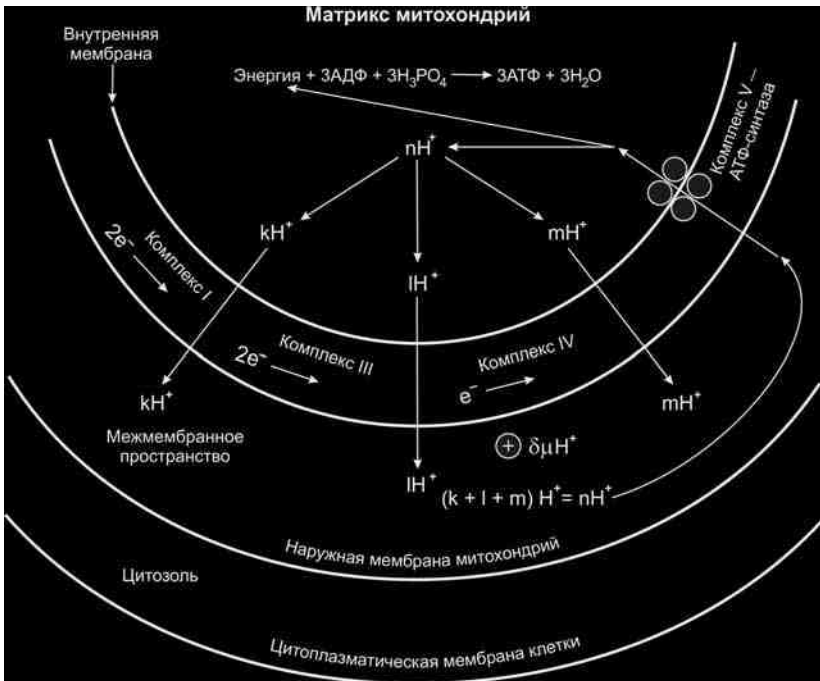


Рис. 10/1.2. Схема синтеза АТФ во внутренней мембране митохондрий

Рисунок 10/1.4 разъясняет еще два термина, или показателя. Первый — так называемые точки сопряжения окисления (перемещения электронов) и фосфорилирования АДФ. В этих точках

локализованы ферментативные комплексы I, III, IV, при прохождении через которые электроны теряют часть своей энергии, и в каждой этой точке освобожденная энергия двух электронов достаточна для синтеза далее одной молекулы АТФ. Итого при перемещении двух электронов по полной ЦПЭ через три указанных точки одновременно перекачивается несколько векторных протонов и синтезируется три АТФ (см. рис. 10/1.2).

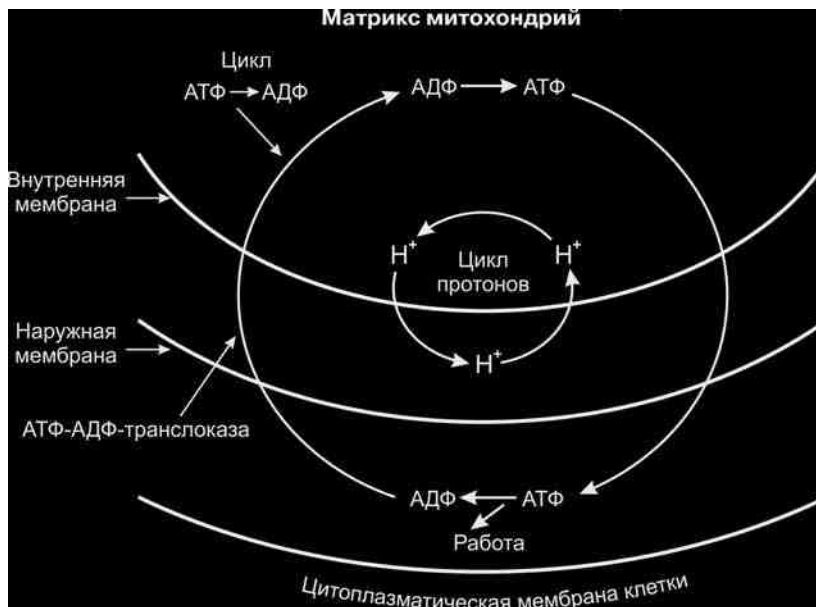


Рис. 10/1.3. Циклы векторных протонов и АТФ-АДФ в митохондриях

Второй показатель — коэффициент Р/О, или, точнее, АТФ/О, показывает, сколько молекул АТФ синтезируется во внутренней мембране митохондрий при поглощении ими одного атома кислорода. Пары электронов из различных доноров водорода, обладающие разным уровнем энергии, поступают во внутреннюю мембрану в три разных комплекса ферментов (I, III, IV). Теоретически этой энергии хватает для синтеза трех, двух и одной молекулы АТФ и величины коэффициента Р/О равны максимум 3, 2, 1 соответственно (см. рис. 10/1.4).

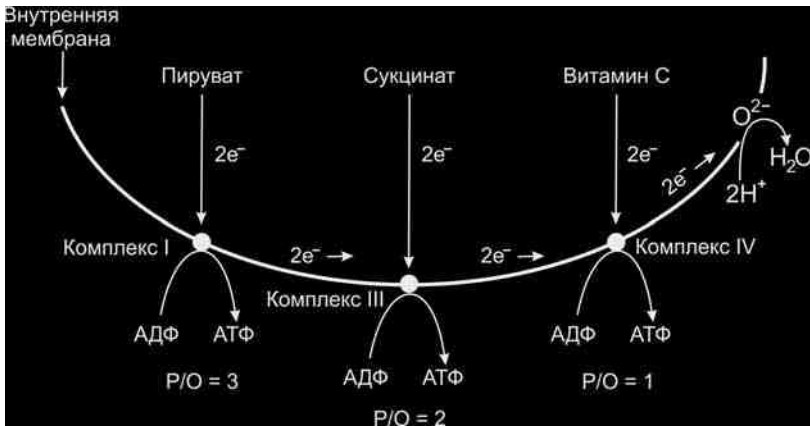


Рис. 10/1.4. Точки сопряжения и величины коэффициента P/O

РЕГУЛЯЦИЯ ЦЕПИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ, ИЛИ ДЫХАТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ

АДФ является единственным пока известным активатором ЦПЭ, т.е. когда АДФ много, а соответственно АТФ мало (например, при физической работе), АДФ, ускоряя работу ЦПЭ, увеличивает синтез АТФ. Скорость цикла АТФ–АДФ становится более высокой. Мое личное объяснение механизма этой регуляции связано с ускорением кинетического потока векторных протонов через АТФ-синтазу и со сдвигом равновесия реакции синтеза АТФ вправо (по закону действующих масс) из-за избытка АДФ (см. рис. 10/1.2).

РАЗОБЩИТЕЛИ ЦЕПИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ

Разобщители ЦПЭ – это гидрофобные вещества или протонофоры, которые легко проникают во внутреннюю мембрану митохондрий и разобщают два указанных процесса, т.е. окисление (перемещение электронов к кислороду) и окислительное фосфорилирование АДФ с образованием АТФ.

Ионизированные разобщители – анионы, находясь в мембране, присоединяют векторные протоны из межмембранного

пространства и переносят их в матрикс митохондрий, уменьшая тем самым трансмембранный потенциал внутренней мембраны и, следовательно, синтез АТФ. Однако они не тормозят передвижение электронов по ЦПЭ, не уменьшают поглощение кислорода и образование воды. Энергия окисления веществ, не кумулируясь в АТФ, рассеивается в виде теплоты (рис. 10/1.5).

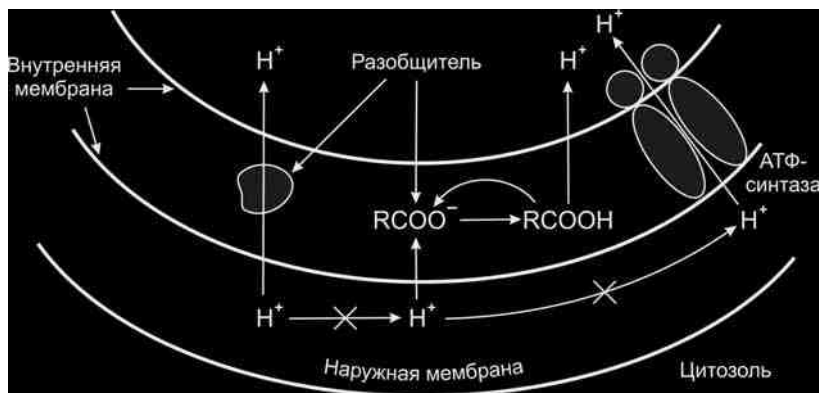


Рис. 10/1.5. Механизм действия разобщителей ЦПЭ

Разобщители:

- 1) экзогенные вещества — динитрофенол, некоторые лекарства (дикумарол, уменьшающий свертывание крови) и ксенобиотики, валиномицин;
- 2) эндогенные вещества — жирные кислоты, йодтиронины, билирубин, белок бурого жира (у новорожденных и зимоспящих животных).

Все разобщители могут повышать температуру тела человека (работников химических заводов, больных с гипертиреозом, после приема некоторых гидрофобных лекарств).

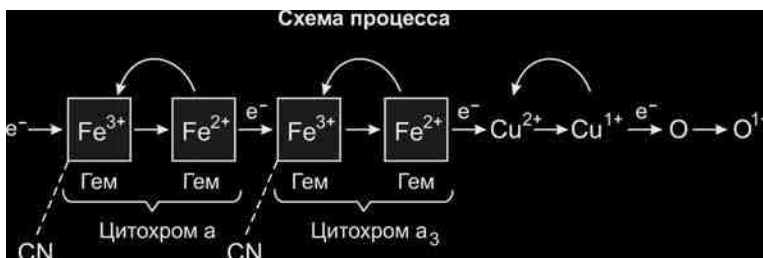
ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ ЦЕПИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ

На рисунке 10/1.1 арабскими цифрами обозначены ферменты ЦПЭ и их специфические ингибиторы, которые:

- 1) ингибируют указанные ферменты, поэтому тормозят перемещение электронов вдоль ЦПЭ и поглощение кислорода митохондриями;
- 2) ингибируют перенос векторных протонов через внутреннюю мембрану митохондрий и поэтому снижают трансмембранный потенциал;
- 3) в результате замедляется синтез АТФ.

Среди ингибиторов имеются лекарства (барбитураты) и смертельные яды (барбитураты в больших дозах, цианиды), которые уменьшают количество АТФ в клетках и тем самым дают фармакологические и летальные эффекты.

Цианид (KCN) вызывает смертельное отравление потому, что он блокирует транспорт электронов к кислороду на последнем этапе, а именно цианид ингибирует фермент цитохромоксидазу. Последняя состоит из цитохромов a и a_3 вместе с тремя ионами меди. Каждый цитохром является сложным белком, комплексом из апофермента и кофактора — гема. Функцией цитохромов является перенос двух электронов (по одному) на один атом кислорода благодаря переменной степени окисления атома железа.



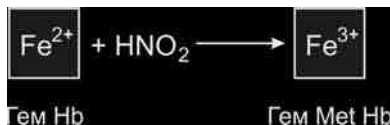
Цианид образует стабильный комплекс Fe^{3+} гема с CN^- , и в этом комплексе железо не может изменять степень окисления и переносить электроны. Цитохромоксидаза перестает функционировать. Прекращается поглощение кислорода и синтез АТФ в митохондриях, наступает гибель клеток и организма в целом.

Противоядия (антидоты) при отравлениях цианидом:

1. При срочном внутривенном введении глюкоза своей альдегидной группой связывает CN^- по типу шиффовых оснований.

2. Нитрит натрия (при внутривенном введении) или амилнитрит (при интраназальном введении) окисляют железо Fe^{2+}

в молекулах гема, находящегося в других соединениях организма и прежде всего в части молекул гемоглобина Hb:



Гемоглобин содержит около 80% всего гема человека. Поэтому окисленное железо Fe^{3+} в MetHb, как и глюкоза, прочно связывает цианид, резко уменьшая его эффективную дозу для цитохромоксидазы. Образовавшийся после окисления MetHb прекращает переносить кислород, но оставшийся в достаточном количестве неокисленный Hb выполняет свою функцию.

Подводим итог о веществах, способных подавлять окислительное фосфорилирование и синтез АТФ: 1) разобщители окисления и фосфорилирования; 2) ингибиторы ферментов ЦПЭ; 3) ингибиторы АТФ-синтазы. В 1956–1957 гг. мною как слушателем 6-го курса Военно-медицинской академии (г. Ленинград) под руководством будущего академика АМН СССР А.Н. Климова при экспериментальной работе на кафедре биохимии академии было показано, что стрептомицин подавляет окислительное фосфорилирование и синтез АТФ (Фосфорилирование и функция // Симпозиум ИЭМ АМН СССР. — Л.: Изд-во «ИЭМ», 1960. — С. 129–136).

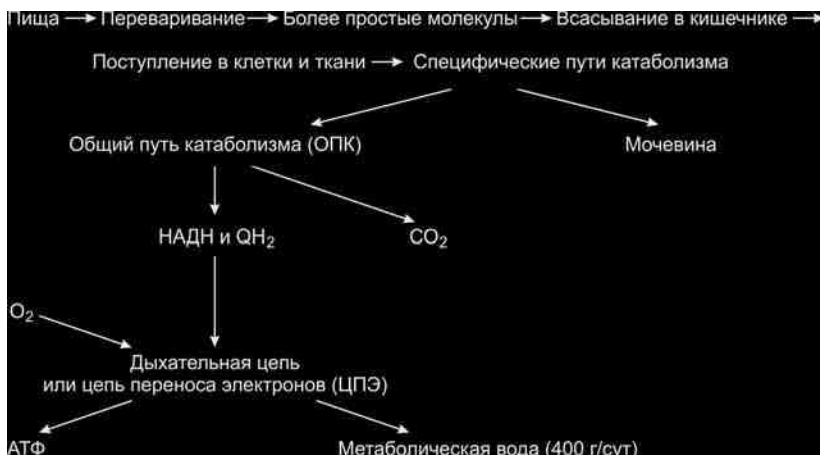
МЕХАНИЗМ ТЕПЛОПРОДУКЦИИ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

Выше при рассмотрении цикла АТФ–АДФ я уже отмечал, что при распаде АТФ часть ее энергии превращается в теплоту и эта теплопродукция дополняется благодаря работе эндогенных разобщителей. На всех этапах энергетического обмена часть освобождающейся или кумулирующей энергии окисления рассеивается в организме в виде теплоты, обеспечивая нормальную или при патологии (гипертиреоз) повышенную температуру тела: пища → НАДН → трансмембранный потенциал → АТФ → работа → теплота.

Лекция 11/1

ОБЩИЙ ПУТЬ КАТАБОЛИЗМА

Общая схема катаболизма белков, липидов и углеводов может быть представлена в следующем виде:



Итак, конечные продукты: углекислый газ, АТФ, вода и мочевина.

Мы будем изучать с вами рассмотренный выше полный катаболизм веществ в порядке возрастания сложности процессов, т.е. в обратном порядке: ЦПЭ → общий путь катаболизма (ОПК) → специфический катаболизм углеводов, липидов и белков.

Необходимо ознакомиться с некоторыми терминами.

1. Первичные доноры водорода — это интермедиаты, промежуточные продукты катаболизма:

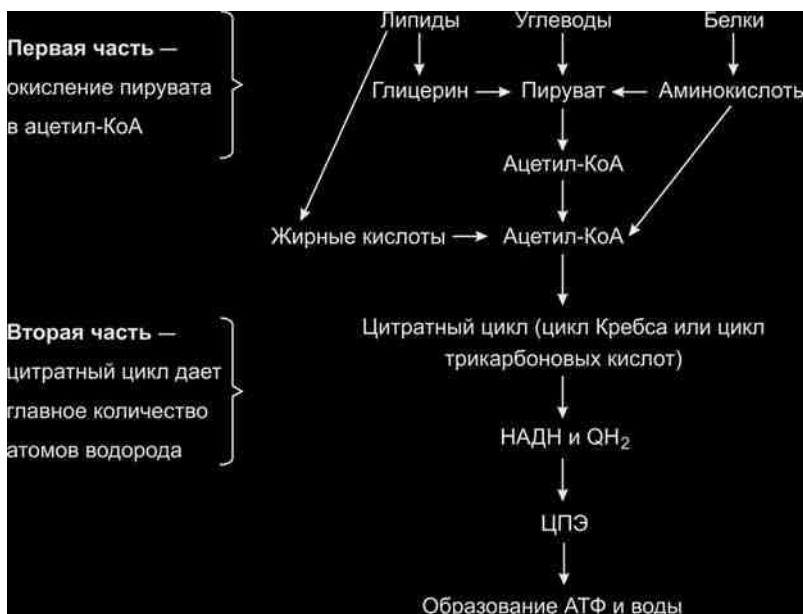
а) специфических путей катаболизма — пируват, глутаминовая кислота, жирные кислоты, глицерол-3-фосфат, глицеральдегид-3-фосфат, этанол;

б) общего пути катаболизма — изоцитрат, α -кетоглутарат, малат, сукцинат.

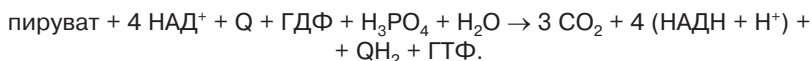
2. Первичные акцепторы водорода — дегидрогеназы, точнее, их коферменты НАД⁺, НАДФ⁺ и ФАД.

3. Вторичные доноры водорода для ЦПЭ — НАДН, ФАДН₂, QH₂.

Общий путь катаболизма состоит из двух частей:



Суммарное уравнение ОПК:



Все реакции ОПК происходят в митохондриях клетки (рис. 11/1.1).

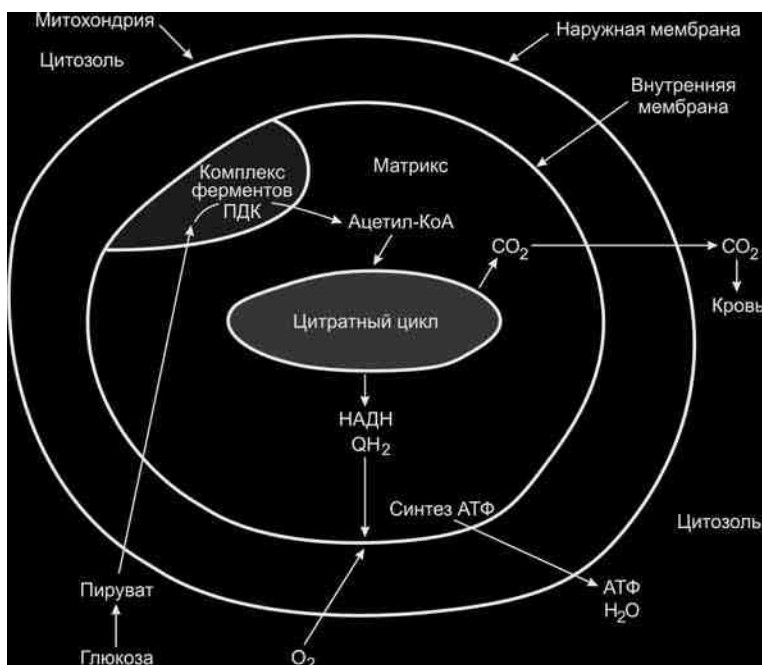


Рис. 11/1.1. Энергетические процессы в митохондриях

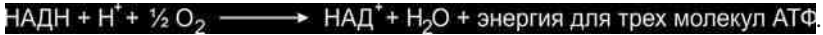
ОКИСЛЕНИЕ ПИРУВАТА В АЦЕТИЛ-КоА

Окисление пирувата в ацетил-КоА состоит из двух сопряженных процессов:

I. Первый процесс и его суммарное уравнение:



II. Вторым процессом является аэробной реакцией с участием кислорода:



Роль этой реакции:

- 1) регенерация окисленного НАД⁺ для первого процесса;
- 2) синтез АТФ методом окислительного фосфорилирования АДФ.

Оба процесса строго сопряжены, т.е. первый процесс невозможен без второй реакции и в отсутствие кислорода. Иначе это сопряжение или связь ОПК и ЦПЭ. Поэтому оба процесса являются аэробными.

Первый процесс включает три необратимые реакции (без детального их рассмотрения на лекции), которые катализирует мультиферментативный комплекс — пируватдегидрогеназный комплекс (ПДК), состоящий из трех основных ферментов и пяти коферментов на основе пяти витаминов (рис. 11/1.2).

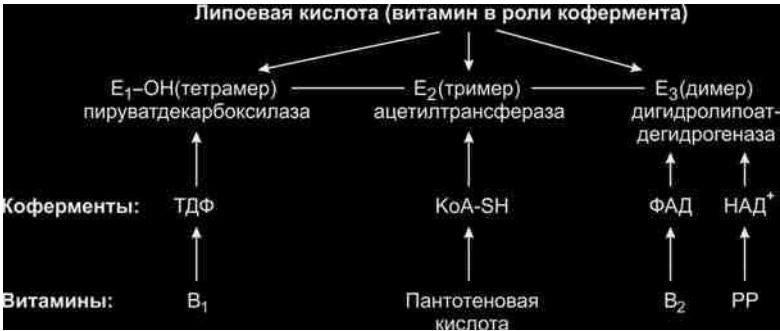


Рис. 11/1.2. Структура пируватдегидрогеназного комплекса (ПДК)

Итак, в составе ПДК пять витаминов и три основных фермента. Одна митохондрия содержит несколько молекул (от 6 до 60) каждого из указанных ферментов. Кроме того, митохондрии имеют также два регуляторных фермента, которые изменяют активность пируватдекарбоксилазы E₁:

- 1) фосфатаза дефосфорилирует E₁ (E₁-ОН) и тем самым активирует этот фермент. Активатором фосфатазы является инсулин, следовательно, он ускоряет ОПК;

2) протеинкиназа напротив фосфорилирует E_1 ($E_1-OPO_3H_2$) и инактивирует последний фермент.

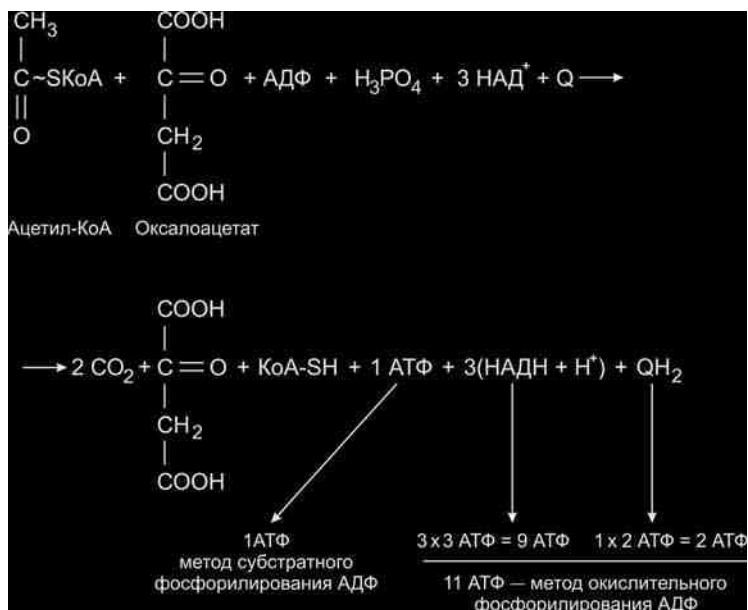
В цитратном цикле (см. ниже) участвует α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс ферментов, структура которого аналогична ПДК, но без регуляторных ферментов.

ЦИТРАТНЫЙ ЦИКЛ

(Нобелевские премии 1937, 1953 гг.)

Первая и последняя реакции цикла происходят при участии оксалоацетата или щавелевоуксусной кислоты (см. реакции на рис. 11/1.3). Поэтому оксалоацетат принято условно рассматривать как «катализатор» цитратного цикла. Это видно из представляемого суммарного уравнения цитратного цикла, которое одновременно показывает его энергетическую роль: синтез одной молекулы АТФ с помощью субстратного фосфорилирования АДФ в самом цикле и еще синтез 11 молекул АТФ в последующей ЦПЭ методом окислительного фосфорилирования АДФ. Энергетический итог: один ацетил-КоА дает 12 АТФ.

Суммарное уравнение цитратного цикла:



Энергетический итог: одна молекула ацетил-КоА обеспечивает синтез 12 АТФ.

Формулы трикарбоновых кислот с тремя карбоксильными группами:

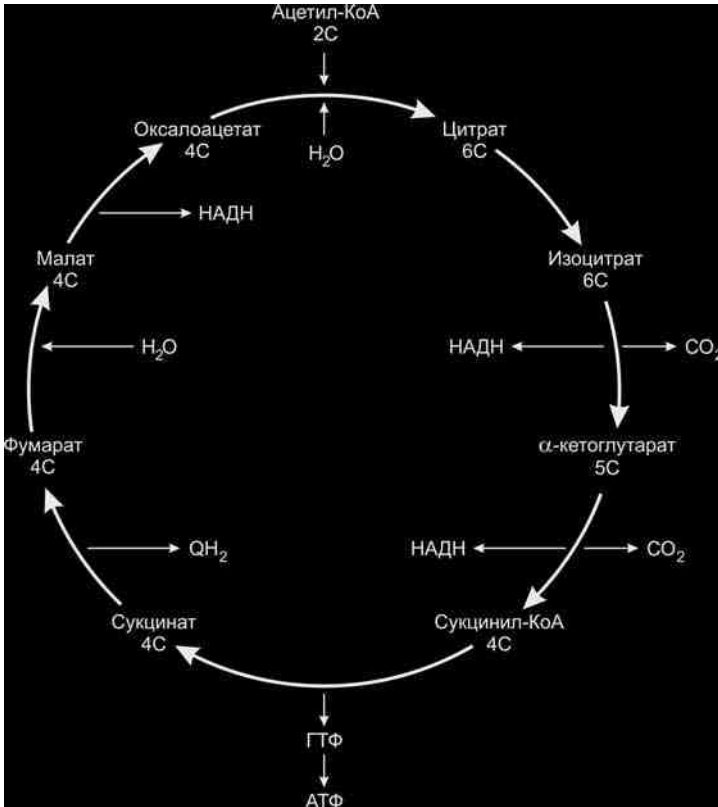
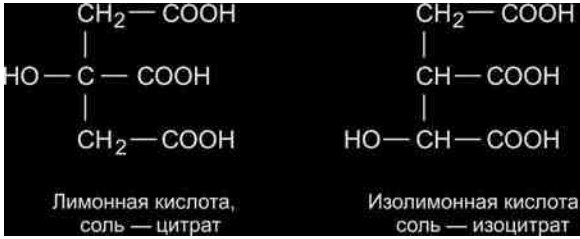
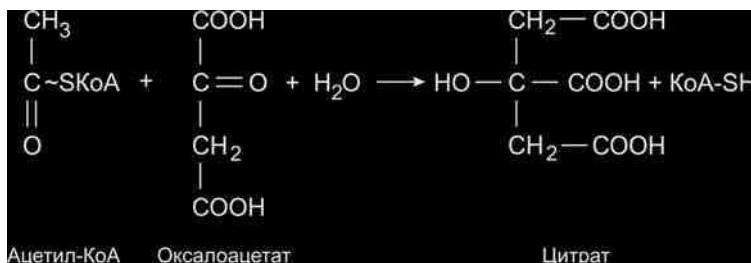
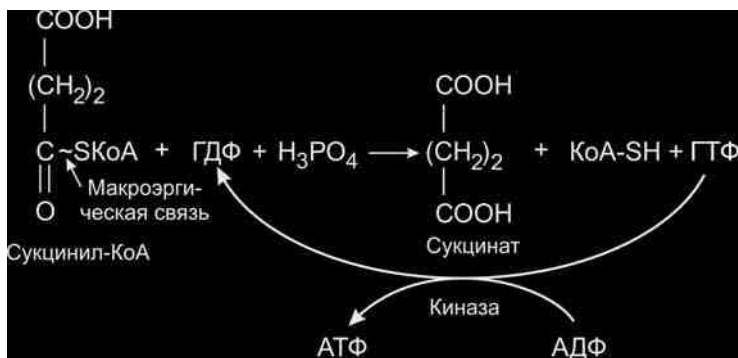


Рис. 11/1.3. Общая схема цитратного цикла (краткий вариант)

Первая реакция цикла — синтез цитрата, фермент — цитрат-синтаза:



Отдельно представляю вначале реакцию субстратного фосфорилирования ГДФ (фермент — сукцинаттиокиназа), а затем сопряженную с ней реакцию субстратного фосфорилирования АДФ и синтез АТФ (фермент — киназа):



Как и для окислительного декарбоксилирования пирувата существует обязательное сопряжение цитратного цикла с ЦПЭ (с дыхательной цепью).

1 Реакции цикла обеспечивают образование восстановленных вторичных доноров водорода — НАДН и QH_2 (см. суммарное уравнение цикла).

2. Кислород окисляет эти соединения в ЦПЭ:

а) $3 (\text{НАДН} + \text{H}^+) + 1 \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow 3 \text{НАД}^+ + 3 \text{H}_2\text{O} + \text{энергия для девяти молекул АТФ};$

б) $1 \text{QH}_2 + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{Q} + \text{H}_2\text{O} + \text{энергия для двух молекул АТФ}.$

После второй реакции окисленные НАД⁺ и Q вновь участвуют в левой части суммарного уравнения цикла. Все это и есть сопряжение двух процессов. Если кислород отсутствует или его мало в митохондриях (отравление, сердечно-сосудистая недостаточность, болезни легких) регенерация и НАД⁺, и Q, и сам цикл прекращаются или замедляются. Следовательно, цитратный цикл, как и декарбоксилирование пирувата, являются аэробными процессами.

РЕГУЛЯЦИЯ ОБЩЕГО ПУТИ КАТАБОЛИЗМА

Регуляция общего пути катаболизма осуществляется через изменение активности соответствующих ферментов двумя способами (табл. 11/1.1, рис. 11/1.4):

- как правило, это аллостерическая регуляция с помощью биохимических метаболитов, так называемая регуляция энергетическим зарядом с помощью АТФ, АДФ и АМФ является разновидностью аллостерической регуляции;
- инсулин регулирует пируватдекарбоксилазу E₁-ОН, а именно: инсулин активирует фосфатазу, которая катализирует дефосфорилирование пируватдекарбоксилазы и этим ее активирует:

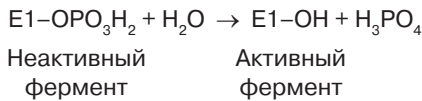


Таблица 11/1.1

Регуляторы ферментов общего пути катаболизма

Регулируемый фермент	Активаторы	Ингибиторы
Пируватдегидрогеназный комплекс (ПДК)	НАД ⁺ , АДФ, пируват, КоА-SH, инсулин	НАДН, АТФ, ацетил-КоА
Цитратсинтаза	Оксалоацетат	НАДН, АТФ, цитрат, сукцинил-КоА
Изоцитратдегидрогеназа	АДФ, Ca ²⁺	НАДН
α-кетоглутаратдегидрогеназный комплекс	АДФ, Ca ²⁺ , H ₃ PO ₄	НАДН, АТФ, сукцинил-КоА

Примечание. При рассмотрении этой таблицы и для ее понимания надо знать, что в клетке суммы следующих веществ являются величинами постоянными: АТФ + АДФ + АМФ = константа; НАДН + НАД⁺ = константа.

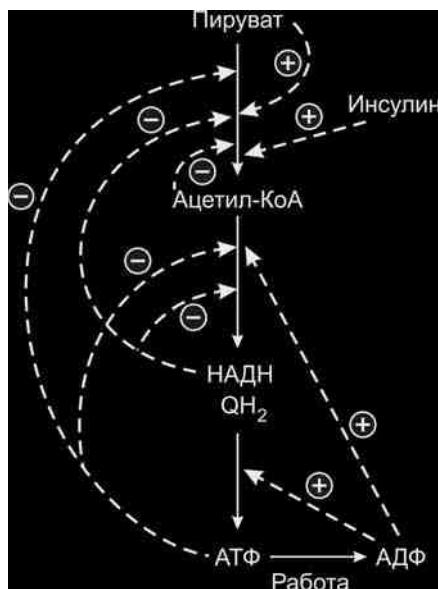


Рис. 11/1.4. Схема регуляции общего пути катаболизма и цепи переноса электронов. Обозначения: «+» — активация, «-» — ингибирование регуляторных ферментов

АНАБОЛИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ОБЩЕГО ПУТИ КАТАБОЛИЗМА

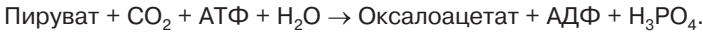
Рассматриваемый путь катаболизма может быть одновременно использован клетками для синтетических (анаболических) целей.

Во-первых, на базе многих компонентов ОПК образуются другие биохимические соединения:

- а) синтез аминокислот (пируват → аланин, оксалоацетат → аспарагиновая кислота и др.);
- б) ацетил-КоА → жирные кислоты, холестерол, кетоновые тела;
- в) сукцинил-КоА → гем и гемоглобин.

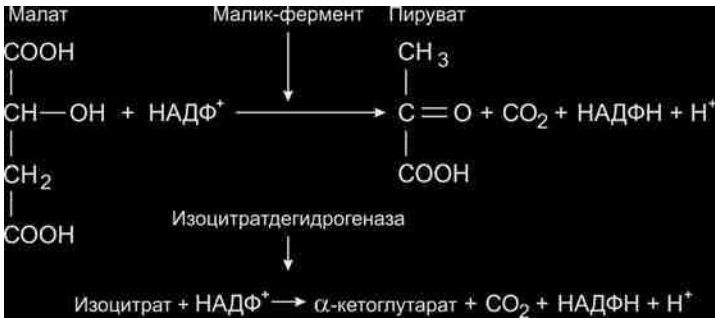
Во-вторых, в процессе функционирования цитратного цикла происходит расходование или разрушение «катализатора» — оксалоацетата (щавелевоуксусной кислоты). Поэтому для посто-

янной работы цитратного цикла должна постоянно проходить следующая реакция синтеза оксалоацетата:



Эту реакцию катализирует пируваткарбоксилаза с коферментом биотином и с кофактором ионом марганца.

В-третьих, два компонента цитратного цикла используются для синтеза НАДФН (восстановленного никотинамидениндинуклеотидфосфата.). Для этого малат (яблочная кислота) и изоцитрат (изолимонная кислота) перемещаются из матрикса митохондрий в цитозоль и окисляются там с образованием НАДФН:



Эти реакции обеспечивают синтез в клетке примерно 50% НАДФН, остальные 50% синтезируются в пентозофосфатном пути распада глюкозы. НАДФН, являясь донором водорода и источником энергии, необходим для многочисленных реакций восстановительных синтезов (образование жирных кислот, холестерина, тирозина, обезвреживание ксенобиотиков, регенерация SH-групп гемоглобина и т.д.). НАДФН хотя и обладает значительной химической энергией, но в отличие от НАДН не вступает, как правило, в ЦПЭ и не используется для синтеза АТФ.

НАРУШЕНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА (ДЕФИЦИТ АТФ)

1. Более распространенные ненаследственные нарушения связаны с:

- 1) недостатком кислорода в тканях (болезни легких, сердечно-сосудистой системы, окислители гемоглобина), что приводит к преобладанию анаэробных процессов и к лактат-ацидозу;
- 2) ядами и ингибиторами (в том числе лекарствами) для митохондрий и ЦПЭ;
- 3) дефектами питания человека (пища содержит мало углеводов, жиров, витаминов); например, недостаток витамина В₁ вызовет снижение активности ПДК, накопление пирувата и далее лактата; это ненаследственный лактат-ацидоз;
- 4) при сахарном диабете, во-первых, гликозилированный гемоглобин функционирует плохо, что приводит к гипоксии в тканях. Во-вторых, в клетках мышц и жировой ткани недостаточно глюкозы и соответственно недостаточно пирувата и оксалоацетата, что вызывает угнетение цитратного цикла и уменьшение образования АТФ.

II. Наследственные нарушения являются результатом мутаций генов ферментов энергетического обмена, которые находятся в ядре и в митохондриях. Два примера. Мутация гена пируваткарбоксилазы и снижение ее активности являются причиной лактат-ацидоза, нарушения цитратного цикла и синтеза АТФ. Мутации генов ферментов ПДК приведут также к замедлению цитратного цикла и к наследственному лактат-ацидозу (см. п. I.3).

При всех рассмотренных нарушениях возникает «гипоэнергетическое состояние» человека, т.е. недостаток АТФ.

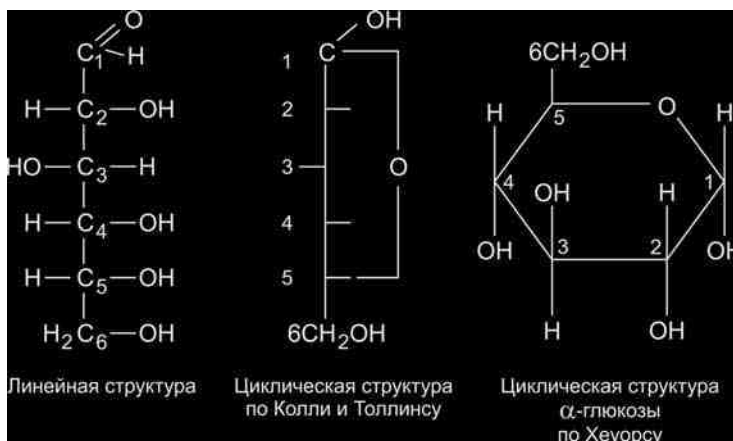
Лекция 12/1

УГЛЕВОДЫ. ПЕРЕВАРИВАНИЕ УГЛЕВОДОВ. МЕТАБОЛИЗМ ГЛИКОГЕНА

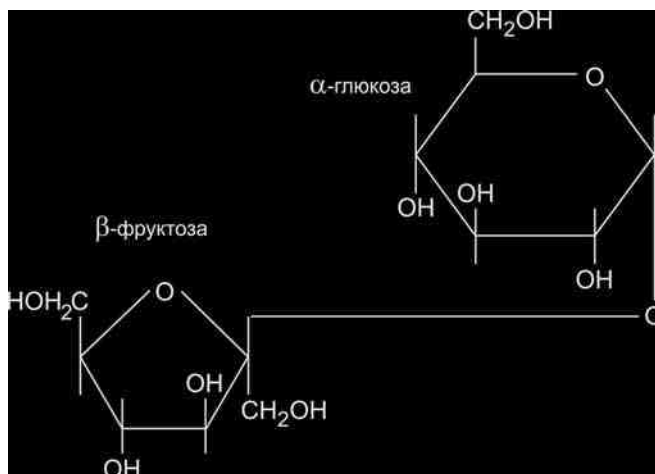
(Первая Нобелевская премия 1902 г.
и Нобелевская премия 1937 г.)

Броуде Л.М.

Главный углевод — D-глюкоза, относящаяся к альдогексам, содержащим альдегидную группу в линейной структуре молекулы или полуацетальный гидроксил в циклических структурах, которые придают молекуле редуцирующие свойства.



Сахароза (бытовое название сахар) является нередуцирующим дисахаридом — α-глюкопиранозил-/1→2/-β-фруктофуранозид.



КЛАССИФИКАЦИЯ УГЛЕВОДОВ

	<i>Моносахариды</i>	<i>Дисахариды</i>
Гексозы C ₆	Глюкоза (глк) Галактоза Фруктоза	Сахароза Лактоза Мальтоза Изомальтоза
Пентозы C ₅	Рибоза 2-дезоксирибоза	—
<i>Полисахариды</i>		
	Гомополисахариды из глюкозы: а) гликоген; б) крахмал и целлюлоза растительного происхождения	Гетерополисахариды из разных моносахаридов и дисахаридов

Роль углеводов:

- 1) энергетическая роль — для синтеза АТФ;
- 2) пластическая роль — для синтеза жирных кислот, жиров, холестерина, аминокислот, нуклеотидов;
- 3) структурная роль — для формирования мембран;
- 4) защитная роль гетерополисахаридов (муцин, слизь);
- 5) участие в процессах детоксикации (производное глюкозы — глюкуроновая кислота).

Источники углеводов для человека:

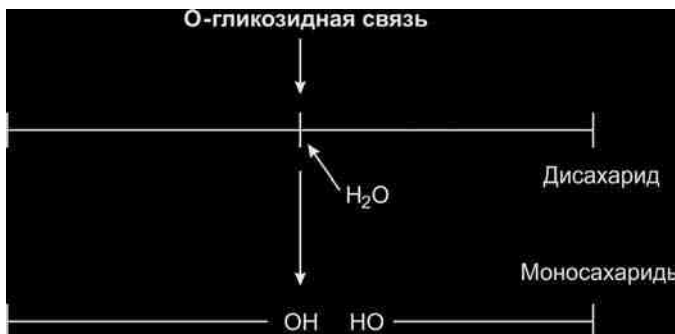
- 1) пища, которая должна содержать в суточном рационе 400–500 г углеводов (крахмал в растительных продуктах, гликоген в некоторых мясных продуктах, лактоза в молоке, сахароза, глюкоза в винограде и в вине, фруктоза в меде и фруктах, мальтоза в пиве);
- 2) второй источник — синтез в печени и в других органах, около 80 г глюкозы синтезируется в организме человека за одни сутки.

Глюкоза используется непосредственно для образования АТФ и НАДФН, гликогена как депонированной формы глюкозы, для синтеза пентоз и нуклеотидов.

ПЕРЕВАРИВАНИЕ УГЛЕВОДОВ

Переваривание пищевых углеводов происходит в ротовой полости (в небольшой степени) и в тонком кишечнике при участии ферментов — гликозидаз (класс гидролаз), которые катализируют разрыв О-гликозидных связей (табл. 12/1.1, схема 12/1.1).

Схема 12/1.1. Схема распада дисахаридов при участии дисахаридаз



Дисахаридазы функционируют на поверхности энтероцитов тонкого кишечника (пристеночное переваривание), иногда формируя комплексы, например комплекс сахаразы и изомальтазы.

Амилаза как эндогликозидаза катализирует распад внутренних О-гликозидных связей. Остальные ферменты являются экзогликозидазами, освобождающими свободные моносахариды.

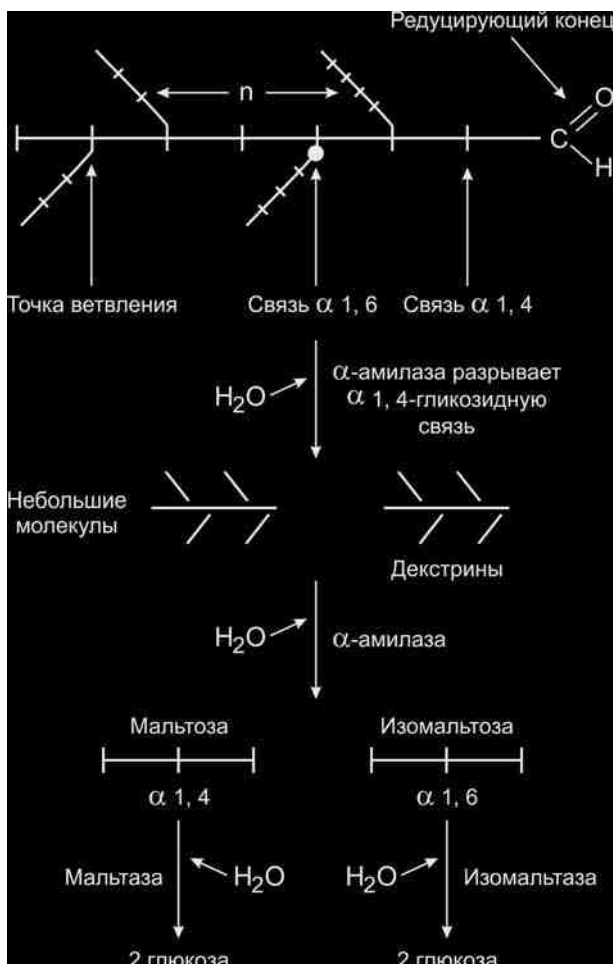
Таблица 12/1.1

Переваривание углеводов

Отдел желудочно-кишечного тракта	Локализация фермента	Ферменты	Катализируемая реакция			Гидролизуемая связь
			Субстрат + H ₂ O	Конечный продукт		
Ротовая полость	Слюна	α -амилаза	Крахмал	→	Мальтоза + изомальтоза	$\alpha 1 \rightarrow 4$
Двенадцатиперстная кишка	Панкреатический сок	α -амилаза	Крахмал	→	Мальтоза + изомальтоза	$\alpha 1 \rightarrow 4$
Тонкий кишечник	Щеточная кайма эпителия кишечника	Мальтаза	Мальтоза	→	2 глюкоза	$\alpha 1 \rightarrow 4$
		Изомальтаза	Изомальтоза	→	2 глюкоза	$\alpha 1 \rightarrow 6$
		Сахараза	Сахароза	→	Глюкоза + фруктоза	$\alpha 1 \rightarrow \beta 2$
		Лактаза	Лактоза	→	Галактоза + глюкоза	$\beta 1 \rightarrow 4$

Переваривание крахмала и гликогена происходит частично в ротовой полости, но главным образом — в тонком кишечнике. Схема 12/1.2 отражает, во-первых, структуру основного компонента крахмала — амилопектина (его доля 70–90%) и гликогена, которые различаются только по расстоянию между точками ветвления цепей: для крахмала это примерно 24 мономера (D-глюкозы), для гликогена — 10 остатков D-глюкозы.

Схема 12/1.2. Переваривание крахмала и гликогена



Второй компонент крахмала — амилоза (10–30%) является линейным полимером D-глюкозы (примерно 1000 мономеров). Во-вторых, в этой схеме представлены все этапы и все ферменты полостного (для α -амилазы) и пристеночного (для дисахаридаз) распада углеводов. Все углеводы при полном переваривании образуют моносахариды, которые всасываются в тонком кишечнике (в тощей кишке) (рис. 12/1.1).

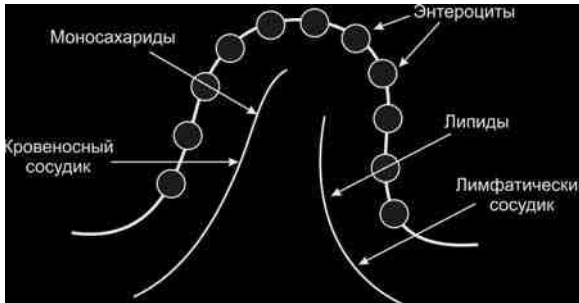


Рис. 12/1.1. Всасывание моносахаридов в ворсинках слизистой тонкого кишечника

При наличии у больного язв желудка сахараза может без распада поступать в кровь, и ее обнаружение в крови свидетельствует об этой язвенной патологии.

Механизм всасывания глюкозы, представленный на рис. 12/1.2, может быть двояким:

- а) при большой и умеренной концентрации глюкозы в полости кишечника — это облегченная диффузия по градиенту концентрации глюкозы с помощью белков-переносчиков ГЛЮТ-2 и -5;
- б) даже если содержание глюкозы в полости кишечника невелико, она не должна поступать в кал; в этом случае глюкоза всасывается по механизму вторично активного транспорта-симпорта с хлористым натрием по градиенту концентрации для последнего, но против градиента — для глюкозы.

После всасывания в кишечнике глюкоза поступает в портальную вену, далее — в печень, в которой может частично оставаться и превращаться в гликоген, и наконец, в общий кровоток для использования в разных органах.

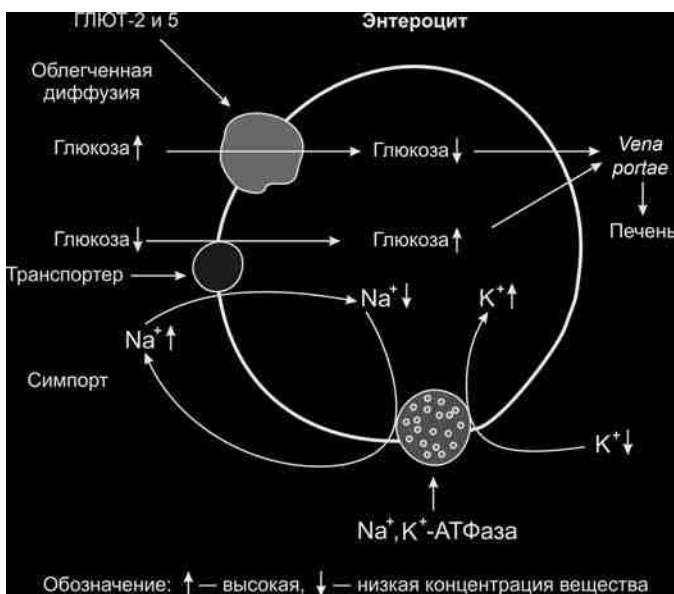


Рис. 12/1.2. Механизмы всасывания глюкозы в тонком кишечнике

НАРУШЕНИЯ ПЕРЕВАРИВАНИЯ УГЛЕВОДОВ

I. Непереносимость молока, а точнее его лактозы, вследствие отсутствия или недостаточной активности лактазы, которая в норме катализирует в кишечнике реакцию: лактоза + вода → глюкоза + галактоза.

При рассматриваемой патологии лактоза не распадается, накапливается в просвете кишечника и из-за своей гидрофильности вызывает диффузию воды и ее поступление в кишечник из тканей, что приводит к диарее. Кроме того, бактерии кишечника сбраживают лактозу с образованием газов, это второй симптом патологии — метеоризм с болевыми ощущениями.

Причины дефицита лактазы:

- мутация гена лактазы, в таком случае заболевание проявляется уже у новорожденных сразу после рождения (до прикорма);
- репрессия гена лактазы (на уровне транскрипции) приводит к патологии обычно у взрослых людей;

- различные воспалительные и инфекционные заболевания желудочно-кишечного тракта вызывают повреждения энтероцитов и уменьшение продукции ими лактазы.

Имеются данные о том, что около 25% россиян страдают от непереносимости молока вследствие «лактазной недостаточности» и поэтому лишены этого полноценного продукта. В конце прошлого века финские ученые предложили технологию мембранной фильтрации с целью получения практически безлактозного молока и соответствующих продуктов для детей и взрослых. Эти продукты уже широко используются во многих странах и частично в России для грудных детей.

II. Недостаточность сахарозно-изомальтазного комплекса ферментов приводит к тем же симптомам, но проявляется у новорожденных как наследственный (мутационный) дефект только после добавления им прикорма, содержащего сахарозу и крахмал. При инфекционно-воспалительных заболеваниях кишечника у взрослых указанные пищевые компоненты также могут вызвать диспепсию и метеоризм, так как сахараза и изомальтаза (наряду с другими дисахаридазами) вырабатываются и секретируются энтероцитами.

МЕТАБОЛИЗМ ГЛИКОГЕНА

(Северин-ст. С.Е.)

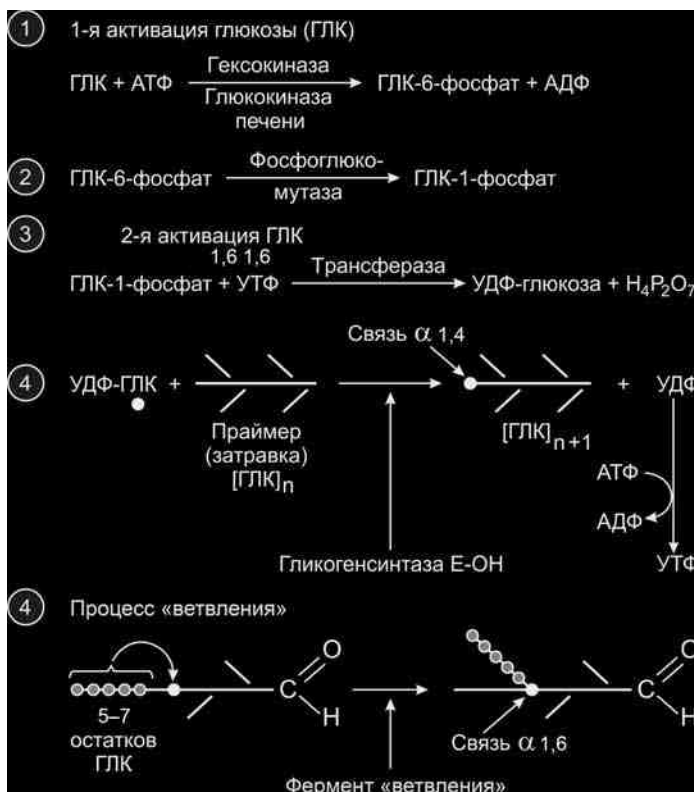
Синтез и распад гликогена происходят в цитозоле разных органов, но особенно интенсивно в печени (содержит 2–6% гликогена) и в мышцах (0,5–2%). Гликоген, разветвленный полимер D-глюкозы с большой молекулярной массой (10^6 – 10^8 Да), является депонированной, резервной формой глюкозы и содержится в цитозоле в виде гранул. Он обладает меньшей гидрофильностью, чем такое же количество свободной глюкозы, и поэтому, сохраняясь в клетке в виде компактных гранул, не вызывает ее осмотического шока.

На схеме 12/1.3 представлены все реакции и ферменты синтеза гликогена (Нобелевская премия 1970 г.).

Приведенные реакции повторяются многократно, обеспечивая последовательное присоединение к исходной маленькой молекуле гликогена (к затравке-праймеру) по одной молекуле

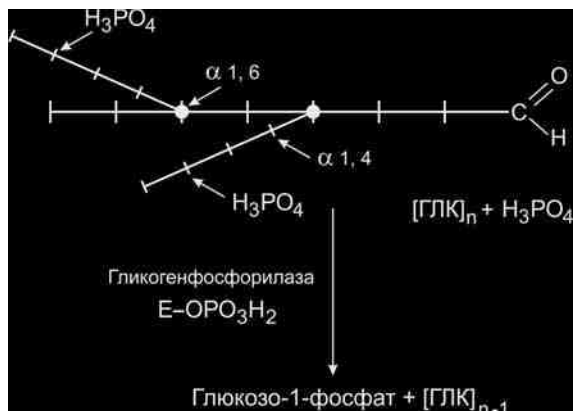
энергетически активированной глюкозы с помощью α 1,4-О-гликозидной связи к нередуцирующим концам гликогеновых цепей. Единственный редуцирующий конец гликогена (см. схему 12/1.2) остается свободным. Эта активированная глюкоза является молекулой УДФ-глюкозы, для образования которой и, следовательно, для включения в затравку одной молекулы глюкозы требуется расход двух молекул АТФ (реакции 1 и 4). Основную реакцию включения глюкозы (реакцию 4) катализирует регуляторный фермент – гликогенсинтаза. Ветвление гликогена происходит путем присоединения к основным цепям фрагментов из 5–7 остатков глюкозы с образованием α 1,6-О-гликозидной связи при участии фермента ветвления (реакция 5).

Схема 12/1.3. Синтез гликогена



Компактная молекула гликогена в клетке (в гранулах), являясь депонированной формой химической энергии, распадается и освобождает глюкозу при голодании, физической работе и некоторых заболеваниях. Такой процесс распада называют мобилизацией гликогена (Нобелевская премия 1922 г.), которую можно разделить на три этапа.

Схема 12/1.4. Первый этап распада гликогена



I. Представленную первую реакцию катализирует гликогенфосфорилаза, которая вызывает разрыв α 1,4-гликозидной связи. Она является регуляторным ферментом всего процесса: активна в фосфорилированном виде и неактивна как дефосфорилированная форма E-OH. Мышечная гликогенфосфорилаза содержит кофермент — пиридоксальфосфат (витамин B₆).

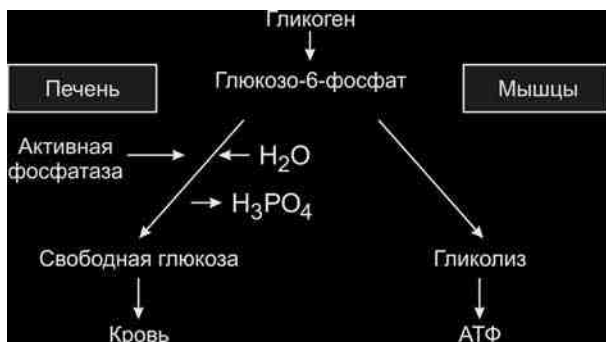
II. На следующем этапе образуется глюкозо-6-фосфат:



Так из гликогена освобождается примерно 90% мономеров в виде глюкозо-6-фосфата. Его дальнейшая судьба различна: в мышцах он не превращается в свободную глюкозу, так как ген его фосфатазы (фосфатазы глюкозо-6 фосфата) репрессирован, и глюкозо-6-фосфат прямо вступает в гликолиз, обеспечивая мышцу энергией в виде молекул АТФ. В печени активная фосфатаза удаляет фосфат, образуя свободную незаряженную глюко-

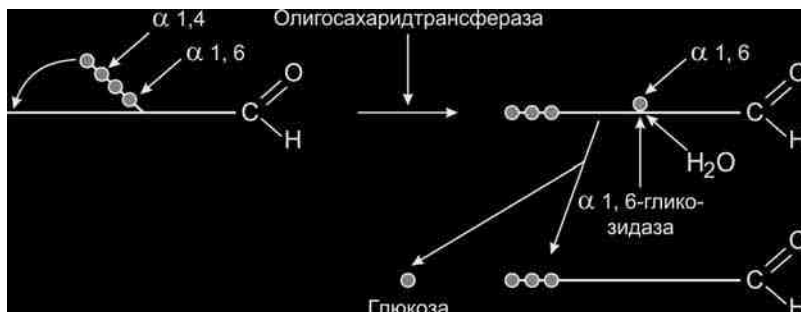
зу, которая легко проходит через мембрану гепатоцитов в кровь и далее поступает в разные органы и клетки (мозг, эритроциты и др.). Следовательно, в мышцах гликоген является собственным энергетическим депо, а гликоген печени предназначен главным образом для энергетического обеспечения других органов (схема 12/1.5). Принято считать, что депонированных запасов гликогена в печени хватает примерно на 18–24 ч полного голодания человека.

Схема 12/1.5. Различие в процессах распада гликогена в печени и в мышцах



III. Третий этап. Глюкоза, прикрепленная к основным цепям в точках ветвления с помощью α 1,6-гликозидных связей, освобождается в нефосфорилированном виде при участии двойного ферментативного комплекса — «деветвящего» фермента, главным в котором является гликозидаза (схема 12/1.6).

Схема 12/1.6. Схема работы «деветвящего» фермента



О РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА ГЛИКОГЕНА

Регуляция осуществляется путем изменения активности регуляторных ферментов — гликогенфосфорилазы (для распада гликогена, схема 12/1.4) и гликогенсинтазы (для синтеза гликогена, схема 12/1.3).

А. Гликогенфосфорилаза активируется фосфорилированием при участии адреналина (мышцы, печень) и глюкагона (печень) и инактивируется дефосфорилированием при участии инсулина (мышцы, печень). При этом адреналин в скелетных мышцах взаимодействует со своими β_1 -адренорецепторами в цитоплазматической мембране миоцитов, а в гепатоцитах — с β_2 -рецепторами, и в обоих случаях фосфорилирование гликогенфосфорилазы происходит через аденилатциклазную систему трансмиссии гормонального сигнала. Такой же конечный эффект адреналина на гликогенфосфорилазу достигается при его взаимодействии с α_1 -адренорецепторами гепатоцитов и при передаче сигнала внутрь гепатоцитов через инозитолфосфатную систему. Вероятно, последняя является дополнительной или дублирующей системой для гепатоцитов. Мышечная гликогенфосфорилаза может регулироваться также аллостерическим способом. Соответствующие активаторы: АМФ, АДФ, H_3PO_4 , сам гликоген и ингибиторы: АТФ, глюкозо-6-фосфат. В общем виде система регуляции этого фермента-димера с коферментом пиридоксальфосфатом представлена на рис. 12/1.3.

Кроме того, распад гликогена в печени и мышцах ускоряется комплексом $4Ca^{2+}$ -кальмодулин, который увеличивает активность Са-кальмодулинзависимой протеинкиназы. Далее при участии последней происходит фосфорилирование и активация киназы фосфорилазы гликогена, которая в свою очередь фосфорилирует и активирует конечный метаболический регуляторный фермент — гликогенфосфорилазу.

Б. Гликогенсинтаза активируется дефосфорилированием (инсулин) и инактивируется фосфорилированием (адреналин, глюкагон).

Распад и синтез гликогена зависят от физиологического или патологического состояния человека.

1. Быстрая физическая работа, голод, стресс. Адреналин при работе и стрессе (мышцы, печень) и глюкагон при голоде

- (печень) активируют гликогенфосфорилазу, и она катализирует регуляторную реакцию и освобождение глюкозы для образования АТФ. Синтез гликогена остановлен.
2. Прием пищи. Пищевая глюкоза крови стимулирует секрецию инсулина, который активирует гликогенсинтазу (методом ее дефосфорилирования) и синтез гликогена из пищевой глюкозы. Мобилизация гликогена не происходит.
 3. При длительной неинтенсивной физической работе в результате распада большого количества АТФ продукты этого распада — АМФ и отчасти АДФ и фосфорная кислота аллостерически активируют гликогенфосфорилазу без ее фосфорилирования (см. рис. 12/1.3), обеспечивая тем самым постепенное освобождение глюкозы из гликогена.

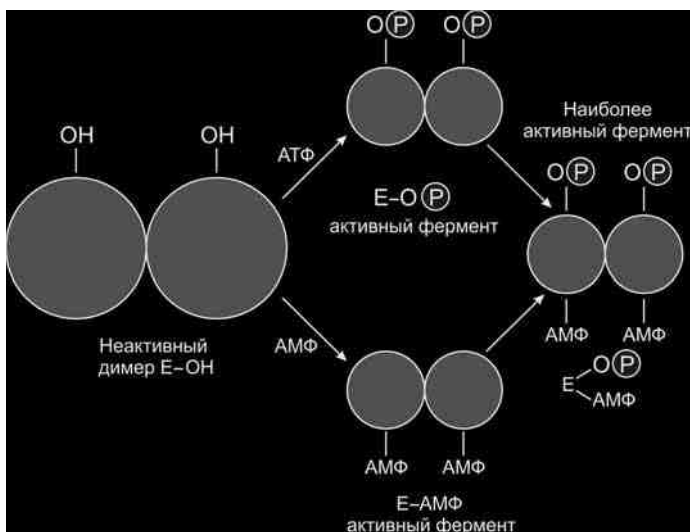


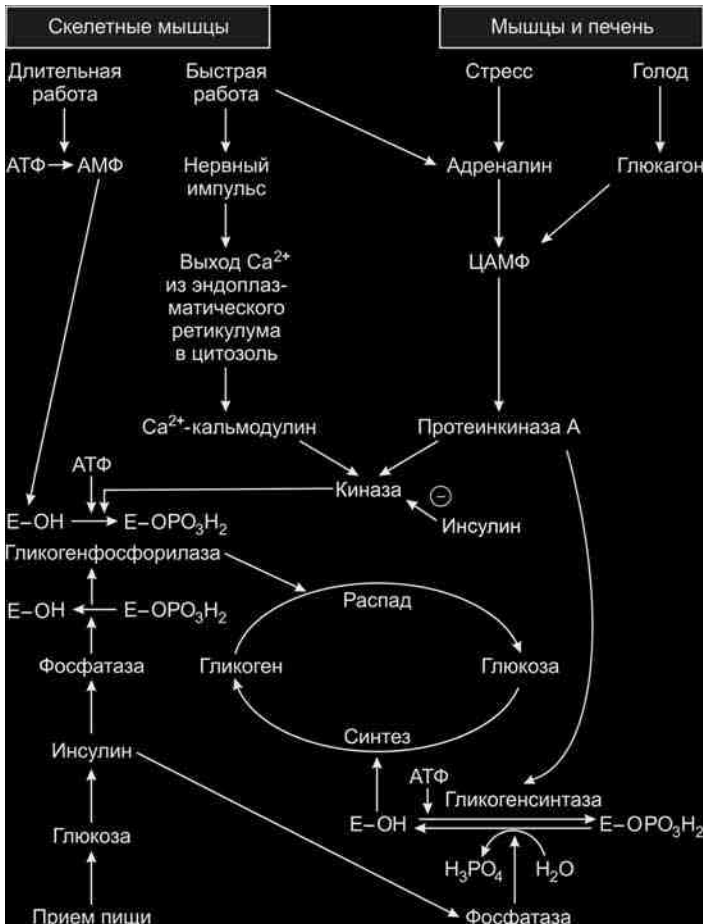
Рис. 12/1.3. Регуляция активности мышечной гликогенфосфорилазы

В качестве итога — о трех путях активации гликогенфосфорилазы. Во-первых, с помощью гормонов (адреналина и глюкагона). Во-вторых, поступающий в скелетные мышцы нервный импульс освобождает из саркоплазматического ретикулума ионы кальция, которые включают Са-кальмодулин-протеинкиназный путь (см. выше). Оба представленные пути приводят к фосфо-

рилированию и к активации гликогенфосфорилазы. В-третьих, в скелетных мышцах АМФ аллостерически активирует этот фермент без его фосфорилирования.

Все рассмотренные выше пути и способы регуляции обмена гликогена и изменения активности регуляторных ферментов (гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы) при участии гормонов (инсулин, адреналин, глюкагон) и без их участия в обобщенном виде представлены в схеме 12/1.7.

Схема 12/1.7. Регуляция обмена гликогена



НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ГЛИКОГЕНА («ГЛИКОГЕНОВЫЕ БОЛЕЗНИ»)

I. Агликогенозы. Мутации генов любого фермента синтеза гликогена (см. схему 12/1.3) и дефицит активности такого фермента приводят к уменьшению количества гликогена в органах. Клинические симптомы (проявляются обычно до приема пищи): тошнота, рвота, судороги и др.

II. Гликогенозы вызваны мутационным дефектом одного из ферментов распада гликогена и накоплением гликогена в органах. Симптомы:

- для печеночной формы — увеличенная печень и те же симптомы, как при агликогенозах;
- для мышечной формы — мышечная слабость, боли и судороги в мышцах при физической нагрузке.

Существует много вариантов этих заболеваний в зависимости от вида дефектного фермента. В частности, при болезни Гирке (гликогеноз) с дефицитом фосфатазы глюкозо-6-фосфата создается в печени избыток гликогена, глюкозо-6-фосфата, рибозо-5-фосфата, мочевой кислоты и развивается вторичная подагра (2-й семестр обучения). Общим для всех «гликогеновых болезней» является пониженное содержание глюкозы в крови (гипогликемия или гипогликемия) утром до завтрака, что и обуславливает часть из указанных симптомов заболеваний. После завтрака и нормализации уровня глюкозы крови выраженность отдельных симптомов может уменьшаться.

Лекция 13/1

ГЛИКОЛИТИЧЕСКИЙ ПУТЬ РАСПАДА ГЛЮКОЗЫ

(Нобелевская премия 1929 г.)

После процессов переваривания и всасывания углеводов глюкоза поступает в кровь и далее практически во все органы. Глюкоза является гидрофильной молекулой, она быстро расходуется в клетках и ее концентрация в клетках меньше, чем в крови. Поэтому глюкоза пересекает мембраны клеток, как правило, посредством метода облегченной диффузии с использованием белков-переносчиков ГЛЮТ 1–5, которые создают гидрофильный канал в цитоплазматических мембранах (рис. 13/1.1).



Рис. 13/1.1. Транспорт глюкозы из крови в клетки способом облегченной диффузии

Необходимо выделить особую роль инсулина, который стимулирует проникновение глюкозы в клетки инсулинзависимых органов и тканей (мышцы, жировая ткань и печень) также спо-

сособом облегченной диффузии. Представляю два разных процесса соответствующей «работы» инсулина (рис. 13/1.2 и 13/1.3): пища → переваривание и всасывание → глюкоза крови (пищевая или синтезируемая в организме) является химическим сигналом для секреции инсулина в кровь из β -клеток панкреатической железы → инсулин.

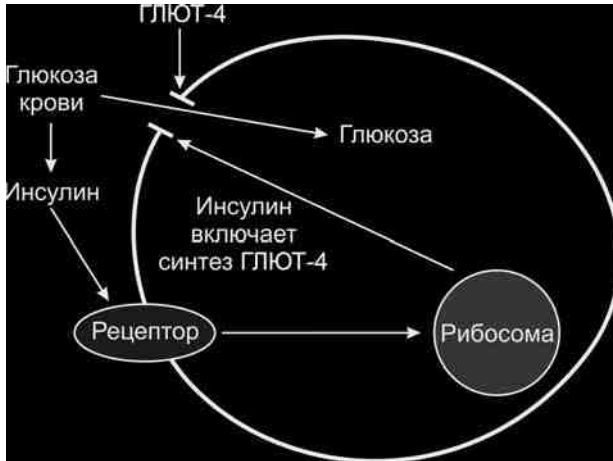


Рис. 13/1.2. Транспорт глюкозы в клетки мышц и жировой ткани при участии инсулина



Рис. 13/1.3. Транспорт глюкозы в гепатоциты при участии инсулина

Однако инсулин ускоряет поступление пищевой глюкозы из крови воротной вены в гепатоциты, только если ее концентрация в крови является достаточно большой (более 10 ммоль/л). При низком содержании глюкозы в крови и соответственно низкой концентрации инсулина пищевая глюкоза транспортируется далее в большой круг кровообращения, минуя печень, и поступает в другие органы и клетки, для которых она крайне необходима (мозг, эритроциты и др.). В этом случае инсулин не индуцирует в гепатоцитах на уровне транскрипции синтез первого фермента гликолиза — глюкокиназы и не ингибирует синтез собственной глюкозы в клетках печени. Поэтому при нормальном уровне глюкозы в крови она не усваивается гепатоцитами, но они активно синтезируют собственную глюкозу (см. следующую лекцию). Указанное положение важно для понимания биохимии сахарного диабета, при котором инсулин не синтезируется или функционирует слабо.

Внутри клеток глюкоза расходуется в процессах катаболизма и в других реакциях, в том числе синтетических. Существует два процесса распада глюкозы:

- 1) гликолитический или дихотомический (глюкоза — гексоза из шести атомов углерода $6C$ превращается в две триозы $3C$) с целью последующего синтеза АТФ;
- 2) апотомический или пентозофосфатный путь с отщеплением по одному атому углерода с образованием CO_2 , пентоз и НАДФН.

Два вида гликолиза:

- 1) гликолиз анаэробный в условиях недостатка кислорода (скелетные мышцы в начальный период их работы, быстро пролиферирующие раковые клетки) или при отсутствии в клетке митохондрий (эритроциты);
- 2) гликолиз аэробный при условии достаточного количества кислорода в большинстве органов; это главный процесс обеспечения организма молекулами АТФ за счет глюкозы.

Оба гликолиза состоят из 10 общих реакций и некоторых различающихся реакций. Я представляю последовательные реакции (метаболическую цепь) аэробного (начало — глюкоза, конец — пируват) и анаэробного (начало — глюкоза, конец — лактат) гликолизом. Студенты должны знать эти реакции и их ферменты (схема 13/1.1).

Схема 13/1.1. Реакции гликолитического распада глюкозы

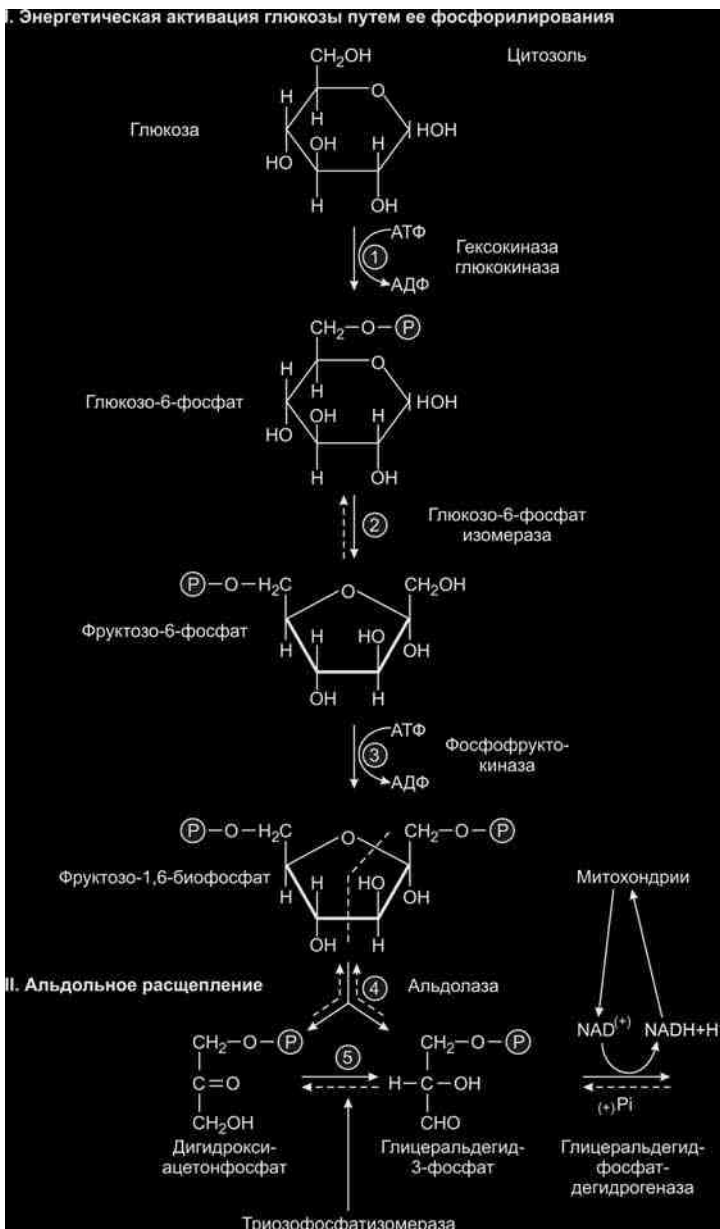
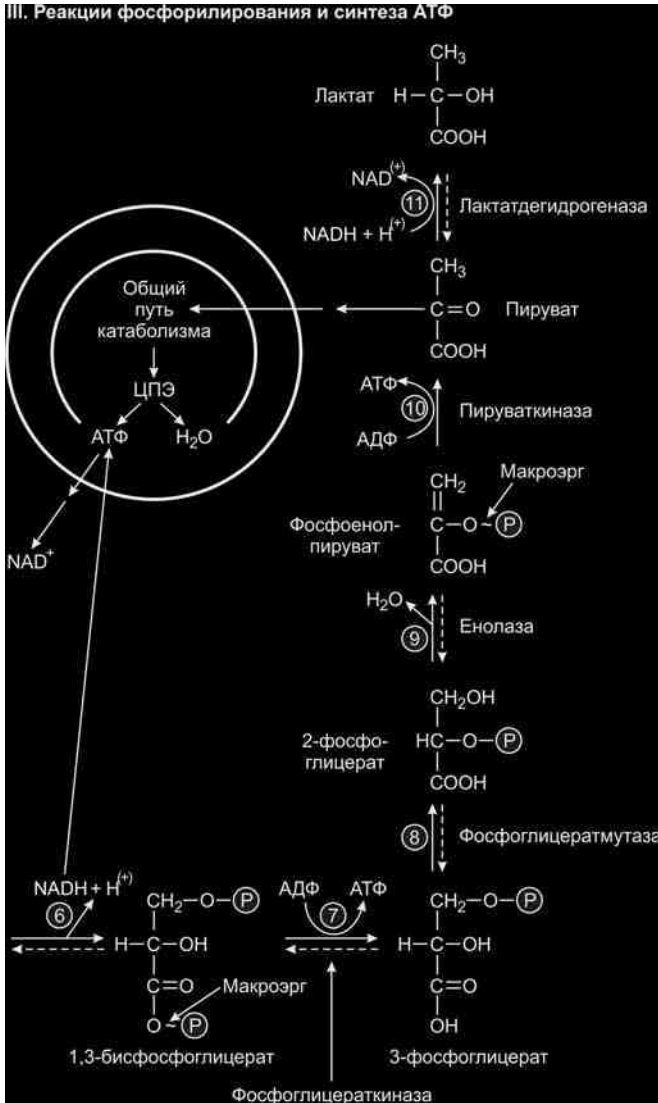


Схема 13/1.1 (окончание). Реакции гликолитического распада глюкозы



В этой схеме гликолиза надо выделить три этапа: энергетическая активация глюкозы путем ее двойного фосфорилирования (реакции № 1 и 3); альдольное расщепление гексозы (фрук-

тозо-1,6-бисфосфата) и изомеризация триоз (реакции № 4 и 5); окисление, фосфорилирование и синтез АТФ (реакции 6–10).

Первую реакцию катализируют два изофермента — глюкокиназа (в печени и в β -клетках панкреатической железы) и гексокиназа (в остальных клетках):



Сравнение свойств этих ферментов представлено в таблице 13/1.1.

Таблица 13/1.1

Свойства изоферментов гексокиназы

Свойство	Глюкокиназа (изофермент IV)	Гексокиназа (изофермент I)
Локализация	Гепатоциты, β -клетки поджелудочной железы	Практически все органы
Специфичность	Абсолютная	Относительная (к разным гексозам)
Сродство к субстрату	Низкое, $K_m = 10$ ммоль/л	Высокое, $K_m = 0,1$ ммоль/л
Эффекторы	Инсулин — индуктор	Глюкозо-6-фосфат — ингибитор
Активность при отсутствии эффектора	Низкая	Высокая

Содержание глюкозо-6-фосфата постоянно велико в гепатоцитах, и поэтому глюкозо-6-фосфат постоянно аллостерически ингибирует гексокиназу печени. Напротив, в других органах глюкозо-6-фосфат быстро расходуется и гексокиназа активно иницирует гликолиз. Гексокиназа — димер, состоящий из двух цепей, каждая из которых имеет домен для связывания ингибитора.

Центральная роль глюкозо-6-фосфата в обмене глюкозы:

- 1) это первый продукт гликолитических реакций для синтеза АТФ;
- 2) при избытке превращается в гликоген;
- 3) в печени превращается в глюкозу (из гликогена), которая поступает в кровь для обеспечения других органов;
- 4) вступает в пентозофосфатный путь;
- 5) аллостерический ингибитор гексокиназы.

Изучая реакции гликолиза (схема), студенты должны понимать и запомнить:

- 1) химический смысл трех этапов гликолиза;
- 2) необратимые реакции — № 1, 3, 10;
- 3) реакции с расходом АТФ — № 1 и 3;
- 4) реакции с образованием АТФ методом субстратного фосфорилирования АДФ — № 7 и 10;
- 5) предшествующие реакции № 6 и 9 с образованием макроэргических фосфоэфирных связей у предшественников АТФ;
- 6) единственную окислительно-восстановительную реакцию № 6, общую для обоих гликолизом;
- 7) самую медленную реакцию — № 3.

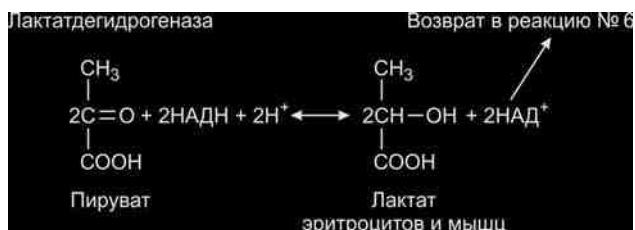
Различие между аэробным и анаэробным гликолизом

1. Конец процессов — пируват для первого (реакция № 10) и лактат для второго (реакция № 11) гликолизом.

2. Анаэробный гликолиз — самостоятельный процесс, характерный для указанных выше клеток. А аэробный гликолиз — это только часть более длинного аэробного полного катаболизма глюкозы до CO_2 , АТФ и воды, который состоит из трех фаз: специфический аэробный гликолиз, общий путь катаболизма и цепь переноса электронов (табл. 13/1.2).

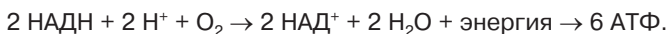
3. Различие по методу регенерации НАД⁺, который является коферментом для глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, катализирующей реакцию № 6:

- а) регенерация в анаэробном гликолизе (реакция № 11, лактатдегидрогеназа):



- б) регенерация в аэробном гликолизе: 2 НАДН (продукт реакции № 6) перемещаются из цитозоля (где образуется этот восстановленный кофермент) в митохондрии

с помощью малат-аспартатного или глицерофосфатного «челноков» (два варианта способа «челнок» в лекции не рассматриваем) и во внутренней мембране митохондрий происходит регенерация 2 НАД^+ с помощью кислорода:



При этом освобождающаяся энергия окисления 2 НАДН используется для синтеза $2 \times 3 = 6 \text{ АТФ}$ методом окислительного фосфорилирования АДФ.

4. Различие по органам и тканям для двух гликолизом (см. выше).

5. Различие по локализации в клетке — анаэробный гликолиз происходит только в цитозоле, аэробный гликолиз — в цитозоле и митохондриях (окисление НАДН).

Таблица 13/1.2

Энергетическая характеристика гликолизом

Процесс	Начало — конец			Количество молекул АТФ		
				синтез	расход	выход
Анаэробный гликолиз	ГЛК	→	АТФ 2 ПВК → 2 МК	4	2	2
Аэробный катаболизм ГЛК (полный)	ГЛК	→	CO_2 H_2O АТФ	40	2	38
1. Аэробный гликолиз	ГЛК	→	АТФ 2 ПВК	10	2	8
2. ОПК	2ПВК	→	3 CO_2 4 НАДН 1 QH_2 1 АТФ	} $2 \times 15 = 30$	—	30
3. ЦПЭ	НАДН QH_2	→	H_2O АТФ			

Примечание.

1. Сокращения: ГЛК — глюкоза; ПВК — пировиноградная кислота; МК — молочная кислота.

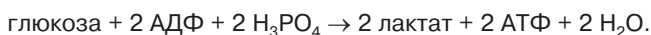
2. Расчет количества АТФ сделан для аэробного гликолиза с малат-аспартатной челночной системой.

6. И наконец, самое главное — различие по энергетическому значению, т.е. по выходу АТФ, которое детально отражено

в табл. 13/1.2. Надо понимать, во-первых, что в аэробном гликолизе образуется на 6 АТФ больше за счет окисления в митохондриях 2 НАДН. Во-вторых, при полном аэробном катаболизме глюкозы (с участием малат-аспартатной «челночной» системы) из 40 синтезируемых молекул АТФ 34 образуются методом окислительного и только 6 молекул методом субстратного фосфорилирования АДФ. Итого, с учетом расхода двух молекул АТФ в реакциях № 1 и 3 (схема) «чистый» выход АТФ при полном распаде одной молекулы глюкозы составляет с указанным «челноком» 38 АТФ (см. табл. 13/1.2).

Суммарные уравнения

1. Анаэробного гликолиза:



2. Полного аэробного катаболизма глюкозы, включая аэробный гликолиз:



Значение гликолитического распада глюкозы:

- 1) энергетическая роль особенно характерна для аэробного процесса. Глюкоза — главный источник энергии для нервной системы, почек, тестикул и др., а также единственный источник энергии для эритроцитов;
- 2) пластическая роль — из промежуточных продуктов катаболизма глюкозы образуются многие вещества (аминокислоты, жирные кислоты, жиры, холестерол и др.).

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ГЛЮКОЗЫ В РАЗНЫХ ОРГАНАХ

Мозг, составляя по массе тела человека всего 2%, потребляет 20% кислорода и 25% глюкозы главным образом при ее полном аэробном распаде, а также отчасти в пентозофосфатном пути.

Эритроциты используют 90% глюкозы в анаэробном гликолизе и 10% — в пентозофосфатном пути.

Скелетные мышцы. В начальный период работы при недостатке кислорода — анаэробный гликолиз, далее (после появления адреналина, тахикардии, ускорения кровотока, увеличенной

доставки кислорода в ткани) происходит полный аэробный распад глюкозы.

В *печени* всегда достаточно кислорода. Поэтому в гепатоцитах может происходить полное окисление глюкозы до CO_2 , а анаэробный гликолиз не характерен. Однако в печени глюкоза катаболизируется в основном для образования промежуточных продуктов (из которых синтезируются аминокислоты, жирные кислоты, холестерол и др.), а не для синтеза АТФ. Последняя образуется в гепатоцитах в наибольшей мере за счет аэробного полного окисления жирных кислот (2-й семестр).

В медицинской практике в ряде случаев имеет значение оценка уровня лактата (молочной кислоты). Нормальный диапазон содержания лактата в плазме крови составляет 1,2–2,1 ммоль/л или 10,8–18,9 мг/дл. Превышение этого уровня является маркером гипоксии больного, например, в случае лактатацидотической комы при сахарном диабете или у больных, находящихся в других критических состояниях и помещенных в отделение реанимации. Резкое повышение концентрации лактата в крови (лактат-ацидоз) до уровня 5–9 ммоль/л — плохой прогностический признак.

Физиологические нормы глюкозы в сыворотке крови:

- 60–100 мг/дл или 3,3–5,5 ммоль/л;
- или, по данным крупного специалиста по клинической лабораторной диагностике В. Долгова, — 70–115 мг/дл и 3,9–6,4 ммоль/л.

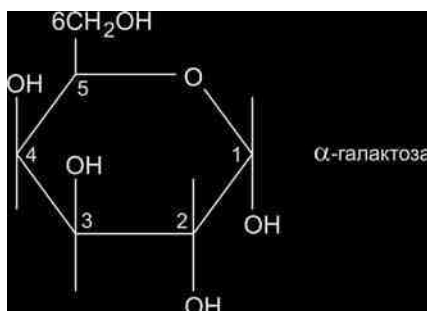
НАСЛЕДСТВЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА МОНОСАХАРИДОВ

Случаи подобных нарушений обмена глюкозы нам не известны, вероятно, такие нарушения приводят к гибели организма еще на эмбриональной стадии развития.

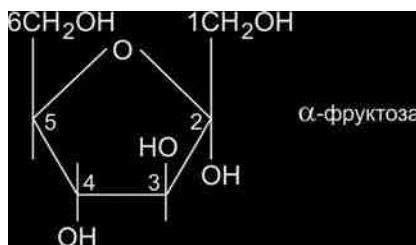
Галактоземия у новорожденных. Галактоза поступает в организм ребенка после переваривания лактозы материнского молока.

В норме галактоза превращается в клетках в галактозо-1-фосфат (фермент — галактокиназа), далее в глюкозо-1-фосфат (галактозо-1-фосфатуридилтрансфераза и эпимераза), глю-

козо-6-фосфат (фосфоглюкомутаза) и затем следует обычный гликолиз с выходом АТФ. При генетическом дефиците галактокиназы повышено содержание галактозы в крови и моче, позже развивается катаракта. При мутациях и дефиците галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы в крови и моче много галактозы, в крови — галактозо-1-фосфата, при отсутствии лечебной диеты развиваются катаракта, цирроз печени, поражение почек и мозга. Поэтому по законодательству у новорожденных должна проводиться диагностика галактоземии.



Фруктоземия может проявиться у новорожденных (если они имеют мутантные гены одного из двух ферментов) только после перехода на прикорм, содержащий сахарозу и фруктовые соки. При отсутствии мутаций фруктоза превращается во фруктозо-1-фосфат (фруктокиназа), а затем — в две триозы (альдолаза фруктозо-1-фосфата). Триозы далее окисляются в обычном гликолизе.



У детей с дефектом фруктокиназы клинические симптомы отсутствуют, в крови и моче — повышенный уровень фруктозы. При наследственном дефиците второго фермента (альдолазы) —

в крови избыток фруктозы и фруктозо-1-фосфата, но компенсаторно понижен уровень глюкозы крови вследствие плохого усвоения клетками фруктозы, увеличенного расхода глюкозы и угнетения распада гликогена. В дальнейшем возможно поражение печени (ее увеличение) и почек.

Фруктоземия является очень редким заболеванием, и по состоянию на 2011 г. оно зарегистрировано в РФ всего в 10 семьях (данные Медико-генетического научного центра).

Если мы затронули вопрос о метаболизме фруктозы, то надо добавить, что, во-первых, ее содержание внутри клеток обычно небольшое, и поэтому она поступает из просвета кишечника и из крови в клетки способом облегченной диффузии с белком-переносчиком ГЛЮТ-5. Во-вторых, первый фермент усвоения фруктозы в клетках — фруктокиназа имеется в энтероцитах кишечника, в почках и в печени. Она обладает абсолютной специфичностью к своему субстрату (фруктозе) как и глюкокиназа (к глюкозе), однако в отличие от последней инсулин не влияет на активность фруктокиназы, но увеличивает активность глюкокиназы гепатоцитов на уровне транскрипции. Еще одно различие этих ферментов печени заключается в том, что сродство глюкокиназы к глюкозе низкое (см. табл. 13/1.1), а сродство фруктокиназы к фруктозе высокое (величина K_m небольшая). Поэтому пищевая фруктоза быстро метаболизируется и ее содержание в крови достаточно быстро уменьшается как у здоровых людей, так и у больных сахарным диабетом. На этих биохимических различиях в метаболизме глюкозы и фруктозы основано назначение фруктозы указанным больным в качестве более легкоусвояемого и энергетически полезного углевода.

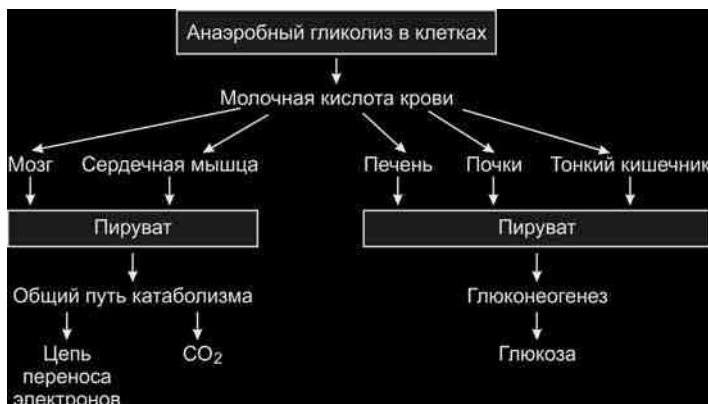
Лекция 14/1

ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ. РЕГУЛЯЦИЯ ГЛИКОЛИЗА И ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗА

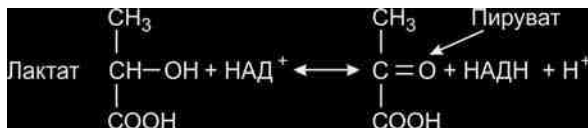
Человек синтезирует эндогенную глюкозу в количестве 80–100 г/сут. Синтез происходит в разных органах, особенно интенсивно в печени, в коре почек и в клетках кишечника. Источниками для этого синтеза являются молочная кислота (лактат), некоторые гликогенные аминокислоты и глицерол. Часть реакций глюконеогенеза идентична реакциям гликолиза, но они идут в обратном направлении (вспомните реакции гликолиза в предыдущей лекции и их нумерацию).

Молочная кислота постоянно находится в крови человека, куда она поступает из эритроцитов, из быстро и интенсивно работающих мышц и из опухолевых клеток, т.е. как конечный продукт анаэробного гликолиза. Пути метаболизма молочной кислоты представлены на схеме 14/1.1.

Схема 14/1.1. Метаболизм молочной кислоты



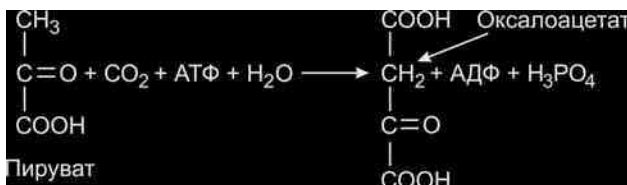
Первая реакция синтеза глюкозы на основе лактата — это его превращение в пируват: реакция № 11 в цитозоле:



Фермент — лактатдегидрогеназа (ЛДГ), которая существует в организме человека в виде пяти изоферментов (лекции 4/1 и 8/1), в частности, в печени — изофермент ЛДГ₅ (М₄), в миокарде — изофермент ЛДГ₁ (Н₄).

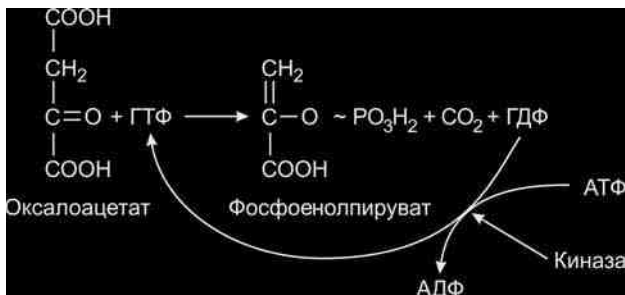
Большая часть последующих реакций глюконеогенеза является обратимыми реакциями гликолиза, кроме трех его необратимых реакций № 1, 3, 10 (лекция 13/1). Вместо указанных необратимых реакций гликолиза в глюконеогенезе происходят другие четыре необратимые реакции (№ 12–15, схема 14/1.5).

Реакция № 12 (вместо реакции № 10 гликолиза):



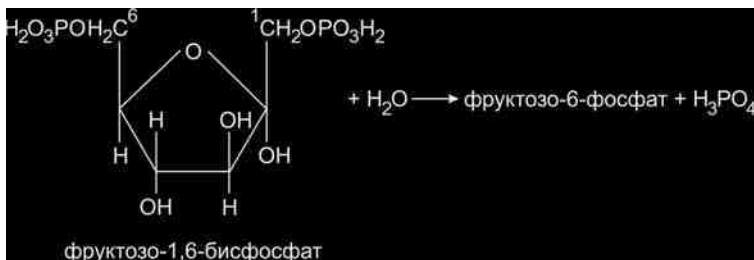
Фермент — пируваткарбоксилаза (кофакторы — биотин и Mn^{2+}). Эта реакция идет в митохондриях, все остальные предшествующие и последующие реакции глюконеогенеза — в цитозоле.

Реакция № 13 (также вместо реакции № 10):



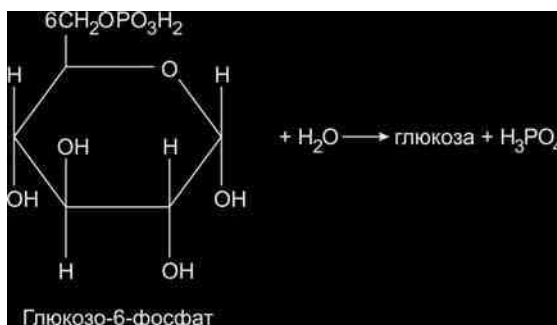
Фермент — карбоксикиназа фосфоенолпирувата.

Реакция № 14 (вместо реакции № 3):



Фермент — фруктозо-1,6-бисфосфатаза.

Реакция № 15 (вместо реакции № 1):



Фермент — глюкозо-6-фосфатаза.

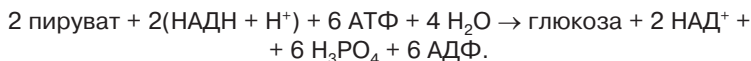
Для синтеза одной молекулы глюкозы из двух молекул пирувата надо затратить энергию в виде шести молекул АТФ. В деталях этот расход АТФ представлен в табл. 14/1.1.

Таблица 14/1.1

Расход АТФ в реакциях глюконеогенеза

Реакция	Расход
№ 12 необратимая	1 АТФ
№ 13 необратимая	1 ГТФ → 1 ГДФ, далее регенерация ГТФ: ГДФ + АТФ → ГТФ + АДФ
№ 7 обратимая	1 АТФ
Итого	3 АТФ × 2 = 6 АТФ

Общая реакция глюконеогенеза из пирувата:



Рассмотрев в предыдущей и в настоящей лекциях пути гликолитического распада и синтеза глюкозы, целесообразно сравнить особенности соответствующих реакций (табл. 14/1.2). В указанной таблице представлены номера необратимых и регулируемых реакций гликолиза и глюконеогенеза, номера реакций, в которых расходуется и синтезируется АТФ и общая окислительно-восстановительная реакция.

Таблица 14/1.2

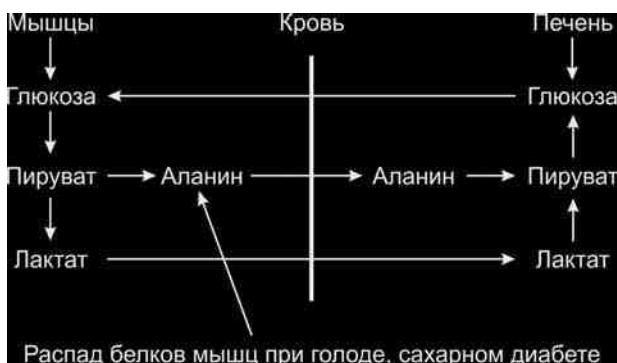
**Сравнительная характеристика реакций гликолиза
и глюконеогенеза**

Реакции	Процесс	
	гликолиз	глюконеогенез
Необратимые	1, 3, 10	12, 13, 14, 15
Регулируемые	1, 3, 10	12, 13, 14, 15
С расходом АТФ	1, 3	7, 12, 13
С образованием АТФ способом: а) субстратного фосфорилирования	7, 10	—
б) окислительного фосфорилирования — для аэробного гликолиза	НАДН, образованный в реакции № 6, окисляется в митохондриях	—
Окислительно-восстановительные:		6
а) в анаэробном гликолизе	6, 11	—
б) в аэробном гликолизе	6 и реакция окисления в митохондриях НАДН, образованного в реакции № 6	—

Понятие о глюкозолактатном цикле или цикле Кори (Нобелевская премия 1947 г.). Во время быстрой и интенсивной мышечной работы главным источником АТФ для работающих мышц является анаэробный гликолиз. Но он энергетически ма-

лоэфективен и дает только две молекулы АТФ при распаде одной молекулы глюкозы. Поэтому конечный продукт анаэробного гликолиза — неокисленный до конца лактат — поступает через кровь в печень и там превращается в глюкозу. Последняя покидает гепатоциты и проникает в мышцы для дальнейшего их обеспечения АТФ и продолжения физической работы (схема 14/1.2).

Схема 14/1.2. Глюкозолактатный (глюкозоаланиновый) цикл



Второе название цикла объясняется тем, что аланин ускоряет перенос недоокисленных трехуглеродных фрагментов из мышц в печень и тем самым ускоряет синтез глюкозы.

Другие источники для синтеза глюкозы (аминокислоты, глицерол) могут использоваться во время голодания, сахарного диабета и при других патологических состояниях (схемы 14/1.3 и 14/1.4).

Схема 14/1.3. Синтез глюкозы из белков



Например:

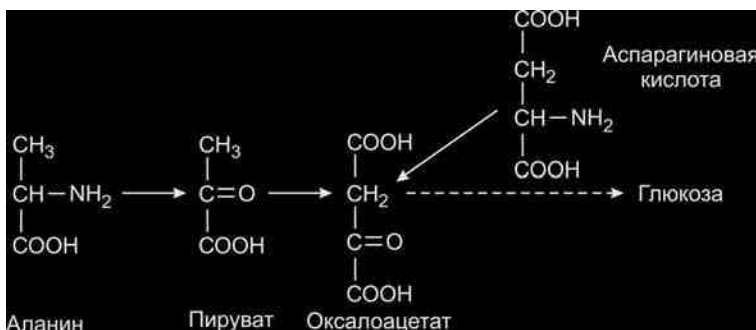
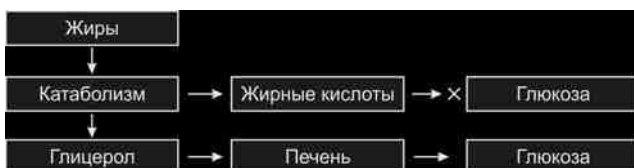


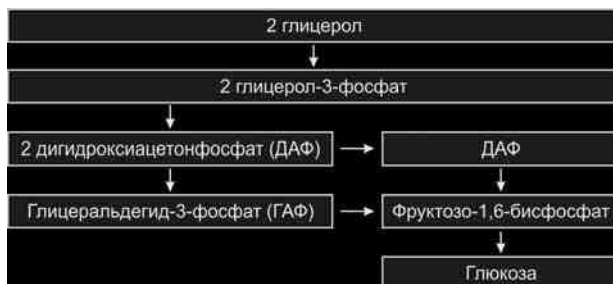
Схема 14/1.4. Синтез глюкозы из жиров



Начальная реакция фосфорилирования глицерола, катализируемая глицеролкиназой:



Последний этап синтеза глюкозы из глицерола более подробно:



На схеме 14/1.4 также показано, что жирные кислоты не могут превращаться в глюкозу (в схеме поставлен блок). Студенты достаточно часто утверждают обратное.

РЕГУЛЯЦИЯ ГЛИКОЛИЗА И ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗА

Гликолиз и глюконеогенез являются противоположно направленными процессами, и поэтому существует их регуляция в соответствии с физиологическим или патологическим статусом человека. В противном случае происходил бы хаотичный метаболизм глюкозы, приводящий только к расходу АТФ. Для координированной регуляции противоположных процессов в клетках имеются регуляторные ферменты их регуляторы (активаторы и ингибиторы), представленные в табл. 14/1.3. При такой системе контроля и регуляции функционируют или гликолиз, или глюконеогенез. В самой таблице (кратко, в виде индексов) и в примечании к таблице указаны молекулярные механизмы регуляции активности ферментов. Инсулин повышает активность некоторых ферментов в клетке весьма своеобразно. Например, для пируваткиназы это двойной или дублирующий механизм: дефосфорилирование фермента и индукция на уровне транскрипции. Инсулин повышает активность фосфофруктокиназы по непрямому механизму: вначале он активирует киназу бифункционального фермента (БИФ) способом ее дефосфорилирования, далее эта киназа БИФ катализирует образование фруктозо-2,6-бисфосфата (схема 14/1.6), который аллостерически активирует фосфофруктокиназу (см. табл. 14/1.3).

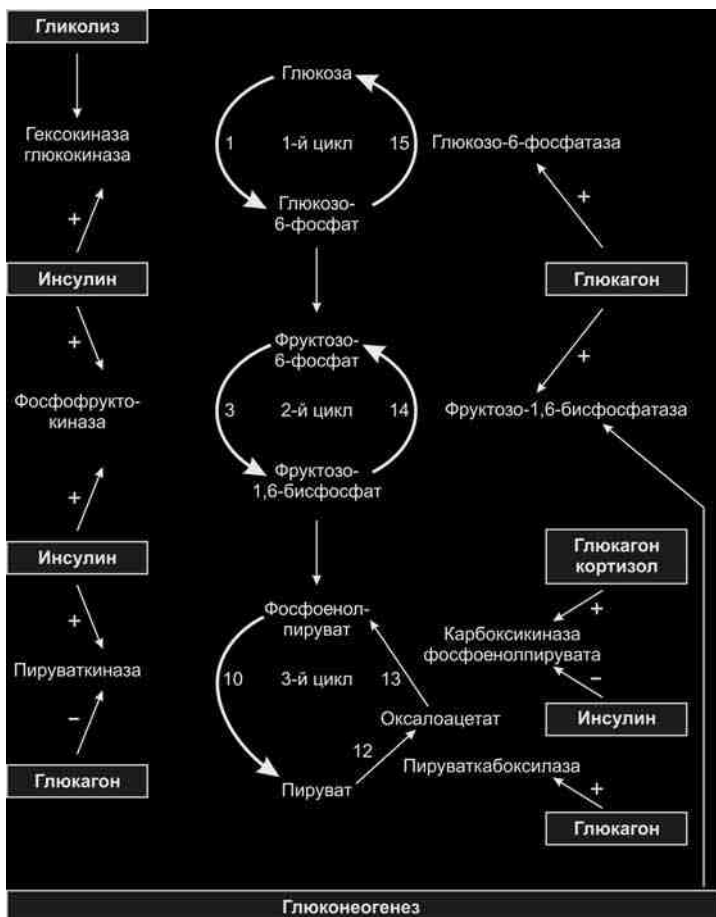
Схема 14/1.5 отражает всю рассматриваемую систему регуляции гликолиза и глюконеогенеза в деталях, положение регуляторных ферментов в этой системе и так называемые три субстратных цикла. Противоположно направленные необратимые реакции этих циклов катализируют регуляторные ферменты или гликолиза, или глюконеогенеза, а активаторы для одного процесса являются чаще всего ингибиторами для другого процесса. Если бы подобная регуляция отсутствовала, то реакции протекали бы только по этим циклам с хаотичным нарушением метаболизма глюкозы и с бесполезным расходом АТФ.

Регуляторные ферменты гликолиза и глюконеогенеза

№ реакции	Фермент	Факторы, изменяющие активность фермента в клетке	
		повышающие	уменьшающие
<i>Гликолиз</i>			
1	Гексокиназа	—	Глюкозо-6-фосфат, фосфоенолпируват
1	Глюкокиназа	Инсулин (и)	—
3	Фосфофруктокиназа	АМФ, фруктозо-2,6-бисфосфат; инсулин (нм)	АТФ, НАДН, цитрат
10	Пируваткиназа	АДФ, фруктозо-1,6-бисфосфат; инсулин (деф, и)	АТФ, НАДН, ацетил-КоА; глюкогон (ф)
—	Киназа БИФ	Инсулин (деф)	—
<i>Глюконеогенез</i>			
12	Пируваткарбоксилаза	Ацетил-КоА, глюкогон (ф)	АДФ
13	Карбоксикиназа фосфоенолпирувата	Ацетил-КоА; глюкогон (и), кортизол (и)	Инсулин (р)
14	Фруктозо-1,6-бисфосфатаза	АТФ, цитрат; глюкогон (и)	АМФ, фруктозо-2,6-бисфосфат
15	Глюкозо-6-фосфатаза	Глюкогон (и)	—
—	Фосфатаза БИФ	Глюкогон (ф)	—

Примечание. Сокращения: ф — фосфорилирование; деф — дефосфорилирование; и — индукция; р — репрессия; нм — непрямой механизм регуляции; для других эфекторов — аллостерическая регуляция.

Схема 14/1.5. Регуляция метаболизма глюкозы, три субстратных цикла



Знаки «+» и «-» обозначают увеличение или уменьшение активности ферментов под влиянием гормонов.

Цифры соответствуют названиям ферментов (см. табл. 14/1.3).

Выше (в табл. 14/1.3 и по тексту) уже упоминался несколько необычный бифункциональный фермент (БИФ-фермент), который имеет две ферментативные активности и катализирует две реакции. Во-первых, киназа БИФ катализирует образование фруктозо-2,6-бисфосфата из фруктозо-6-фосфата.

Во-вторых, фосфатаза БИФ наоборот катализирует распад фруктозо-2,6-бисфосфата до фруктозо-6-фосфата (см. схему 14/1.6). Фруктозо-2,6-бисфосфат является аллостерическим активатором фермента гликолиза — фосфофруктокиназы (реакция № 3 табл. 14/1.3) и аллостерическим ингибитором фермента глюконеогенеза — фруктозо-1,6-бисфосфатазы (реакция № 14 табл. 14/1.3). Схема 14/1.6 демонстрирует в целом работу БИФ-фермента и влияние гормонов на его активность: инсулин активирует киназу БИФ и, следовательно, гликолиз; глюкагон активирует фосфатазу БИФ, что уменьшает количество фруктозо-2,6-бисфосфата (ингибитора глюконеогенеза) и соответственно ускоряет глюконеогенез.

Схема 14/1.6. Цикл работы бифункционального фермента



Лекция 15/1

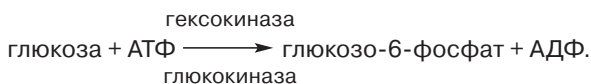
ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ ПРЕВРАЩЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ. ОБМЕН ГЛЮКОЗЫ В РАЗНЫХ ТКАНЯХ. ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ГЛЮКОЗЫ КРОВИ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ

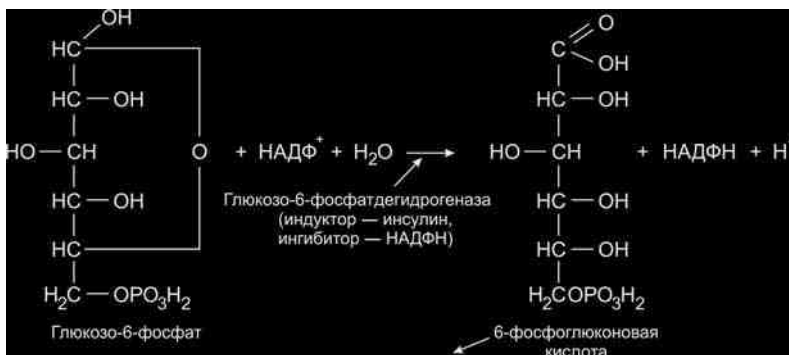
Наряду с гликолитическими или дихотомическими путями распада глюкозы существует также пентозофосфатный путь ее метаболизма, при котором катаболизм глюкозы происходит при последовательном освобождении из нее по одному атому углерода с образованием CO_2 (апотомический путь). При этом синтезируются необходимые для многих процессов пентозы и НАДФН (Энгельгардт В.А.).

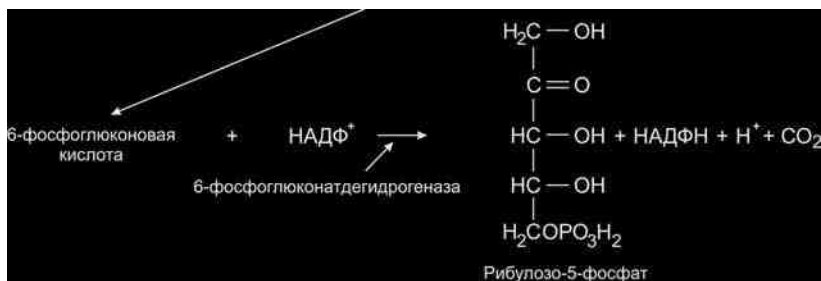
Этапы этого метаболизма.

I. Предварительная фаза — фосфорилирование глюкозы:

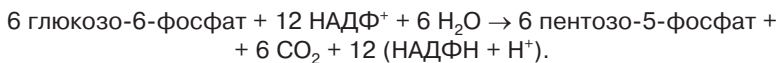


II. Первая необратимая фаза — окислительный путь:

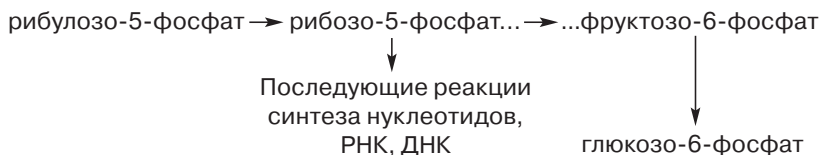




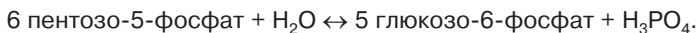
Суммарное уравнение первой фазы:



III. Вторая обратимая неокислительная фаза:



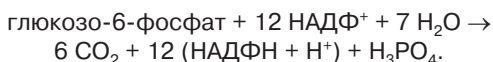
Суммарное уравнение второй фазы:



Эта фаза включает множество реакций переноса фрагментов из двух и трех атомов углерода с образованием фрагментов, содержащих 3, 4, 5, 6 и 7 атомов углерода. Конечный продукт данной фазы — глюкозо-6-фосфат.

При объединении двух фаз образуется пентозофосфатный цикл (схема 15/1.1), состоящий из левой необратимой и правой обратимой фаз. Последнюю иногда называют пентозофосфатным шунтом.

Общее уравнение всего цикла:



Характеристика пентозофосфатного пути и цикла

1. После одного полного цикла происходит полный распад одной молекулы глюкозы с образованием шести молекул углекислого газа.

2. Первая фаза абсолютно необходима для функционирования эритроцита, так как в этой фазе синтезируется НАДФН, который защищает гемоглобин и мембрану эритроцитов от окисления. Эритроцит расходует около 10% глюкозы в пентозофосфатном пути и 90% — в анаэробном гликолизе.

3. Пентозы могут образовываться в обеих фазах цикла: в первой фазе (по схеме 15/1.1 слева против часовой стрелки) и во второй обратимой фазе (справа по часовой стрелке). Такая необходимость возникает в условиях, когда клетке нужны пентозы в большом количестве для синтеза РНК и ДНК (рост, развитие организма, регенерация тканей).

4. В старых и отмирающих клетках при распаде нуклеиновых кислот освобождаются пентозы, которые трансформируются в глюкозо-6-фосфат (во второй прямой фазе). Последний вступает в гликолиз и обеспечивает эти клетки дополнительной энергией в виде АТФ.

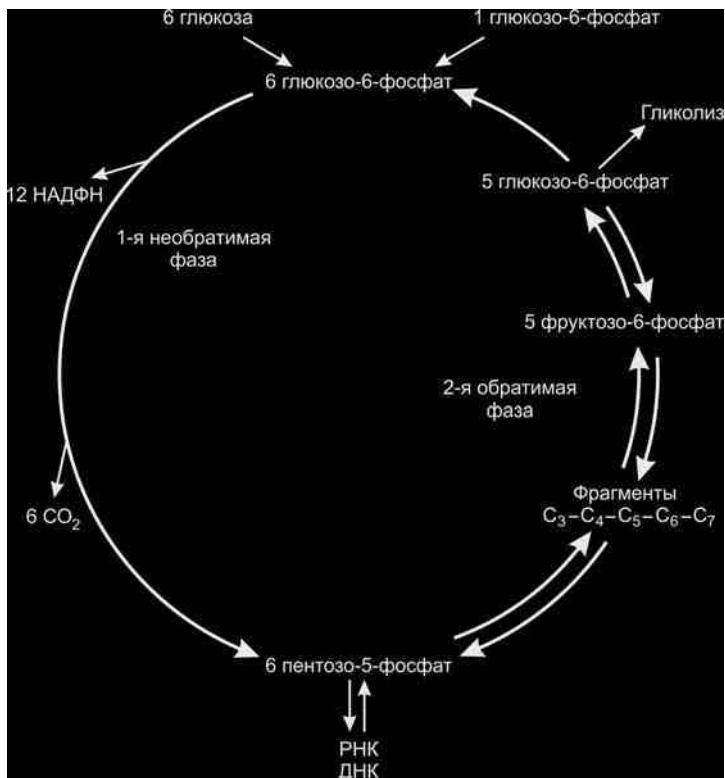
5. Полный цикл происходит в таких органах, как печень, надпочечники, жировая ткань, половые и молочные железы.

6. Как вам уже известно, инсулин ускоряет процессы использования и распада глюкозы: гликолитические пути (лекция 14/1, табл. 14/1.3) и пентозофосфатный путь катаболизма глюкозы, а именно в последнем случае индуцирует регуляторный фермент первой окислительной необратимой фазы глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу.

Биохимическое значение пентозофосфатного цикла связано с ролью синтезирующихся в нем пентоз и НАДФН. Пентозы используются для образования нуклеотидов, РНК, ДНК, нуклеотидных коферментов (НАД, НАДФ, ФМН, ФАД, кофермент А). НАДФН необходим в реакциях восстановительных синтезов как донор водорода и энергии, в реакциях детоксикации эндогенных (билирубин) и экзогенных веществ (ксенобиотики, канцерогены), в реакциях биотрансформации лекарств и для защиты гемоглобина и мембраны эритроцитов от окисления. Как правило, у человека и животных НАДФН (в отличие от НАДН) не является источником энергии для образования АТФ в цепи переноса электронов. Однако ученые предполагают, что в начале эволюционного пути формирования биологических видов пентозофосфатный путь использования углеводов (в отличие от гликоли-

тических путей) был основным, НАДФН и НАДФ-зависимые дегидрогеназы выполняли главную энергетическую роль. Постепенно в процессе эволюции эта роль перешла к НАДН и к НАДФ-зависимым дегидрогеназам.

Схема 15/1.1. Пентозофосфатный цикл



ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ В РАЗНЫХ ТКАНЯХ

Таблица 15/1.1 дает определенное представление о различиях в обмене глюкозы и гликогена в разных тканях. В инсулинзависимые органы и ткани (мышцы, жировая ткань, печень) глюкоза поступает из крови (облегченная диффузия) при участии инсу-

лина по рассмотренным в лекции 13/1 механизмam. В остальные инсулиннезависимые органы и ткани глюкоза также проникает способом облегченной диффузии, но без участия инсулина. Во многих клетках глюкоза выполняет (в разном соотношении) энергетическую функцию (синтез АТФ) и/или пластическую роль, обеспечивая синтез таких веществ, как аминокислоты, холестерол, жиры и др.). Особенности гликолитических путей распада глюкозы в органах и тканях рассмотрены в лекции 13/1. Синтез эндогенной глюкозы идет главным образом в печени и в меньшей мере — в других органах (лекция 14/1). Синтез и распад гликогена также происходят дифференцированно в большинстве органов, особенно в печени и мышцах (лекция 12/1). Пентозофосфатный путь катаболизма глюкозы представлен выше в настоящей лекции.

В предыдущих лекциях подробно рассмотрены особенности обмена углеводов в печени, очень кратко, без деталей — в мышцах, в эритроцитах и в нервной ткани. В нервной ткани (см. табл. 15/1.1) глюкоза является основным источником энергии и в процессе полного аэробного катаболизма обеспечивает образование АТФ для клеток мозга. Мозг человека, составляющий 2% от массы тела, потребляет 25% глюкозы и 20% всего кислорода. При этом запасов глюкозы и кислорода в мозгу практически нет. Небольшую энергетическую роль могут выполнять в мозгу глутаминовая кислота и гликоген (содержание последнего всего лишь 0,1%).

РЕГУЛЯЦИЯ УРОВНЯ ГЛЮКОЗЫ КРОВИ

Содержание глюкозы в крови строго лимитировано: 60–100 мг/дл, или 3,3–5,5 ммоль/л. При снижении концентрации ниже 40 мг/дл (гипогликемия) мозг человека немедленно реагирует, и может возникнуть гипогликемическая кома, а при 20 мг/дл — смерть. Гипергликемия также приводит к различной патологии. Поэтому существует сложная система регуляции уровня глюкозы в крови, представленная на схеме 15/1.2, с участием инсулина, глюкагона, кортизола, адреналина в соответствии с различным физиологическим или патологическим состоянием человека.

Таблица 15/1.1

Особенности метаболизма углеводов в разных тканях

Орган или ткань	Глюкоза		Гликоген		Пентозофосфатный путь
	Синтез	Катаболизм (гликолиз)	Синтез	Распад	
Печень	+++	++	+++	+++	+++
Жировая ткань	–	++	–	–	+++
Мышцы	–	+++	+++	+++	+
Эритроциты	–	+++	+	+	+++
Мозг	–	+++	+	+	+

Таблица 15/1.2

Метаболизм глюкозы и гликогена при разных физиологических состояниях человека

Показатель	Переваривание пищи и всасывание	Голод	Физическая работа	Стресс
Главный гормон в крови	Инсулин	Глюкагон Кортизол	Адреналин	Адреналин Кортизол
Концентрация глюкозы в крови	↑	↓	↑↓	↑
Глюконеогенез	↓	↑	–	↑
Распад гликогена	↓	↑	↑	↑
Синтез гликогена	↑	↓	↓	–
Гликолиз	↑	↓	↑	↑
Общий путь катаболизма	↑	↓	↑	↑

Примечание. ↑ – увеличение, ↓ – уменьшение.

Инсулин (секретируемый в кровь после приема углеводсодержащей пищи) уменьшает концентрацию глюкозы крови, а глюкагон (голодание), кортизол (голодание, стресс) и адреналин (физическая работа, стресс) увеличивают уровень глюкозы, ускоряя или замедляя скорость соответствующих биохимических процессов в клетках и в органах (схема 15/1.2, табл. 15/1.2).

Схема 15/1.2. Регуляция концентрации глюкозы крови



МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ И ГЛИКОГЕНА ПРИ РАЗНЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ ЧЕЛОВЕКА

Существует специальный клинический тест — «сахарная нагрузка» для точной оценки динамики глюкозы в крови в зависимости от времени после приема *per os* глюкозы (из расчета 1 г глюкозы на 1 кг массы тела).

Оценка результатов проводится по четырем контрольным точкам (см. номера на рис. 15/1.1):

- 1) исходный уровень глюкозы натощак должен быть в пределах нормы;

- 2) максимум концентрации за счет пищевой глюкозы — примерно через 1 ч;
- 3) увеличение уровня глюкозы на 1 час к исходной ее концентрации — не более чем на 30–50%;
- 4) снижение концентрации глюкозы до исходного уровня или даже несколько ниже — ко 2-му часу.



Рис. 15/1.1. Клинический тест — «сахарная кривая»

Одновременно с увеличением концентрации глюкозы в кровь секретируется инсулин, далее инсулин снижает эту концентрацию, стимулируя поступление глюкозы в органы. Если уровень глюкозы стал ниже исходного, то секретируемый глюкагон восстанавливает исходную концентрацию глюкозы за счет распада гликогена. Такова картина для здорового человека.

В случае сахарного диабета, в том числе скрытого (без клинических симптомов), «сахарная кривая» и контрольные точки находятся выше.

Рассмотрим некоторые ситуационные случаи. При нормальном режиме питания сразу после приема пищи (абсорбтивный период) повышенный уровень пищевой глюкозы в крови стимулирует секрецию инсулина, он ускоряет синтез гликогена и тормозит его распад, активизирует гликолиз и замедляет синтез глюкозы, действуя через регуляторные ферменты (схема 15/1.2, табл. 14/1.3 в предыдущей лекции). В конце абсорбтивного периода перед очередным принятием пищи (постабсорбтивный

период) некоторое снижение концентрации глюкозы в крови вызывает секрецию глюкагона, который активирует распад гликогена печени и поддерживает необходимый уровень глюкозы.

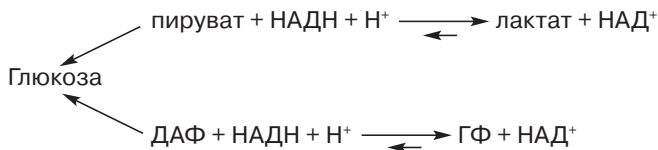
При голодании (отсутствии питания в течение одних и более суток), когда запасы гликогена в печени практически исчерпаны, глюкагон и кортизол стимулируют синтез глюкозы не только из лактата, но и из аминокислот и из глицерола. Последний освобождается из жирового депо при участии глюкагона, а аминокислоты — из белков при их деградации с участием кортизола.

При интенсивной и срочной физической работе надпочечники выделяют адреналин, который, во-первых, ускоряет кровоток и содержание кислорода в тканях. Во-вторых, в печени адреналин стимулирует распад гликогена и освобождение глюкозы для мышц, эритроцитов, мозга и других органов. Адреналин передает свой сигнал в гепатоциты через аденилатциклазную систему (β_2 -адренорецепторы) или видимо реже — через инозитолфосфатную систему (α_1 -рецепторы). Одновременно этот гормон останавливает синтез гликогена. В скелетных мышцах адреналин ускоряет распад гликогена через β_1 -адренорецепторы и аденилатциклазную систему, освобождая глюкозу для мышечной работы. Кроме того, благодаря нервному импульсу из эндоплазматического (саркоплазматического) ретикулума миоцитов в цитозоль выходит кальций, который включает сокращение миофибрилл, и далее комплекс кальций-кальмодулин активирует гликогенфосфорилазу, что приводит к дополнительному распаду гликогена.

При умеренной и/или длительной физической работе мышечная гликогенфосфорилаза активируется аллостерически с помощью АМФ, и происходит медленное освобождение глюкозы из гликогена мышц.

В гладких мышцах, например при стрессе, адреналин через α_1 -адренорецепторы и инозитолфосфатную систему увеличивает в цитозоле содержание кальция, который вызывает сокращение гладкой мускулатуры сосудов, повышает артериальное давление и также может стимулировать распад гликогена как источника энергии.

НАДН сдвигает равновесие реакций пируват \leftrightarrow лактат и ДАФ \leftrightarrow ГФ в сторону увеличения лактата и глицеролфосфата (ГФ). Поэтому в печени уменьшается содержание пирувата и дигидроксиацетонфосфата (ДАФ) — субстратов для синтеза глюкозы:

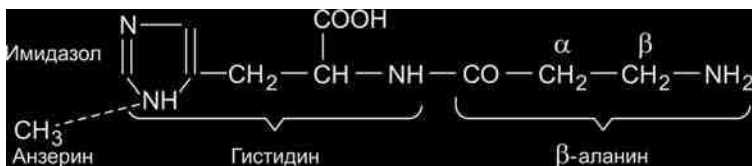


Вторично возникает лактат-ацидоз. Другие случаи ненаследственного и наследственного лактат-ацидоза мы рассмотрели в лекциях № 11/1 и 13/1.

8. Наследственное нарушение пентозофосфатного пути катаболизма глюкозы, вызванное мутацией гена глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, локализованного в X-хромосоме. Это самая распространенная рецессивная мутация в человеческой популяции, приводящая к существованию более 100 изоформ указанного фермента, многие из которых имеют сниженную активность. В таком случае образуется мало НАДФН. Возникает заболевание, связанное с патологией только эритроцитов, в которых в отличие от других клеток единственным источником НАДФН является пентозофосфатный путь. В других клетках, имеющих митохондрии, примерно по 50% НАДФН образуется и в пентозофосфатном пути, и в результате окисления малата и изоцитрата митохондриального происхождения (лекция 11/1). Клинически данная патология проявляется в основном у мужчин-гемизигот и заключается в развитии острого или хронического гемолиза (разрушения эритроцитов), который усиливают вещества-окислители (нитриты), некоторые лекарства и пищевые компоненты. Причина — недостаток НАДФН в эритроцитах снижает количество восстановленного глутатиона — кофермента глутатионпероксидазы. Уменьшение активности последнего фермента приводит к накоплению в эритроцитах избытка перекиси водорода и гидроперекисей жирных кислот мембран, что вызывает гемолиз и анемию. Кроме того, недостаток НАДФН является причиной формирования агрегатов окисленных молекул гемоглобина типа

Hb-S-S-Hb (тельца Хайнца), которые деформируют мембрану эритроцитов и также усиливают гемолиз. Интересно, что люди с такой патологией устойчивы к малярийному плазмодию и к малярии вследствие недостатка эритроцитов — клеток, в которых плазмодий размножается. Поэтому в районах малярии частота выявления мутантных изоферментов глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы является высокой.

В заключение цикла лекций по энергетическому обмену и биохимии углеводов считаю необходимым отдать дань уважения выдающимся биохимикам, работавшим на нашей кафедре — академикам АН СССР С.Е. Северину-старшему и В.С. Гулевичу. Последний — заведующий нашей кафедрой биохимии в 1907–1933 гг. в 1900 г. открыл в мышцах гистидиновый (имидазольный) дипептид — карнозин:



В 60-е годы прошлого века С.Е. Северин-старший подробно изучил роль имидазолсодержащих дипептидов (карнозина и анзерина) и показал, что они через ферменты активируют энергетический обмен (гликолиз, гликогенолиз, цитратный цикл, окислительное фосфорилирование АДФ), пентозофосфатный цикл, нейтрализуют лактат в мышцах и являются антиоксидантами. В биохимической научной литературе описан соответствующий феномен Северина: карнозин и другие имидазольные производные восстанавливают функциональную активность мышц (после их утомления или действия миорелаксантов) путем повышения выброса ацетилхолина в синаптическую щель парасимпатического синапса.

Лекция 16/1

МЕЖКЛЕТОЧНЫЙ МАТРИКС

Отдельные клетки или группы клеток находятся в тканях в окружении межклеточного матрикса (ММ), который по своему физическому состоянию может быть жидким (плазма крови, стекловидное тело глаза), волокнистым или фибриллярным (соединительная ткань) и твердым (кости). Особый компонент ММ — базальные мембраны.

Функции ММ:

- 1) создает каркас ткани, придает ей определенную форму (структурная роль);
- 2) участвует в размножении клеток и в дифференциации клеток и тканей;
- 3) выполняет специфические для своей ткани функции, например, обеспечивает эластичность и прочность связок, хрящей и кровеносных сосудов; тургор кожи; амортизационные свойства суставной жидкости.

Многочисленные функции плазмы крови будут рассмотрены во втором семестре.

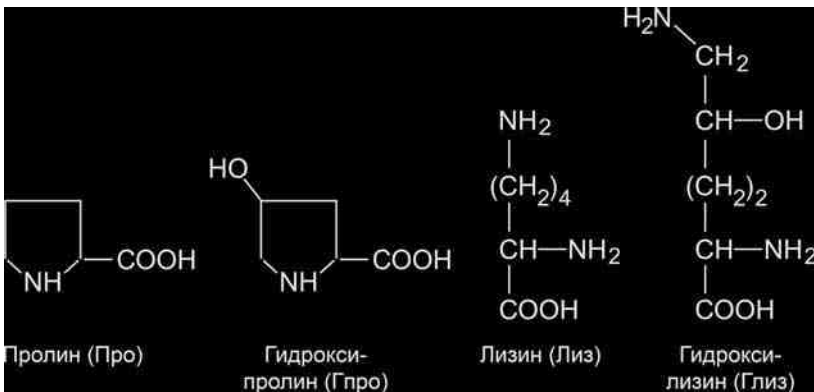
Три компонента межклеточного матрикса:

- 1) фибриллярные белки (коллаген, эластин);
- 2) комплексы (агрегаты) протеогликанов с гиалуроновой кислотой;
- 3) нефибриллярные гликопротеины (фибронектин, ламинин и др.).

КОЛЛАГЕН

Важнейшим веществом межклеточного матрикса (особенно соединительной ткани) является коллаген или тропоколлаген — белок фибриллярный, сложный, олигомерный (с высшей четвертичной структурой). Он состоит из трех полипептидных цепей (по 1000 аминокислот), связанных между собой в основном нековалентными водородными связями за счет большого содержания гидроксипролина (Гпро) и при участии радикальных функциональных групп других аминокислот. В самом межклеточном матриксе отдельные молекулы коллагена соединены между собой ковалентными связями, образуя фибриллы и своеобразную сетку или решетку.

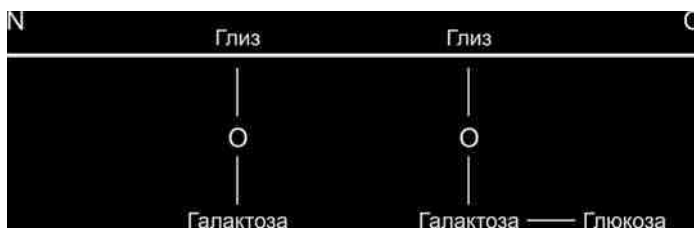
Одна полипептидная цепь коллагена включает очень много глицина (30%), а также аланин (10%), пролин (Про) и гидроксипролин (25%), лизин и гидроксизин (Глиз) (1%). Привожу формулы достаточно редких и характерных для коллагена аминокислот.



Эти аминокислоты образуют в отдельных цепях коллагена характерные триады: $-\{\text{Гли}-\text{Про}-\text{Гпро или Глиз}\}_n-$. Коллаген не содержит цистеина и триптофана, поэтому получаемая из коллагена желатина используется в учебной биохимии при постановке цветных реакций на белки и аминокислоты. Почти весь гидроксипролин в организме человека находится в коллагене. Это используется в онкологии при лабораторной диагностике

рака соединительной ткани (рака костей) по избытку выделяемого с мочой гидроксипролина.

Одна цепь коллагена образует левозакрученную спираль, в которой на один виток спирали приходится три остатка аминокислот в отличие от классической правозакрученной более компактной α -спирали белков (3,6 остатков на виток). Благодаря гидроксильным группам гидроксипролина образуются O-гликозидные связи с гексозами, т.е. коллаген является гликопротеином — сложным белком.



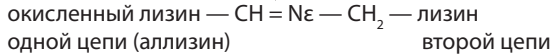
Существует около 30 различных отдельных цепей коллагена с несколько отличающейся первичной структурой. Из них при объединении по три цепи формируется конечная молекула тропоколлагена или коллагена. Она представляет из себя правозакрученную суперспираль, в образовании плотной упаковки которой большая роль принадлежит глицину (30%) с его маленьким радикалом.

Благодаря объединению разных полипептидных цепей в организме человека формируется около 19 разных типов тропоколлагена, характерных для костей, дентина (тип 1), для хрящей и стекловидного тела глаза (тип 2), для сосудов, печени, почек (тип 3), для базальных мембран (тип 4). Это полиморфизм молекул тропоколлагена.

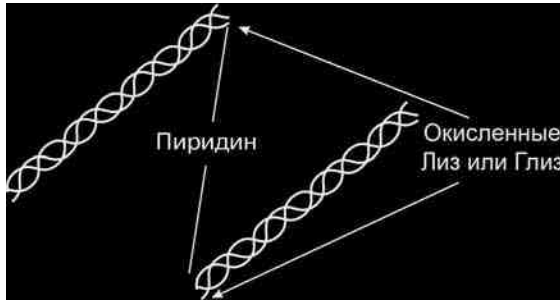
В межклеточном матриксе молекулы тропоколлагена соединены прочными ковалентными связями трех видов. Уже после синтеза отдельных полипептидных цепей в рибосомах далее вне клетки ϵ -аминогруппы лизина и гидроксипролина в составе фибрилл тропоколлагена окисляются с образованием альдегидных групп (фермент лизиламинооксидаза). Эти альдегидные группы сформировавшихся молекул аллизина и гидроксипролина дают

сшивки с соседними молекулами тропоколлагена, а именно с радикалами остатков лизина и гидроксизина. Образуются связи типа шиффовых оснований, альдольной конденсации и пиридиновые связки (пиридинолины и дезоксипиридинолины), включающие пиридиновые гетероциклы.

Связи типа шиффовых оснований
между соседними молекулами тропоколлагена



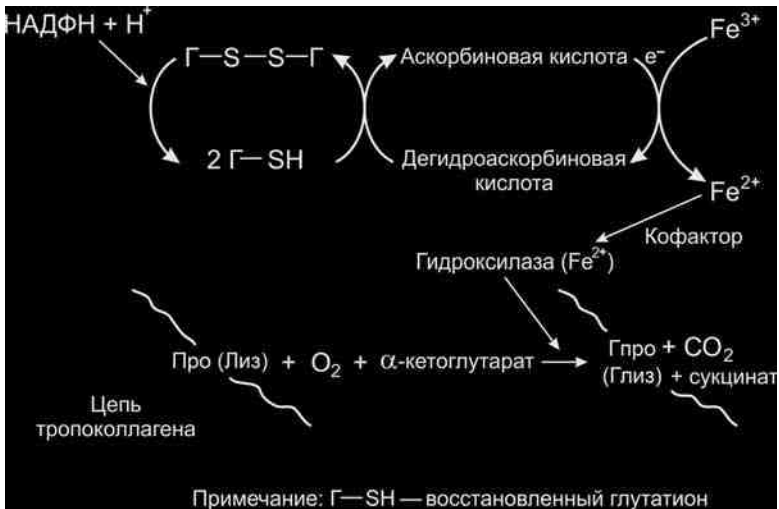
Пиридиновые связки
между молекулами тропоколлагена



Каждая молекула тропоколлагена представляет из себя определенной прочности тяж. Эти молекулы спонтанно объединяются, образуя микрофибриллы, коллагеновые фибриллы и волокна или сетевые структуры с характерной исчерченностью за счет укладки бок в бок молекул коллагена и создания их параллельных рядов со сдвигом на $\frac{1}{4}$ одного ряда по отношению к другому.

Отдельные реакции, характерные для межклеточного матрикса.

1. Гидроксирование Про и Лиз (в составе отдельных цепей коллагена) происходит в цитозоле и в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР) по мере выхода отдельных цепей коллагена из рибосом.



Далее в полости ЭР синтезированный Гпро участвует в образовании водородных связей внутри молекул тропоколлагена, а Глиз присоединяет гексозы (процесс гликозилирования), и далее Глиз и Лиз вне клетки формируют ковалентные связи между молекулами тропоколлагена.

В приведенных реакциях гидроксилирования Про и Лиз участвуют аскорбиновая кислота (витамин С) как донор электронов для восстановления Fe³⁺ в Fe²⁺. Последний является кофактором для катализирующих данную реакцию гидроксилаз. При пищевом недостатке витамина С уменьшается количество кофактора Fe²⁺ и соответственно уменьшается активность гидроксилаз и содержание в коллагене Гпро и Глиз. Поэтому нарушается как образование водородных связей внутри молекул тропоколлагена, так и образование ковалентных связей между молекулами тропоколлагена. Вследствие этого уменьшается прочность коллагеновых фибрилл, волокон и сетевых структур в кровеносных сосудах и капиллярах, что приводит к их разрыву и к многочисленным гемorragиям (в коже, слизистых, деснах). Таким является механизм развития известной цинги (скорбута) при гиповитаминозе С.

2. Вторая реакция происходит вне клеток при участии внеклеточной лизиламинооксидазы (с коферментами на основе вита-

минов РР, В₆ и Cu²⁺), катализирующей окисление ε-аминогрупп радикалов Лиз и Глиз в составе незрелых молекул тропоколлагена, уже состоящих из трех цепей. Образовавшиеся реакционно-активные альдегидные группы аллизина и гидроксиаллизина формируют рассмотренные выше ковалентные связи между молекулами тропоколлагена.



Теперь рассмотрим полную схему синтеза тропоколлагена (рис. 16/1.1). В шероховатом ЭР фибробластов, остеобластов, хондробластов и других клеток образуются отдельные коллагеновые полипептидные цепи. В цитозоле и в полости ЭР происходит гидроксирование Про и Лиз в составе этих цепей. Каждая коллагеновая цепь проникает в полость ЭР, начинается это перемещение с N-концевого гидрофобного сигнального участка цепи (из 100 аминокислот). После удаления последнего в ЭР гликозилируется Глиз и три отдельные полипептидные цепи объединяются с помощью водородных связей в проколлаген. Проколлаген секретируется в межклеточное пространство, где проколлагенпептидаза удаляет его неспирализованные N- и C-концевые фрагменты, в итоге создается тропоколлаген, и после образования в нем альдегидных групп аллизина и гидроксиаллизина ковалентные связи соединяют отдельные молекулы тропоколлагена, формируя волокна и сетевые структуры.

Катаболизм коллагена является достаточно медленным процессом из-за его устойчивости ко многим тканевым протеазам. Только Zn-содержащая металлопротеиназа или тканевая коллагеназа способна катализировать один разрыв пептидной связи

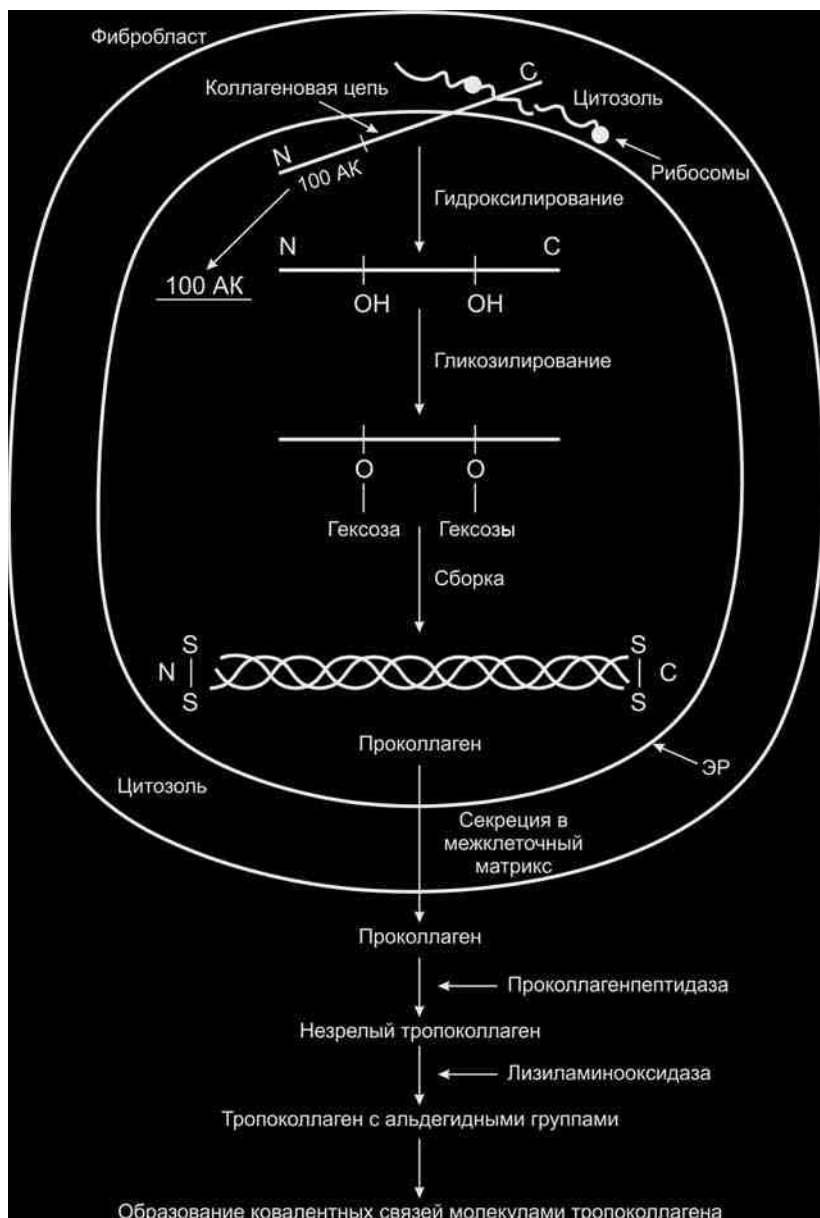


Рис. 16/1.1. Синтез и созревание тропоколлагена

сразу в трех полипептидных цепях между глицином и лейцином (изолейцином), образуя два фрагмента длиной 75 и 25%. Далее эти фрагменты распадаются под действием лизосомальных протеиназ. Однако бактериальные протеиназы клостридий — возбудителей анаэробных инфекций обладают большим сродством к коллагену и могут производить разрывы в 100–200 точках цепи коллагена. Поэтому эти бактерии быстро разрушают ММ при сочетанном действии коллагеназ, гиалуронидаз и проникают глубоко в ткани, вызывая газовую гангрену. На этом же основано использование коллагеназ для очистки гнойных ран, для обработки кожи после ожогов и обморожений и в косметических целях для улучшения вида или для маскировки рубцов.

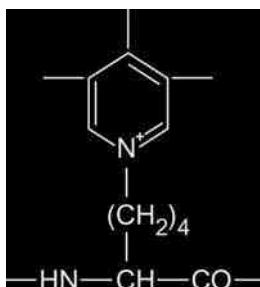
Почти весь Гпро находится в организме человека в коллагене. Поэтому содержание Гпро в крови и моче является индикатором катаболизма коллагена в соединительной ткани. В случае рака костей, ревматизма, гиперпаратиреоза, гипертиреоза увеличение содержания Гпро в моче служит диагностическим признаком. По мере старения человека в коллагене увеличивается количество поперечных связей и сшивок и с возрастом при отсутствии указанной патологии выделение Гпро с мочой уменьшается.

Обмен коллагена может быть нарушен или является причиной нескольких заболеваний. Часть из них мы уже рассмотрели выше, в том числе цингу. При хроническом алкоголизме избыточный ацетальдегид активирует в печени синтез коллагена, что приводит к циррозу печени. При заживлении ран в коже может синтезироваться аномальный по структуре коллаген, формирующий рубцы, требующие косметической коррекции. Мутации в генах различных цепей коллагена вызывают ряд наследственных болезней. Например, мутации, приводящие к замене самой главной аминокислоты — глицина — на другие аминокислоты, приводят к разнообразной патологии костной ткани. Мутации гена лизиламинооксидазы уменьшают прочность коллагена и эластина (см. ниже) и вызывают разрывы кровеносных сосудов.

ЭЛАСТИН

Эластин является вторым значимым белком межклеточного матрикса, обладающим большой эластичностью и характерным для

сосудов, легких, связок. Он имеет высшую третичную структуру, т.е. состоит из одной полипептидной цепи, приобретающий фибриллярную третичную структуру при физической нагрузке. Белковая цепь содержит около 800 аминокислот, среди которых много гидрофобных аминокислот (70%), особенно валина, мало гидроксипролина и отсутствуют гидроксизин, цистеин, метионин, триптофан. После синтеза в клетке предшественника-тропоэластина его пролин гидроксилируется и далее уже вне клетки в лизине окисляется радикальная аминогруппа и образуется альдегидная группа в составе аллизина. Аналогичные реакции происходят и при формировании коллагена. Благодаря аллизину далее между отдельными цепями эластина образуются связи-сшивки с радикалами лизина. Между двумя цепями эластина образуется лизиннорлейцин, а между четырьмя цепями — десмозин с пиридиновым гетероциклом. Десмозин является результатом конденсации трех цепей с альдегидными группами аллизина и четвертой цепи с неокисленным лизином. Сравните, что такие же пиридиновые связи образуются между молекулами тропоколлагена.



Сшивки между отдельными цепями эластина формируют в межклеточном матриксе характерную сеть, которая при отсутствии нагрузки на ткань представляет бесформенную структуру.



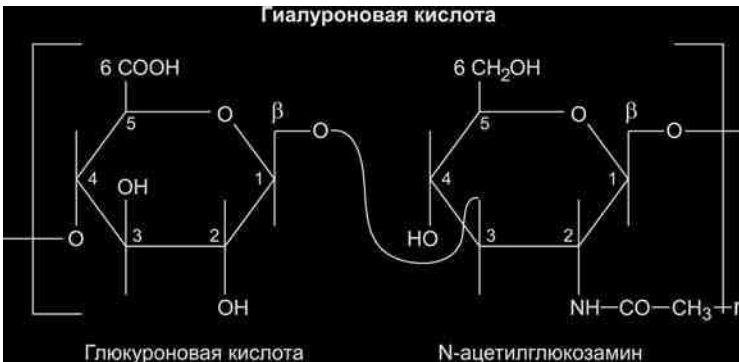
При растяжении мышечно-суставной связки или расширении артерий эластического типа под нагрузкой система приобретает стройную резиноподобную конформацию, а цепи эластина — фибриллярную третичную структуру, оставаясь связанными между собой пиридиновыми сшивками. После снятия нагрузки молекулы эластина возвращаются в исходное хаотичное состояние.

ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНЫ

Гликозаминогликаны (ГАГ), или мукополисахариды, или гетерополисахариды, являются полимерами, состоящими из повторов идентичных дисахаридов, с большой молекулярной массой порядка ($n \times 10^6$ Да). Дисахариды состоят из разных модифицированных гексоз, содержащих атомы серы или азота, и соответственно подразделяются на гиалуроновую кислоту (схема 16/1.1), гепарин, хондроитинсульфат, дерматансульфат, кератансульфат, гепарансульфат.

Каждый дисахарид гиалуроновой кислоты содержит глюконовую кислоту и N-ацетилглюкозамин, связанных O-гликозидной связью ($\beta 1 \rightarrow 3$).

Схема 16/1.1. Гиалуроновая кислота



Гиалуроновая кислота находится в составе межклеточного вещества многих тканей и служит основой для формирования сложных агрегатов межклеточного матрикса (см. ниже).

Другой хорошо известный в медицинской практике препарат — антикоагулянт гепарин — также является ГАГ. Он синтезируется тучными клетками печени, легких, кожи и находится в них в виде гранул. Дисахаридный мономер этого полимера также состоит из двух модифицированных гексоз переменного состава: а) глюкозамин, у которого часть функциональных групп сульфатирована или ацетилирована; б) идуоновая кислота. Оба компонента соединены α 1,4-гликозидными связями. Терапевтический эффект гепарина — уменьшение свертывания крови — достигается благодаря его способности связывать антитромбин III и усиливать активность последнего — вызывать инактивацию тромбина (фактор IIa системы свертывания крови) (лекции 4/1 и 17/2).

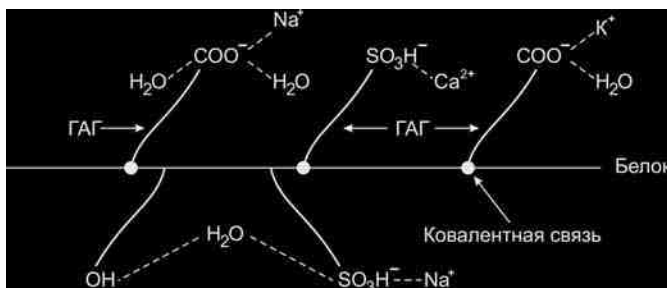
Являясь важными компонентами ММ и соединительной ткани, гетерополисахариды используются в качестве лекарств для лечения артритов и артрозов (глюкозамин, хондроитинсульфат) и для ускорения заживления ран (гиалуроновая кислота).

ПРОТЕОГЛИКАНЫ

Протеогликаны (ПГ) — это громадные полимеры, состоящие из ГАГ (90–95%) и белка (5–10%), которые связаны между собой следующими ковалентными связями (схема 16/1.2):

- 1) О-гликозидная связь между C_1 гексоз и ОН-группой серина и треонина белка;
- 2) N-гликозидная связь между C_1 гексоз и амидной группой аспарагина.

Схема 16/1.2. Строение протеогликана

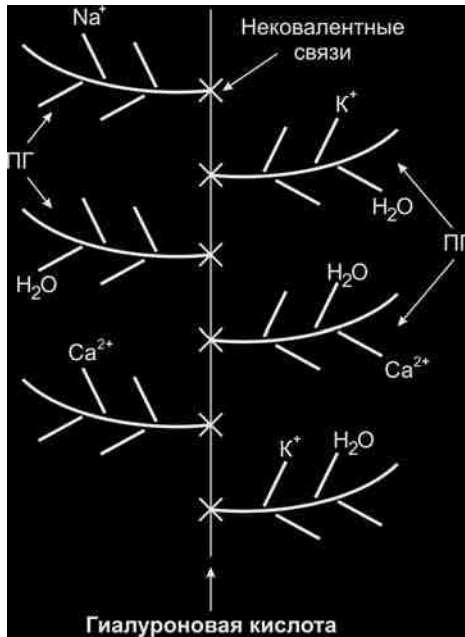


Для сравнения и повторения. Ранее мы неоднократно рассматривали гликопротеины (например, антитела, коллаген и др.), которые также состоят из белка и углеводов. В отличие от ПГ гликопротеины, во-первых, включают, как правило, обычные немодифицированные гексозы (глюкозу, галактозу) и, во-вторых, соотношение в них компонентов обратное: до 5–10% углеводов и более 90–95% белка.

Содержание ПГ особенно значительно в анатомических структурах, подвергаемых физическим нагрузкам и деформациям, где они играют «рессорную» роль: в хрящах (ПГ — агрекан), связках, сухожилиях, в коже.

Следующая еще более сложная структура ММ — агрегаты ПГ и ГАГ (схема 16/1.3).

Схема 16/1.3. Агрегаты гиалуроновой кислоты и протеогликанов



Стержнем такого агрегата является гиалуроновая кислота — ГАГ (10^5 – 10^7 Да), к которой в виде 100–150 «веточек» присоединены нековалентными связями протеогликаны — ПГ

с различными другими ГАГ. В дополнение к сетевым структурам коллагена в ММ представленные агрегаты со своими полярными группами углеводов и с многочисленными анионами (SO_3H^-) создают депо, в которое поступают и удерживаются диполи воды, катионы Na^+ и Ca^{2+} . Поэтому в целом система ГАГ, ПГ и агрегатов выполняют в ММ следующие функции:

- 1) амортизационные свойства, тургор ММ и тканей, например кожи, «рессорные» функции в суставах;
- 2) связывание и своеобразное депонирование воды и солей;
- 3) защита органов путем ограничения диффузии в тканях посторонних веществ, например ядов, ксенобиотиков и даже красителей.

При действии на ткани бактериальных коллагеназ и гиалуронидаз эти функции ослабевают и проявляются патологические эффекты бактерий на ММ и на органы.

Катаболизм необычных по составу ГАГ требует наличия в лизосомах клеток особых ферментов — гликозидаз и сульфатаз, которые катализируют распад ГАГ, ПГ, агрегатов и ускоряют их обновление. При мутациях генов этих ферментов катаболизм ГАГ замедляется, что приводит к их накоплению в тканях и к проявлению другой специфической патологии — мукополивисцедозам.

НЕФИБРИЛЛЯРНЫЕ НЕКОЛЛАГЕНОВЫЕ ГЛИКОПРОТЕИНЫ

Фибронектин, синтезируемый вместе с коллагеном в фибробластах и других клетках, — это очень большой доменный олигомерный белок, гликопротеин (1–30% углеводов), состоящий из двух полипептидных цепей с молекулярной массой по 230 кДа. Цепи связаны дисульфидными связями. Фибронектин находится в ММ и, имея 7–8 центров связывания лигандов в каждой цепи, выполняет функции интегрального белка, объединяющего все компоненты ММ. А именно своими двумя концами он присоединен к мембранным гликолипидам и гликопротеинам поверхности разных клеток, а в самом ММ он связывается с гиалуроновой кислотой, гепарансульфатсодержащими протеогликанами, с коллагеном и с нефибриллярными белками ММ (с ламинином

и нидогеном). Фибронектин имеет также домен для фермента трансглутаминазы (фактор XIIIa системы свертывания крови), которая катализирует образование прочной изопептидной связи между разными белками в ММ, в том числе в плазме крови. Это дополнительно цементирует ММ и укрепляет сгусток крови (фибрин-полимер) на поверхности поврежденного сосуда. Существует несколько изоформ фибронектина как следствие альтернативного сплайсинга и посттрансляционной модификации.

Итак, фибронектин совместно с другими компонентами создает определенную жесткость межклеточного матрикса и фиксирует в нем клетки, уменьшая их подвижность и увеличивая их адгезию. При некоторых мутациях количество или качество фибронектина снижается, клетки приобретают подвижность и возрастает их метастатический канцерогенный потенциал. Первичный (местный) раковый процесс в органе переходит в стадии инвазии и метастазирования.

В ММ имеются и другие неколлагеновые гликопротеины, обладающие как и фибронектин адгезивными свойствами (ламинин, нидоген) или антиадгезивными особенностями (остео-нектин, тенасцин), функционирующие на стадиях эмбриогенеза, морфогенеза и при опухолевом росте.

ЧАСТЬ II
(ВТОРОЙ СЕМЕСТР ОБУЧЕНИЯ)

Лекция 1/2

ЛИПИДЫ: СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ, ПЕРЕВАРИВАНИЕ И АССИМИЛЯЦИЯ

Группа липидов состоит из разнообразных химических веществ, но все они имеют некоторые общие свойства:

- 1) молекула липида является или целиком гидрофобной (как например жиры), или частично гидрофобной в случае фосфолипидов; последние представляют из себя амфифильные молекулы, т.е. часть атомов гидрофобна, а часть гидрофильна;
- 2) поэтому липиды не растворимы в воде;
- 3) липиды содержат в своем составе жирные кислоты или синтезируются из них.

Таблица 1/2.1

Классификация липидов

Класс липидов	Функции
Триацилглицеролы	1. Источник энергии. 2. Механическая защита тканей и органов. 3. Уменьшение потери теплоты организмом
Фосфолипиды Гликолипиды	Структурные компоненты мембран
Воска (эферы жирных кислот (ЖК) и длинноцепочечных спиртов)	Компонент кожного жира человека
Стероиды: – холестерол; – желчные кислоты; – гормоны	Компонент мембран и липопротеинов (ЛП) Шесть функций (см. ниже) Специальные функции
Жирорастворимые витамины А, D, Е, К	Специальные функции
Эйкозаноиды	Специальные функции

ЖИРЫ

Жиры, или триацилглицеролы (ТАГ), — это эфиры глицерола и жирных кислот.

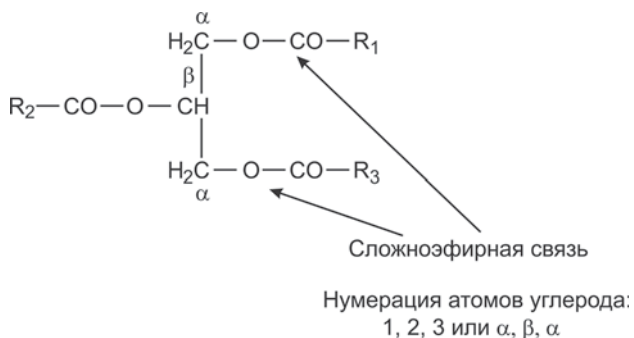


Таблица 1/2.2

Формы ТАГ

Вид ТАГ	Частное название	Преобладающие жирные кислоты	Физическое состояние при 25 °С
ТАГ человека животных	Жиры	Насыщенные	Твердое
ТАГ растений	Масла	Ненасыщенные	Жидкое

Существует два источника жиров человека:

- 1) пищевые жиры, суточная норма — около 100 г в сутки;
- 2) жиры, которые синтезируются в организме человека главным образом в жировой ткани и печени.

В среднем жиры обеспечивают 35% энергетических потребностей организма.

ПЕРЕВАРИВАНИЕ ПИЩЕВЫХ ЖИРОВ

Переваривание пищевых жиров происходит в тонком кишечнике взрослого человека. Причина особенностей этого переваривания (в отличие от переваривания углеводов и белков) — жиры нерастворимы в воде, а главный фермент, необходимый для их переваривания, — панкреатическая липаза — растворим в воде. Поэтому необходимо участие желчи, которая:

- 1) улучшает взаимодействие ТАГ с липазой; эмульгирует жиры, увеличивая поверхность их соприкосновения с липазой примерно в 10^4 раз;
- 2) активирует панкреатическую липазу;
- 3) обеспечивает всасывание продуктов переваривания ТАГ в стенку тонкого кишечника.

Состав желчи: простые мицеллы с главным компонентом — желчными кислотами (схема 1/2.1), вода, соли, клетки, билирубин. Существуют разные желчные кислоты (лекция 4/2). Представляю формулу одной из них — холевой кислоты:

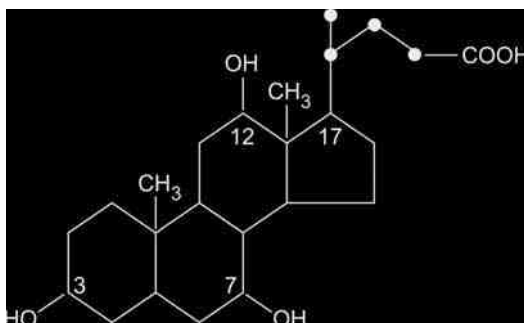
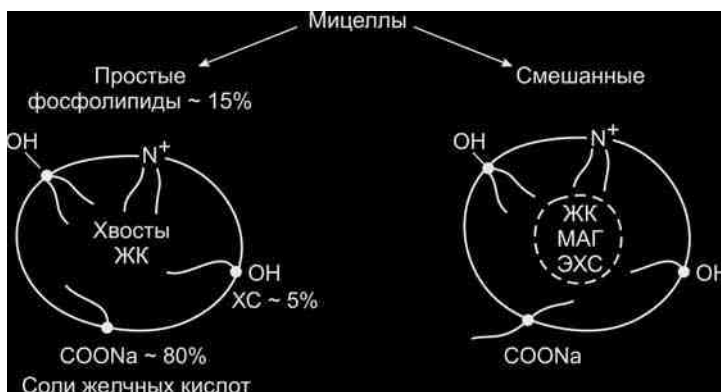


Схема 1/2.1 раскрывает структуру простых мицелл желчи и сложных мицелл, в которые упаковываются продукты переваривания липидов (ЖК, МАГ, ЭХС).

Схема 1/2.1. Простые и смешанные мицеллы желчи



Три поверхностных компонента мицелл (желчные кислоты, фосфолипиды, холестерол) уменьшают поверхностное натяжение благодаря своей амфифильности и этим облегчают эмульгирование жира в водной фазе полости тонкого кишечника и взаимодействие ТАГ с липазой.

Таблица 1/2.3

Липазы, катализирующие распад жиров в тонком кишечнике, в крови и в жировой ткани

Характеристика	Панкреатическая липаза	Липопротеин-липаза (ЛП-липаза)	Гормончувствительная ТАГ-липаза
Место катализа	Полость тонкого кишечника	Кровь (эндотелий)	Адипоциты
Активатор, индуктор	Желчь, колипаза	Гепарин, апоС-II, инсулин	Адреналин, глюкагон
Субстрат для фермента	Пищевые жиры	ТАГ в составе ХМ и ЛОНП	ТАГ жировой ткани
Главные продукты реакции	Жирные кислоты, $\beta(2)$ МАГ	Жирные кислоты, глицерол	Жирные кислоты, глицерол
Судьба продуктов реакции	Всасывание в слизистую тонкого кишечника	Проникновение в клетки органов	Выход в кровь

Панкреатическая липаза (табл. 1/2.3) синтезируется в поджелудочной железе практически в неактивной форме, но в тонком кишечнике она становится активной благодаря следующим компонентам:

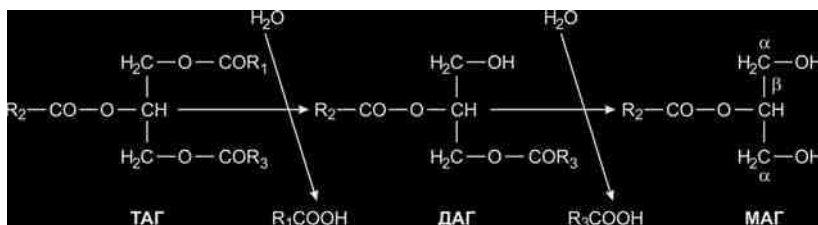
- 1) желчь, которая формируется в печени;
- 2) колипаза, которая синтезируется в поджелудочной железе в форме неактивной колипазы, но после частичного протеолиза под действием трипсина в кишечнике превращается в активную форму (при чтении лекции я обычно представляю сложный рисунок взаимодействия липазы, колипазы и желчи);
- 3) бикарбонаты образуются в поджелудочной железе и в кишечнике нейтрализуют желудочную соляную кислоту HCl, создавая слабощелочную среду с рН 7,5–8,0, оптимальную для функционирования панкреатической липазы.

В этих процессах участвуют два местных гормона, которые синтезируются в двенадцатиперстной кишке.

1. Секретин: HCl стимулирует выделение секретина в двенадцатиперстной кишке, он через кровь поступает в поджелудочную железу, вызывая там секрецию бикарбоната, и, кроме того, усиливает отток желчи в кишечник.

2. Пищевые компоненты стимулируют в поджелудочной железе секрецию холецистокинина, который усиливает сокращение желчного пузыря, секрецию желчи и секрецию «пищеварительных» ферментов из поджелудочной железы.

Итак, панкреатическая липаза катализирует в указанных оптимальных условиях следующую реакцию:



Главные продукты этой реакции – ЖК, $\beta(2)$ МАГ. Кроме того, образуются небольшие количества свободного глицерола при участии двух ферментов: β МАГ \rightarrow кишечная изомераза \rightarrow α МАГ \rightarrow панкреатическая липаза \rightarrow глицерол \rightarrow кровь \rightarrow печень. Глицерол поступает в капилляры ворсинок стенки тонкого кишечника и далее в кровь и печень.

У маленьких детей имеются и функционируют липаза корня языка и липаза желудка, которые катализируют гидролиз жиров молока, для которых характерны жирные кислоты с короткими и средними по длине жирными кислотами.

Очень маленькие капли пищевого жира размером около 0,5 мкм могут всасываться в стенку кишечника без их гидролиза панкреатической липазой.

Для профилактики или лечения ожирения рекомендуют препарат ксеникал (орлистат), который необратимо ингибирует панкреатическую липазу и усвоение пищевых жиров при условии ограничения их количества. В противном случае препарат неэффективен. Негидролизованные жиры выводятся с калом.

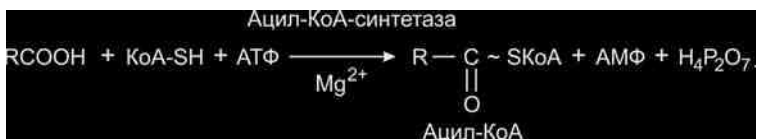
ВСАСЫВАНИЕ И АССИМИЛЯЦИЯ ПИЩЕВЫХ ЖИРОВ

Продукты переваривания пищевых липидов (ЖК, МАГ, свободный ХС) внедряются в простые мицеллы, которые трансформируются в смешанные мицеллы (схема 1/2.1). Последние абсорбируются клетками эпителия тонкого кишечника (энтероцитами) и распадаются там на свои компоненты:

ТАГ → (переваривание) ЖК, МАГ → простые мицеллы → смешанные мицеллы → энтероциты → ЖК, МАГ → ресинтез ТАГ в энтероцитах и образование хиломикроннов → ХМ, содержащие ТАГ, находятся внутри энтероцитов → ХМ поступают в кровь.

В цитозоле энтероцитов из продуктов переваривания жира происходит ресинтез жира (ТАГ).

1. Активация ЖК (RCOОН):



КоА-SH является коферментом (на базе витамина пантотеновой кислоты) для фермента ацил-КоА-синтетазы.

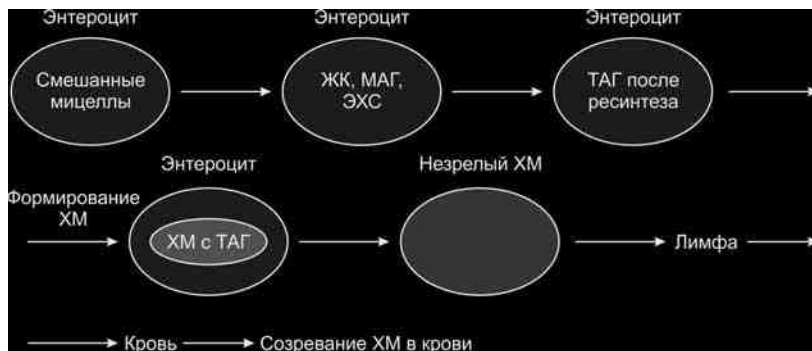
2. Собственно ресинтез:



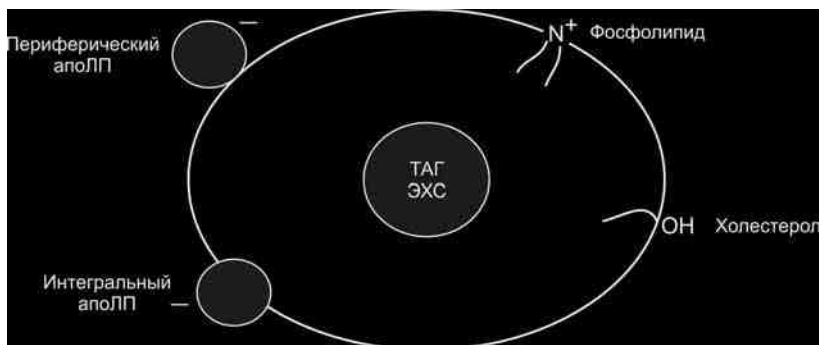
E_1 и E_2 — это ацилтрансферазы.

Конечный продукт ресинтеза является по существу пищевым жиром, но он несколько отличается по составу из-за перестановок ЖК при ресинтезе и из-за того, что часть ЖК может синтезироваться в энтероцитах из глюкозы.

Основная часть ресинтезированного ТАГ входит в состав формирующихся в энтероцитах ХМ, а очень небольшая часть (< 5%) — в ЛОНП. Далее ХМ и ЛОНП поступают из энтероцитов в лимфу и в кровь (схема 1/2.2).

Схема 1/2.2. Ресинтез жира в энтероцитах и формирование хиломикронов

ХМ являются одной из форм ЛП (схема 1/2.3, рис. 1/2.1). Все ЛП качественно близки по своим компонентам, но имеют значительные количественные отличия (см. табл. 1/2.4).

Схема 1/2.3. Типовое строение липопротеина (ЛП)

Внутренние компоненты ЛП (ТАГ, ЭХС) целиком гидрофобны. Поверхностные компоненты (ХС, ФЛ, белки) амфифильны, т.е. их внутренняя часть является гидрофобной, а находящаяся на поверхности ЛП часть гидрофильна благодаря положительным и отрицательным зарядам (для фосфатидилхолина, фосфатидилсерина и для белков) или благодаря гидрофильной незаряженной гидроксильной группе (для ХС). Белки ЛП или аполипопротеины (апоЛП) могут быть периферическими (с суммарным отрицательным зарядом) или интегральными (см. схему 1/2.3).

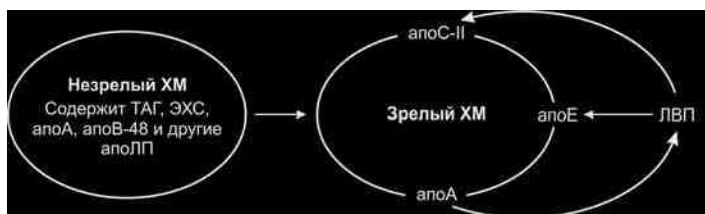
Название		Сокращение			Содержание, % натошак	Электрофорез
Биохимическое	Клиническое	Рус.	Англ.	Франц.		
Хиломикроны	—	ХМ	—	Chm	0	⊖ Старт
Лipopротейны очень низкой плотности	Пре-β-лиipopротейны	ЛОНП	VLDL	LTFD	15	
Лipopротейны низкой плотности	β-лиipopротейны	ЛНП	LDL	LFD	60	
Лipopротейны высокой плотности	α-лиipopротейны	ЛВП	HDL	LHD	25	

Рис. 1/2.1. Липидограмма или электрофореграмма липидов сыворотки крови человека в полиакриламидном геле

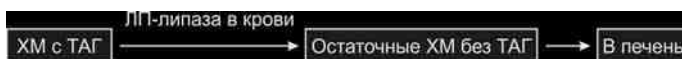
Роль apoЛП: структурная, ферментативная (например, фермент ЛХАТ), регуляторная (apoС-II, apoА-I) и в качестве мишени для клеточных рецепторов (apoЕ в ХМ для Е-рецептора гепатоцитов).

Поступающие в кровь ХМ, содержащие пищевой жир, подвергаются в крови трансформации (созреванию), заключающемуся в приобретении ими дополнительных apoлиipopротейнов — apoС-II и apoЕ, донорами которых являются ЛВП (схема 1/2.4).

Схема 1/2.4. Созревания хиломикронов в крови



Далее зрелые ХМ с пищевым жиром опять подвергаются в крови последующей модификации под действием липопротеин-липазы (ЛП-липазы). Этот фермент синтезируется в разных клетках, имеются его изоферменты. Для ЛП-липазы адипоцитов инсулин является индуктором, увеличивающим на уровне транскрипции количество молекул этого фермента при избыточном высококалорийном питании. ЛП-липаза локализуется на поверхности эндотелия капилляров с помощью гетерополисахаридной ножки (рис. 1/2.2) и катализирует распад жира внутри хиломикронов, которые при этом превращаются в остаточные или ремнанты ХМ.



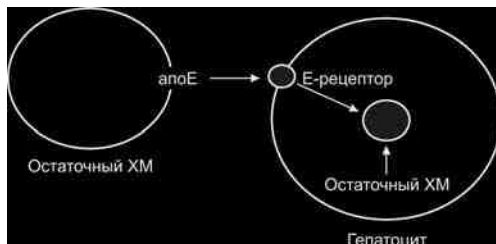
ЛП-липаза и ХМ сближаются в крови (см. рис. 1/2.2). ФЛ поверхности ХМ обеспечивают связывание ЛП-липазы с ХМ, а белок поверхности ХМ апоС-II активирует ЛП-липазу, которая катализирует полный распад ТАГ внутри ХМ:



Освободившийся глицерол поступает через кровь в печень, а ЖК — во многие другие органы как источник энергии или как субстрат для синтеза жира в жировой ткани. Исключение составляют нервные клетки, в которые ЖК не проникают.

Остаточные ХМ проникают в гепатоциты с помощью рецепторного эндоцитоза. Для этого Е-рецептор гепатоцитов взаимодействует с апоЕ на поверхности остаточного ХМ и обеспечивает его транспорт внутрь гепатоцита (схема 1/2.5).

Схема 1/2.5. Рецепторный эндоцитоз остаточных хиломикронов гепатоцитами



Внутри гепатоцита происходит распад остаточного ХМ и освобождение жирорастворимых пищевых витаминов А, D, E, К и пищевого ХС.

Ниже на рис. 1/2.2 в обобщенном виде охарактеризованы переваривание и усвоение пищевых липидов. Показаны все рассмотренные этапы и, главное, конечный этап — доставка в органы пищевых компонентов: жирных кислот — в различные органы (а при избытке пищевого жира прежде всего в жировую ткань), глицерола, жирорастворимых витаминов и холестерина — в печень. Это и является главной целью настоящей лекции.

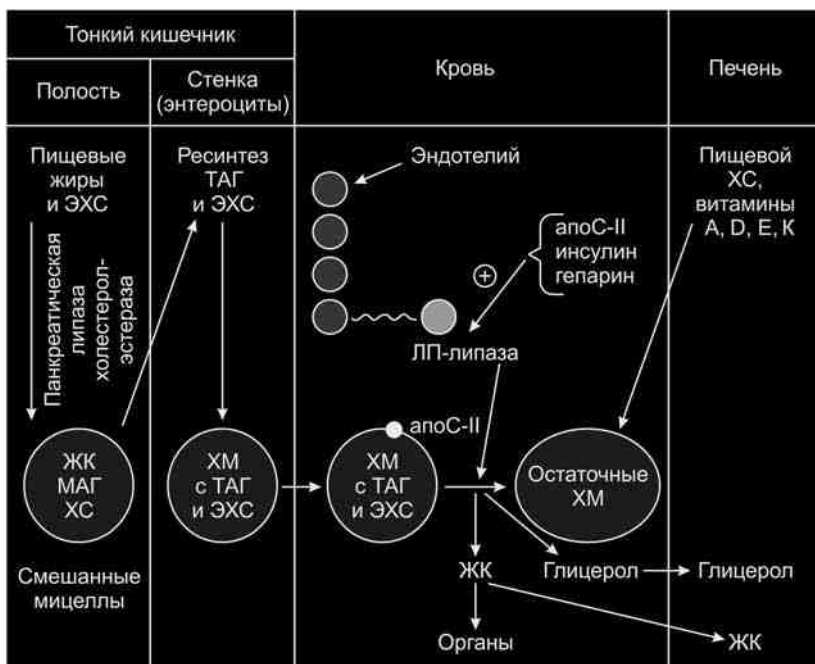


Рис. 1/2.2. Общая схема ассимиляции пищевых липидов

Сравнение состава и некоторых свойств ХМ и ЛОНП представлено в табл. 1/2.4.

Таблица 1/2.4

**Сравнительная характеристика хиломикронов
и липопротеинов очень низкой плотности**

Показатель	ХМ	ЛОНП
Содержание ТАГ	90% (пищевые жиры)	50% (жиры, синтезируемые в печени, и небольшая доля пищевых жиров)
Содержание свободного холестерина и его эфиров	6%	20%
Содержание белков	2% (апоВ-48, апоС-II, апоА, апоЕ)	10% (апоВ-100, апоС-II, апоЕ)
Содержание фосфолипидов	7%	18%
Размер (диаметр, нм)	До 500	До 75
Плотность, г/см ³	≤ 0,95	1,0
Время жизни (до распада)	Небольшое, 0,5–2,0 часа	Небольшое, 0,5–2,0 часа
Электрофоретическая подвижность	Практически отсутствует	Имеется, движение к положительному электроду

НАРУШЕНИЯ ПЕРЕВАРИВАНИЯ И АССИМИЛЯЦИЯ ПИЩЕВЫХ ЖИРОВ

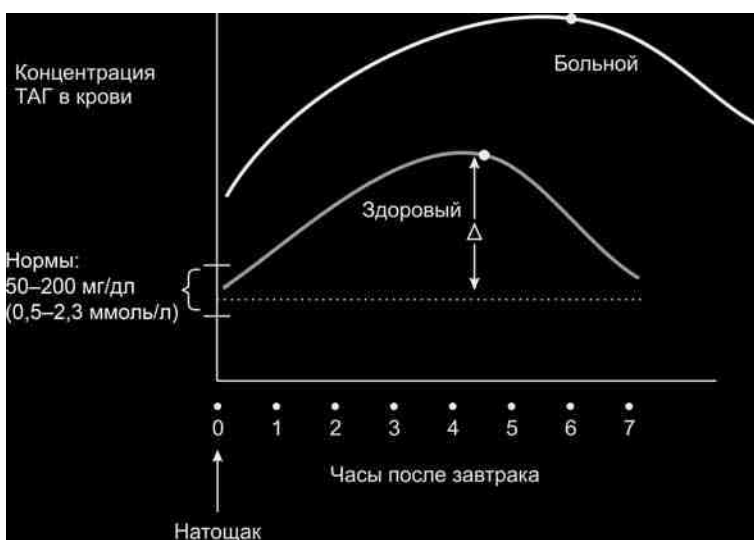
I. Ненаследственные заболевания

1. Желчнокаменная болезнь, или холелитиаз, является, как правило, ненаследственным заболеванием, вызванным различными нарушениями баланса в обмене ХС и желчных кислот и сопутствующими воспалительными процессами в желчных путях. Избыточное содержание в желчи холестерина и, реже, билирубина приводит к образованию желчных камней, к закупорке желчных путей и к недостатку желчи в двенадцатиперстной кишке. Нарушены переваривание и всасывание жиров. Симптомы: стеаторея, т.е. поступление жиров в кал, который приобретает жирный глинистый вид; печеночные боли.

2. Острый панкреатит приводит к уменьшению синтеза и секреции панкреатической липазы и к аналогичному нарушению переваривания и всасывания жиров. Симптомы: стеаторея, абдоминальные боли.

Оба заболевания при длительном течении могут вызвать дефицит жирорастворимых витаминов А, D, Е, К и полиненасыщенных жирных кислот, которые человек не синтезирует (линолевая ЖК С18:2 и α -линоленовая ЖК С18:3), с соответствующими специфическими симптомами авитаминозов.

II. Наследственное заболевание — это гиперхиломикронемия или гиперлипопротеинемия I типа, или гипертриглицеридемия.



Примечание.

1. Δ — это пищевые жиры в составе ХМ.
2. Натощак (отметка 0 часов) жиры крови находятся в составе ЛОНП (ТАГ составляют 50%), ЛНП (7% ТАГ), ЛВП (5% ТАГ).

Рис. 1/2.3. Динамика изменения концентрации жира в крови человека после еды

Заболевание вызвано чаще всего мутацией гена и дефицитом активности ЛП-липазы, реже — наследственным дефицитом

активатора ЛП-липазы — белка апоС-II или какими-то невыясненными нарушениями процессов созревания ХМ. ЛП-липаза не функционирует или работает слабо, и поэтому в крови больного находится много ХМ и пищевого жира. Сыворотка пациентов даже натощак является мутной из-за избытка жира: ХМ содержат около 90% жира, и они имеют большие размеры (см. табл. 1/2.4), поэтому ХМ рассеивают свет. При выдерживании такой сыворотки в течение нескольких часов ХМ всплывают (флотируют), так как их плотность меньше, чем у воды, и на поверхности жидкости формируется жирный сметанообразный слой.

Симптомы: эруптивные ксантомы на коже, увеличение селезенки и почек (*lipemia renalis*), хронический панкреатит, абдоминальные боли, иногда плохое зрение и ухудшение памяти.

На рисунке 1/2.3 приведены кривые динамики изменения концентрации ТАГ в крови здорового и больного человека после приема пищи.

Лекция 2/2

БИОСИНТЕЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ЖИРОВ

ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ

Прежде всего надо выучить краткие формулы ЖК. Запомните:

1. Название ЖК, например, стеариновая жирная кислота.
2. Код этой ЖК:

$C_{18}:0 \leftarrow$ число ненасыщенных двойных связей
↑
число атомов углерода

3. Краткие формулы можно рассчитать в соответствии с таблицей 2/2.1.

Таблица 2/2.1

Краткие формулы жирных кислот

Краткая формула жирной кислоты	Число двойных связей
Насыщенная ЖК $C_nH_{(2n+1)}COOH$	0
Ненасыщенные ЖК:	
$C_nH_{(2n-1)}COOH$	1
$C_nH_{(2n-3)}COOH$	2
$C_nH_{(2n-5)}COOH$	3
$C_nH_{(2n-7)}COOH$	4

Примечание. $N = n + 1$ — это общее число атомов углерода в ЖК.

Итак, стеариновая кислота:

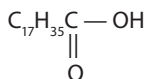


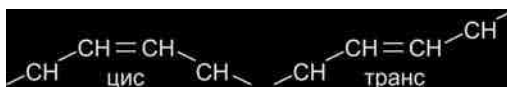
Таблица 2/2.2

Жирная кислота

Жирная кислота	Код	Краткая формула
<i>Жирные кислоты насыщенные</i>		
Пальмитиновая	C16:0	C ₁₅ H ₃₁ COOH
Стеариновая	C18:0	C ₁₇ H ₃₅ COOH
Миристиновая	C14:0	C ₁₃ H ₂₇ COOH
<i>Жирные кислоты ненасыщенные</i>		
Пальмитоолеиновая	C16:1	C ₁₅ H ₂₉ COOH
Олеиновая	C18:1	C ₁₇ H ₃₃ COOH
Линолевая	C18:2	C ₁₇ H ₃₁ COOH
Линоленовая	C18:3	C ₁₇ H ₂₉ COOH
Арахидоновая	C20:4	C ₁₉ H ₃₁ COOH
Эйкозапентаеновая (или темнодоновая)	C20:5	C ₁₉ H ₂₉ COOH

Свойства ЖК человека:

- 1) общее число атомов углерода N = 12–24; для главных ЖК N = 16 и 18;
- 2) число атомов углерода парное (12, 14, 18...);
- 3) ЖК линейные, без разветвлений;
- 4) количество насыщенных ЖК несколько меньше, чем ненасыщенных, в зависимости от органа и ткани;
- 5) ненасыщенные ЖК в биохимических структурах имеют цис-конфигурацию, при метаболизме могут образовываться и транс-ЖК:



- 6) каждая молекула ТАГ содержит смесь разных ЖК, при этом ненасыщенные жирные кислоты занимают преимущественно позицию β(2).

Жирные кислоты находятся:

- 1) в составе ТАГ, ЭХС, фосфолипидов, гликолипидов, смешанных мицелл;
- 2) в крови в форме комплексов с альбуминами в количестве 10–30 мг/дл; у беременных женщин — дополнительно

в форме комплексов с α -фетопротеином; это транспортные формы ЖК по крови.

Источники ЖК человека:

- 1) пищевые жиры;
- 2) ЖК, синтезируемые из глюкозы.

БИОСИНТЕЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

(Нобелевская премия 1964 г.)

Синтез ЖК происходит в цитозоле многих органов при условии наличия субстрата (ацетил-КоА) и энергии (АТФ).

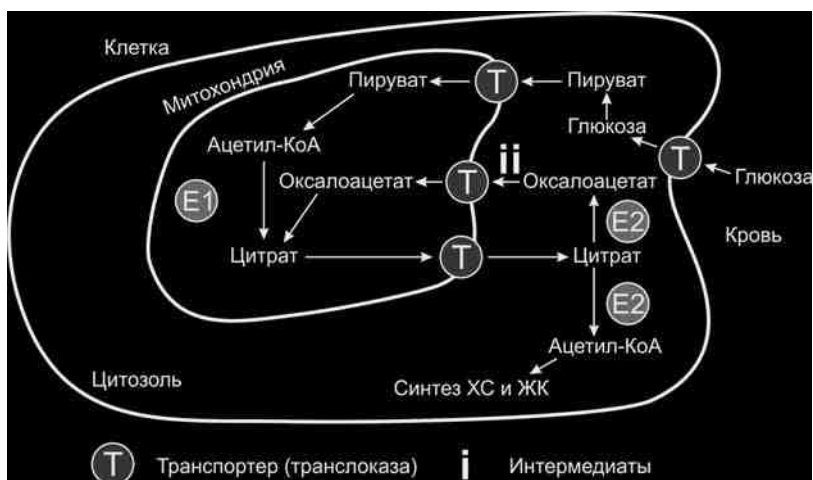
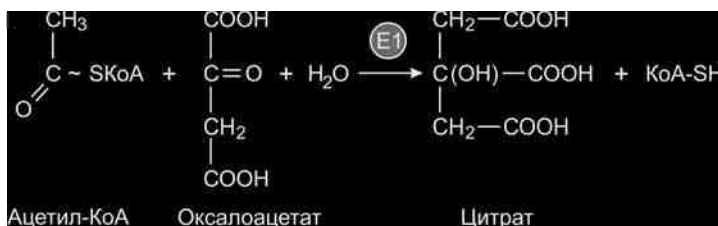
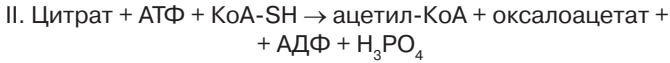


Рис. 2/2.1. Подготовительные этапы синтеза ЖК из глюкозы

Предварительные реакции



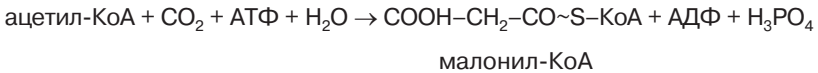
Фермент E1 — цитратсинтаза



Фермент E2 — цитратлиаза

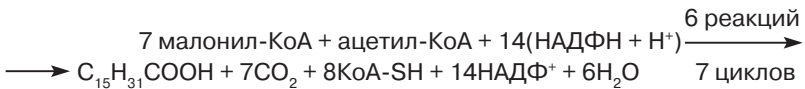
Непосредственные реакции синтеза ЖК на примере базовой пальмитиновой кислоты в условиях избытка ацетил-КоА и АТФ (например, после избыточного приема пищи).

1. Первая фаза из одной реакции, катализируемой ацетил-КоА-карбоксилазой (кофермент биотин), заканчивается синтезом малонил-КоА (3С):



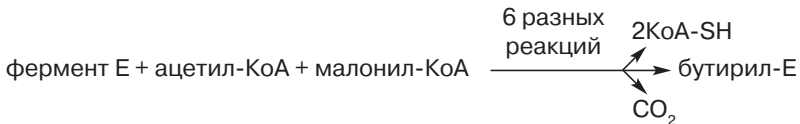
2. Вторая фаза из шести разных реакций (катализируемых одним ферментом E — синтазой ЖК), которые циклически повторяются семь раз (схема 2/2.1) в случае синтеза пальмитиновой кислоты. Число циклов рассчитывается для разных ЖК по формуле $m = N/2 - 1$, где N — общее число атомов углерода в данной ЖК. Для пальмитиновой кислоты $m = 16/2 - 1 = 7$.

Суммарная реакция второй фазы:



Некоторая детализация:

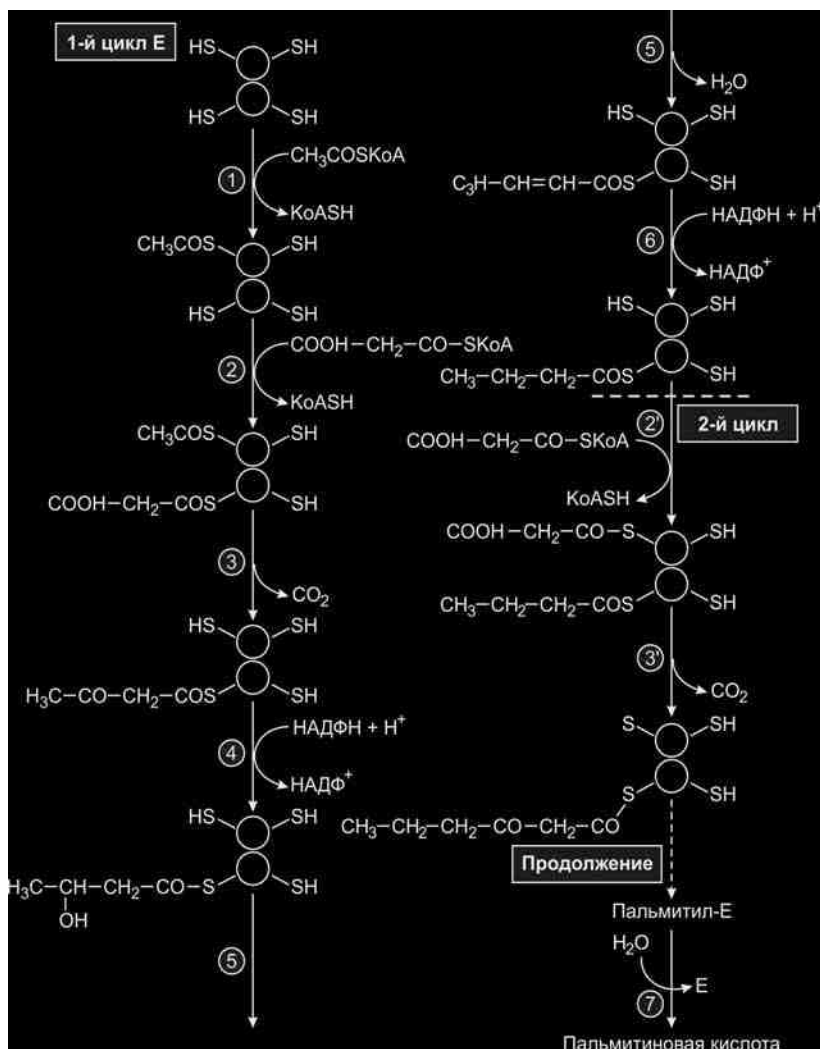
а) первый цикл (из шести реакций) второй фазы — конденсация двухуглеродного ацетил-КоА (2С) и трехуглеродного малонил-КоА (3С) с освобождением CO_2 :



Так образуется четырехуглеродная бутановая ЖК в комплексе с ферментом — бутирил-Е (4С-Е).

б) второй цикл конденсации бутирил-Е с малонил-КоА дает аналогичным способом шестиуглеродную капроновую кислоту (6С-Е).

Схема 2/2.1. Вторая фаза синтеза пальмитиновой кислоты



Примечание. Цифры указывают номера реакций и частные названия катализирующих их активных центров синтазы ЖК: 1 — ацетилтрансфераза; 2 — малонилтрансфераза; 3 — β -кетоацилсинтаза; 4 — β -кетоацилредуктаза; 5 — еноилгидратаза; 6 — еноилредуктаза; 7 — тиоэстераза.

И так происходят следующие пять циклов, каждый из которых включает шесть реакций, с конечным образованием пальмитиновой кислоты $C_{16}:0$, $C_{15}H_{31}COOH$.

Следовательно, синтез ЖК осуществляется путем последовательного добавления двух атомов углерода за счет ацетил-КоА (через малонил-КоА) в каждом цикле.

Для синтеза одной молекулы пальмитиновой кислоты необходимо израсходовать семь молекул АТФ (по одной АТФ на каждый цикл для образования малонил-КоА); 14 молекул НАДФН (по 2 НАДФН на каждый цикл в реакциях № 4 и 6 схемы 2/2.1); восемь молекул ацетил-КоА.

Все реакции второй фазы катализирует полифункциональный фермент — синтаза ЖК или пальмитилсинтаза, которая включает:

- 1) кофермент 4'-фосфопантетеин (на базе витамина — пантотеновой кислоты);
- 2) две идентичных полипептидных цепи доменного строения. Каждая цепь содержит шесть основных активных центров (со своими специфическими названиями) для шести рассмотренных реакций в каждом цикле и 7-й центр — тиоэстеразу, отделяющую конечную пальмитиновую кислоту от фермента Е (см. схему 2/2.1), а также вспомогательный ацилпереносящий белок.

Синтаза ЖК (сложный, доменный, олигомерный белок) имеет четыре центра связывания с SH-группами фосфопантетеина (ФП) и цистеина (Цис) (рис. 2/2.2), которые обеспечивают одновременный синтез двух ЖК с двух сторон этого фермента.

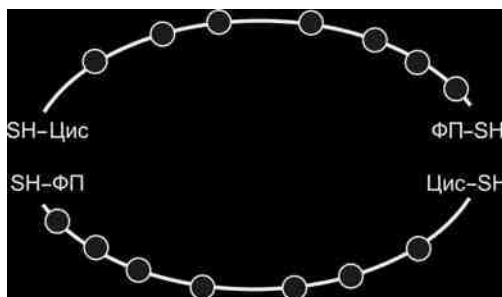


Рис. 2/2.2. Краткое строение синтазы ЖК

Типы химических реакций второй фазы (см. схему 2/2.1): конденсация (реакции № 1, 2, 3); дегидратация (№ 5); восстановление с помощью НАДФН (№ 4 — восстановление карбоксильной группы, № 6 — восстановление двойной ненасыщенной связи); № 7 — гидролитическое разделение ЖК и фермента E.

НАДФН, участвующий в реакциях восстановительных синтезов, является источником и энергии, и атомов водорода для этих реакций. Напомним, что в клетках (кроме эритроцитов) 50% НАДФН образуется в пентозофосфатном пути распада глюкозы и остальные 50% — в реакциях окисления изоцитрата и малата в цитозоле (лекции 11/1 и 15/1).

РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Интенсивность синтеза ЖК в организме регулируется в зависимости от физиологического или патологического состояния человека.

I. После приема высококалорийной пищи (постабсорбтивный период) создается повышенный уровень глюкозы крови, которая, во-первых, служит субстратом для синтеза ЖК и ТАГ, а во-вторых, стимулирует секрецию инсулина.

Инсулин ускоряет поступление глюкозы в клетки инсулин-зависимых органов, в том числе в жировую ткань (лекция 13/1) и активирует многие регуляторные ферменты:

- некоторые ферменты гликолиза и пентозофосфатного пути, обеспечивающие синтез АТФ и НАДФН соответственно;
- синтазу ЖК (на уровне транскрипции, т.е. индукции);
- ацетил-КоА-карбоксилазу (на уровне транскрипции или способом дефосфорилирования E-ОН).

Для ацетил-КоА-карбоксилазы имеются, кроме того, аллостерические активаторы (цитрат, АТФ) и ингибиторы (АДФ, сами ЖК в активированном виде, т.е. ацил-КоА).

Полезно выделить роль цитрата в синтезе ЖК как:

- источника энергии для образования АТФ;
- транспортера ацетил-КоА из митохондрий в цитозоль (см. рис. 2/2.1);
- активатора ацетил-КоА-карбоксилазы.

II. При интенсивной физической работе (секреция адреналина), при голодании и сахарном диабете (относительный избыток глюкагона) указанные гормоны фосфорилируют ацетил-КоА-карбоксилазу (через АЦС) и этот фермент E-OP₃H₂ теряет активность. Синтез ЖК и ТАГ прекращается или ослабевает.

Пальмитиновая кислота является основой для синтеза более длинных ЖК и ненасыщенных ЖК в эндоплазматическом ретикулеуме при участии многих других ферментов (элонгазы, десатуразы).

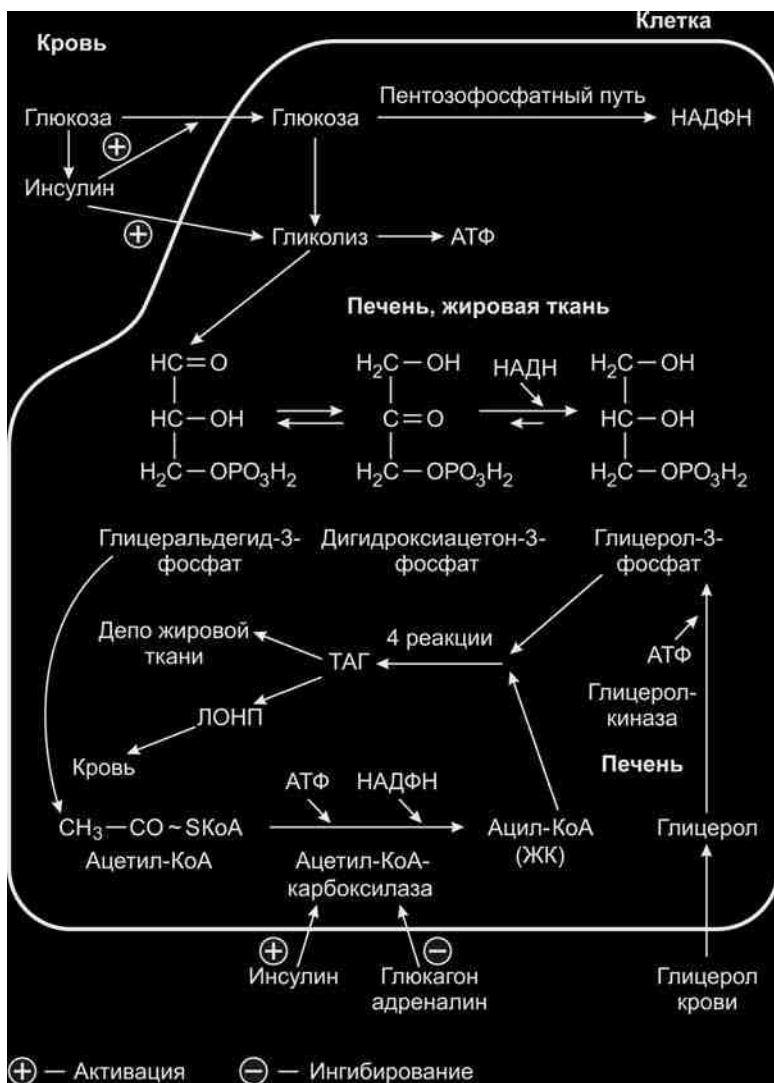
Существуют также полиненасыщенные ЖК, которые в организме человека не синтезируются, но они поступают с пищей как необходимые нутриенты на правах витаминов. Это линолевая, α-линоленовая кислоты и условно незаменимая арахидоновая кислота (табл. 2/2.3).

Таблица 2/2.3

Полиненасыщенные жирные кислоты

<p>ω6 жирные кислоты $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{---CH=CH-CH}_2\text{---COOH}$ ω1 ω2 ω6 ω7</p>	<p>ω3 жирные кислоты $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{---COOH}$ ω1 ω2 ω3 ω4</p>
<p>линолевая C18:2 (9,12) $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH}$ (в растительных маслах)</p> <p>↓</p> <p>γ-линоленовая C18:3 (6,9,12) $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$ (в растительных маслах)</p> <p>↓</p> <p>C20:3</p> <p>↓</p> <p>возможен синтез в организме человека арахидоновая C20:4 (5, 8, 11, 14) $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{COOH}$ (арахис, фосфолипиды мяса и печени)</p>	<p>α-линоленовая C18:3 (9,12,15) $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$ (в растительных маслах, особенно в льняном масле)</p> <p>↓</p> <p>C18:4 C20:4</p> <p>↓</p> <p>эйкозапентаеновая C20:5 (5, 8, 11, 14, 17) $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{COOH}$ (из морского планктона поступает в рыбы и в животные северных и дальневосточных морей)</p>
<p>ЭЙКОЗАНОИДЫ</p>	

Схема 2/2.2. Синтез жира и его регуляция

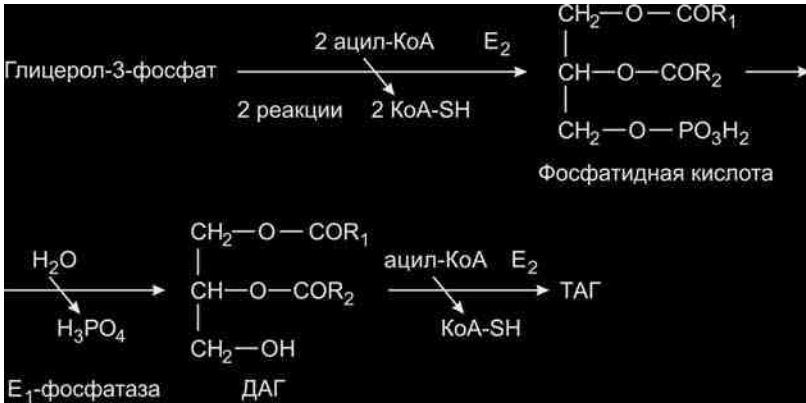


БИОСИНТЕЗ ЖИРОВ (ТАГ)

После обильной пищи с избытком глюкозы начинается синтез жирных кислот и жиров в разных органах, но особенно в жировых клетках и в печени.

Рассмотрите главную схему синтеза и депонирования жиров (схема 2/2.2).

Молекула жира образуется из двух компонентов — из жирных кислот и из глицерола, точнее, из ацил-КоА и глицерол-3-фосфата. Эти две части соединяются благодаря четырем реакциям:



Главные ферменты в этих реакциях — ацилтрансферазы E₂.

Все компоненты для синтеза жира образуются в результате катаболизма глюкозы: ацетил-КоА, АТФ, НАДФН, глицерол-3-фосфат.

В таблице 2/2.4 и в схеме 2/2.2 отражены некоторые особенности и различия в синтезе жиров в печени и жировой ткани. Эти различия связаны с предшественниками для ацил-КоА и для глицерол-3-фосфата. Наиболее существенно следующее. В адипоцитах глицерол-3-фосфат образуется только из глюкозы, а в печени — и из глюкозы, и из поступающего в печень из крови глицерола. В печени только глюкоза является предшественником ЖК (ацил-КоА) (см. схему 2/2.2), но в жировой ткани для ЖК может быть три источника (глюкоза, пищевые ЖК и ЖК, синтезированные в печени).

Таблица 2/2.4

Источники предшественников для синтеза жира

Предшественник	Печень	Жировая ткань
	Предшественник образуется из	
Глицерол-3-фосфат	1. Глюкозы. 2. Глицерола	Глюкозы
Ацил-КоА	Глюкозы	1. Глюкозы. 2. Пищевых жирных кислот, доставляемых ХМ. 3. Синтетических жирных кислот, доставляемых ЛОНП из печени

Необходимо также отметить различия в судьбе жира, синтезированного в разных органах: 1) жир (ТАГ) адипоцитов остается в жировой ткани в качестве резервного жира (депо жира); 2) жир печени здорового человека включается в состав ЛОНП, которые поступают в кровь. Подчеркиваю, что ЛОНП является транспортной формой (по крови) эндогенного жира, синтезируемого в печени. Как я указывал в лекции 1/2, очень небольшое количество ЛОНП образуется в энтероцитах, включая в свой состав пищевой жир. Далее ЛОНП в крови подвергается действию ЛП-липазы аналогично действию последнего фермента на ХМ (лекция 1/2). Более подробно этот этап отражен на рис. 2/2.3.

На нем показано, что в печени из избыточной глюкозы синтезируется жир (ТАГ) и холестерол (ХС), которые упаковываются там же в ЛОНП. Последние включают и пищевой ХС, освободившийся в печени при распаде остаточных ХМ (лекция 1/2). Повторяю: ЛОНП печени кумулирует в себе синтезированный в печени жир, а также синтезированный в печени холестерол и пищевой холестерол. После переноса в кровь ЛОНП подвергаются там каталитическому действию ЛП-липазы с распадом большей части содержащегося в них жира по механизму, описанному выше для взаимодействия ХМ и ЛП-липазы. Глицерол возвращается в печень, а ЖК транспортируются во многие органы и клетки (кроме нейронов и эритроцитов) в качестве источника энергии после их окисления. В жировой ткани ЖК (точнее, ацил-КоА) используются для объединения с глицерол-3-фос-

фатом, и таким образом синтезированные в печени здорового человека ЖК (из избыточной глюкозы) увеличивают жировое депо в адипоцитах.

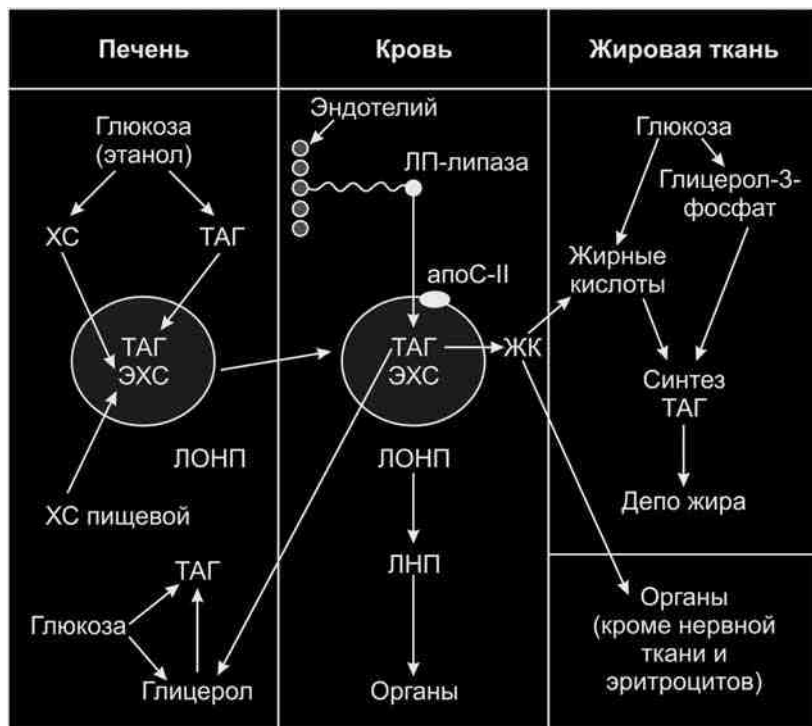


Рис. 2/2.3. Транспорт (в составе ЛОНП) синтезируемого в печени жира в другие органы

РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА ЖИРА

Регуляция синтеза жира происходит аналогично и параллельно с регуляцией синтеза ЖК (см. выше).

I. После процесса высококалорийного питания и повышения уровня глюкозы крови секретируемый инсулин, во-первых, стимулирует поступление глюкозы в клетки инсулинзависимых органов. Во-вторых, он увеличивает активность ферментов энергетического обмена и ферментов синтеза ЖК. В-третьих, инсу-

лин ингибирует ТАГ-липазу (см. следующую лекцию) и этим останавливает распад жира в жировой ткани.

II. При голодании (глюкагон) и интенсивной физической работе (адреналин) происходит фосфорилирование и ингибирование регуляторного фермента синтеза ЖК и соответственно торможение синтеза ЖК и жира, а вследствие фосфорилирования ТАГ-липазы жировой ткани ускоряется в ней распад жира (следующая лекция). Секреция инсулина практически отсутствует и его влияние на обмен ТАГ не проявляется.

Общая картина синтеза ЖК, ТАГ и регуляция этих процессов представлены на схеме 2/2.2.

ЖИРОВЫЕ ДЕПО

1. Мобильное депо — это жир, содержащийся в ХМ и ЛОНП крови. Массовая доля ТАГ в этих ЛП составляет соответственно 90 и 50%. В течение дня жир этих ЛП подвергается распаду под действием ЛП-липазы, и продукты гидролиза используются органами как источник энергии и для других целей. Поэтому продолжительность существования ХМ и ЛОНП в крови небольшая и не превышает 0,5–2,0 ч.

2. Консервативное депо — это жир адипоцитов, который составляет примерно 15% от массы тела здорового человека и обновляется очень медленно (около 100 дней). Существенное увеличение массы жира в адипоцитах приводит к ожирению.

3. Для компетенции будущих врачей следует выделить также жировое депо алкоголика, и не только в жировой ткани, но и в печени. Ожирение печени при систематическом употреблении алкогольных напитков вызвано комплексом причин: усилены синтезы в печени ЖК, ТАГ и холестерина, а вследствие нарушения синтезов белка и фосфолипидов замедлено образование в печени ЛОНП, которые в норме освобождают печень от избыточных липидов. Возникает ожирение печени, жировой гепатоз и т.д. вплоть до цирроза.

ОЖИРЕНИЕ

Не вдаваясь в клинические детали о разных видах ожирения, выделим только некоторые причины этой условной патологии.

Ненаследственные или вторичные формы ожирения связаны со слабой физической активностью и высококалорийным питанием (суточное потребление жиров превышает 80–100 г, углеводов — 500 г). Некоторые заболевания, например сахарный диабет 2-го типа, сопровождаются или предшествуют иногда ожирению.

Из генетических причин биохимики и эндокринологи любят выделять сегодня, во-первых, мутации генов гормона лептина и/или его рецепторов в гипоталамусе с понижением способности лептина угнетать центр аппетита. Белок лептин (145 аминокислот) синтезируется в адипоцитах и является в настоящее время объектом детального изучения вплоть до создания соответствующего лекарства. Однако выявлено, что любая форма мужского ожирения приводит к усиленной продукции адипоцитами нормального лептина, который по каким-то механизмам тормозит выработку тестостерона, и поэтому возникает импотенция, хотя связь ожирения и импотенции известна уже давно. Вторая группа наследственных причин ожирения связана с нарушениями энергетического обмена: сильное сопряжение окисления метаболитов с окислительным фосфорилированием АДФ и с образованием АТФ сберегает у человека глюкозу и создает ее избыток, расходующийся далее для синтеза жира. Напротив, некоординированные и повышенные скорости прямых и обратных реакций так называемых субстратных циклов (лекция 14/1) приводят к расходу АТФ и к уменьшению риска ожирения.

Профилактика и лечение ожирения как полифакториальной и полигенной патологии в современной медицине находятся в состоянии постоянного поиска. Можно перечислить соответствующие направления без указания их эффективности.

- Образ жизни и питания.
- Ксеникал (орлистат), тормозящий переваривание пищевых жиров, как ингибитор липазы в полости кишечника.
- Ингибиторы аппетита — лептин (в перспективе) и уже сегодня — прозак (флуоксетин) как ингибитор обратного захвата серотонина в синапсах.
- Препараты, ускоряющие окислительный распад жирных кислот, например карнитин — активатор β -окисления ЖК.
- Фибраты — активаторы ЛП-липазы.

- Различные хирургические методы вплоть до ограничения или уменьшения объема желудка.
- Индивидуально используется метод проб и ошибок: если при ожирении человека выявлен низкий уровень гормонов щитовидной железы, то назначают йодтиронины как ускорители катаболизма; если при мужском ожирении снижен уровень тестостерона, то в тех же целях проводится курс андрогенизации.

Лекция 3/2

МОБИЛИЗАЦИЯ ЖИРА И КАТАБОЛИЗМ ЖИРНЫХ КИСЛОТ. КЕТОНОВЫЕ ТЕЛА. ЭЙКОЗАНОИДЫ

Жиры, содержащиеся в адипоцитах, являются источником энергии и расходуются в случае голодания, физической работы и ряда заболеваний. При этих состояниях человека синтез ТАГ останавливается, а распад ТАГ или мобилизация жира становятся интенсивными. Как? Благодаря гормонам — глюкагону и адреналину. Эти гормоны активируют регуляторный фермент мобилизации жира — ТАГ-липазу способом ее фосфорилирования через АЦС (рис. 3/2.1), и она катализирует суммарную реакцию:



Детализация: полный распад ТАГ происходит в три стадии с участием трех липаз, из которых именно первая — гормончувствительная липаза — активируется гормонами.

На рисунке 3/2.1 демонстрируется активирующий эффект адреналина (через β_3 -адренорецепторы адипоцитов) и глюкагона. Напротив, инсулин (после приема пищи) дефосфорилирует и инактивирует ТАГ-липазу непрямым путем (активация фосфодиэстеразы (ФДЭ), которая катализирует распад цАМФ, инактивация протеинкиназы А). Одна из экзаменационных задач требует от студента объяснения, почему чай, кофе, кофеин, теобромин и другие лекарства повышают физическую и умственную активность человека. Ответ: эти факторы ингибируют ФДЭ, увеличивают продолжительность действия цАМФ, протеинкиназы

и соответственно ТАГ-липазы и гликогенфосфорилазы. Поэтому в крови и органах пациента повышается содержание жирных кислот и глюкозы, обеспечивающих высокую работоспособность.

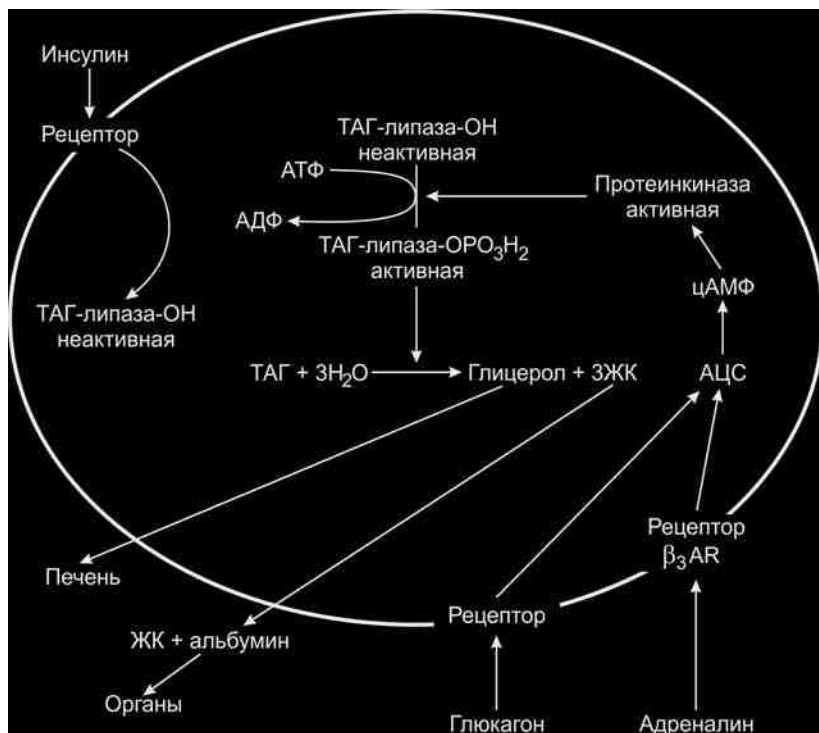


Рис. 3/2.1. Мобилизация жира в адипоцитах

Основная масса ЖК (плохо растворимых в водных средах) транспортируется по крови в комплексе с альбумином и проникает в органы и клетки (кроме нейронов и эритроцитов), предварительно освободившись от своего транспортера.

Онкологическая патология – феохромоцитома и феохромобластома. Это доброкачественная или соответственно злокачественная опухоли мозгового вещества надпочечников, продуцирующего в этом случае увеличенные количества адреналина или норадреналина. При избытке адреналина у больного повышенный уровень в крови глюкозы и жирных кислот, при

гиперпродукции норадреналина — симптомы гипертонической болезни.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ КАТАБОЛИЗМ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В МИТОХОНДРИЯХ

Окислительный катаболизм жирных кислот в митохондриях является процессом полного окисления ЖК до CO_2 , H_2O с образованием АТФ, т.е. это энергетический аэробный процесс. Он происходит во многих органах и клетках, кроме:

- эритроцитов (не имеют митохондрий);
- нервной системы (ЖК не проникают через гематоэнцефалический барьер).

Полное окисление ЖК состоит из трех этапов.

1. Специфический этап или β -окисление, которое начинается с ЖК, точнее, с ацил-КоА и заканчивается образованием НАДН и QH_2 и ацетил-КоА. Для профилактики студенческих ошибок: этот этап не дает образования ни одной молекулы АТФ.
2. Общий путь катаболизма (ОПК), а точнее его вторая часть, — цитратный цикл: начало — с ацетил-КоА, конец — CO_2 , НАДН, QH_2 (или ФАДН_2), одна молекула АТФ, образующаяся способом субстратного фосфорилирования АДФ.
3. Цепь переноса электронов (ЦПЭ), в которой при поглощении кислорода и окислении водорода НАДН и QH_2 образуется метаболическая вода и основное количество АТФ (способом окислительного фосфорилирования АДФ).

Катаболизм ЖК происходит циклами путем последовательного отделения двух атомов углерода в виде ацетил-КоА. В каждом цикле четыре реакции, число циклов (как и при синтезе ЖК) $m = N/2 - 1$, где N — общее число атомов углерода в ЖК (лекция 2/2). Так как главное назначение рассматриваемого процесса — синтез АТФ, то надо уметь рассчитывать количество АТФ, образующейся из одной молекулы ЖК (RCOOH), по формуле:

$$\text{число АТФ} = [(N/2 - 1) \times 5 + N/2 \times 12] - 1.$$

Например, для базовой пальмитиновой кислоты $\text{C}_{16}:0$ ($\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$) $m = 7$ и число молекул АТФ = 130.

Первый этап — β -окисление начинается со сложного перемещения ЖК из крови в митохондрии клетки (рис. 3/2.2).

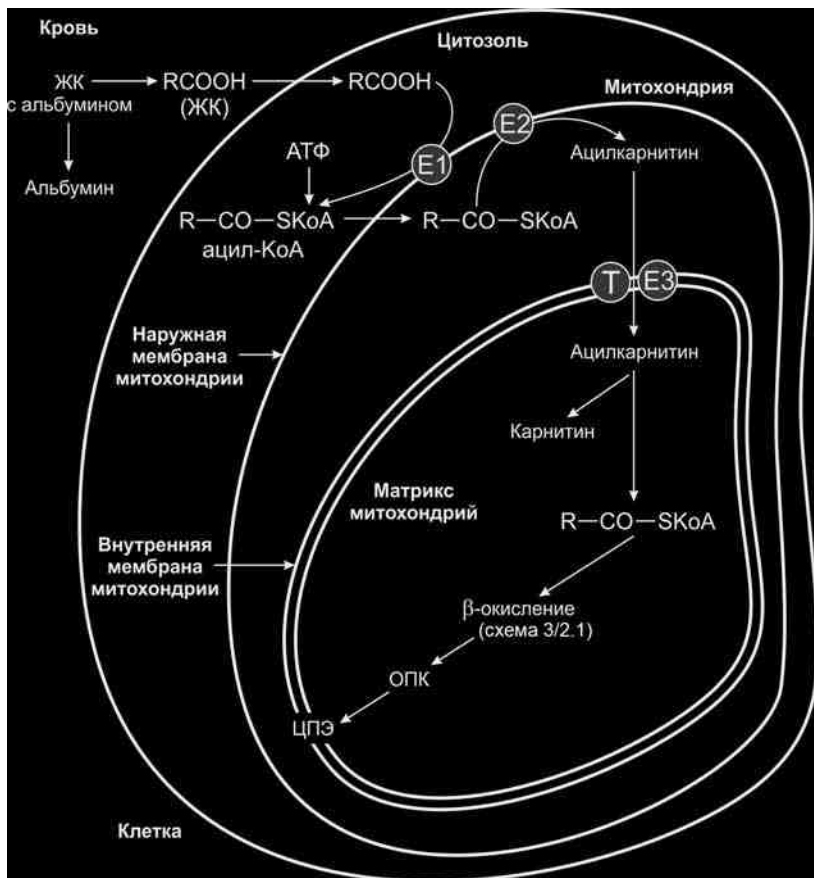
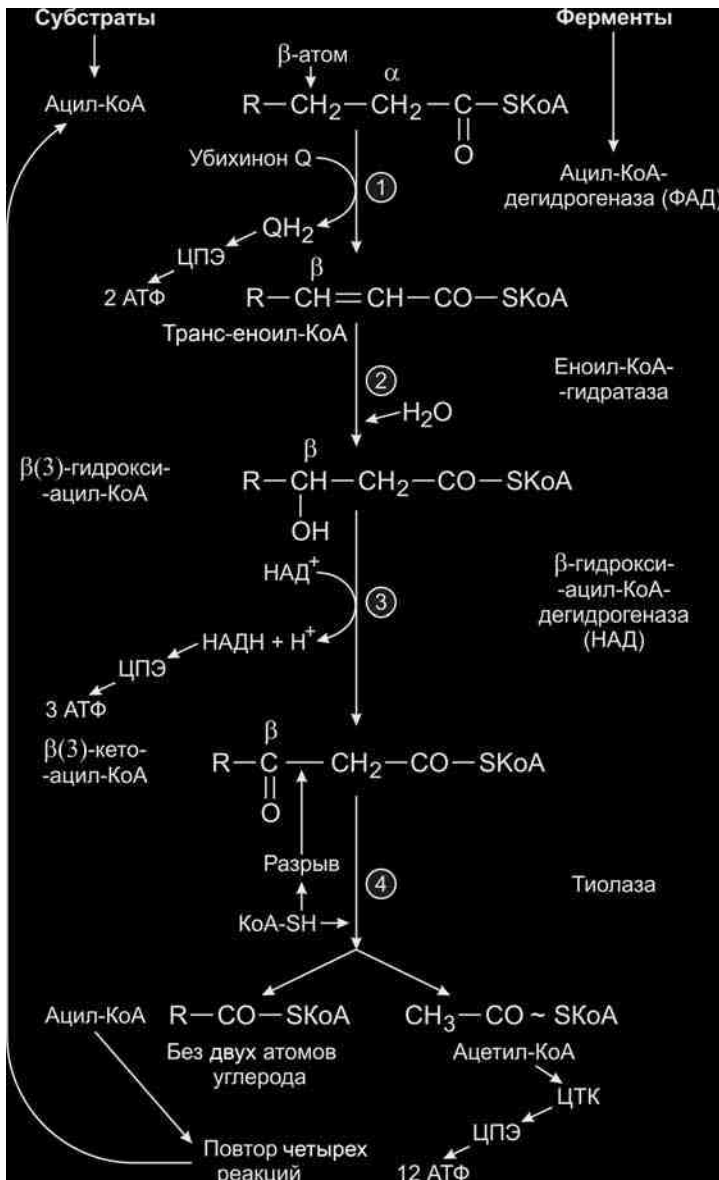


Рис. 3/2.2. Начало специфического этапа окислительного катаболизма ЖК.
Примечание. Т — транслоказа; E1 — ацил-КоА-синтетаза; E2 — карнитинацил-трансфераза I (изофермент I); E3 — карнитинацилтрансфераза II (изофермент II)

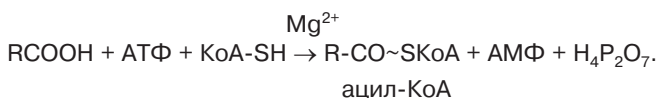
Жирная кислота, освободившись от альбумина, проникает в цитозоль клетки способом простой диффузии. После активации на внешней поверхности наружной мембраны митохондрий ферментом E1 жирная кислота в форме ацил-КоА проходит через наружную мембрану в межмембранное пространство, где

Схема 3/2.1. Реакции β -окисления жирных кислот с последующими ОПК и ЦПЭ



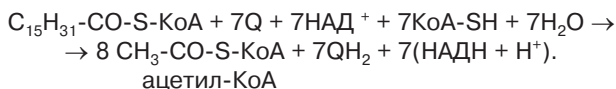
с помощью второго фермента наружной мембраны E2 превращается в ацилкарнитин. Последний через внутреннюю митохондриальную мембрану перемещается в матрикс митохондрий и при участии фермента внутренней мембраны E3 вновь превращается в ацил-КоА (см. рис. 3/2.2). Эти сложности связаны с непроницаемостью внутренней мембраны для ацил-КоА в отличие от ацилкарнитина.

Реакция энергетической активации ЖК с ферментом — ацил-КоА-синтетазой:



Далее в матриксе митохондрий происходят циклами реакции β-окисления ацил-КоА — по четыре реакции в каждом цикле (схема 3/2.1). В результате β-метиленовая группа ЖК превращается в β-карбонильную группу, что и обусловило название процесса. После каждого цикла образующийся ацетил-КоА вступает в ОПК и в ЦПЭ, а укороченная на два атома углерода ЖК (ацил-КоА) повторно проходит четыре реакции β-окисления.

Суммарная реакция β-окисления активированной пальмитиновой кислоты:

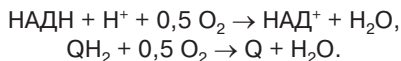


Хочу помочь студентам, подсказав, какие витамины и ко-ферменты непосредственно участвуют в реакциях β-окисления (см. схему 3/2.1): витамин B₂ и ФАД (реакция 1), никотиновая кислота и НАД⁺ (реакция 3), пантотеновая кислота и КоА-SH (во всех реакциях).

Используя принципы расчета, изложенные в энергетическом обмене (лекции 10/1 и 11/1), и даже без представленной выше формулы, суммарная реакция позволяет вычислить, что при полном окислении пальмитоил-КоА (включая ОПК и ЦПЭ) образуется 131 молекула АТФ.

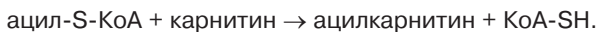
Окисление ЖК — процесс аэробный, требующий наличия кислорода, хотя последний отсутствует во всех приведенных выше реакциях. Кислород участвует в ЦПЭ, а именно в реакци-

ях окисления НАДН и QH_2 , образующихся в самом β -окислении (реакции № 3 и 1, схема 3/2.1) и в цитратном цикле:



Окисление ЖК — процесс регулируемый, скорость которого изменяется в зависимости от энергетических потребностей организма. Регуляция возможна как на втором этапе — ОПК (лекция 11/1), так и на этапе β -окисления посредством изменения ферментативной активности клеток.

Регуляторным ферментом β -окисления является карнитинацилтрансфераза I E2 наружной мембраны митохондрий (см. рис. 3/2.2), катализирующая в межмембранном пространстве митохондрий реакцию:



Регуляторы карнитинацилтрансферазы I (E2, рис. 3/2.2 и 3/2.3):

- 1) аллостерические активаторы — избыток ЖК (ацил-КоА), АДФ, АМФ;
- 2) активаторы с непрямым механизмом действия — глюкагон и адреналин (через малонил-КоА, см. ниже);
- 3) аллостерические ингибиторы — малонил-КоА, АТФ;
- 4) ингибитор с непрямым механизмом действия — инсулин (через малонил-КоА).

Перечисленные регуляторы-эффекторы функционируют в соответствии с некоторыми принципами. Логично, что избыток субстрата (жирных кислот) для процесса собственного катаболизма должен активировать тот или иной фермент этого катаболизма. Избыток АДФ и АМФ приводит к недостатку АТФ (суммы этих трех нуклеотидов в клетке постоянны), и поэтому АДФ и АМФ — активаторы, а АТФ как носитель биохимической энергии — ингибитор процесса собственного синтеза. Адреналин и глюкагон ингибируют, инсулин активирует регуляторный фермент синтеза малонил-КоА — ацетил-КоА-карбоксилазу E1 (рис. 3/2.3, а в предыдущей лекции 2/2 — схема 2/2.2), и в этом заключается указанный выше не прямой механизм регуляции β -окисления с помощью трех гормонов.

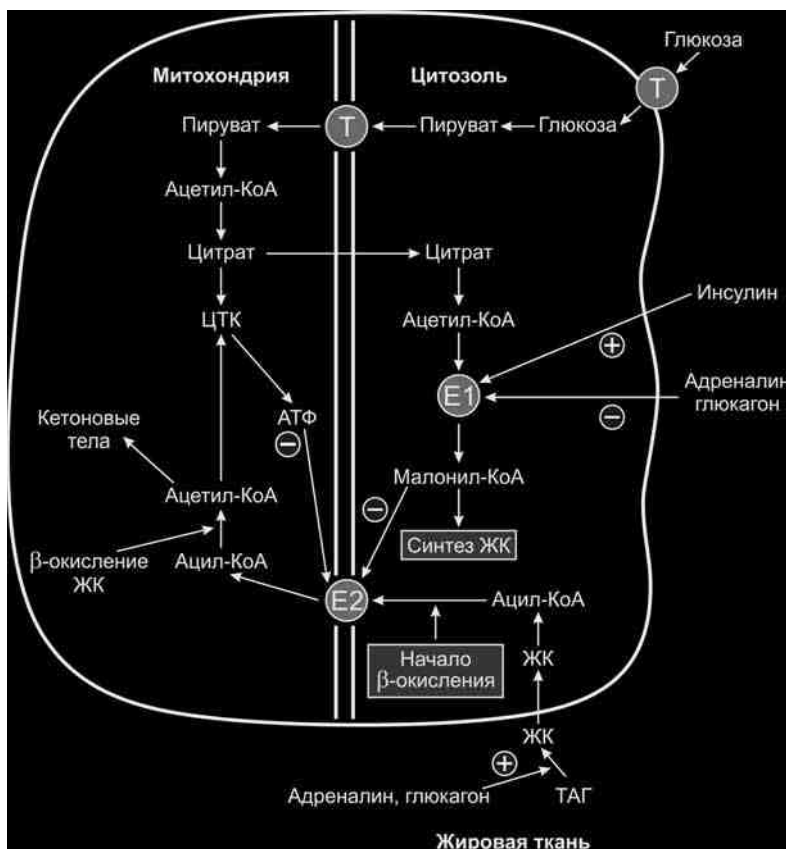


Рис. 3/2.3. Процессы синтеза и распада жирных кислот в гепатоцитах и их регуляция.

Примечание. Регуляторные ферменты: E1 — ацетил-КоА-карбоксилаза; E2 — карнитинацилтрансфераза I; T — транслоказа; «+» или «-» — обозначение активации или ингибирования фермента

Рисунок 3/2.3 позволяет легко решать ситуационные (экзаменационные) задачи.

1. Питание → глюкоза в крови и клетках → секреция инсулина → синтез малонил-КоА → ингибирование карнитинацилтрансферазы I (E2) и β-окисления.

Питание → глюкоза → синтез АТФ → ингибирование карнитинацилтрансферазы I (E2) и β-окисления ЖК.

2. Голод и физическая работа: мало глюкозы в крови и клетках → мало цитрата → мало ацетил-КоА → мало малонил-Ко → активация E2 и усиление β-окисления → синтез АТФ, необходимой при данной ситуации голодания или физической работы. Синтез ЖК останавливается из-за недостатка цитрата и из-за ингибирования регуляторного фермента синтеза ЖК (ацетил-КоА-карбоксилазы E1) после его фосфорилирования глюкагоном или адреналином.

НАРУШЕНИЯ β-ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Существует несколько видов ацил-КоА-дегидрогеназ (реакция 1 на схеме 3/2.1) для ЖК с разной длиной цепи. При мутациях гена фермента, дегидрирующего ЖК молока со средней длиной цепи, уменьшается возможность использования молочного жира как источника энергии. У большинства детей молоко является основным источником жира, поэтому в случае мутаций у таких детей компенсаторно происходит усиленный катаболизм глюкозы и возникает гипоглюкоземия с соответствующей клинической симптоматикой, но без кетонемии (кетоновые тела образуются при интенсивном катаболизме ЖК).

Карнитин, необходимый для β-окисления, синтезируется на основе лизина и метионина. Возможны различные наследственные или ненаследственные нарушения синтеза карнитина. При сахарном диабете происходит удаление из организма основания карнитина после его нейтрализации кетоновыми телами-кислотами. Все это тормозит β-окисление ЖК и приводит к мышечной слабости. Аналогичную симптоматику может вызвать мутационный дефект карнитинацилтрансферазы или ее ингибирование сульфонилмочевинной — препаратом для лечения сахарного диабета 2-го типа.

При различных нарушениях β-окисления или особенностях строения разветвленных пищевых растительных ЖК их распад может происходить другими путями (ω-, α-окисление) без синтеза АТФ.

Окисление ненасыщенных ЖК также имеет свои особенности. При β-окислении ненасыщенных ЖК необходимы дополнительные реакции, связанные с цис-транс-изомерией, и, кроме

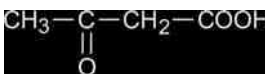
того, выход АТФ несколько меньше: примерно на две молекулы АТФ на одну двойную связь в ЖК. Возможны варианты окисления ненасыщенных ЖК без синтеза АТФ: ферментативное окисление в случае образования эйкозаноидов и перекисное неферментативное окисление липидов мембран.

КЕТОНОВЫЕ ТЕЛА

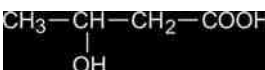
При длительном голодании, сахарном диабете, а также при интенсивной и длительной физической работе происходит усиленный распад ТАГ и ЖК. Образуется избыток ацетил-КоА, который не только вступает в цитратный цикл, но и превращается в митохондриях печени в кетоновые тела (рис. 3/2.3).

Кетоновые тела — это ацетон и две органические кислоты, которые при диссоциации освобождают протоны и понижают значение рН жидкостей организма. Поэтому у длительно голодающего и у больного сахарным диабетом человека возникает ацидоз с запахом ацетона от тела и выдыхаемого воздуха.

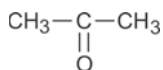
1. Ацетоацетат



2. β(3)-гидроксипутират



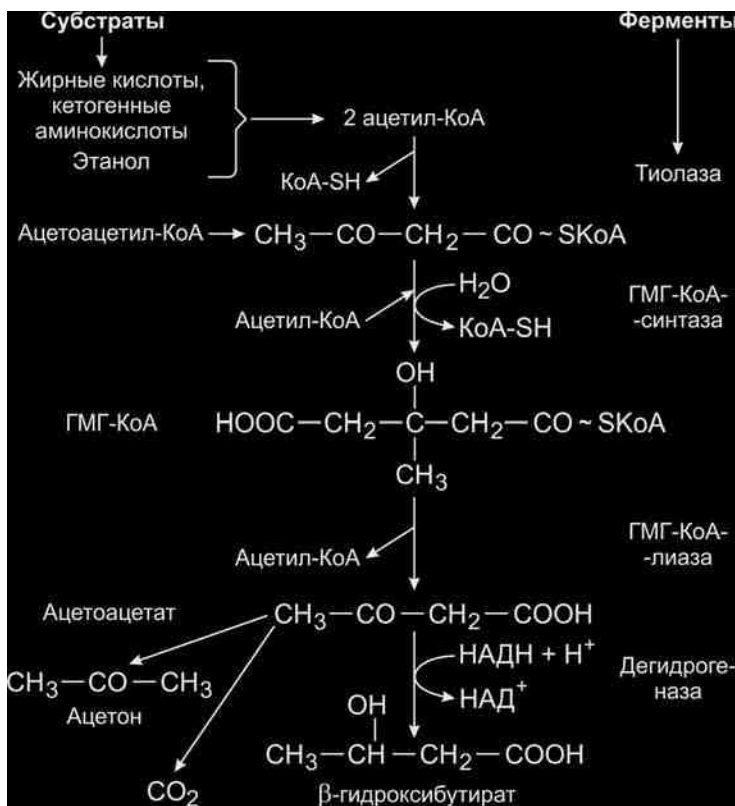
3. Ацетон



Синтез кетоновых тел (см. схему 3/2.2) начинается в митохондриях печени (только печени!) с ацетил-КоА, который образуется главным образом из ЖК и отчасти из кетогенных аминокислот, а также из алкоголя при его систематическом употреблении. Кетоновые тела легко проникают в кровь и далее в разные органы, являясь хорошим энергетическим источником (кроме ацетона) в указанных выше экстремальных или патоло-

гических ситуациях. В клетках кетоновые тела превращаются в ацетил-КоА и далее в цитратном цикле и ЦПЭ обеспечивают синтез АТФ. При полном окислении ацетоуксусной кислоты синтезируется 23 молекулы АТФ, а в случае β -гидроксибутирата — 26 АТФ, что вы можете легко рассчитать сами. Два вида клеток не могут использовать кетоновые тела как источник энергии: эритроциты (не имеют митохондрий для ОПК и ЦПЭ) и гепатоциты (не имеют активного фермента сукцинил-КоА-трансферазы, необходимой для катаболизма кетоновых тел).

Схема 3/2.2. Синтез кетоновых тел



Преимущества кетоновых тел как источника энергии по сравнению с ЖК при указанных ситуациях: это небольшие молекулы,

растворимые в крови, легко проникающие в клетки и быстро там окисляющиеся. В отличие от ЖК кетоновые тела используются нервной системой и служат для нее источником энергии наряду с глюкозой при экстремальных или патологических ситуациях.

Недостатки кетоновых тел: как кислоты при большой концентрации в крови и жидкостях вызывают ацидоз и дегидратацию организма — симптомы у нелеченого сахарного диабетика и у длительно голодающего человека.

Регуляторный фермент синтеза кетоновых тел — β -гидрокси- β -метилглутарил-КоА-синтаза (ГМГ-КоА-синтаза). Его активность могут увеличивать сами ЖК как исходные субстраты для образования этих тел, так и глюкагон как гормон, характерный для голодающего и сахарного диабетика. Большие количества КоА-SH аллостерически ингибируют ГМГ-КоА-синтазу: после приема достаточной по калорийности пищи глюкоза удовлетворяет основные энергетические потребности организма, β -окисление ЖК является слабым и поэтому в клетках остается много свободного КоА-SH — ингибитора. Наоборот, при голодании и интенсивном β -окислении ЖК КоА-SH связан с ацильными и ацетильными группами, и ГМГ-КоА-синтаза становится активной, обеспечивая синтез кетоновых тел.

В заключение рассмотренных выше вопросов о мобилизации жира, β -окислении ЖК и о кетоновых телах целесообразно выделить роль гормона глюкагона при голодании и сахарном диабете. Глюкагон прямо или косвенно изменяет активность следующих регуляторных ферментов перечисленных процессов.

- Прямо повышает активность фермента липолиза — ТАГ-липазы — путем ее фосфорилирования и этим увеличивает количество свободных ЖК в клетке.
- Прямо ингибирует ацетил-КоА-карбоксилазу также путем ее фосфорилирования и этим уменьшает количество малонил-КоА в клетке.
- Косвенно активизирует карнитинацилтрансферазу I благодаря уменьшению количества малонил-КоА в клетке и этим ускоряет β -окисление ЖК.
- Косвенно активизирует ГМГ-КоА-синтазу (как только что я объяснил) и этим увеличивает синтез кетоновых тел.

ЭЙКОЗАНОИДЫ

(Нобелевская премия 1982 г.)

Эйкозаноиды представляют из себя производные полиненасыщенных жирных кислот (табл. 2/2.3 лекции 2/2). Эйкозаноиды синтезируются во многих видах клеток и выполняют функции местных гормонов, действующих на собственную (аутокринный эффект) или соседнюю клетку (паракринный эффект). Их второе уже устаревшее название — простагландины. Особенно выделяют эйкозаноиды, образующиеся в эндотелии (простациклины PG), в тромбоцитах (тромбоксаны TX), в лейкоцитах, макрофагах, тучных клетках (лейкотриены LT и липоксины LX). В сокращенных обозначениях буквы (A, E, F...) определяют разновидность эйкозаноида, а цифра указывает на число двойных связей в радикале.

Выделяют две основные группы эйкозаноидов. 1-я группа образуется из исходной ω -арахидоновой кислоты, находящейся в фосфолипидах клеточных мембран (схема 3/2.3).

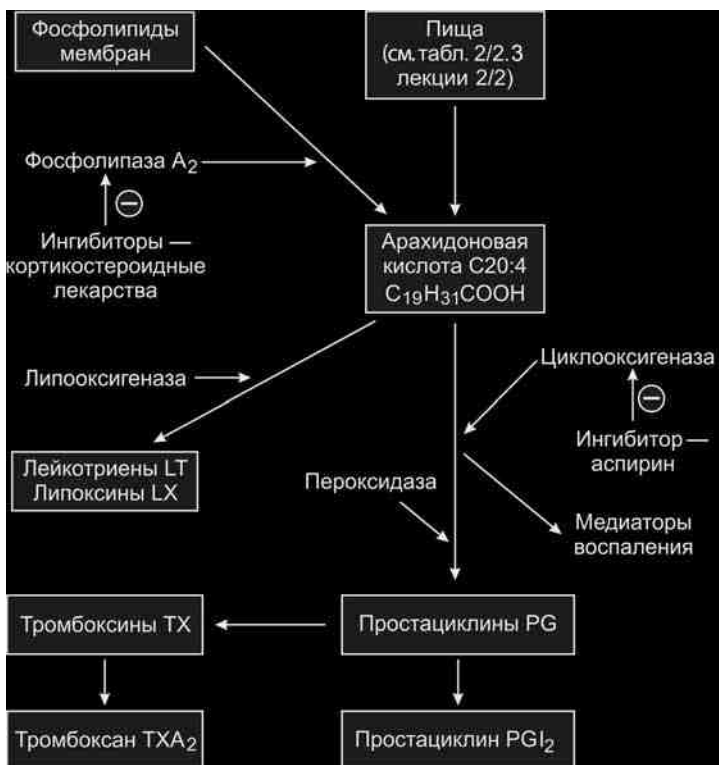
В этой группе ω -производных при участии указанных в схеме 3/2.3 ферментов образуются лейкотриены, простациклины и тромбоксаны со своими специфическими функциями. Простациклин PGI_2 имеет умеренное антиатерогенное действие: расширяет сосуды, ингибирует агрегацию тромбоцитов и, как следствие, свертывание крови. Тромбоксан TXA_2 обладает противоположными выраженными атерогенными свойствами, и он образуется в основном у пожилых людей при повреждении эндотелия (например, атеросклеротической бляшкой) и при активации тромбоцитов. При травмировании тканей, образовании раны TXA_2 благодаря своим эффектам (сужение сосудов, увеличение свертываемости крови) останавливает кровотечение. Многие эйкозаноиды ω -ряда являются медиаторами воспаления.

Ингибиторы синтеза рассмотренных эйкозаноидов

1. Эндогенные глюкокортикоиды и различные лекарства на их основе ингибируют фосфолипазу A_2 (см. схему 3/2.3), поэтому уменьшают синтез всех медиаторов воспаления.

2. Аспирин — необратимый ингибитор циклооксигеназы I (лекция 4/1) избирательно уменьшает синтез только некоторых местных гормонов этой группы. Во-первых, он подавляет об-

Схема 3/2.3. Эйкозаноиды — производные арахидоновой кислоты (ω 6-ЖК)



разование медиаторов воспаления и является широко известным противовоспалительным препаратом. Во-вторых, аспирин уменьшает или предупреждает синтез TXA_2 и благодаря этому оказывает антиатерогенный эффект (уменьшает агрегацию тромбоцитов и свертывание крови, несколько расширяет сосуды). Поэтому второе предназначение аспирина — в малых дозах он рекомендуется пожилым людям для профилактики инфаркта миокарда и инсульта.

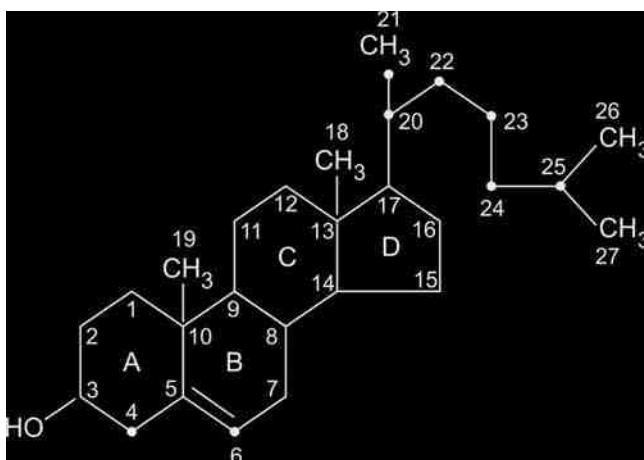
Вторая группа эйкозаноидов — производные ω 3-ЖК, которые в организм человека могут поступить только с определенной пищей (см. табл. 2/2.3 лекции 2/2) или в виде фармпрепаратов. Из эйкозапентаеновой кислоты в эндотелии синтезируются простациклины PGI_3 и другие, которые обладают мощным антиатеро-

генным эффектом (уменьшение свертывания крови, расширение сосудов), превосходящим аналогичное действие PGI_2 . Атерогенное действие другого производного $\omega 3$ -ЖК — тромбоксана TXA_3 — слабое. Поэтому эйкозапентаеновая (или темнодоновая) кислота, содержащие ее продукты и биологически активные добавки к пище (БАД) сегодня рассматриваются как относительно полезные для профилактики атеросклероза. Соответствующие препараты (полиен, эйконол, максепа, омегапол) с добавлением витамина Е как антиоксиданта производятся на основе жира рыб и животных холодных северных и дальневосточных морей.

Лекция 4/2

ХОЛЕСТЕРОЛ И ЕГО ФУНКЦИИ

Холестерол (ХС) — стероид, важный компонент мембран и липопротеинов крови. О медицинском значении ХС свидетельствуют четыре Нобелевские премии, присужденные в 1927, 1928, 1964 и 1985 гг.



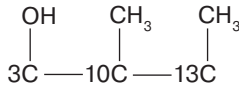
Основой его формулы (Нобелевская премия 1928 г.) является ядро — циклопентанпергидрофенантрен, состоящий из:

а) фенантрена (циклы А, В, С);

б) циклопентана (цикл D) и алифатического радикала из восьми атомов углерода плюс 3-гидроксила.

В боковой проекции структура ХС:

это «верхняя» β -поверхность



Это природный ХС — β -изомер в отличие от конфигурации других изомеров (α -эпихолестерола).

Молекула представленного свободного ХС является слабоамфифильной за счет основного гидрофобного ядра и слабогидрофильного 3-гидроксила. На основе свободного ХС образуется полностью гидрофобные эфиры ХС (ЭХС) с разными ЖК, в основном с олеиновой кислотой $\text{ХС}-3\text{СН}-\text{О}-\text{СО}-\text{C}_{17}\text{H}_{33}$.

В организме человека содержится около 150 г ХС: 90% — в органах и клетках (в мембранах и в цитозоле как депо ЭХС) и 10% — в крови как компонент липопротеинов (ЛП).

Свободный ХС находится в:

- мембранах клеток, особенно много его в цитоплазматических мембранах и особенно в нервной системе;
- в ЛП и в мицеллах желчи как их периферический компонент;
- в стероидогенных органах и тканях, синтезирующих из ХС стероидные гормоны, витамин D_3 и желчные кислоты.

ЭХС находятся в:

- в ЛП и в мицеллах желчи как их внутренний компонент;
- в цитозоле клеток как депо ХС.

Диапазоны нормального содержания общего ХС крови у практически здорового человека: 150–250 мг/дл или 3,9–6,5 ммоль/л. В условиях клиники проводится более тонкая индивидуальная оценка уровня ХС и степени гиперхолестеринемии (следующая лекция).

БАЛАНС ХОЛЕСТЕРОЛА У ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА

С калом удаляется сам ХС и его форма, восстановленная бактериальными ферментами кишечника, — копростерол, который, в отличие от ХС, не способен всасываться в стенку кишечника (рис. 4/2.1).



Рис. 4/2.1. Баланс холестерина у здорового человека (г/сут)

АССИМИЛЯЦИЯ (УСВОЕНИЕ) ПИЩЕВОГО ХОЛЕСТЕРОЛА

Пища животного происхождения (мясо, молоко, печень, мозг, желток куриного яйца) содержат много ЭХС и мало свободного ХС. Реакции переваривания в тонком кишечнике:

1. Фермент холестеролэстераза:



Холестеролэстераза содержится в кишечном соке и в секрете поджелудочной железы.

2. Далее свободный ХС и небольшие количества ЭХС включаются в смешанные мицеллы желчи и проникают в энтероциты.

3. Ресинтез ЭХС в энтероцитах (после активации свободных ЖК — см. лекцию 1/2):

фермент ацил-КоА-холестерол-
ацилтрансфераза (АХАТ)



ЭХС и небольшие количества свободного ХС внедряются в хиломикроны (ХМ).

4. Далее пищевой ХС в составе ХМ поступает в лимфу, кровь, и, наконец, остаточные ХМ доставляют его в печень (лекция 1/2).

Следует ожидать внедрения в практику новых лекарств — ингибиторов АХАТ (типа зетия), которые тормозят всасывание пищевого ХС в стенку кишечника.

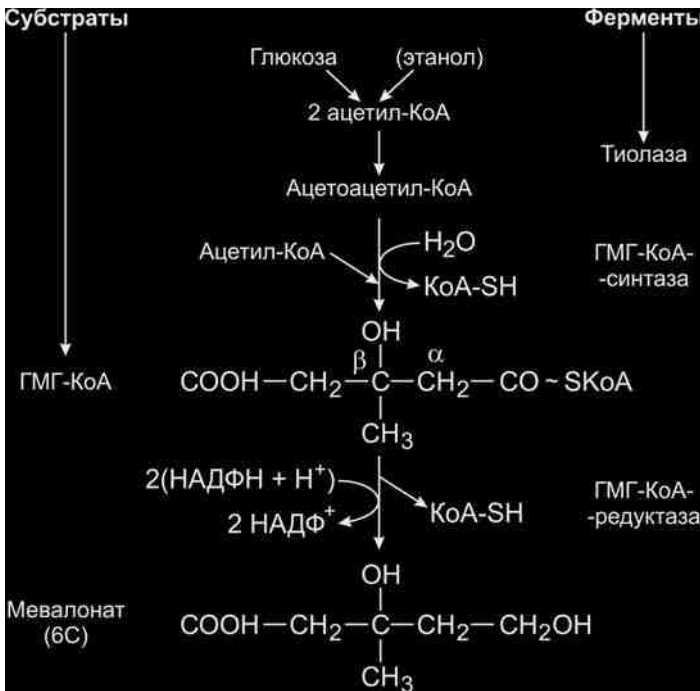
БИОСИНТЕЗ ХОЛЕСТЕРОЛА

(Нобелевская премия 1964 г.)

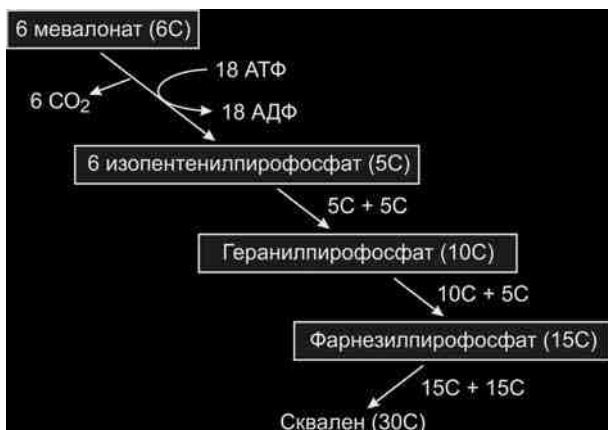
Метаболизм ХС происходит интенсивно во многих органах и в мозгу у детей и достаточно медленно в соединительной ткани и в нервной системе взрослых. Печень накапливает большой фонд пищевого и собственного синтетического ХС, и поэтому она снабжает другие ткани дополнительным ХС.

Источником для синтеза ХС является глюкоза.

Первый этап синтеза — от глюкозы до мевалоната.

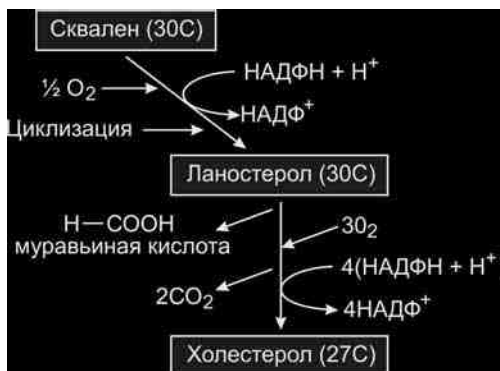


Второй этап — реакции комбинации небольших фрагментов (6С, 5С) в сквален (30С), катализируемые лигазами.



Этапы 1 и 2 присходят в цитозоле клетки.

Третий этап — реакции окисления и циклизации локализованы в эндоплазматическом ретикулуме, что связано с гидрофобностью и плохой растворимостью следующих продуктов:



Итог: чтобы синтезировать одну молекулу ХС, надо затратить 18 молекул ацетил-КоА, 18 АТФ и 18 НАДФН. Все эти предшественники или субстраты для синтеза ХС образуются при распаде глюкозы. Запомните: ХС не синтезируется за счет распада жирных кислот. Последние также образуют ацетил-КоА

и АТФ при своем катаболизме, но они используются в энергетических целях, например, при голодании. При патологическом хроническом алкоголизме избыточные количества этанола также дают образование ацетил-КоА, который вступает в разные реакции, в том числе превращается в ХС, ЖК и ТАГ (лекция 15/2).

РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА ХОЛЕСТЕРОЛА

(Нобелевская премия 1985 г.)

Регуляторным ферментом является ГМГ-КоА-редуктаза, катализирующая реакцию образования мевалоната на первом этапе.

Фермент зафиксирован в мембране эндоплазматического ретикулума, но катализирует реакцию в цитозоле. Он работает только в дефосфорилированном виде, а фосфорилированная форма $E - OPO_3H_2$ неактивна.



Считается, что максимальный синтез ХС происходит у человека весной и летом, а также в полночь. Утром перед обычной сдачей крови на анализ синтез уменьшается.

Эндогенные регуляторы ГМГ-КоА-редуктазы и их молекулярный механизм представлены в табл. 4/2.1. Перечень этих регуляторов соответствует физиологическому или патологическому состоянию человека (прием пищи — инсулин, избыток ХС; голод и сахарный диабет — глюкагон и кортизол и т.д.).

Экзогенные ингибиторы — лекарства типа статинов (ловастин, зокор, лескол и др.) — близки по структуре к мевалонату и являются обратимыми конкурентными ингибиторами ГМГ-КоА-редуктазы. Это самые эффективные гипохолестеринемические препараты, снижающие уровень ХС крови на 20–40% (лекции 5/2 и 15/2). Все эндогенные ингибиторы табл. 4/2.1 и гормоны щитовидной железы (эндогенные и экзогенные в форме лекарственных

ных препаратов) также уменьшают концентрацию ХС. Механизм действия йодтиронинов является косвенным, и подробнее он будет рассмотрен в лекции 5/2. Вкратце: йодтиронины вызывают индукцию ЛНП-рецептора и 7 α -гидроксилазы в гепатоцитах, что и снижает ХС крови. В указанной лекции также будет рассмотрено изменение регуляции синтеза ХС, связанное с эстрогенами, у хронического алкоголика и у женщин до и после менопаузы.

Таблица 4/2.1

Эндогенные регуляторы ГМГ-КоА-редуктазы

Регуляторы	Молекулярный механизм их действия на фермент
<i>Ингибиторы</i>	
1. Большие количества ХС и окисленные дериваты ХС в органах (кроме кишечника) 2. Желчные кислоты 3. Кортизол (при голодании) 4. Глюкагон (при голодании)	Угнетение транскрипции (репрессия) Репрессия Репрессия Репрессия
<i>Активаторы</i>	
1. Инсулин (после еды) 2. Эстрогены 3. Недостаток ХС в организме, в том числе у вегетарианцев	Дефосфорилирование (непрямой механизм действия) Активация транскрипции (индукция) Индукция

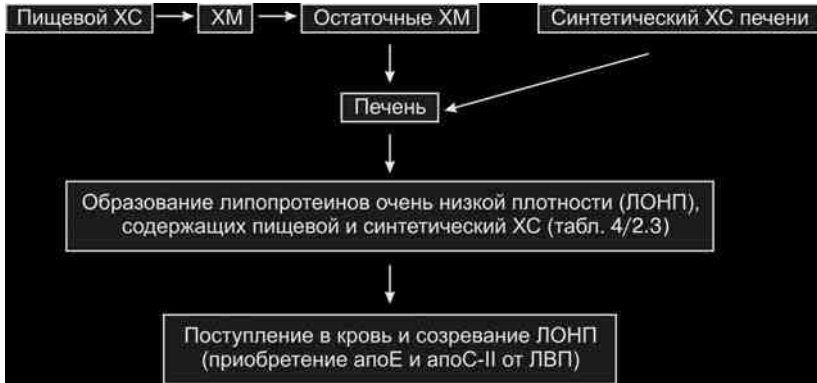
И все-таки регуляция синтеза ХС у человека относительно слабая, поэтому людей поражает атеросклероз. Для некоторых животных (крысы, кошки, собаки) атеросклероз не характерен в связи с более эффективной у них регуляцией обмена ХС.

ТРАНСПОРТ ХОЛЕСТЕРОЛА

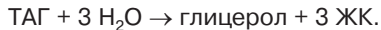
Существует два вида транспорта (потока) ХС:

- 1) прямой транспорт пищевого и синтезируемого в организме ХС в органы;
- 2) обратный транспорт избыточного и «вредного» ХС из органов и тканей в печень и далее в кал в виде желчных кислот и самого ХС.

Прямой транспорт ХС



Далее в крови происходит следующая реакция гидролиза жира внутри ЛОНП аналогично реакции с ХМ (лекция 1/2), катализируемая ЛП-липазой:



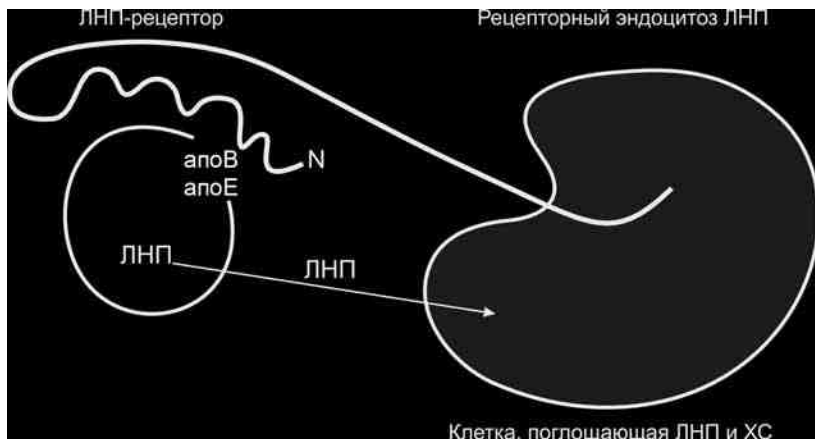
Одновременно ЛОНП превращается в липопротеины низкой плотности (ЛНП) с изменением содержания в них ТАГ и ХС (табл. 4/2.2 и 4/2.3):

		ЛП-липаза	
	ЛОНП	→	ЛНП
содержание %			
ТАГ	50		7
ХС	20		50

Теперь ЛНП приобретают функцию транспортной формы пищевого и синтетического ХС в другие органы и ткани. Как? С помощью содержащегося в цитоплазматической мембране клеток трансмембранного ЛНП-рецептора, осуществляющего рецепторный эндоцитоз ЛНП с его ХС внутрь клеток.

ЛНП-рецептор взаимодействует своим внешним N-концом с периферическими белками апоВ-100 и апоЕ в составе ЛНП, ЛНП проникает в клетку и освобождает свой ХС. Далее клетки используют транспортированный и собственный ХС для построения мембран и синтезов стероидных веществ.

Схема 4/2.1. Рецепторный эндоцитоз ЛНП



Количество ЛНП-рецепторов на поверхности клеток органов и соответственно количество поступающего в клетки ХС регулируется следующими способами:

- 1) сам внутриклеточный ХС при его большом количестве ингибирует на уровне транскрипции синтез рецепторов (репрессия);
- 2) напротив йодтиронины и эстрогены увеличивают синтез ЛНП-рецепторов на уровне транскрипции (индукция);
- 3) лекарства — статины — также увеличивают на поверхности гепатоцитов количество ЛНП-рецепторов непрямым путем. Поэтому статины в итоге уменьшают концентрацию ХС крови двумя способами, повышая содержание ЛНП-рецепторов и ингибируя синтез ХС.

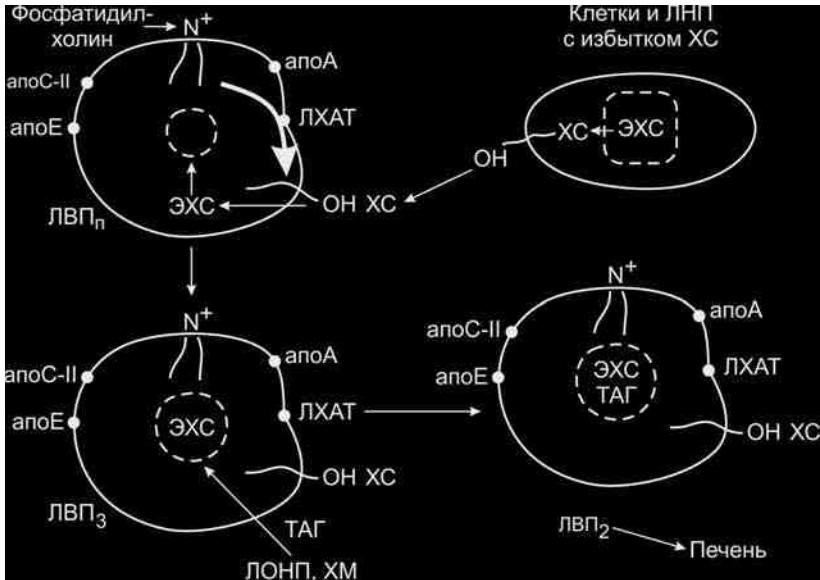
В следующей лекции будет рассмотрена наследственная семейная гиперхолестеролемия — наследственная форма атеросклероза, вызванная мутациями гена ЛНП-рецепторов.

Обратный транспорт ХС

Обратный транспорт избыточного и лишнего ХС необходим при некорректном питании, обогащенном ХС, и у пожилых людей. Он реализуется с помощью разновидностей липопротеинов высокой плотности — ЛВП. В печени образуются предшественники ЛВП_п почти без ХС, но содержащие фосфолипи-

ды и белки (схема 4/2.2). В крови ЛВП_п, выполняя функцию донора, снабжают ХМ и ЛОНП своими белками апоС-II и апоЕ. Далее ЛВП_п взаимодействуют с ЛНП крови, с клетками органов и захватывают у них лишний ХС с помощью специального механизма. Образуются ЛВП₃, обогащенные ХС. На последнем этапе ЛОНП и ХМ передают часть своих ТАГ в состав ЛВП₃, которые наконец превращаются в зрелые ЛВП₂ или просто ЛВП (см. схему 4/2.2, табл. 4/2.2 и 4/2.3). Эти ЛВП с избыточным ХС, в основном в форме ЭХС, находящихся во внутреннем гидрофобном ядре, поступают в гепатоциты печени (несколькими путями).

Схема 4/2.2. Обратный транспорт избыточного холестерина



Освободившийся в цитозоле гепатоцитов ХС включается в общий фонд ХС этих клеток, который складывается из:

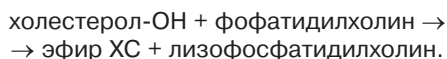
- 1) пищевого ХС;
- 2) синтетического ХС;
- 3) ХС, поступившего в гепатоциты в составе ЛВП;
- 4) ХС, поступившего в гепатоциты в составе ЛНП.

Этот фонд ХС гепатоцитов расходуется ими на:

- 1) формирование ЛОНП;
- 2) формирование собственных мембран;
- 3) на синтез желчных кислот.

Часть избыточных для гепатоцита ХС и образовавшихся из него желчных кислот удаляется через желчь — кишечник → фекалии.

Механизм захвата лишнего ХС из клеток и ЛНП с помощью ЛВП_{II} (см. схему 4/2.2): в периферическом слое ЛВП имеются фермент лецитинхолестеролацилтрансфераза (ЛХАТ) и его активатор апоА. ЛХАТ катализирует перенос одного остатка жирной кислоты от фосфолипида на свободный ХС:



Образовавшийся полностью гидрофобный ЭХС поступает внутрь ЛВП, а на его место в поверхностный слой ЛВП методом диффузии переносится свободный ХС из клеток и ЛНП крови, перегруженных ХС. В итоге в клетках и в ЛНП уменьшается количество свободного ХС и ЭХС.

В заключение этого раздела привожу в табл. 4/2.2 сравнительную характеристику ЛНП и ЛВП, а в табл. 4/2.3 — общие свойства и функции всех рассмотренных липопротеинов.

Таблица 4/2.2

Сравнение состава и свойств ЛНП и ЛВП

Показатель	ЛНП	ЛВП
Место формирования	Кровь: ЛОНП → ЛНП	Печень, кровь и органы
Жиры, %	7	5
Холестерол, %	50	10–28
Белки, %	25	55
Фофолипиды, %	21	25–42
Плотность, г/см ³	1,00–1,06	1,06–1,21
Устойчивость, сут	До 2,5	До 2,5

Таблица 4/2.3

Липопротеины

Вид ЛП	Особенности состава	Функции	Место формирования
ХМ	ТАГ – 90%; ХС – 6%; белки – 2%	Транспорт пищевых ТАГ и ХС из кишечника в органы	Энтероциты стенки кишечника, созревание в крови
ЛОНП	ТАГ – 50%; ХС – 22%; белки – 10%	Транспорт ТАГ и ХС из печени в кровь	Печень
ЛНП	ТАГ – 7%; ХС – 50%; белки – 25%	Транспорт ХС из крови в ткани и органы	Кровь
ЛВП	ТАГ – 5%; ХС – 10–28%; белки – 55%	Транспорт ХС из крови и из органов в печень. Донор аполипопротеинов	Печень, кровь, органы

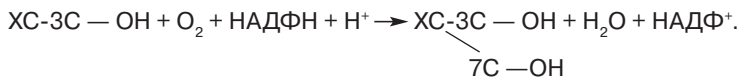
ЖЕЛЧНЫЕ КИСЛОТЫ

(Нобелевская премия 1927 г.)

Желчные кислоты были объектом изучения еще первого заведующего нашей кафедры биохимии А.Д. Булыгинского в конце XIX и в начале XX в. Эти кислоты являются главным компонентом желчи (80%), полный состав которой приведен в лекции 1/2.

Печень синтезирует из ХС около 300–500 мг желчных кислот в сутки в ходе следующих реакций.

1. Дополнительное гидроксילирование ХС с образованием новых гидроксильных групп по атомам углерода 7 и 12 при участии 7 α -гидроксилазы и 12 α -гидроксилазы:



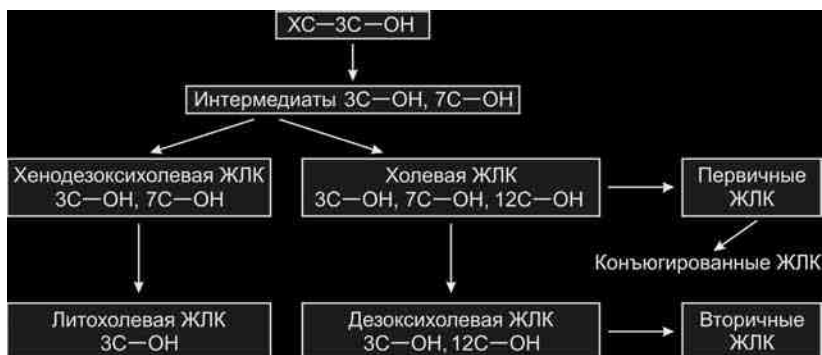
2. Восстановление ненасыщенной связи 5С = 6С.

3. Окисление и укорочение алифатического радикала 20С — 27С при 17С ядра ХС. 8-членный радикал укорачивается до 5-членного с конечной карбоксильной группой в положении 24. Так формируются первичные желчные кислоты (холевая и хенодезоксихолевая).

4. Конъюгированные желчные кислоты образуются путем дополнительного присоединения к 24 СООН гидрофильных молекул глицина или таурина, что резко повышает амфифильность неконъюгированных желчных кислот и их способность понижать поверхностное натяжение и эмульгировать липиды. Таких кислот четыре, например гликохолевая, таурохоленедезоксихолевая и др.

Все рассмотренные реакции идут в гепатоцитах. В кишечнике при участии бактериальных ферментов, во-первых, происходит деконъюгация, а во-вторых — восстановление гидроксильной группы 7С—ОН. Так образуются вторичные желчные кислоты (дезоксихолевая и литохолевая).

Схема 4/2.3. Синтез и разнообразие желчных кислот (ЖЛК)



Регуляторным ферментом синтеза желчных кислот является 7 α -гидроксилаза, которая функционирует только в фосфорилированном виде E—ОРО₃Н₂. Ее активаторы: ХС и йодтиронины — по механизму индукции транскрипции. Ингибиторы: сами желчные кислоты и эстрогены — по механизму репрессии транскрипции.

Желчь содержит смесь перечисленных желчных кислот. После секреции желчи в кишечник около 95% желчных кислот всасывается в подвздошной кишке и поступает в печень для повторного использования. Создается цикл — энтерогепатическая циркуляция желчных кислот: печень — тонкий кишечник — воротная вена — печень. Каждая молекула желчной кислоты может

циркулировать 5–10 раз, выполняя свои функции, и далее поступает в экскременты вместе с ХС и копростеролом.

Подведем итоги о функциях желчных кислот.

- Три функции для переваривания жиров рассмотрены в лекции 1/2.
- Желчные кислоты поддерживают ХС желчи в псевдосольбуилизованном состоянии в мицеллах желчи. При недостатке этих кислот ХС образует камни желчных путей.
- Благодаря желчным кислотам уменьшается содержание избыточного ХС в организме человека: ХС превращается в желчные кислоты, которые удаляются с фекалиями вместе с ХС (примерно по 0,5 г/сут). Имеются специальные лекарства – секвестранты желчи, усиливающие такой процесс и уменьшающие содержание ХС в организме человека.
- Желчные кислоты являются ингибиторами регуляторных ферментов 7α -гидроксилазы и ГМГ-КоА-редуктазы.

Патология обмена желчных кислот – желчнокаменная болезнь была рассмотрена в лекции 1/2, а в последующей лекции 5/2 будут даны разъяснения, почему частота этой болезни выше у женщин (до менопаузы), чем у мужчин.

Лекция 5/2

ПАТОЛОГИЯ ОБМЕНА ЛИПИДОВ

Отдельные заболевания, вызванные патологией обмена липидов, мы уже рассмотрели в предыдущих лекциях: нарушения переваривания жиров при панкреатите и желчнокаменной болезни (лекция 1/2), желчнокаменная болезнь (лекция 1/2), гиперхиломикронемия (лекция 1/2), нарушения β -окисления жирных кислот (лекция 3/2), ожирение (лекция 2/2). В настоящей лекции мы сосредоточимся на гиперлипопротеинемиях, при которых в крови повышено содержание липопротеинов, или иначе — на гиперлипидемиях, при которых в крови увеличена концентрация жиров (это триацилглицеролемиа, или триглицеридемия) или холестерина (гиперхолестеролемиа). Учитывая разнообразие клинических форм этих заболеваний и разнообразие терминологии в общей и клинической биохимии, Д. Фредриксон и соавторы предложили классификацию пяти типов «гиперлипопротеидемий» с присвоением каждому типу своего номера в римских цифрах. В ряде клиник на основании лабораторных и клинических показателей у каждого больного и в ряде клинических биохимических лабораторий, в том числе 1-го МГМУ, в бланке анализа и в истории болезни указывается тип патологии по Фредриксону.

Классификация Фредриксона позже была расширена и дополнена конкретной информацией в отношении первичных наследственных заболеваний — дислипопротеинемий (табл. 5/2.1). В таблице 5/2.2 представлена классификация вторичных ненаследственных заболеваний — дислипопротеинемий, связанных

Таблица 5/2.1
Генетические варианты первичных гиперлипопротемиемий (ГЛП) — дислипидотемиемий

Тривиальное название	Тип по Фред- риксону	Причина патологии — атеросклероза	Связь с атеро- склерозом
Классическая семейная гиперхолестеремия (ГХС) – гомозиготная – гетерозиготная	IIa	Мутационный дефект ЛНП-рецептора	+++++ ++
Семейная ГХС	IIa	Мутационный дефект белка апоВ-100 ЛНП	+++
Семейная дисбеталипопротеинемия (ремнантная ГХС)	III	Мутационные изменения апоЕ, усиленное образование ЛОНП, замедленный катабо- лизм ремнантных ЛОНП и ХМ	++
Семейная гипер-ЛП(а)емия	–	Повышенный синтез и уровень ЛП(а), угне- тение фибринолиза	+++
Семейная комбинированная гиперлипидотемия	IV	Повышенный синтез апоВ-100 и ЛОНП	++
Семейная гиперхиломикронемия	I	Мутационный дефект ЛП-липазы или белка апоС-II ХМ	–

с атеросклерозом. Указанные классификации необходимо анализировать применительно к конкретному больному, зная нормы (диапазон) содержания в крови здоровых людей липидов и ЛП (табл. 5/2.3). В клинико-биохимическую практику введен дополнительный (по отношению к Фредриксону) термин — дислиппротеинемии, который охватывает все разновидности качественных и количественных изменений ЛП, т.е. не только увеличение или уменьшение их содержания в крови, но и изменение их состава. Последнее особенно актуально на современном этапе учения об атеросклерозе.

Атеросклероз — неизбежное с возрастом патологическое изменение интимы и частично меди артерий эластического типа, приводящее к нарушению работы сердца, мозга, почек, аорты (инфаркты, инсульты, гангрены нижних конечностей и др.). Основной патологический элемент — атеросклеротическая бляшка, содержащая эфиры холестерина (от греч. *athera* — каша), ТАГ, гликозамингликаны, кальций, коллаген и эластин, липофусцины, живые клетки и их детрит и даже хламидии и вирусы герпеса. Капсула фиброзных бляшек может разрываться, обнажая ЭХС и индуцируя агрегацию тромбоцитов и тромбоз сосуда.

Таблица 5/2.2

**Вторичные ненаследственные заболевания —
дислиппротеинемии, связанные с атеросклерозом**

Заболевание или синдром	Причина патологии — атеросклероза	Связь с атеросклерозом
Сахарный диабет: – 2-го типа – 1-го типа	Гликозилирование белка апоВ-100 ЛНП или белка ЛНП-рецептора*	+++ +
Гипотиреоз	Торможение превращения холестерина в желчные кислоты в печени и замедление рецепторного эндоцитоза ЛНП из крови в гепатоциты	+
Синдром X или множественный метаболический синдром	Дислиппротеинемия, ИНСД, ожирение, гипертония	++

* Эти причины относятся к СД 1 и 2-го типа.

Таблица 5/2.3

**Диапазон содержания в крови здоровых людей
липопротеинов, холестерина липопротеинов
и аполипопротеинов**

Холестерол и липопротеины	Концентрация в крови	
	мг/дл	ммоль/л
<i>Холестерол</i>		
Общий ХС	150–250	3,9–6,5
ХС ЛНП	135–155	3,5–4,0
ХС ЛВП:		
– мужчины	35–70	0,9–1,8
– женщины	40–80	1,0–2,1
<i>Липопротеины крови, г/л</i>		
ЛНП	3,0–4,5	
ЛВП:		
– мужчины	1,2–4,2	
– женщины	2,5–6,5	
ЛП(а)	0,2–0,3	
апоВ	0,6–1,8	
апоА-I	1,1–2,2	

Атеросклероз — полифакториальное заболевание, и поэтому в процессе его изучения появились разные гипотезы и факты об его этиологии и патогенезе, объединенные академиком А.Н. Климовым в единую интегральную модель, которую я рассматриваю подробно в своем элективном курсе лекций по биохимии для студентов (<http://salebook.ru/index.php?cd=2819>). Кратко это следующие гипотезы, справедливые в совокупности: основная холестероловая, тромбогенная, клональная («миома» сосуда), аутоиммунная и перекисная.

Гиперхолестеролемиа — повышенная концентрация ХС в крови является несомненным патогенетическим фактором развития сосудистой бляшки для людей любого возраста и этиологическим фактором атеросклероза молодых (наследственная семейная ГХС — IIa, табл. 5/2.1). Поэтому в первом приближении атеросклероз — это ГХС, оцениваемая по общему ХС крови (см. табл. 5/2.3). Однако не всегда повышенный уровень ХС крови приводит к появлению бляшек. Более строгое определение — атеросклероз сопряжен с дислиппротеинемией, точнее — с уве-

личением доли атерогенных ЛНП и ЛОНП и с уменьшением доли антиатерогенных ЛВП. В связи с этим мой руководитель (по научной работе на кафедре биохимии Военно-медицинской академии) академик А.Н. Климов ввел в клиническую практику СССР и РФ индекс атерогенности, позволяющий по лабораторным данным вероятно оценить риск развития атеросклероза у данного пациента.

$$\frac{XC_{\text{ЛНП}} + XC_{\text{ЛОНП}}}{XC_{\text{ЛВП}}} = \frac{XC_{\text{общий}} + XC_{\text{ЛВП}}}{XC_{\text{ЛВП}}} \leq 3.$$

Даю объяснение смысла индекса атерогенности, значение которого не должно существенно превышать величину 3. При нормальном уровне общего ХС крови содержащие его основную массу (70%) ЛНП выполняют свою обычную физиологическую роль — транспорт ХС в клетки органов и тканей при участии ЛНП-рецептора (предыдущая лекция). Однако при повышенном содержании в крови общего ХС и, соответственно, ЛНП и его предшественника — ЛОНП все эти ЛП и их ХС длительно циркулируют и подвергаются химической модификации в кровяном русле (окисление, гликозилирование апоЛП, образование комплексов с собственными антителами и др.). Такой атерогенный измененный ХС и атерогенные модифицированные мЛНП активно поглощаются в крови артерий моноцитами и эндотелием через их особые нерегулируемые скевинджер-рецепторы, и они транспортируются в интиму для формирования бляшек (рис. 5/2.1). В этом плане особенно вредны дериваты окисленного ХС, образующиеся в организме человека, а также при длительном, неправильном хранении пищевых продуктов (сухое молоко, яичный порошок, мясо, майонез) и при воздействии очень высоких температур в процессе приготовления пищи.

Напротив, антиатерогенные ЛВП поглощают избыточный и «вредный» ХС из ЛНП крови, клеток интимы и органов (механизм — в предыдущей лекции) и через стадии ЛВП₁, ЛВП₃, ЛВП₂ переносят его в паравазальные сосуды, в лимфу, кровь, печень, где избыточный ХС превращается в желчные кислоты и удаляется с калом. Таковы основные, но не единственные механизмы атерогенных и антиатерогенных свойств ЛНП и ЛВП.

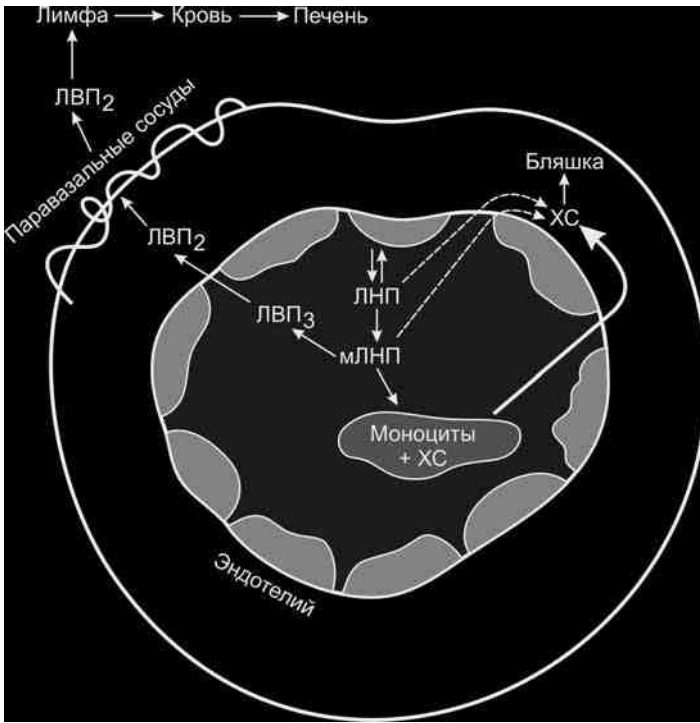


Рис. 5/2.1. Транспорт атерогенных ЛНП и антиатерогенных ЛВП в стенке артерий

Существует еще один минорный тип суператерогенных ЛП – ЛП(а), которые отличаются от ЛНП наличием на поверхности одной или двух молекул другого гликозилированного аполипопротеина – апо(а), связанного дисульфидной связью с апоВ-100. У людей с наследственно детерминированным повышенным уровнем ЛП(а) блокируется фибринолиз (лекция 17/2) и усилен атерогенный эффект повышенного свертывания крови, что является причиной особой формы первичного атеросклероза (см. табл. 5/2.1).

Наиболее изученная классическая наследственная семейная гиперхолестеролемиа (тип IIa) детей и молодых людей обусловлена разнообразными (около 300) мутациями в разных доменах гена ЛНП-рецептора (19-я хромосома). Мутантный ЛНП-рецеп-

тор плохо выполняет функцию «насоса» ХС из крови в паренхиматозные органы вследствие нарушения комплементарности взаимодействия с ЛНП, что приводит к повышению концентрации ХС в крови до 1000 мг/дл у доминантных гомозигот и до 500 мг/дл у гетерозигот. Заболевание быстро приводит к коронарному атеросклерозу и почти не поддается диет- и фармакотерапии в случае гомозигот. У больных сахарным диабетом также нарушается эффективность работы «насоса» вследствие гликозилирования ЛНП-рецептора или апоВ-100 ЛНП, и у этих больных развивается вторичная дислипотеинемия и атеросклероз (см. табл. 5/2.2). При гипотиреозе также повышается уровень ХС (см. лекцию 4/2) и возможны атеросклеротические симптомы.

Для закрепления информации предыдущей лекции о регуляции синтеза ХС, роли гормонов и лекарств-статинов в связи с патологией полезно рассмотреть рис. 5/2.2. Синтез ХС, желчных кислот и ЛНП-рецепторов происходит под контролем ряда аллостерических и гормональных факторов по разным молекулярным механизмам (лекция 4/2). Активность регуляторного фермента синтеза ХС ГМГ-КоА-редуктазы E_1 уменьшается под влиянием самого ХС и лекарств-статинов и увеличивается эстрогенами. В печени под влиянием эстрогенов замедляется превращение ХС в желчные кислоты (через E_2 — регуляторный фермент 7α -гидроксилазу), а йодтиронины наоборот ускоряют эту трансформацию. Избыток ХС в клетке репрессирует синтез в этой клетке ЛНП-рецепторов, но эстрогены, йодтиронины и статины увеличивают на поверхности клеток паренхиматозных органов количество этих рецепторов и поэтому уменьшают в крови содержание ХС и ЛНП. Перейдем к патологии. Рассмотренные факторы обуславливают у женщин в доклимактерическом периоде меньшую частоту атеросклероза и большую частоту желчнокаменной болезни, чем у мужчин. Перечитайте повторно этот абзац, чтобы понять представленные положения (см. рис. 5/2.2). После менопаузы при отсутствии заместительной эстрогенотерапии женщины не отличаются от мужчин по скорости прогрессирования атеросклероза. У мужчин с алкогольной болезнью под влиянием этанола тормозится в тестикулах синтез тестостерона и увеличивается относительная доля эстрогенов. Поэтому у них

наступает внешняя (по форме лица и тела) и функциональная феминизация, и иногда проявляется тенденция к торможению развития атеросклероза с уменьшением индекса атерогенности, но только до стадии возникновения висцерального алкоголизма. И наконец, из рис. 5/2.2 и лекции 4/2 следует, что гормоны щитовидной железы уменьшают содержание ЛНП и ХС крови. Поэтому при гипотиреозах может вторично развиваться атеросклероз (см. табл. 5/2.2), а при гипертиреозах снижается уровень ХС, который необходим организму для выполнения многих функций (лекция 4/2).

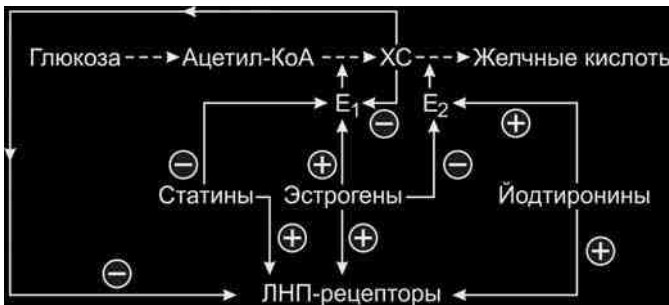


Рис. 5/2.2. Регуляция синтеза холестерина, ЛНП-рецепторов и желчных кислот.
Примечание. E_1 — ГМГ-КоА-редуктаза; E_2 — 7α -гидроксилаза; «-» — ингибирующий эффект; «+» — активирующий эффект

Если у молодых людей риск развития атеросклероза и возникновения соответствующих болезней напрямую связан с мутациями некоторых генов (см. табл. 5/2.1), то у пожилых людей существенную роль играет целый ряд и других прижизненно приобретенных факторов, связанных с образом жизни и возрастом (табл. 5/2.4).

Все эти вредные факторы приводят к усилению перекисных процессов, аутоиммунных реакций, к химической модификации ХС и ЛНП, к повреждению эндотелия, к повышению свертывания крови, к изменению гормонального статуса, что ускоряет формирование атеросклеротических бляшек и усиливает тромбоз сосудов уже без жесткой связи с состоянием генома человека. Поэтому профилактика возрастного атеросклероза должна быть направлена на корректировку образа жизни и факторов риска

(см. табл. 5/2.4) и подкреплена периодическим лабораторным и клиническим контролем здоровья пациентов.

Таблица 5/2.4

Факторы, повышающие риск заболеваний, связанных с атеросклерозом

Модифицируемые факторы		Немодифицируемые факторы
Образ жизни	Биохимические и физиологические факторы	Личностные параметры
<i>Россия, 1996 г.</i>		
Высококалорийное питание с повышенным содержанием животного жира и ХС Курение Избыточное потребление алкоголя Сниженная физическая активность	Гиперхолестеролемиа за счет ЛНП Артериальная гипертония Низкий уровень в крови ЛВП Гипертриглицеридемия Ожирение Сахарный диабет Тромбогенные факторы	Возраст — с возрастом возрастает риск Пол — у мужчин риск больше Наличие у близких родственников клинических проявлений атеросклероза (для мужчин — до 55 лет, для женщин — до 65 лет) Наличие в семье лиц с гиперлипидемией
<i>США, 1993 г.</i>		
Возраст — для мужчин старше 45 лет Возраст — для женщин старше 55 лет или ранняя менопауза без терапии эстрогенами Наличие в семейной истории ишемической болезни сердца Курение Артериальная гипертония Сахарный диабет		

Основой лабораторной биохимической диагностики является так называемый липидный комплекс: общий ХС крови, ХС ЛВП, ХС ЛНП, ХС ЛОНП с расчетом индекса атерогенности, жир (триглицериды) крови и в ближайшей перспективе — другие показатели, часть из которых мы рассмотрели или рассмотрим далее в наших лекциях (апоВ, апоА, ЛП(а), гомоцистеин и др.). Оценка качественных изменений модифицированных суператерогенных мЛНП является для современной медицинской практики маловероятной. В будущем уже в молодом и среднем возрасте человек может иметь своеобразный

медицинский паспорт, характеризующий его маркеры риска и маркеры антириска проявления у него атеросклероза в виде инфаркта миокарда, инсульта, перемежающейся хромоты, болезни сосудов почек и т.д.

ПРИНЦИПЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Принципы профилактики и лечения атеросклероза могут быть изложены в рамках курса биохимии очень лаконично.

1. *Корректировка диеты.* Это первый шаг, предусматривающий нормализацию уровня ХС или жира, или и ХС, и жира в случае необходимости. Следует ограничить содержание ХС в суточном рационе до 100 мг при наследственных формах патологии и до 300 мг при вторичных дислипотеинемиях. У врачей имеется громадный комплекс соответствующих рекомендаций.

2. *Статины*, ингибиторы синтеза эндогенного ХС, являются сегодня самыми эффективными лекарствами, которые на 20–40% снижают ХС крови. За последние годы создан «арсенал» природных, полусинтетических и синтетических статинов, требующих и не требующих биотрансформации в организме.

3. *Секвестранты желчных кислот* (холестирамин и др.), ускоряющие обратный транспорт ХС путем прерывания энтерогепатической циркуляции ХС и желчных кислот и также уменьшающие уровень ХС крови.

4. *Фибраты и пероральные гепарины*, ускоряющие распад ЛОНП (предшественников ЛНП) за счет активации ЛП-липазы эндотелия. Гепарины дополнительно уменьшают свертывание крови.

5. *Антиоксиданты* (витамин Е, пробукол), тормозящие окисление ХС и ЛНП.

6. *Никотиновая кислота и ее производные*, снижающие секрецию ЛОНП в кровь и замедляющие распад ЛВП, а также уменьшающие уровень ЛП(а).

7. При неэффективности дието- и фармакотерапии, что характерно для наследственных форм атеросклероза, показана экстракорпоральная терапия с целью удаления из крови ЛНП и хирургическое частичное илеошунтирование. Сделаны попытки

пересадки здоровой печени или аналогичная генно-инженерная процедура введения нормальных генов ЛНП-рецептора.

Более подробное изложение биохимических аспектов атеросклероза, в том числе методов диагностики, профилактики и лечения, представлено в следующих моих лекциях и статьях.

1. Лекция в журнале «Вопросы биол., мед., фарм. химии». — 1999. — № 1. — С. 49–55.

2. Глава (в соавторстве с А.Е. Губаревой) в учебном пособии для студентов «Биохимические основы патологических процессов». — М.: Медицина, 2000. — С. 122–154.

3. Аудиолекция в моем элективном курсе кафедры биохимии «Клиническая биохимия»: а) книга DVD издательства «Равновесие». — М., 2011; б) интернет-ресурс издательства «Равновесие» <http://Salebook.ru/index.php?cd=2819>.

Лекция 6/2

ПЕРЕВАРИВАНИЕ БЕЛКОВ. КАТАБОЛИЗМ АМИНОКИСЛОТ

(Збарский Б.И.)

Рассматривая обмен белков и аминокислот (АК) во 2-м семестре обучения, необходимо вспомнить две уже изученные вами в 1-м семестре классификации АК: химическую классификацию с формулами и физико-химическую классификацию свойств радикалов АК (лекция 1/1).

Третья классификация дифференцирует АК по возможности их синтеза в организме человека.

1. Незаменимые АК не могут синтезироваться и поступают в организм только с пищей: Тре, Лиз, Мет, Вал, Лей, Иле, Фен, Три (8 АК).
2. Для заменимых АК синтез возможен: Ала, Асп, Асн, Глу, Глн, Гли, Сер, Про (8 АК).
3. Частично заменимые АК синтезируются, но в недостаточном количестве, особенно у детей (Арг, Гис).
4. Условно заменимые АК (Цис, Тир) синтезируются при условии наличия соответствующих им исходных незаменимых АК.

У детей первых месяцев жизни, особенно у недоношенных, практически незаменимыми являются также Цис и Тир, а в период до одного года и Гис.

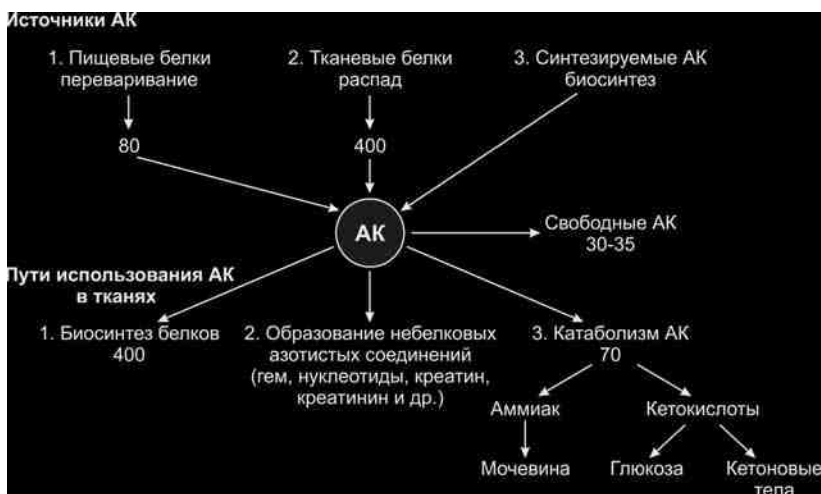
Четвертую классификацию АК мы изучим в следующей лекции.

Основной источник всех АК и единственный источник незаменимых АК — пища. Существует понятие о «биологической ценности белков пищи». Полноценные белки животных, птиц,

куриных яиц и сои содержат все незаменимые для человека АК в отличие от растительных белков (кроме сои). Некоторые группы людей вынуждены питаться растительными продуктами, что может приводить к белковой недостаточности и к патологии (квашиоркор в Африке). Однако индейцы эмпирически научились создавать искусственную полноценную растительную смесь — суккоташ, состоящую из бобов (мало Три и много Лиз) и кукурузы (соотношение АК обратное).

Организм человека содержит около 15 кг белков, а количество свободных АК в крови составляет 35–65 мг/дл. Общий баланс АК (источники и пути их использования) представлен на схеме 6/2.1.

Схема 6/2.1. Баланс аминокислот в организме человека
(цифры — количество г/сут)



В тканях и органах постоянно происходит обновление белков, т.е. их распад и синтез. Перечислим причины и пути распада тканевых белков.

- Разрушение и гибель клеток.
- Частичный протеолиз проферментов, факторов свертывания крови и других белков в процессе их активации (лекция 4/1).

- Узнавание катаболизируемых белков «киллерной» меткой — белком убиквитином (Нобелевская премия 2004 г.). Небольшой убиквитин (76 АК) присоединяется амидной связью (по Лиз) к катаболизируемому белку. Далее тканевые протеазы-катепсины разрушают этот белок, а убиквитин освобождается при участии амидазы и функционирует повторно. Этот механизм имеет различное значение, в том числе для контроля качества синтезируемых белков и разрушения дефектных белков, для регуляции клеточного цикла и иммунного ответа и др.

Азотистый баланс. Это понятие связано с судьбой белков в организме, а прилагательное термина определяется тем, что белки содержат 95% всего азота органов и тканей. Уравнение азотистого баланса:

баланс Δ = азот пищи – удаляемый из организма азот (с калом, мочой, выдыхаемым воздухом, потом).

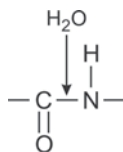
Если:

- $\Delta = 0$ это азотистое равновесие у здорового человека зрелого возраста;
- $\Delta > 0$ это положительный азотистый баланс, характерный для растущих детей, беременных женщин и для людей при выздоровлении после тяжелых болезней;
- $\Delta < 0$ это отрицательный баланс во время болезней, длительного голодания и при неполноценной растительной пище (без сои) с дефицитом незаменимых АК. Отсутствие в пище даже одной незаменимой АК может привести к отрицательному азотистому балансу.

ПЕРЕВАРИВАНИЕ БЕЛКОВ

Переваривание белков происходит в желудочно-кишечном тракте (в желудке и тонком кишечнике) с помощью набора протеолитических ферментов (протеаз или пептидаз), которые катализируют разрушение пептидных связей в белках.

Переваривание белков вы уже изучали в школьном и вузовском курсах физиологии. Наша главная

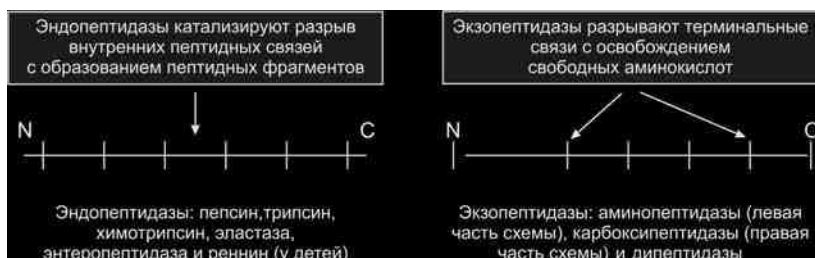


задача — рассмотреть следующие свойства протеаз желудочно-кишечного тракта.

I. Класс протеолитических ферментов — гидролазы, катализирующие разрыв пептидной связи при участии воды с образованием олигопептидов (для эндопептидаз) и свободных АК (для экзопептидаз).

II. Оптимум индекса рН для желудочного пепсина — около 1,5–2,0, а для кишечных протеаз — 7,5–8,0.

III. Дифференциация протеаз по месту их действия внутри молекулы белка:



IV. Классификация ферментов по месту их синтеза и по их активности непосредственно после синтеза:

- активные протеазы: аминокептидазы, энтеропептидаза, дипептидазы синтезируются в энтероцитах тонкого кишечника; реннин желудка детей;
- неактивные протеазы образуются в форме проферментов (табл. 6/2.1) и далее активируются в полости желудка или тонкого кишечника методом частичного протеолиза (лекция 4/1).

Таблица 6/2.1

Место синтеза и активация неактивных проферментов

Синтезирующий орган	Место действия фермента	Активация проферментов (зимогенов)		
		Профермент	Активатор	Название активного фермента
Главные клетки стенки желудка	Полость желудка	Пепсиноген	Соляная кислота, далее пепсин	Пепсин (удалены 42 АК)

Особенности переваривания белков в желудке

1. Главные клетки слизистой желудка синтезируют неактивный пепсиноген при стимулирующем влиянии ацетилхолина, гистамина и, главное, местных гормонов — гастринов. Последние — олигопептиды из 14–17 АК — регулируют синтез пепсиногена через инозитолфосфатную систему, активируя транскрипцию. Механические и химические пищевые раздражители стенки желудка включают этот синтез и секрецию пепсиногена в полость желудка. В полости происходит частичный протеолиз пепсиногена (см. выше табл. 6/2.1 и лекцию 4/1) с образованием активного пепсина.

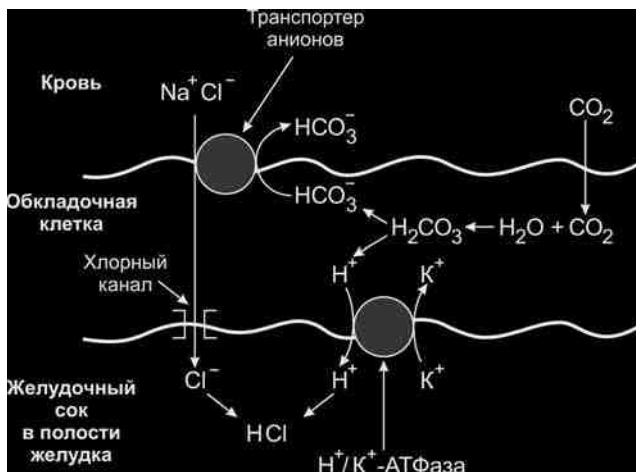
2. Соляную кислоту продуцируют париетальные или обкладочные клетки стенки желудка под контролем, главным образом гистамина, а также гастринов и ацетилхолина. На схеме 6/2.3 показан этот процесс, в котором главным является образование и первично активный транспорт протонов из стенки желудка в его полость при участии карбоангидразы, H^+/K^+ -АТФазы с расходом АТФ. Перекачка анионов хлора из крови в клетки — вторично активный транспорт по механизму антипорта с бикарбонатом. Терапевты-гастроэнтерологи называют указанную АТФазу «протонной помпой» и при гиперацидном гастрите и при язве желудка назначают лекарства — ингибиторы H^+/K^+ -АТФазы для снижения кислотности желудочного сока. Из этих лекарств выделяют «золотой стандарт» лечения заболеваний — омепразол, необратимый ингибитор протонной помпы. Известен и более новый препарат (рабепразол).

3. Для переваривания основного хорошо растворимого белка молока (казеина) у грудных детей в желудке вырабатывается протеаза — реннин (химозин), который катализирует ограниченный протеолиз казеина. Фрагменты последнего связывают кальций, образуется белковый сгусток («створаживание молока»). Сгустки медленно транспортируются по желудку ребенка, и это обеспечивает дальнейший протеолиз казеина малоактивным пепсином детей. У взрослых людей створаживание молока производят HCl и пепсин.

Если уж мы затронули некоторые вопросы патологии и детской физиологии, то необходимо еще сказать об обратимых конкурентных ингибиторах протеаз желудочно-кишечного

тракта — аprotининах — и разных соответствующих препаратах (контрикал или трасилол и гордокс). Они назначаются при панкреатитах и панкреонекрозах для ингибирования трипсина непосредственно в самой поджелудочной железе, где трипсиноген активируется преждевременно в результате, вероятно, патологического обратного заброса энтеропептидазы из полости двенадцатиперстной кишки. Препараты эффективно уменьшают самопереваривание поджелудочной железы, боль и воспаление.

Схема 6/2.3. Образование и секреция соляной кислоты в желудке



Всасывание продуктов переваривания белков — свободных АК — происходит в ворсинках слизистой тощей кишки, как правило, с белками-переносчиками и с затратой энергии, т.е. это активный транспорт. Имеется несколько транспортных систем для разных АК. Во-первых, возможен вариант первично активного транспорта с расходом АТФ для нейтральных незаряженных АК с участием γ -глутамилтранспептидазы. Во-вторых, с помощью механизма вторично активного транспорта — симпорта с хлористым натрием (лекция 9/1) — в стенку кишечника поступают небольшие нейтральные АК, метионин, аминокислота Про. При избытке пищевых свободных АК в полости кишечника возможен их транспорт в энтероциты способом облегченной диффузии с переносчиками, но без затраты энергии. АК проникают в клет-

ки слизистой кишечника и далее через портальную вену — в печень и общий кровоток. Возможен лимфогенный путь транспорта (схема ворсинки кишечника — на рис. 12/1.1 лекции 12/1).

У новорожденных детей слабая активность протеаз желудочно-кишечного тракта не обеспечивает полное расщепление чужеродных белков до свободных АК. Образующиеся крупные фрагменты и олигопептиды всасываются в кишечнике и индуцируют аутоиммунный статус ребенка, если грудное вскармливание женским молоком отсутствовало. В дальнейшем это может быть причиной возникновения у молодых людей сахарного диабета типа 1 (лекция 13/2). Белки женского молока или полностью гидролизуются до свободных АК, или их олигопептиды не вызывают аутоиммунной перестройки у детей.

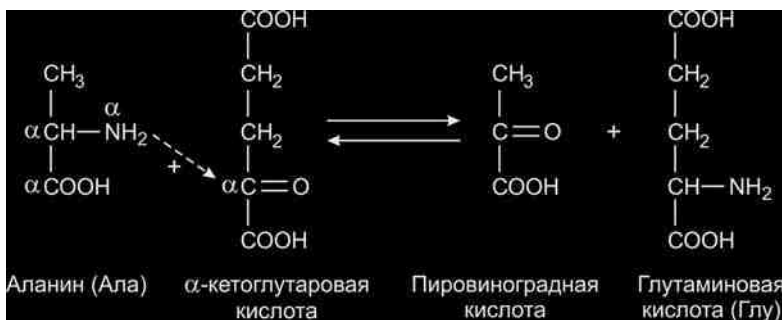
ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ КАТАБОЛИЗМ АМИНОКИСЛОТ

После поступления в кровь и далее в клетки органов пищевые АК подвергаются катаболизму, который состоит, во-первых, в потере ими аминогруппы и, во-вторых, в превращении кетокислот в глюкозу или кетоновые тела (см. схему 6/2.1).

Удаление аминогрупп из молекул АК происходит двумя путями — трансаминированием (переаминирование) и дезаминированием.

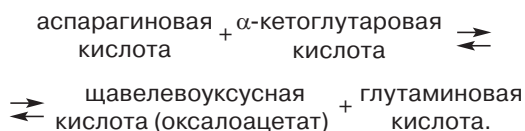
Трансаминирование — это процесс переноса α -аминогруппы аминокислоты на α -кетокислоту, чаще всего на универсальный акцептор аминогрупп — на α -кетоглутаровую кислоту — с образованием из последней глутаминовой кислоты.

Обратимая реакция трансаминирования аланина:



Полное (биохимическое) название цитозольного фермента для прямой реакции — аланин- α -кетоглутаратаминотрансфераза, для обратной реакции — глутамат-пируватаминотрансфераза. Сокращение — АЛТ, в клинической терминологии — аланин-аминотрансфераза.

Аналогичную реакцию для аспарагиновой кислоты катализирует аспарат- α -кетоглутаратаминотрансфераза (АСТ) или глутамат-оксалоацетатаминотрансфераза, которая существует в виде цитозольного и митохондриального изоферментов:



Реакции трансаминирования являются обратимыми с константой равновесия, близкой к единице. Прямая реакция — это начало внутриклеточного катаболизма АК, обратная реакция является последней реакцией синтеза ряда аминокислот. В любом направлении трансаминирование происходит в две стадии (полуреакции), которые вы можете изучить самостоятельно.

Аминотрансферазы — сложные белки с коферментом пиридоксальфосфатом (витамин В₆, Северин Е.С.), который прочно связан ковалентной альдиминной связью с апоферментом. Эти ферменты обладают практически абсолютной специфичностью к парам аминокислот, и существует более десяти таких ферментов. Для Лиз, Тре и Про аминотрансферазы отсутствуют и их катаболизм происходит другими способами.

Аминотрансферазы хорошо известны терапевтам и другим врачам как диагностические ферменты, если их уровень в крови превышает норму 5–40 ЕД/л. Вспомните энзимодиagnostику (лекция 4/1)!

Концентрация цитозольной АЛТ в крови значительно увеличивается при воспалительных повреждениях мембран клеток, особенно гепатоцитов. В печени содержится много АЛТ, которая интенсивно катализирует реакцию обмена аланина. Поэтому повышение уровня АЛТ в крови особенно характерно для гепатитов, в том числе на ранней безжелтушной стадии, с максимумом (в 6–8 раз) на 6–10-й день болезни. В меньшей степени при гепа-

титах увеличивается в крови содержание АСТ, γ -глутамилтранспептидазы, лактатдегидрогеназ изоформ 5 и 4.

Высокий уровень в крови АСТ с максимумом в 8–10 раз от нормы уже на четвертом-шестом часу острой болезни характерен для инфаркта миокарда, и это повышение продолжается в течение 3–5 суток. При инфаркте происходит некроз клеток, и поэтому в кровь выходит преобладающий митохондриальный изофермент АСТ. Напомню, что при остром инфаркте миокарда в крови увеличивается также концентрация креатинкиназы (общей и изофермента МВ), лактатдегидрогеназы (общей и изоферментов 1 и 2) и белков-тропонинов Т и I (лекция 4/1).

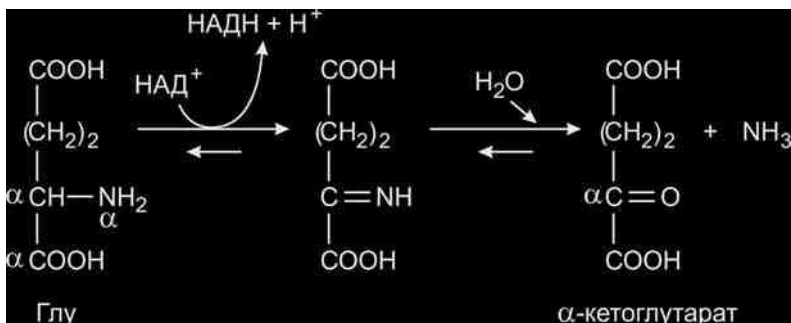
Деаминация аминокислот — процесс катаболизма в матриксе митохондрий с потерей аминокислотой своей α -аминогруппы и с превращением последней в аммиак NH_3 . Существует два типа несколько отличающихся процессов.

I тип — прямое деаминация состоит в реакциях прямого распада АК с одним ферментом и без участия других молекул-посредников:



Химический механизм прямого деаминация может быть разным.

1. Окислительное деаминация, т.е. с окислительными реакциями, для «царицы аминокислотного обмена» L-глутаминовой кислоты (Глу).

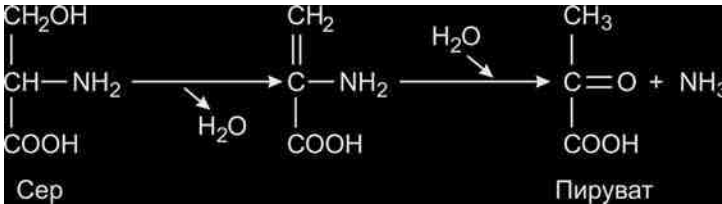


Первую окислительную стадию этого процесса катализирует митохондриальная глутаматдегидрогеназа (кофермент

НАД⁺) — олигомерный фермент из шести полипептидных цепей, играющий важную роль в обмене почти всех АК и активно функционирующий во многих органах, кроме мышц. Фермент регуляторный с аллостерическими ингибиторами (НАДН, ГТФ, АТФ) и активатором (АДФ); индуктор — кортизол. Вторая, гидролитическая стадия проходит без фермента. В целом процесс и обе реакции обратимы, но основное направление катаболического процесса слева направо.

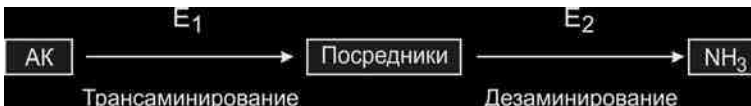
Существует, но не играет большой роли прямое окислительное дезаминирование L-АК с участием кислорода, катализируемое оксидазой L-аминокислот (ФМН) с оптимумом pH около 10. Реакции этого процесса аналогичны реакциям дезаминирования биогенных аминов (лекция 9/2).

2. Неокислительное дезаминирование Сер и Тре катализирует серинтреониндегидратаза (1-я стадия) с гидролитическим неферментативным освобождением аммиака (2-я стадия).

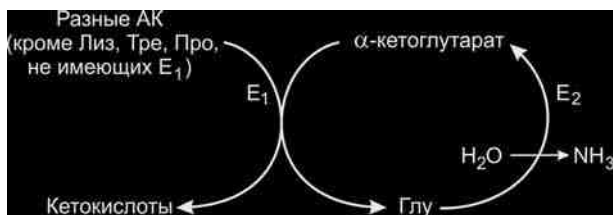


3. Неокислительное дезаминирование Гис с механизмом внутримолекулярной группировки будет рассмотрено позже.

II тип — не прямое дезаминирование аминокислот является сочетанием двух процессов — трансаминирования АК с α -кетоглутаратом и образования Глу (он приобретает аминогруппу от АК) и второго процесса — прямого окислительного дезаминирования Глу и освобождения аммиака. Участвуют минимум два фермента (E_1 — аминотрансфераза и E_2 — глутаматдегидрогеназа), а промежуточными посредниками являются α -кетоглутарат и Глу:

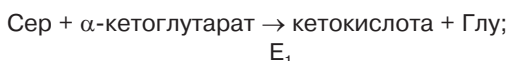


Общая схема непрямого дезаминирования:



Например, не прямое дезаминирование серина — Сер.

- 1-й процесс — трансаминирование:



- 2-й процесс — дезаминирование Глу:



В заключение перечислю основные классические типы дезаминирования отдельных АК:

- прямое дезаминирование — для Глу, Сер, Тре, Гис;
- прямое и не прямое дезаминирование — для Сер, Гис, Глу (для Глу не прямой тип в печени и в мышцах);
- не прямое дезаминирование — для многих АК (кроме Лиз, Тре, Про, не имеющих собственных аминотрансфераз).

Для некоторых АК (Про, Лиз, Цис, Тре, Сер) существуют дополнительно особые механизмы удаления α -аминогрупп, которые мы не рассматриваем.

В мышечной ткани активность глутаматдегидрогеназы является очень низкой. Поэтому в этой ткани не прямое дезаминирование АК происходит по более сложному механизму: трансаминирование, образование Глу, Асп, АМФ и гидролитическое дезаминирование АМФ, катализируемое АМФ-деаминазой, с образованием аммиака, предшественником которого является аминогруппа исходной АК.

Лекция 7/2

ОБМЕН АММИАКА. БИОСИНТЕЗ МОЧЕВИНЫ И ЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТ

В организме человека аммиак (NH_3) образуется в результате катаболизма:

- аминокислот;
- нуклеиновых кислот и нуклеотидов;
- биогенных аминов (адреналин, норадреналин, дофамин и др.);
- белков в толстом кишечнике при участии микрофлоры.

Аммиак находится в клетках разных органов в виде молекулы NH_3 или иона аммония NH_4^+ . Аммиак обезвреживается в основном внутри этих клеток, но частично проникает в кровь. Его концентрация в крови здорового человека низка и находится в пределах 0,4–0,7 мг/л, или 25–40 мкмоль/л. Превышение этого уровня при патологии приводит к проявлению токсических свойств аммиака.

МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧНОСТИ АММИАКА

1. В результате реакций: $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4\text{OH} \rightarrow \text{OH}^- + \text{NH}_4^+$ повышается рН жидкостей организма и создается алкалоз, приводящий к гипоксии в результате увеличения сродства гемоглобина к кислороду.

2. Ион аммония NH_4^+ нарушает передачу нервных импульсов ионами Na^+ и K^+ .

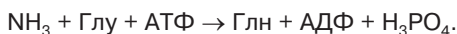
3. Аммиак как субстрат ускоряет обратную реакцию окислительного дезаминирования Глу, т.е. реакцию восстановительного аминирования:



В результате возникают вредные последствия:

- а) уменьшается количество α -кетоглутарата, нарушается цитратный цикл и синтез АТФ;
- б) нарушаются основные пути катаболизма АК и биогенных аминов.

4. Аммиак участвует также в реакции синтеза глутамина (Глн) в митохондриях, катализируемой глутаминсинтетазой:



Эта реакция у здорового человека обеспечивает синтез необходимой организму кодируемой АК для синтеза белков и других веществ, и кроме того, Глн является нетоксичной транспортной формой переноса токсичного аммиака в печень и в почки (см. ниже). Но при патологии, при избыточном количестве аммиака и соответственно гидрофильного Глн в клетках последний вызывает диффузию воды в нейроны и отек мозга. Второе неблагоприятное следствие указанной реакции — уменьшение количества Глу (левая часть уравнения) в клетках нервной системы и уменьшение синтеза из Глу тормозного медиатора — γ -аминомасляной кислоты.

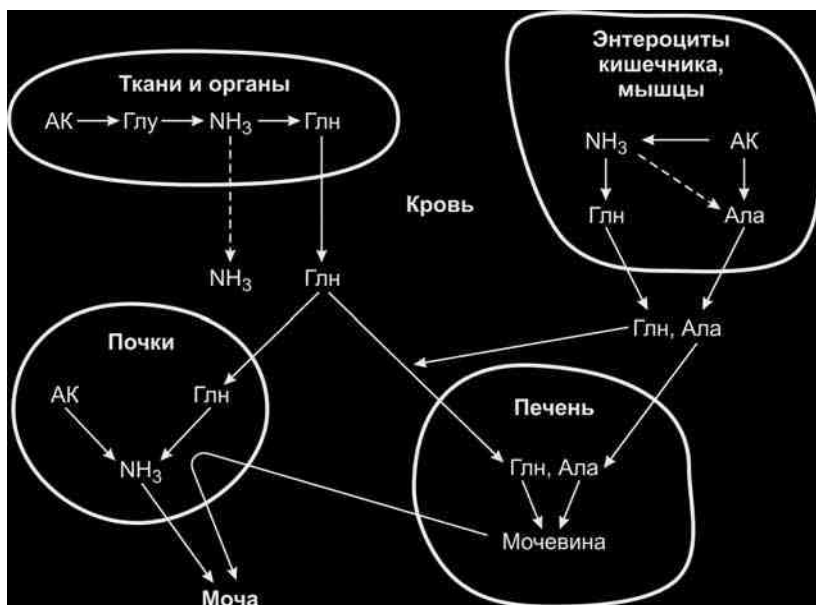
Теперь нам проще рассмотреть внутриклеточные реакции детоксикации аммиака.

1. Основная реакция, которая происходит во всех органах, — это связывание аммиака и синтез Глн.
2. В печени происходит дополнительная реакция использования аммиака и образование карбамоилфосфата (см. ниже).
3. Приведенная выше реакция уменьшения количества аммиака за счет его связывания с α -кетоглутаратом может реализовываться во всех клетках, но она имеет второстепенное значение у здорового человека при небольшом содержании аммиака. При высоком уровне аммиака эта

реакция является одним из механизмов проявления токсичности аммиака.

На схеме 7/2.1 показаны образование, обезвреживание аммиака и его транспортные формы по крови (Глн и Ала).

Схема 7/2.1. Метаболизм аминокислот и аммиака в разных органах



Отметим, что если бы основное количество аммиака транспортировалось по крови в свои конечные органы — печень и почки — в немодифицированном виде, то он оказывал бы сильное токсическое действие на организм в целом. В клетках аммиак входит в состав Глн и Ала, которые и доставляют его в печень и часть — в почки в форме Глн. Особенно много Глн образуется в мозгу, мышцах, кишечнике; его разнообразная и не только транспортная роль рассмотрена выше. Ала образуется в кишечнике и в мышцах в результате интенсивного метаболизма в них аминокислот, в том числе в мышечном глюкозо-аланиновом цикле (лекция 14/1).

СУДЬБА АМИНОКИСЛОТНОГО АЗОТА В ПОЧКАХ

В почках имеется активная глутаминаза, которую постоянно активируют кислоты, образующиеся при метаболизме или поступающие в почки в виде кетоновых тел при сахарном диабете и длительном голодании. Глутаминаза катализирует реакцию:



Два источника аммиака в почках:

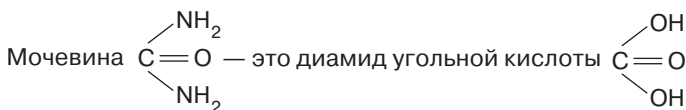
- 1) около 70% составляет аммиак, освободившийся из Глн, доставленного кровью в почки;
- 2) около 30% — это аммиак за счет дезаминирования собственных АК почек.

Далее внутри почечных канальцев аммиак образует ионы аммония с протонами различных кислот, поступивших в почки (фосфорная и другие неорганические кислоты, молочная кислота, кетоновые тела), и соли типа NH_4^+A^- (где A^- — анион) и $\text{R}-\text{CO}-\text{ONH}_4$ (для органических кислот).

Эти соли в количестве в среднем 0,5 г/сут для здорового человека выводятся с мочой. Аммиак, таким образом, участвует в обмене ионов и солей, в их удалении с мочой и влияет на величину pH мочи. Последняя у здоровых людей может колебаться от 4,5 до 8,0 (чаще 5–6) в зависимости от характера питания. Роль аммиака как нейтрализатора кислот могли бы выполнять и другие катионы (Na^+ , K^+), но их потеря с мочой нецелесообразна для организма. Поэтому при избытке кислот (сахарный диабет, длительное голодание) в почках активируется глутаминаза и увеличивается количество нейтрализатора — аммиака.

В случае патологии (пиелонефрит, тубулопатии) уменьшается образование аммиака в почках, и для нейтрализации элиминируемых с мочой кислот используется ион натрия, что приводит к нежелательному увеличению потребности больного человека в столовой соли.

БИОСИНТЕЗ МОЧЕВИНЫ (ОРНИТИНОВЫЙ ЦИКЛ)



Роль этого биосинтеза:

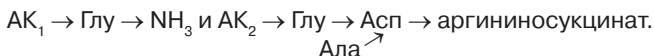
- 1) с мочевиной выводится из организма человека 90% азота распадающихся белков.
- 2) орнитинный цикл обеспечивает также дополнительный синтез частично заменимой аминокислоты Арг.

Суммарное уравнение цикла мочевины:



На схеме 7/2.2 показаны детали и пять основных реакций (и соответствующие ферменты) биосинтеза мочевины, отмеченных римскими цифрами и проходящих в митохондриях (реакции I и II) и в цитозоле гепатоцитов печени (реакции III–V). Изучите и поймите эту схему. Мои дополнения и некоторые разъяснения к схеме 7/2.2.

- Происхождение двух атомов азота мочевины за счет двух АК:



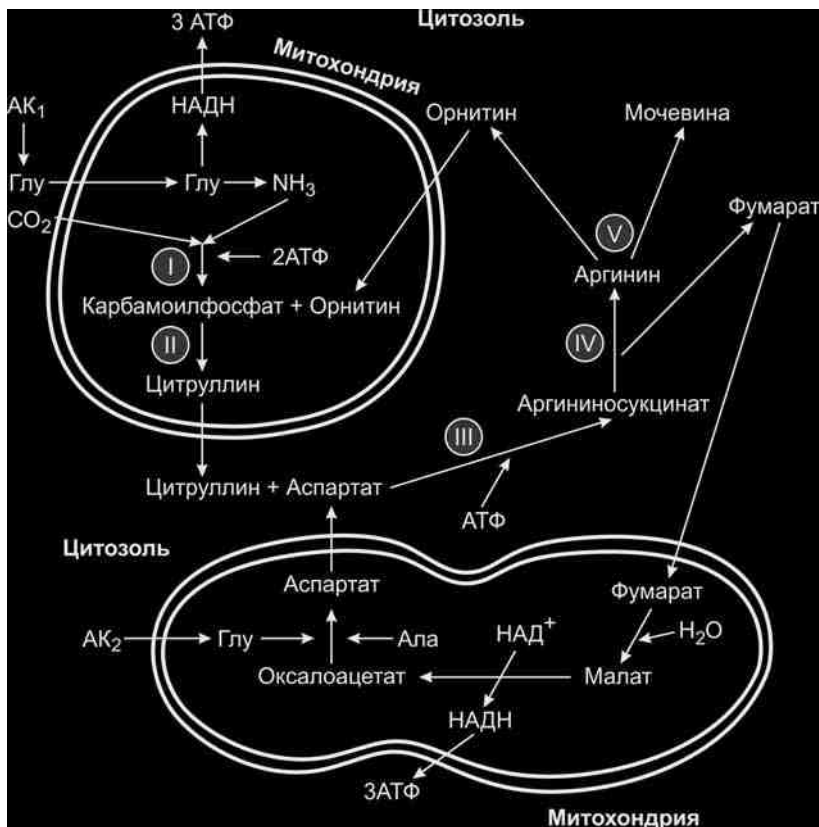
- Энергетический баланс цикла:

- а) расходуется три молекулы АТФ — две АТФ в реакции I и одна АТФ в реакции III.
- б) образуется шесть молекул АТФ методом окислительного фосфорилирования АДФ за счет окисления двух молекул НАДН в митохондриях. Кажущийся избыток энергии в виде трех молекул АТФ расходуется на транспорт компонентов цикла через митохондриальные мембраны.

Полный орнитинный цикл происходит только в печени. Однако активная аргиназа E_V может функционировать в почках,

мозгу, коже и молочных железах. Ферменты E_I и E_{II} имеются в энтероцитах, а E_{III} и E_{IV} — в почках.

Схема 7/2.2. Схема биосинтеза мочевины



Рассматриваемый процесс регулируется, во-первых, субстратом аммиак-активатором, а также, во-вторых, с участием регуляторных ферментов:

- фермент E_I аллостерически активируется N-ацетилглютаматом;
- количество ферментов E_I , E_{II} и E_V увеличивается на уровне транскрипции (индукция) при участии кортизола — гормона голода и стресса; в этих условиях происходит интен-

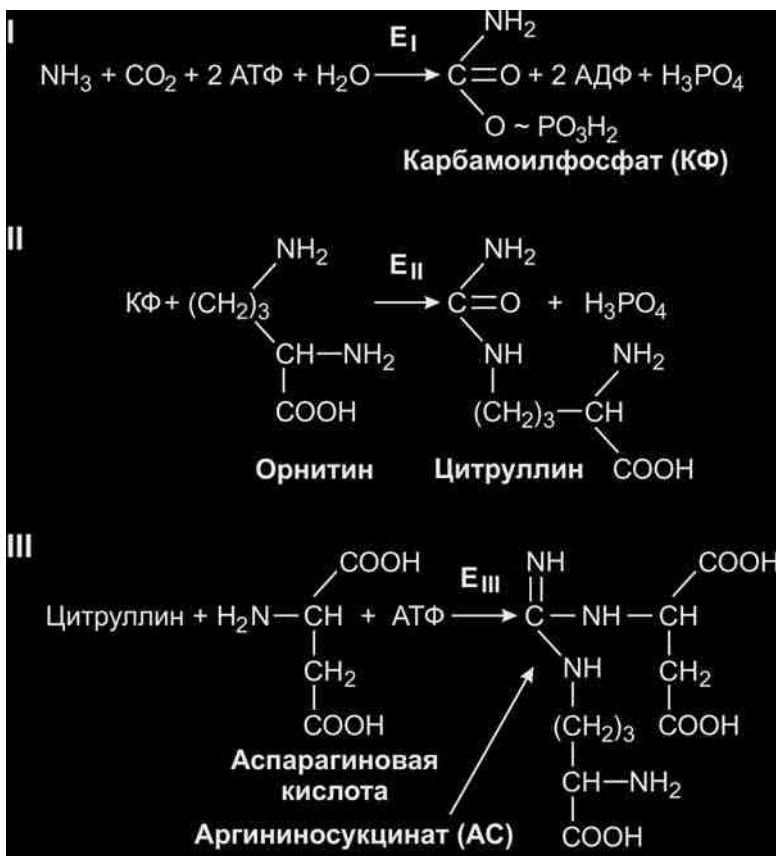
сивный распад белков и АК, из которых синтезируется глюкоза.

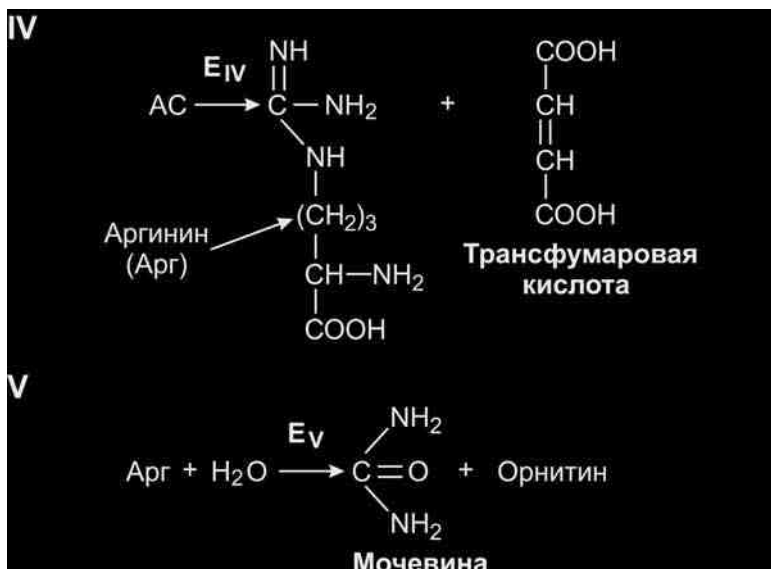
Можно отметить также связь между орнитиновым и цитратным циклами. Орнитиновый цикл поставяет fumarat в цитратный цикл (см. схему 7/2.2), а в последнем образуется углекислый газ CO_2 , необходимый для реакции I орнитинового цикла.

Основные ферменты орнитинового цикла:

- митохондриальные: E_I — карбамоилфосфатсинтетаза I, E_{II} — орнитинкарбамоилтрансфераза;
- цитозольные: E_{III} — аргининосукцинатсинтетаза, E_{IV} — аргининосукцинатлиаза, E_V — аргиназа.

Основные реакции биосинтеза мочевины:





ГИПЕРАММОНИЕМИИ

Это синдром ряда заболеваний печени, приводящих к уменьшению синтеза в печени и содержания в крови мочевины и, наоборот, — к увеличению концентрации аммиака в крови и к увеличению содержания в крови некоторых компонентов орнитинового цикла в зависимости от вида поврежденного фермента цикла. Симптомы острой интоксикации нервной системы вызваны главным образом аммиаком: головная боль, тошнота, рвота, потеря сознания из-за отека мозга. При хроническом течении заболеваний развивается физический и нервно-психический инфантилизм.

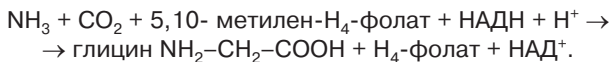
Вторичные ненаследственные гипераммониемии возникают при поражении печени различными токсическими факторами типа вирусов гепатита и гриппа, а также алкоголем и медикаментами.

Причина первичных гипераммониемий — мутации генов ферментов синтеза мочевины с понижением их активности. Соответственно выделяют пять основных форм заболеваний. На-

пример, дефект аргиназы (E_V) провоцирует гипераргининемию с увеличением в печени и в крови содержания аргинина и аммиака, особенно после приема пищи. Мутация гена фермента E_I приводит к гипераммониемии типа I с большим количеством аммиака в крови даже утром до завтрака.

Профилактика и лечение с целью уменьшения количества аммиака.

- Ограничение пищевого белка.
- Назначение в качестве лекарств кетокислот, которые, связывая аммиак, превращаются в АК; особенно полезны кетоаналоги незаменимых АК.
- Назначение метаболитов орнитинового цикла с тем же результатом. В практику внедрен гепа-мерц — комплекс орнитина и аспартата, который распадается в кишечнике на два компонента, проникает в печень и ускоряет реакции II и III.
- Лекарства для ускоренного выведения аммиака с мочой:
 - фенилацетат, который связывает эндогенный Глн, превращаясь в фенилацетилглутамин, удаляемый с мочой, а аммиак расходуется на регенерацию Глн;
 - бензоат связывает глицин организма, образуя выводимую с мочой гиппуровую кислоту; аммиак восстанавливает количество глицина в реакции:



В связи с рассмотренной патологией полезно представить некоторую информацию об азотистых компонентах крови и мочи. Полный состав крови и мочи рассматривает клиническая биохимия. В сыворотке крови здорового человека небелковые азотистые вещества объединяют в группу остаточного азота, состав которой (по азоту) в среднем следующий: мочевины — 50%, аминокислоты — 25%, мочевиная кислота — 4%, креатин — 5%, креатинин — 2,5%, аммиак и индикан — 0,5% и другие компоненты. Моча здорового человека при обычном питании практически не содержит белка, хотя допускается физиологическая микроальбуминурия до 30 мг белка/сут. Удаляемые с мочой азотистые вещества (общий азот мочи) на 90% (по азоту) представлены мо-

чевиной, остальные компоненты — аммиак, креатинин, мочевая кислота, индикан, аминокислоты. Желтый и соломенно-желтый цвет мочи обуславливают многие азотистые соединения, из которых главными являются урохром (продукт распада триптофана) и уробилин.

При различной патологии содержание азотистых веществ в моче и крови изменяется (табл. 7/2.1).

Таблица 7/2.1

Содержание мочевины и небелкового азота в крови и моче в норме и при патологии

Сыворотка крови	Моча
<i>Нормы мочевины</i>	
15–50 мг/дл 2,5–8,3 ммоль/л	20–35 г/сут 330–580 ммоль/сут
<i>Норма остаточного азота</i>	
20–40 мг/дл; 14–29 ммоль/л	9–16 г/сут; 710–1070 ммоль/сут
<i>Выше нормы</i>	
Азотемия	Азотурия
1. Обогащенная белками пища 2. Сверхинтенсивная физическая работа 3. Болезни: воспаления, инфекции, ожоги, краш(сдавления)-синдром, сахарный диабет	
<i>Ниже нормы</i>	
1. Длительное голодание 2. Тяжелые болезни печени	
При хронической почечной недостаточности с нарушением выделительной функции почек	
В крови — увеличение	В моче — уменьшение

При значительном повреждении выделительной функции почек мочевины задерживается в крови, а ее содержание в моче уменьшается. Поэтому индекс-отношение азот мочевины / весь остаточный азот крови увеличивается выше клинически принятой нормы (48%) до 80–90% при синдроме уремии с плохим прогнозом для больного.

МЕТАБОЛИЗМ БЕЗАЗОТИСТОГО ОСТАТКА АМИНОКИСЛОТ

Представляю схему дальнейших превращений АК после потери ими α -аминогруппы.



По судьбе углеродного (безазотистого) остатка АК можно разделить на три группы. Это четвертая изученная нами за два семестра классификацией АК.

1. Четырнадцать гликогенных АК могут превратиться в глюкозу: Ала, Арг, Асп, Асн, Глу, Гли, Глн, Про, Сер, Цис, Гис, Вал, Мет, Тре.

Схемы соответствующего синтеза глюкозы:

а) Глу \rightarrow α -кетоглутарат \rightarrow далее в цитратном цикле \rightarrow сукцинил-КоА \rightarrow оксалоацетат \rightarrow далее глюконеогенез \rightarrow ФЭП... \rightarrow глюкоза;

б) Ала \rightarrow пируват \rightarrow оксалоацетат... \rightarrow глюкоза.

2. Кетогенные АК Лиз и Лей трансформируются в ацетоацетил-КоА (модифицированное кетоновое тело) \rightarrow далее ацетил-КоА \rightarrow цитратный цикл \rightarrow цепь переноса электронов \rightarrow АТФ, т.е. роль этих АК энергетическая.

3. АК смешанные (глико-кетогенные): Фен, Тир, Три, Иле превращаются в глюкозу и в ацетил-КоА, но за счет своих разных атомов.

Два гормона — кортизол и глюкагон — участвуют в этих процессах синтеза глюкозы из АК в случае голодания и при исключительно белковой пище без глюкозы, а также при сахарном диабете (лекции 14/1, 12/2, 13/2).

СИНТЕЗ ЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТ

Я думаю, что после предыдущего раздела и предшествующих лекций синтез заменимых АК не представляет никаких трудностей для понимания. Основным источником для этого синтеза — глюкоза. Примеры:

- 1) глюкоза \rightarrow гликолиз \rightarrow пируват + Глу \rightarrow Ала; на последней стадии Ала образуется благодаря реакции трансаминирования, катализируемой ферментом АЛТ (предыдущая лекция);
- 2) глюкоза \rightarrow пируват \rightarrow оксалоацетат + Глу \rightarrow (АСТ) \rightarrow Асп;
- 3) глюкоза... \rightarrow α -кетоглутарат + Ала \rightarrow (АЛТ) \rightarrow Глу;
- 4) Глу + NH_3 + АТФ \rightarrow Глн + АДФ + H_3PO_4 . Эта реакция, катализируемая глутаминсинтетазой, уже была рассмотрена выше;
- 5) аспарагинсинтетаза катализирует образование Асн из Асп, используя азот донора — Глн: аспартат + глутамин + АТФ + H_2O \rightarrow аспарагин + глутамат + АМФ + $\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$.

Следовательно, последней реакцией в таких синтезах АК является реакция трансаминирования на базе соответствующих кетокислот, образующихся из глюкозы. И она же является первой реакцией катаболизма АК (лекция 6/2), что демонстрирует рациональную универсальность путей обмена АК.

Незаменимые АК (кроме Лиз и Тре) также вступают в обратимые реакции трансаминирования с участием собственных аминотрансфераз. Казалось бы, что для них также возможен биосинтез. Однако для незаменимых АК незаменимыми являются именно кетокислоты, которые не синтезируются в организме человека. При введении в качестве лекарств или пищевых добавок соответствующих кетокислот — структурных предшественников — синтезируются незаменимые АК. Это используется при гипераммониемиях для связывания и уменьшения количества токсического аммиака.

Лекция 8/2

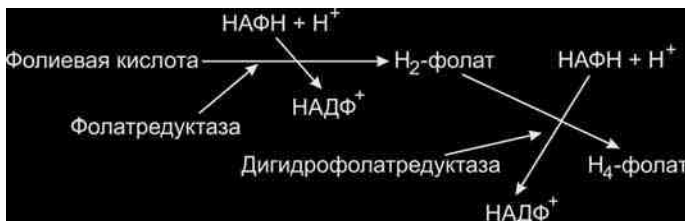
ОБМЕН АЛИФАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ

Для понимания метаболизма серина (Сер), глицина (Гли), метионина (Мет), цистеина (Цис) и нуклеотидов надо рассмотреть обмен одноуглеродных фрагментов и их перенос между молекулами с участием трансфераз, имеющих в качестве коферментов производные фолиевой кислоты (витамина В_с или В₉). Этот метаболизм предшествует синтезу белков, РНК и ДНК.

Фолиевую кислоту (суточная норма 0,1–0,5 мг/сут) человек получает с растительной пищей и в результате синтеза ее в кишечнике некоторыми бактериями. Вторичный источник — мясные продукты. В организме на основе фолиевой кислоты образуется базовый кофермент — тетрагидрофолат, или Н₄-фолат (Н₄ф), а из него — частные коферменты для разных трансфераз. Эти частные взаимопревращающиеся коферменты являются комплексами Н₄-фолата с разными одноуглеродными фрагментами, образованными атомами углерода распадающихся аминокислот (АК):

Формулы	$\text{CH}_3 - \text{H}_4\text{ф}$	$-\text{CH}_2 - \text{H}_4\text{ф}$	$=\text{CH} - \text{H}_4\text{ф}$	$\text{O}=\overset{\text{H}}{\text{C}} - \text{H}_4\text{ф}$
Название	метил-Н ₄ -фолат	метилен-Н ₄ -фолат	метенил-Н ₄ -фолат	формил-Н ₄ -фолат
Роль в обмене	Мет	Сер, Гли, дТМФ	Пуриновые нуклеотиды	

Предварительно фолиевая кислота восстанавливается в двух реакциях с участием НАДФН:

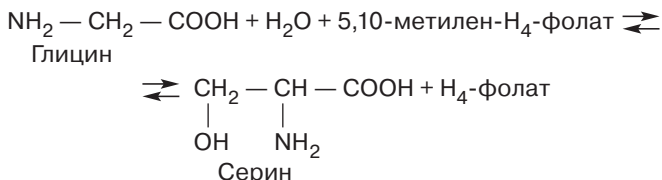


Существуют лекарства — ингибиторы дигидрофолатредуктазы, которые тормозят образование базового кофермента (H₄-фолата) и все последующие реакции, что приводит к угнетению синтеза белков, ДНК и РНК и, следовательно, к остановке размножения клеток. Это, во-первых, метотрексат (или аметоптерин) и аминоптерин — аналоги фолиевой кислоты, функционирующие как конкурентные обратимые ингибиторы указанного фермента и являющиеся противоопухолевыми препаратами для человека. Во-вторых, антибактериальное лекарство — триметоприм.

МЕТАБОЛИЗМ СЕРИНА И ГЛИЦИНА

Серин. Синтез:

- 1) из глюкозы: глюкоза → 3-фосфоглицерат → 3-фосфогидроксипируват → 3-фосфосерин → серин;
- 2) из глицина в обратимой реакции с серингидрокси-метилтрансферазой:



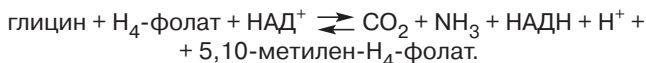
Распад:

- 1) в указанной выше реакции, идущей справа налево;
- 2) в реакциях прямого и непрямого дезаминирования без образования мобильных одноуглеродных фрагментов (лекция 6/2).

Глицин. Синтез:

- 1) из серина в указанной выше реакции, идущей справа налево;
- 2) из аммиака и углекислоты в обратной представленной ниже реакции.

Распад:



Эту реакцию прямого окислительного дезаминирования глицина катализирует митохондриальная глицинрасщепляющая ферментативная система с коферментами НАД⁺, пиридоксаль-фосфатом, липоевой кислотой.

Далее в связи с обменом метионина (Мет) и реакциями трансметилирования перечислим все доноры метильных групп:

- 1) главный донор — Мет, точнее, его энергетически активированная форма — SAM (см. ниже);
- 2) 5-метил-H₄-фолат;
- 3) пангамовая кислота или витамин В₁₅ с двумя метильными группами;
- 4) витамин U — или S-метилметионин.

МЕТАБОЛИЗМ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ МЕТИОНИНА И ЦИСТЕИНА

Мет — незаменимая АК. В организме человека его полный синтез невозможен, но возможна регенерация из базовой части его молекулы — гомоцистеина. Цис — условно заменимая АК, которая может синтезироваться на основе незаменимого Мет как донора атома серы и заменимой АК — серина.

Функции Мет:

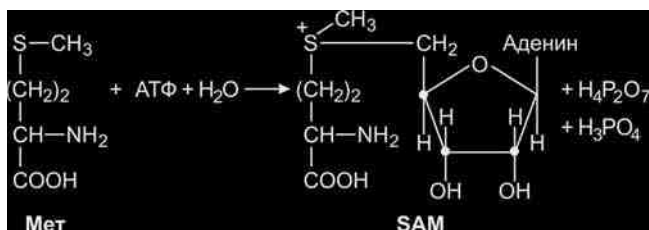
- 1) кодируемая АК и структурный мономер белковой цепочки;
- 2) участвует в инициации синтеза всех полипептидных цепей у человека;
- 3) как гликогенная АК может быть источником для синтеза глюкозы;
- 4) донор серы для Цис;

- 5) донор метильной группы для метилирования и синтеза адреналина, креатина, холина и для модификации и детоксикации ряда ксенобиотиков, включая лекарства.

Функции Цис:

- 1) входит в состав белков;
- 2) создает дисульфидные связи в белках, участвуя в образовании межрадикальных связей в третичной и четвертичной структурах белков;
- 3) важный компонент активного центра ферментов благодаря своей сульфгидрильной группы $-SH$;
- 4) гликогенная АК.

Для превращения в донора метильной группы и для участия в реакциях трансметилирования **Мет** подвергается энергетической активации с повышением подвижности своей метильной группы. Образуется **S-аденозилметионин (SAM)** при каталитическом участии метионинаденозилтрансферазы:



SAM является также действующим веществом препарата гептрал, который используется терапевтами для уменьшения содержания жира в поврежденной печени и для лечения ее ожирения.

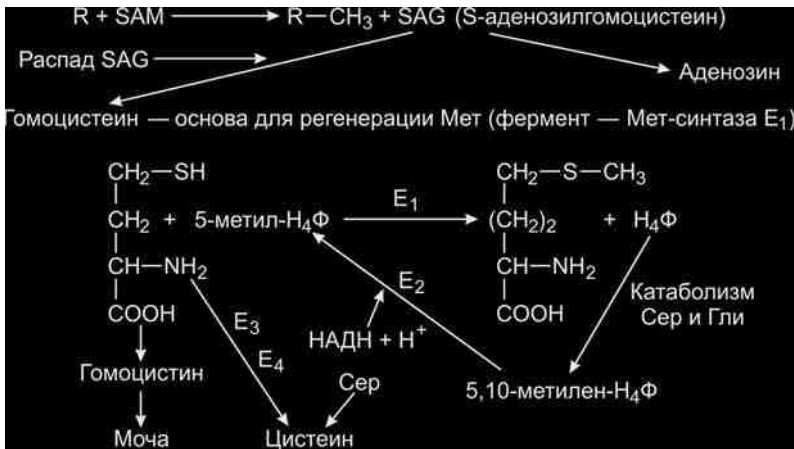
Продолжим биохимию. SAM как донор метильной группы участвует в многочисленных реакциях метилирования разных субстратов R (см. ниже).

В результате всех представленных реакций:

- происходит метилирование многих субстратов, включая медикаменты, с синтезом биосоединений или с их инактивацией;
- расход незаменимой аминокислоты **Мет** компенсируется не только за счет полноценной белковой пищи, но и в результате показанной ниже регенерации **Мет** из гомоцис-

теина с участием Мет-синтазы и коферментов 5-метил-Н₄-фолатата и метилкобаламина — производного витамина В₁₂, содержащего кобальт (Нобелевская премия 1964 г.);

- для постоянной регенерации Мет образующийся Н₄-фолат (правая часть уравнения) должен превращаться в 5-метил-Н₄-фолат за счет одноуглеродных фрагментов Сер или Гли (это катализируют соответствующие ферменты катаболизма Сер, Гли) и при участии редуктазы Е₂ (кофермент НАДН);
- гомоцистеин служит также донором серы для синтеза Цис на основе его «скелета» — Сер — в двух реакциях с ферментами Е₃ и Е₄, для которых коферментом является пиридоксальфосфат (витамин В₆).
- часть гомоцистеина, синтез которого в организме человека невозможен, удаляется с мочой, поэтому необходимо постоянное поступление пищевого Мет.



Итог: в этих реакциях участвуют четыре кофермента и соответственно витамина. А именно: 5-метил-Н₄-фолат (фолиевая кислота), метилкобаламин (витамин В₁₂), пиридоксальфосфат (витамин В₆) и НАДН (витамин РР). При недостатке в организме одного из этих витаминов или при мутациях генов соответствующих ферментов возникают патологические состояния человека.

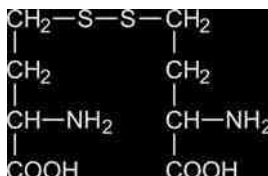
ЗАБОЛЕВАНИЯ

I. Макроцитарные анемии характеризуются не только уменьшением количества эритроцитов (и гемоглобина) в крови, но и увеличением их размеров. Два варианта таких анемий:

- анемия мегалобластическая, или злокачественная, или пернициозная — болезнь Аддисона—Бирмера; ее причиной является недостаток витамина B_{12} , возникающий при неполноценном питании (недостаток мясной и растительной пищи), болезнях желудка (недостаточный синтез глукотепроина — фактора Касла) и кишечника (нарушение всасывания комплекса B_{12} —фактор Касла);
- анемия мегалобластическая, вызванная дефицитом фолиевой кислоты при отсутствии растительной пищи, болезнях печени, кишечника и при дисбактериозе.

Клинически обе формы заболевания сходны, а их молекулярный механизм должен быть понятным на основании вышеизложенного: недостаток трех рассмотренных витаминов (без B_6) нарушает обмен фолиевой кислоты и образование ее коферментов, содержащих одноуглеродные фрагменты, с последующим угнетением синтеза РНК, ДНК и белков. Это отражается прежде всего на размножении и дифференциации быстро делящихся клеток эритроидного ряда.

II. При таких же гипо- и авитаминозах и особенно при недостатке витамина B_6 и активности фосфопиридоксальных ферментов цистатионин- β -синтазы E_3 и цистатионин- γ -лиазы E_4 , а также редуктазы E_2 (см. выше реакции) увеличивается в тканях и крови содержание гомоцистеина (синдром гипергомоцистеинемии) и его димера — гомоцистина, который удаляется с мочой (гомоцистинурия).



Такое нарушение обмена серосодержащих аминокислот приводит при отсутствии лечения к патологии: поражение мозга,

умственная отсталость, катаракта, повышение свертываемости крови и повреждение эндотелия с формированием атеросклеротических бляшек.

Непосредственно повреждает эндотелий артерий гомоцистеин. Поэтому если его содержание в крови превышает нормальный диапазон в 5–15 мкмоль/л, то это считается одним из факторов риска развития атеросклероза.

SAM является донором метильной группы для многих реакций трансметилирования.

Примеры

1. Синтез адреналина из его предшественника медиатора симпатической трансмиссии — норадреналина, что мы рассмотрим в следующей лекции.

2. Синтез медиатора парасимпатических синапсов — ацетилхолина:



3. Синтез креатина в системе реакций: распад белков → креатин → креатинфосфат → креатинин → удаление части азота распадающихся белков с мочой.

Эта система реакций имеет четыре основных медико-биологических значения.

1. Креатинин в своем составе выделяет в мочу часть азота распадающихся белков.
2. Креатинфосфат является запасной формой энергии в мышцах наряду с АТФ, но его содержание в 3–8 раз больше, чем АТФ. При работе мышцы в первую очередь расходуется свободная АТФ, а далее ее количество пополняется за счет включения обратной реакции образования АТФ из креатинфосфата (см. далее реакцию).
3. Креатинкиназа кардиомиоцитов, а более точно — ее изофермент МВ является самым ранним маркером острого инфаркта миокарда (см. лекцию 4/1).

4. Креатинин, поступаая по крови в почечную артериолу, фильтруется в клубочке, но не реабсорбируется в канальцах. Поэтому нефрологи и урологи для оценки работоспособности почечных клубочков исследуют клубочковую фильтрацию по сравнению концентрации креатинина в моче и крови с расчетом коэффициента «очистения (клиренса)».



Более подробная информация о содержании креатина и креатинина в сыворотке крови и моче представлена в табл. 8/2.1, которая позволяет оценить значение этих биохимических компонентов как диагностических показателей при некоторых состояниях и заболеваниях человека.

Таблица 8/2.1

**Содержание креатина и креатинина в сыворотке крови
и в моче человека в норме и при патологии**

Норма					
Показатель		Кровь		Моча	
		мг/дл	мкмоль/л	г/сут	ммоль/сут
Креатин	жен.	—	27–71	—	0–0,6
	муж.	—	13–53	—	0–0,3
Креатинин	жен.	0,5–1,1	44–97	0,8–1,6	7,1–15,9
	муж.	0,7–1,4	62–124	1,0–2,0	8,8–17,7
Патология					
		Креатин		Креатинин	
		кровь	моча	кровь	моча
Обильная мясная пища, интенсивный распад белков (ожоги, некрозы мышц, инфекции, сахарный диабет, лучевая болезнь, краш-синдром или сдавление тканей)		↑	↑	↑↑↑	↑↑↑
Болезни мышц (миастении, дистрофии) с повреждением креатинкиназы		↑	↑↑	↓	↓
Болезни почек с нарушением клубочковой фильтрации		—	—	↑↑	↓

Примечание. Стрелки обозначают увеличение или уменьшение концентрации указанных соединений соответственно.

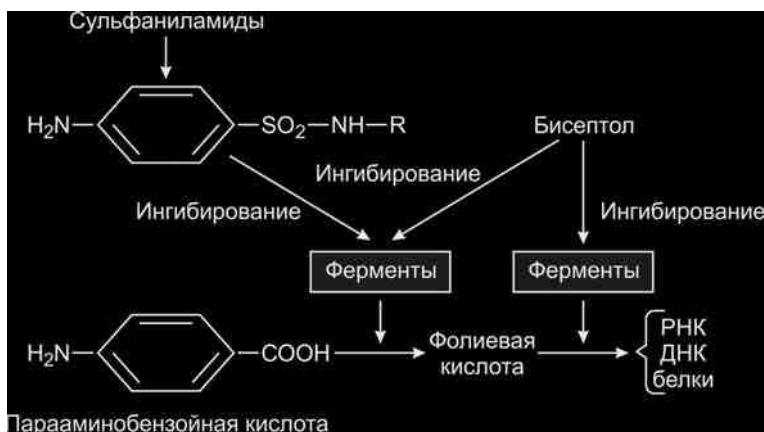
ЛЕКАРСТВА

В начале лекции были кратко рассмотрены препараты, тормозящие образование базового кофермента на основе фолиевой кислоты — H_4 -фолата и вследствие этого угнетающие размножение опухолевых клеток и бактерий.

Теперь о сульфаниламидах как противобактериальных препаратах. Для некоторых, в том числе патогенных, бактерий фолиевая кислота не является витамином, и они синтезируют ее из парааминобензойной кислоты (схема 8/2.1). Именно эта кислота служит в данном случае витамином. Сульфаниламиды,

являясь структурными аналогами парааминобензойной кислоты, во-первых, конкурентно ингибируют активность ферментов синтеза фолата (например, дигидроптероатсинтетазы). Во-вторых, указанные ферменты обладают только относительной субстратной специфичностью, и поэтому они катализируют также превращение сульфаниламидов в псевдофолиевую кислоту. Такой псевдокофермент дополнительно нарушает образование частных коферментов и их комплексов с одноуглеродными фрагментами. Итог — нарушение обмена АК, синтеза нуклеотидов, РНК и ДНК бактерий, прекращение их размножения и купирование бактериальной инфекции (см. схему 8/2.1). Я думаю, что студенты понимают, почему сульфаниламиды не изменяют метаболизм человека и не дают побочных эффектов в разумных терапевтических дозах.

Схема 8/2.1. Механизм действия некоторых противобактериальных препаратов



На представленной схеме показан не только механизм действия сульфаниламидов, но и рассматривается более эффективный противобактериальный препарат бисептол (бактрим), который назначается при тяжелых и осложненных инфекционных заболеваниях разных органов, в том числе при септицемии. Бисептол состоит из двух компонентов: сульфаниламида сульфаметоксазола (ингибитора синтеза фолата) и триметоприма

(ингибитора образования H_4 -фолатов), т.е. такой комбинированный препарат прерывает метаболическую цепь бактерий сразу в двух разных точках. Поэтому бисептол очень эффективен, и у бактерий очень редко возникает мутационная лекарственная резистентность к этому полипрепарату в отличие от монолекарств.

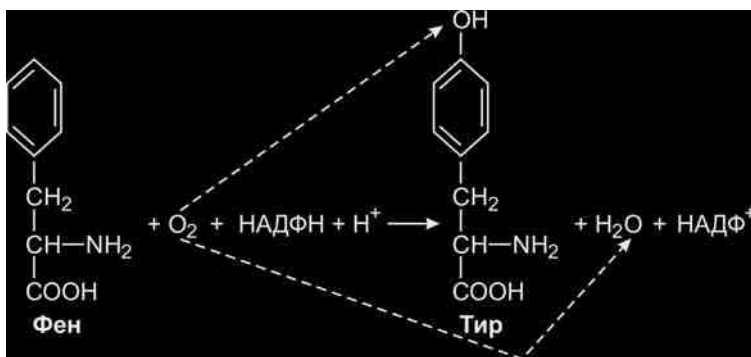
Лекция 9/2

ОБМЕН АРОМАТИЧЕСКИХ И ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ

Эта лекция, как и некоторые другие, будет насыщена вопросами медицинской биохимии, биохимическими аспектами ряда заболеваний.

ФЕНИЛАЛАНИН И ТИРОЗИН

Фенилаланин (Фен) — незаменимая аминокислота, тирозин (Тир) — условно заменимая АК, которая синтезируется в организме человека из незаменимой Фен:



Эта достаточно сложная окислительно-восстановительная реакция катализируется ферментом класса оксидоредуктаз, подкласса оксигеназ, варианта монооксигеназ, частное название фенилаланингидроксилаза (ФАГ). Фермент является сложным

белком, имеющим в качестве кофакторов НАДФН, Fe^{2+} и тетрагидриобиптерин (H_4 -биоптерин). Последний близок по строению с частью фолиевой кислоты: оба содержат гетероцикл птерина. В результате нескольких реакций в ароматическом кольце Фен появляется гидроксильная группа за счет одного атома молекулярного кислорода, а водород комплекса НАДН + H^+ через H_4 -биоптерин образует со вторым атомом кислорода воду.

Генетический контроль ФАГ осуществляется одним геном для апофермента и несколькими генами для H_4 -биоптерина. Поэтому развивающееся при недостатке активности ФАГ наследственное заболевание детей — фенилкетонурия (ФКУ) обусловлено рецессивными мутациями разных генов. При мутациях гена апофермента (хромосома 12, локус q22-24) возникает классическая ФКУ, более распространенная, при которой создается избыток Фен и возможен недостаток Тир при неполноценном белковом питании. Мутации генов H_4 -биоптерина приводят к появлению более редких, но клинически более тяжелых и летальных коферментных или вариантных ФКУ. Их злокачественность связана с нарушением обмена трех АК — Фен, Тир и Три, так как H_4 -биоптерин как кофермент участвует еще в синтезе катехоламинов из Тир, а также серотонина и мелатонина из Три (см. ниже).

В обоих случаях основной биохимический механизм патологии связан с избыточным накоплением в организме ребенка Фен, который может распадаться до углекислоты и воды только через Тир. Но этот путь практически заблокирован. Поэтому избыток Фен, не использованный для синтеза белка, превращается в токсические для мозга метаболиты, нарушающие, в частности, миелинизацию аксонов нейронов.



Особенно токсичен фенилпируват, содержащий кетогруппу, что явилось причиной самого термина «фенилкетонурия». Токсические продукты нарушают образование белой миелиновой оболочки аксонов многих нейронов. В отличие от других мемб-

ран эта оболочка содержит только 25–30% белков, а 70–75% — это липиды, состоящие из гликолипидов (доминирует сфингомиелин — лекция 9/1), фосфолипидов и холестерина.

Дополнительные механизмы поражения нервной системы при ФКУ:

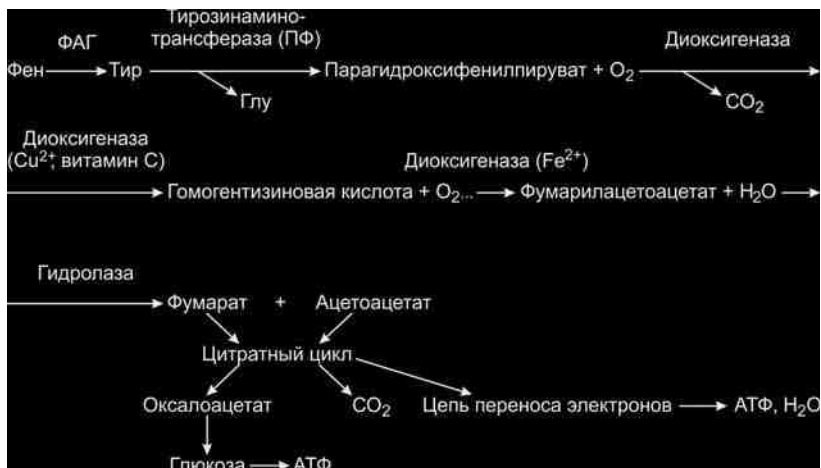
- уменьшение содержания Тир приводит к уменьшению образования из него дофамина (тормозного медиатора для гипоталамуса и гипофиза);
- избыток Фен мешает транспорту Тир и Три из крови в мозг, что также уменьшает синтез из них медиаторов и гормонов.

Рожденные больными дети являются аутосомно-рецессивными гомозиготами по мутантным генам. В связи с тяжестью этого заболевания законодательством РФ предусмотрена ранняя постнатальная диагностика новорожденных на наличие ФКУ, как и других четырех заболеваний детей (лекция 8/1). Для этого проводится определение концентрации Фен в крови ребенка, взятой из пятки. В норме кровь ребенка содержит 1–2 мг/дл Фен, при патологии — 10–80 мг/дл. Моча здорового ребенка практически не содержит фенилпирувата, а при ФКУ он выявляется в моче.

Кроме указанной лабораторной диагностики ФКУ врачи и родители должны знать ранние клинические симптомы болезни: «мышинный» запах тела ребенка, вызванный приведенными выше интермедиатами — «фениловыми» кислотами; гиперрефлексия, повышенный тонус мышц, тремор и судорожный синдром из-за пониженного содержания в мозгу дофамина. При отсутствии лечения далее появляются более поздние симптомы: отсутствие окраски радужной оболочки глаза вследствие недостатка цветных меланинов, образующихся из Тир; экзема кожи и, наконец, главное — через несколько лет энцефалопатия (умственная отсталость), вызванная указанными выше причинами. При злокачественной коферментной ФКУ симптоматика сходная, но более выражены неврологические симптомы, резистентность к диетотерапии и наступает ранняя гибель. Лечение пока сводится только к кормлению ребенка искусственными смесями с низким содержанием Фен. Такая диетотерапия должна продолжаться в течение 8–15 лет (до завершения процессов миелинизации мозга) или пожизненно.

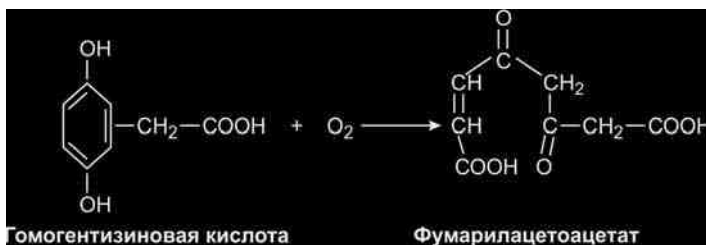
При наличии в семейной истории случаев ФКУ вступающим в брак рекомендуется проведение в генетической консультации и биохимического теста для проверки наличия у будущих родителей гетерозиготности по генам ФАГ: пероральное введение 10 г Фен и анализ в динамике содержания Тир в крови. При выявлении гетерозиготности у обоих партнеров риск рождения у них больных детей составит 25% по Менделю. Намечается внедрение в практику соответствующей ДНК-диагностики.

Катаболизм фенилаланина и тирозина происходит в основном в печени по следующей схеме:



Эта схема показывает, что часть атомов Фен и Тир может превращаться в глюкозу, а другая часть — в ацетил-КоА и далее в углекислоту и воду. Поэтому эти АК называют глико-кетогенными или смешанными.

Выделим одну реакцию, связанную с патологией:



Эту реакцию катализирует диоксигеназа гомогентизиновой кислоты с кофактором Fe^{2+} . Кислород разрывает ароматическое кольцо, и его два атома входят в состав органического вещества, что характерно для реакций, катализируемых диоксигеназами (лекция 3/1).

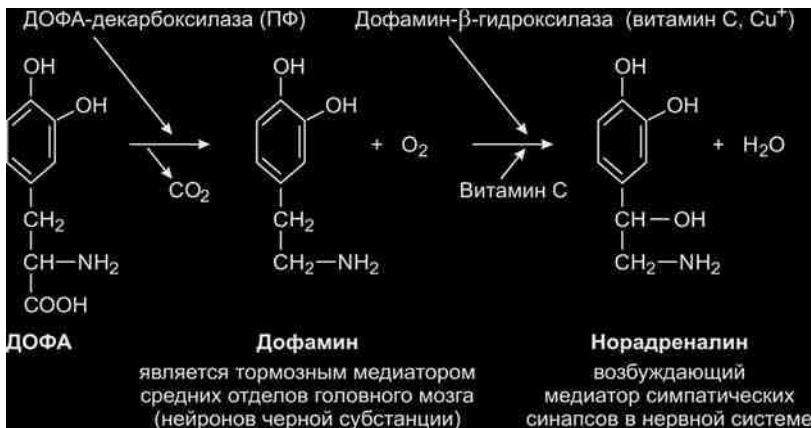
При мутационном дефекте этого фермента развивается синдром — алкаптонурия и заболевание — охроноз. Остающаяся в печени в избытке гомогентизиновая кислота проникает в кровь, мочу и в соединительную ткань — в кожу, склеры, хрящи, мелкие суставы, вызывая их повреждение и воспаление (артриты), а также после своего окисления окрашивает ткани в черный цвет образующимися алкаптонами. В свежевыпущенной моче через некоторое время после распада мочевины при участии бактериальной уреазы и подщелачивания среды бесцветная гомогентизиновая кислота окисляется кислородом и превращается в черные алкаптоны, изменяя цвет мочи.

Известны также наследственные заболевания — тирозинемии, возникающие при мутациях генов других ферментов катаболизма Тир в печени. Для них характерны повышенное содержание в крови и в тканях Тир и других продуктов его распада с разнообразной симптоматикой, в том числе с умственной отсталостью при отсутствии лечения.

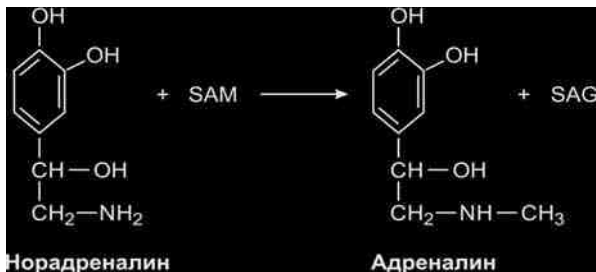
Второй путь метаболизма Тир — синтез катехоламинов, выполняющих функции нейромедиаторов и гормонов. Различия между двумя указанными функциями катехоламинов в ряде случаев нечеткое.

Катехол — это ортодигидроксибензол. Подобные соединения образуются и содержатся в растениях (чай, различные плоды, особенно красный виноград) и считаются эффективными антиоксидантами. У человека и животных в нейронах и в мозговом веществе надпочечников катехоламины синтезируются из Тир. Первая реакция превращения Тир (с одной гидроксильной группой) в дигидроксифенилаланин (ДОФА с двумя гидроксильными группами) практически идентична реакции Фен → Тир. Название фермента — тирозингидроксилаза с коферментом H_4 -биоптерин.

Далее происходят реакции:



И последний этап — образование гормона адреналина в мозговом веществе надпочечников с участием метилтрансферазы:



Итак, синтез следующих катехоламинов происходит преимущественно в нейронах (для дофамина и норадреналина) и в мозговом веществе надпочечников (для норадреналина и адреналина).

Вся приведенная метаболическая цепь образования катехоламинов регулируется по принципу отрицательной обратной связи: избыток норадреналина и дофамина аллостерически ингибирует регуляторный фермент цепи — тирозингидроксилазу.

Онкологическая, неврологическая и психиатрическая патология, связанная с катехоламинами

I. Опухоли мозгового вещества надпочечников с повышенной продукцией адреналина и/или норадреналина. Эти заболе-

вания — феохромоцитомы и феохромобластомы — были рассмотрены в лекции 3/2.

II. Некоторые депрессивные заболевания или состояния возникают при уменьшении содержания в нервных клетках медиатора симпатической трансмиссии норадреналина. Это характерно и для депрессивного состояния алкоголика при отсутствии алкогольного подкрепления. Логично также предполагать, что при значительном недостатке в организме витамина С и развитии цинги (скорбута) содержание норадреналина будет низким (см. выше реакции), что также приведет к депрессии больного.

III. При шизофрении («расщепленная психика») выявлен избыток дофамина в головном мозгу, особенно в височной доле, вследствие недостатка активности моноаминоксидаз, разрушающих дофамин. Однако вопрос об этиологической роли дофамина при этом заболевании остается открытым.

IV. Напротив, роль дофамина как тормозного медиатора при болезни Паркинсона более ясна. Основная симптоматика болезни: нарушения координации движений и речи, повышенный тонус (напряжение) мышц и скованность движений — все это обусловлено ослаблением синтеза или функционирования дофамина черной субстанции мозга. Возможные биохимические причины — мутации генов ферментов тирозингидроксилазы или ДОФА-декарбоксилазы (см. выше реакции), дегенерация дофаминергических нейронов белком α -синуклеином.

Принцип лечения болезни Паркинсона — увеличение содержания дофамина в нервной системе:

- назначение лекарств — предшественников дофамина, которые в отличие от дофамина проникают в мозг через гематоэнцефалический барьер. Таковыми являются различные производные ДОФА;
- введение витамина B₆, из которого образуется пиридоксальфосфат (ПФ) — кофермент ДОФА-декарбоксилазы;
- торможение распада дофамина в синапсах путем назначения ингибиторов моноаминоксидазы (МАО), которая катализирует распад дофамина (см. ниже).

Третий путь метаболизма Тир — синтез меланинов в меланоцитах кожи и в сетчатке глаз:



Заболевание альбинизм развивается при мутациях гена тирозингидроксилазы (в меланоцитах ее принято называть тирозиназой) или при недостатке меланоцитов. Меланины создают пигментацию кожи и защищают ее и глазное дно от солнечных лучей. Отсутствие или недостаток меланинов в коже и в глазах приводит к появлению симптомов заболевания: белая кожа, бело-желтые волосы, появление ожогов и даже опухолевых элементов на коже при длительной инсоляции, плохое зрение. У детей иногда диагностируют витилиго — временное появление на коже тела непигментированных пятен, что вызвано, вероятно, соматическими мутациями гена тирозиназы в неполовых клетках кожи.

Четвертый путь метаболизма Тир — синтез гормонов щитовидной железы — будет рассмотрен в лекции 12/2.

Итак: 1) Фен и Тир — компоненты белков; 2) Тир является предшественником для синтеза катехоламинов, меланинов, гормонов щитовидной железы (йодтиронинов), глюкозы и кетонных тел.

БИОГЕННЫЕ АМИНЫ

(Мардашев С.Р., Березов Т.Т.)

В эту группу принято включать вещества, которые имеют аминогруппу $R-CH_2-NH_2$ и обладают биологической активностью краткосрочного действия (нейромедиаторы, гормоны). Все биогенные амины образуются из аминокислот в результате удаления α -карбоксильной группы, происходящего в реакции декарбоксилирования, катализируемой декарбоксилазами с кофактором пиридоксальфосфатом — ПФ (витамин B_6). Некоторые такие реакции я представлял выше в настоящей лекции.

Перечислим биогенные амины, часть из которых мы уже рассмотрели.

I. Дофамин.

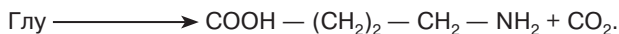
II. Норадrenalин.

III. Адреналин с метилированной аминогруппой.

IV. Ацетилхолин с метилированной аминогруппой — возбуждающий медиатор парасимпатической нервной системы (лекция 4/1).

V. Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) — тормозной медиатор нервной системы образуется при декарбоксилировании глутаминовой кислоты (Глу):

Глутаматдекарбоксилаза (ПФ)



Синтезировано лекарство — пирацетам (ноотропил), которое является модифицированной циклической ГАМК, устойчивой к ферментам желудочно-кишечного тракта. Пирацетам и его аналоги вызывают тормозные процессы в сером веществе коры головного мозга и назначаются при различной патологии мозга, в том числе при психозах и эпилепсии.

VI. Из триптофана образуется серотонин — нейромедиатор, или «гормон счастья», вызывающий возбуждение средних отделов мозга и эйфорию с другими разнообразными эффектами. У хронического алкоголика достаточные количества серотонина и дофамина, взаимодействуя с избыточным ацетальдегидом, образуют алкогольные опиоиды, которые провоцирует галлюцинации и «белую горячку» (алкогольный делирий). В эпифизе после метилирования и ацетилирования серотонин превращается в мелатонин, управляющий суточными ритмами организма человека («биологические часы»). Для лучшего засыпания некоторым пациентам назначают таблетки мелатонина.

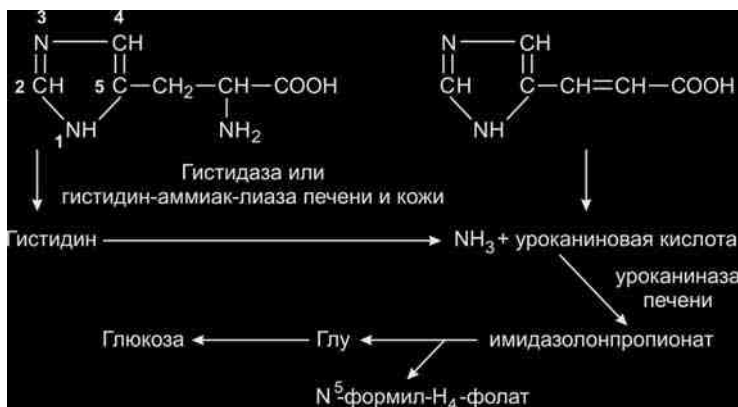
VII. Арг (через орнитин) и Лиз после декарбоксилирования превращаются в тканях млекопитающих в полиамины (ди-, три-, тетраамины), несущие избыточные положительные заряды и регулирующие в ядрах и рибосомах матричные биосинтезы.

VIII. В лекции 15/1 я представлял вам информацию о большом вкладе в науку выдающихся биохимиков В.С. Гулевича (заведующего нашей кафедрой в 1907–1933 гг.) и Е.С. Северина-старшего. Речь шла об открытии и изучении роли биогенных аминов — гистидиновых (имидазольных) дипептидов карнозина и анзерина.

IX. И наконец, об обмене гистидина, который подробно изучался сотрудниками нашей кафедры (Мардашев С.Р., Буробин В.А., Осипов Е.В., Корлякова О.В.).

Гистидин (Гис) — частично заменимая гликогенная АК. Она может дезаминироваться двумя путями:

- 1) путем непрямого дезаминирования (лекция 6/2);
- 2) путем прямого дезаминирования с последующим превращением в глюкозу и катаболизмом с образованием мобильного одноуглеродного фрагмента:



Гистидидаза содержится только в одном внутреннем органе — в печени, т.е. она органоспецифична. Поэтому наша кафедра предложила использовать этот фермент для энзимодиагностики заболеваний печени.

При наследственном дефекте гистидазы происходит накопление Гис и у детей развивается заболевание — гистидинемия с умственной и физической отсталостью и с дефектами речи.

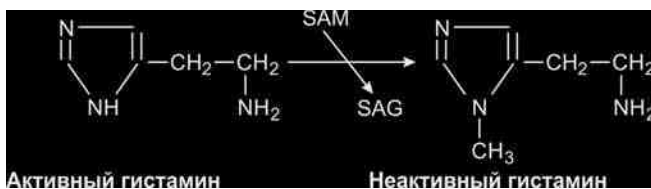
При декарбоксилировании в тучных клетках и в базофилах Гис превращается в биогенный амин — гистамин. Гистамин является местным гормоном локального действия с множественными эффектами.

- Физиологические эффекты гистамина: стимулирует секрецию желудочного сока и слюны; нейромедиатор; влияет на тонус гладкой мускулатуры.
- Патологические эффекты: воспалительная реакция тканей; спазмы дыхательной мускулатуры; повышение про-

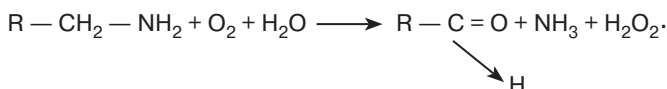
нищаемости капилляров и отеки; при наличии аллергической перестройки организма в результате реакций гиперчувствительности немедленного типа тучные клетки секретируют гистамин — индуктор анафилаксии (слабость, асфиксия, конвульсии).

Как вы убедились, все эффекты биогенных аминов должны быть кратковременными. В противном случае возникает патология. Поэтому эволюция выработала два эндогенных пути детоксикации биогенных аминов.

Первый путь — это метилирование биогенных аминов, катализируемое метилтрансферазами с донором метильной группы — SAM:



Второй путь — окислительное дезаминирование с ферментом моноаминоксидазой (МАО), содержащей в качестве кофакторов ФАД и 4Cu^{2+} :



Образовавшийся химически активный альдегид окисляется кислородом при участии альдегидоксидазы (ФАД), превращаясь в органическую кислоту, которая в виде солей аммония RCOONH_4 удаляется с мочой.

Существуют лекарства, которые изменяют активность биогенных аминов. Для гистамина в случаях его нежелательных эффектов назначают антигистаминные препараты, блокирующие два разных вида рецепторов для гистамина (H_1 и H_2). Эти блокаторы уменьшают или снимают вредное действие данного биогенного амина. Наоборот, ингибиторы МАО тормозят распад других биогенных аминов и увеличивают или пролонгируют их действие, которое необходимо при рассмотренных выше заболеваниях, например при болезни Паркинсона и алкоголизме. Поэтому эти лекарства назвали антидепрессантами.

Лекция 10/2

НУКЛЕОТИДЫ. МЕТАБОЛИЗМ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ

(Первая Нобелевская премия в области биохимии,
1902 г.)

Дебов С.С.

При *переваривании пищи*, содержащей нуклеиновые кислоты в виде нуклеопротеинов, происходит их распад преимущественно до нуклеозидов, которые всасываются в стенку кишечника и далее вступают в различные реакции, превращаясь в основном в мочевую кислоту. В желудке происходит денатурация нуклеопротеинов под действием соляной кислоты, а в тонком кишечнике панкреатические ДНКазы и РНКазы гидролитически расщепляют нуклеиновые кислоты до олиго-, динуклеотидов и небольших количеств мононуклеотидов. Далее фосфодиэстеразы панкреатической железы и энтероцитов превращают все интермедиаты в мононуклеотиды, которые в полости или в стенке кишечника гидролизуются до нуклеозидов при участии кишечных фосфатаз (нуклеотидаз).

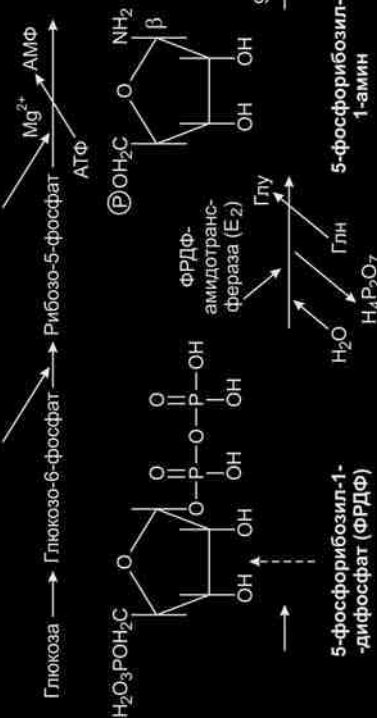
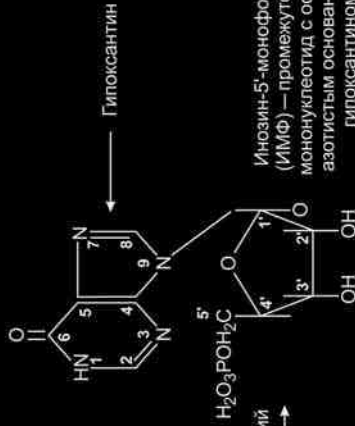
Некоторые детали. Нуклеазы панкреатической железы образуют в кишечнике фрагменты нуклеиновых кислот, имеющие в точках разрыва в случае ДНКазы I концы 5'-ОРО₃Н₂ и 3'-ОН, а в случае пиримидидиловой РНКазы У(Ц)3'- ОРО₃Н₂ и 5'-ОН. Естественно, для понимания этой и следующей лекции надо вспомнить строение нуклеиновых кислот, нуклеотидов, нуклеозидов и азотистых оснований (лекция 5/1).

БИОСИНТЕЗ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ

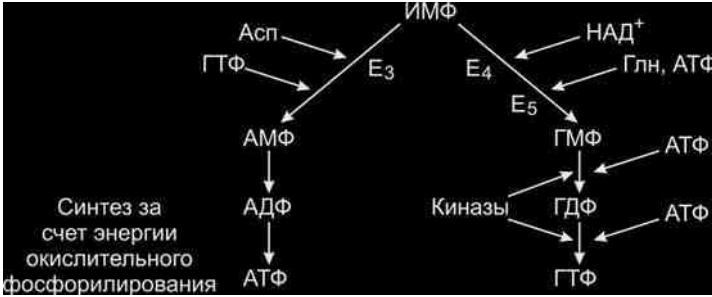
Биосинтез пуриновых нуклеотидов происходит практически во многих клетках. Основной синтез начинается с глюкозы (см. с. 354).

Пентозофосфатный путь

ФРДФ-синтаза (E₁)



В последующих реакциях ИМФ превращается в адениловые и гуаниловые нуклеотиды:



Ядром азотистых оснований пуриновых нуклеотидов служит гетероцикл пурина, который формируется в рассмотренном синтезе при участии разных участников-субстратов:



Как и для многих других последовательных синтезов, эти метаболические цепи регулируются аллостерическим способом. Главные регуляторы — ингибиторы (отрицательная обратная связь) для регуляторных ферментов E_{1-5} — все пуриновые нуклеотиды в избыточном для клетки количестве. Более детально:

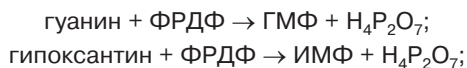
- для E_1 очень эффективные ингибиторы — АМФ и ГМФ при одновременном увеличении их содержания, а также лекарство для лечения подагры — бензбромарон; активатор — рибозо-5-фосфат;
- для E_2 ингибиторы — ГМФ, АМФ при том же условии; активаторы — ФРДФ и, по некоторым данным, пиримидиновые нуклеотиды ЦТФ и УТФ. Следовательно, существует определенная координация синтеза адениловых и гуани-

ловых нуклеотидов и даже пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Последнее подтверждается, во-первых, тем, что избыток и пуриновых, и пиримидиновых нуклеотидов ингибирует ФРДФ-синтетазу (E_1), участвующую в образовании обоих типов нуклеотидов. Во-вторых, вероятно, избыток пиримидиновых нуклеотидов активирует синтез пуринов (через E_2), а пуриновая АТФ активирует КАДФ-фермент синтеза пиримидинов (см. следующую лекцию). Все это обеспечивает координацию синтеза обоих типов нуклеотидов для обеспечения нормализованного синтеза нуклеиновых кислот.

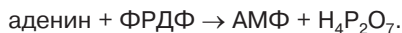
Представленный последовательный длинный синтез на основе глюкозы называют синтезом *de novo*. Он происходит во многих клетках и наиболее интенсивно в печени, которая, кроме собственных нужд, может обеспечивать нуклеозидами и свободными азотистыми основаниями и другие клетки. В полиморфноядерных лейкоцитах, в клетках мозга и в предшественниках эритроцитов полный синтез пуринов *de novo* практически отсутствует, хотя ФРДФ синтезируется. В этих клетках синтез может происходить из поступивших нуклеозидов и азотистых оснований. Для этого во всех тканях и клетках возможны дополнительные, запасные пути синтеза пуриновых нуклеотидов.

Так, на основе ФРДФ осуществляется один из запасных путей синтеза — путь реутилизации свободных азотистых оснований, или «путь спасения» (схема 10/2.2). Последний термин связан с необходимостью организму избавиться от патологического избытка мочевой кислоты, образующейся из пуриновых оснований (см. ниже) или с другим возможным токсическим их действием. Реакции «пути спасения» катализируют два фермента:

1) гуанин-гипоксантинфосфорибозилтрансфераза (ГФРТ):



2) аденинфосфорибозилтрансфераза (АФРТ):

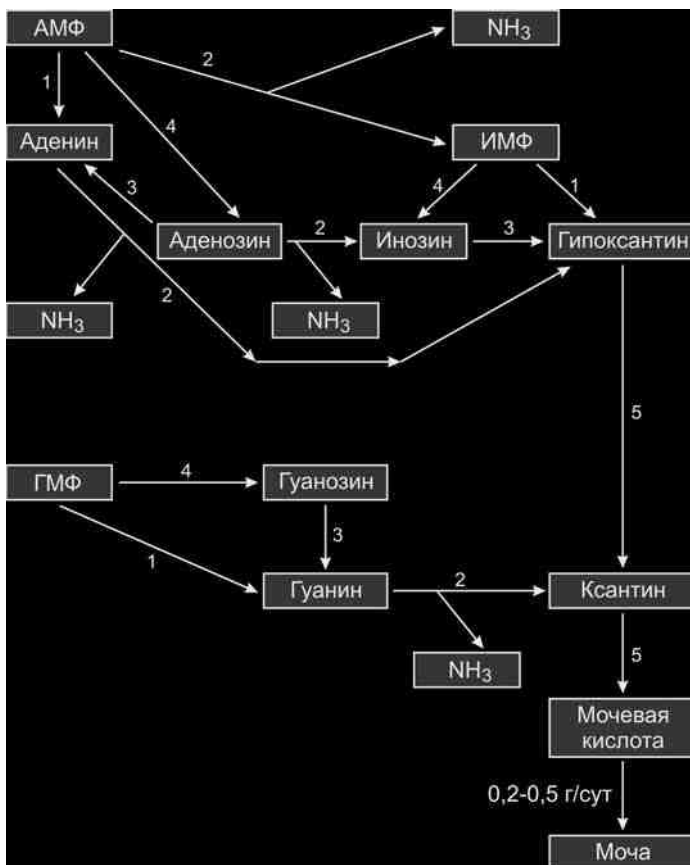


Так могут синтезироваться пуриновые нуклеотиды в нейронах и других указанных выше клетках.

КАТАБОЛИЗМ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ

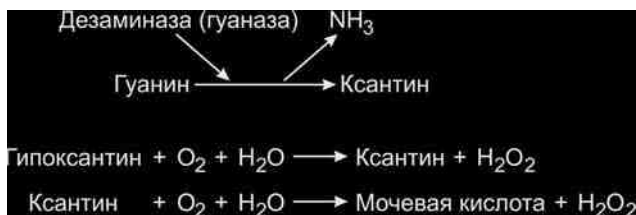
На схеме 10/2.1 показаны различные этапы распада пуринов в организме и соответствующие ферменты. Этот процесс особенно интенсивен в печени, слизистой кишечника и макрофагах, которые выделяют в кровь конечный продукт катаболизма — мочевую кислоту.

Схема 10/2.1. Катаболизм пуриновых нуклеотидов



Примечание. Арабскими цифрами отмечены реакции, катализируемые следующими ферментами: 1 — β -гликозидаза; 2 — дезаминаза; 3 — пуридиннуклеозидфосфорилаза; 4 — нуклеотидаза (фосфатаза); 5 — ксантиноксидаза.

Мочевая кислота образуется в конечных реакциях:



Последние две реакции катализирует один фермент — ксантиноксидаза, сложный белок-димер, состоящий из двух полипептидных цепей с кофакторами (коферментами) 2 ФАД, 2 Mo^{2+} , 8 Fe^{3+} .

Мочевая кислота образуется в организме человека при полном распаде пищевых и эндогенных нуклеиновых кислот. Она является слабой двухосновной кислотой, которая существует в двух таутомерных лактим-лактамных формах с преобладанием енольного (лактимного) изомера.



В крови и жидкостях здорового человека мочевая кислота находится в виде урата мононатрия $\text{R}-\text{ONa}$ и свободной кислоты. Мочевая кислота плохо растворима в крови (3–7 мг/дл; максимум — это величина, близкая к пределу ее насыщения) и несколько лучше в моче (около 15 мг/дл для обычной мочи с pH 5–6). Патологическое увеличение концентрации мочевой кислоты, снижение ее растворимости в жидкостях организма при их подкислении (при уменьшении индекса pH) или при понижении температуры конечностей тела человека приводит к ее кристаллизации и образованию твердой фазы (камней). Выводится из организма в основном с мочой (1,2–3,0 ммоль/сут или 0,2–0,5 г/сут) и в незначительной степени с калом.

Далее привожу клинически важные данные о диапазоне варьирования концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови у здоровых людей (по В. Долгову):

	мг/дл	ммоль/л
Мужчины	3,6–7,1	0,21–0,42
Женщины до менопаузы	2,6–6,0	0,15–0,35

Показанное различие между мужчинами и женщинами соответствует большей частоте (примерно в 20 раз) подагры у мужчин. Эти факты объясняются следующим: у женщин эстрогены усиливают удаление уратов с мочой, и у них ген ГГФРТ, локализованный в X-хромосоме, имеет высокую пенетрантность, обуславливающую синтез большего количества молекул фермента или более активного фермента ГГФРТ; значительная клеточно-мышечная масса мужчин дает при катаболизме нуклеиновых кислот больше мочевой кислоты.

ПАТОЛОГИЯ

Синдром гиперурикемии — повышенное содержание мочевой кислоты в крови возникает при изменениях и нарушениях пуринового обмена. Привожу причины гиперурикемии.

I. Болезни почек, приводящие к уменьшению экскреции мочевой кислоты с мочой (хроническое воспаление почек, сахарный диабет, повреждение почек некоторыми ксенобиотиками и лекарствами — цитостатиками, диуретиками, салицилатами).

II. Усиленное образование пуриновых нуклеотидов в организме:

- 1) некорректное питание (невываренное мясо, икра рыб, мясные и рыбные бульоны, красное вино, крепкий чай, кофе, бобовые, цветная капуста, щавель и др.);
- 2) распад тканей при длительных опухолевых процессах;
- 3) мутации генов ферментов синтеза пуриновых нуклеотидов с повышением их активности или с потерей способности регуляторных ферментов подвергаться ингибированию избытком пуринов;

4) мутация гена фосфатазы глюкозо-6-фосфата, приводящая к избытку глюкозо-6-фосфата в печени с последующим увеличением образования пентозо-5-фосфата и пуриновых нуклеотидов. Это иначе болезнь Гирке или вторичная подагра.

III. Мутационное нарушение «пути спасения» или запасного пути синтеза пуриновых нуклеотидов. При мутациях и дефиците активности ГГФРТ и реже АФРТ не происходит в полной мере (при обычной подагре) или совсем не происходит (при болезни Леша—Нихана) реутилизация свободных пуриновых оснований, которые избыточно превращаются в мочевую кислоту (схема 10/2.2).

Схема 10/2.2. Запасной путь синтеза пуриновых нуклеотидов и его нарушения



Различные варианты гиперурикемии вызывают следующие заболевания.

1. Болезни почек, уратные нефропатии, причиной которых является кристаллизация мочевой кислоты и образование уратных камней в тканях почек или в мочевых путях (мочекистый нефролитиаз).

2. Классическая подагра, в основном пожилых людей, которая исторически приобрела ряд метких названий: «капкан для ног», «болезнь королей», «болезнь благородная» (по Н.А. Некрасову). Богатая симптоматика при подагре вызвана отложением кристаллов уратов в мелких суставах нижних конечностей, хря-

ощах и других тканях с воспалением, образованием узелков — тофусов и с болевым синдромом.

3. При синдроме или болезни Леша—Нихана полностью неактивен фермент ГГФРТ, что приводит прежде всего к отсутствию собственного синтеза пуриновых нуклеотидов в нервной системе и вторично — к высокой гиперурикемии. Причина этой болезни мальчиков — сцепленная с X-хромосомой мутация гена ГГФРТ. Симптоматика: умственная отсталость, агрессивность и параличи из-за недостаточной обеспеченности мозга транспортируемыми из печени пуринами, а также повреждения суставов.

Лечение подагры

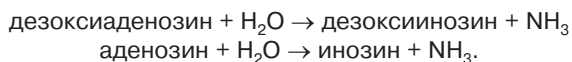
- Возможное устранение причины гиперурикемии.
- Корректировка питания, щелочные минеральные воды, увеличивающие растворимость мочевой кислоты.
- Специфическое симптоматическое лечение подагры противовоспалительными средствами и колхицином, тормозящим фагоцитоз.
- Уменьшение уровня мочевой кислоты за счет угнетения ксантиноксидазы аллопуринолом. Этот препарат, структурный аналог пуриновых оснований и особенно гипоксантина, является конкурентным обратимым ингибитором ксантиноксидазы и поэтому уменьшает образование мочевой кислоты (см. схему 10/2.1). При этом увеличивается содержание в жидкостях организма гипоксантина, однако он более чем в десять раз лучше растворим в водных средах и, не образуя кристаллов и камней, легко удаляется с мочой. Вторым механизмом. Аллопуринол как основание превращается в аномальный пуриновый нуклеотид, угнетая активность регуляторного фермента E_1 синтеза пуриновых нуклеотидов и уменьшая резерв ФРДФ, необходимый для основного и запасного путей синтеза этих нуклеотидов.
- Комбинированный препарат алломарон, состоящий из аллопуринола (ингибитора ксантиноксидазы) и бензбромарона (ингибитора ФРДФ-синтетазы), рассмотренного выше. Одновременное ингибирование в длинной метаболической цепи фермента синтеза и фермента распада пуриновых нуклеотидов более резко снижает уровень мочевой кислоты.

- В прошлом при подагре широко использовали атофан, который якобы усиливал поступление мочевой кислоты из тканей в кровь и мочу, и этамид, ингибирующий реабсорбцию кислоты в канальцах почек, но не облегчающий острый приступ болезни. Эти препараты токсичны.
- В перспективе рассматривается вопрос об использовании фермента уриказы для разрушения мочевой кислоты и превращении последней в легко растворимый аллантоин. Этот фермент имеется и функционирует в организме низших млекопитающих. В США с 2010 г. и в Европе уже имеется опыт использования рекомбинантной и нереконбинантной уриказы для снижения концентрации мочевой кислоты и размеров тофусов.

В заключение интересный миф или правда. Советский генетик В. Эфроимсон отстаивал свою точку зрения на то, что избыток мочевой кислоты способен стимулировать функции мозга и поэтому может быть фактором гениальности людей. В подтверждение этой гипотезы приводят данные, что подагрой страдали выдающиеся личности — Колумб, Годунов, Микеланджело, Лютер, Рубенс, Рембрандт, Тургенев, Бетховен, Мопассан, Стендаль, Ренуар.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ИММУНОДЕФИЦИТНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С НАРУШЕНИЕМ МЕТАБОЛИЗМА ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ И СИНТЕЗА ПУРИНОВЫХ И ПИРИМИДИНОВЫХ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДОВ

I. Комбинированный иммунодефицит при мутациях гена и недостатке активности аденозиндезаминазы (АДА). Фермент катализирует реакции:



При мутациях гена АДА со снижением активности фермента в клетках создается избыток дезоксиаденозина, аденозина и соответствующих пуриновых нуклеотидов, особенно дАТФ.

дАТФ аллостерически угнетает активность ключевого фермента синтеза дезоксирибонуклеотидов — рибонуклеотидредуктазу (РНР, см. следующую лекцию). Уменьшается синтез дНТФ и ДНК, главным образом в В- и Т-лимфоцитах в процессе их созревания и пролиферации. В других клетках и тканях активна фосфатаза дАТФ, которая предотвращает торможение репликации ДНК и размножения клеток. Кроме того, уменьшение образования в лимфоцитах дезоксиинозина и инозина (в соответствии с приведенными выше реакциями) и далее гипоксантина (см. схему 10/2.1) снижает в лимфоцитах количество субстратов для ксантиноксидазы. В процессе работы этого фермента в лимфоцитах образуется много активных (токсических) форм кислорода, необходимых для нормального функционирования лимфоцитов и лейкоцитов-микрофагов.

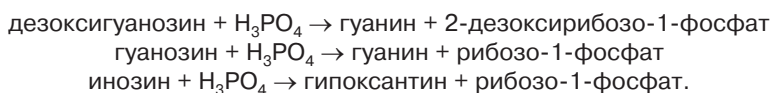
У больных снижается содержание В- и Т-лимфоцитов, т.е. нарушаются гуморальный и клеточный иммунитет соответственно, резко ослаблен иммунный ответ на антигены: снижено содержание антителопродуцирующих плазматических клеток, иммуноглобулинов в крови, а также эффекторных и регуляторных Т-лимфоцитов. Недоразвиты тимус и лимфатические узлы. Дети, предрасположенные к бактериальным, вирусным и грибковым инфекциям, обычно погибают к двухлетнему возрасту.

Молекулярный анализ показал, что наследственный дефицит АДА обусловлен рецессивными мутациями (замены и делеции нуклеотидов) в гене АДА, расположенном в 20-й хромосоме человека.

Лечение заболевания с относительной эффективностью:

- пересадка костного мозга от здоровых совместимых доноров;
- препараты нормальной АДА, конъюгированной с полиэтиленгликолем;
- генная терапия с помощью рекомбинантного ретровируса с геном немутантной АДА.

II. Иммунодефицит, обусловленный мутациями гена пурин-нуклеозидфосфорилазы (ПНФ), которая катализирует реакции:



ПНФ активна во многих клетках человека, но ее функция особенно важна для Т-лимфоцитов и незрелых тимоцитов. При дефиците активности ПНФ нарушается созревание Т-лимфоцитов, уменьшается их концентрация в крови, а количество В-лимфоцитов и иммуноглобулинов крови существенно не меняется. В Т-лимфоцитах и в их предшественниках увеличивается содержание субстратов ПНФ (левые части уравнений) и затем дГТФ, которая усиленно образуется благодаря очень активной дезоксигуанозинкиназы. В других клетках, в том числе в В-лимфоцитах, этот фермент мало активен. В итоге только в Т-лимфоцитах и в тимоцитах дГТФ ингибирует РНР и синтез ДНК. Уменьшается количество Т-лимфоцитов и нарушается Т-опосредованный клеточный иммунитет. У детей во втором полугодии жизни или позже проявляется предрасположенность к различным инфекционным заболеваниям, связанным с ослаблением клеточного иммунитета. Эта патология является более легкой, чем дефицит АДА.

Изучение механизма представленных иммунодефицитов позволило выявить природные и синтезировать другие ингибиторы АДА: дезоксикоформицин, коформицин, эритро-9-(2-гидрокси-3-нонл)-аденин и ингибиторы ПНФ: 8-аминогуанозин, 8-аминогуанин. Эти препараты могут быть использованы как лекарства для прямого лечения лейкозов или для усиления действия других противоопухолевых и противовирусных препаратов и как иммунодепрессанты при пересадке органов и при аутоиммунных состояниях и заболеваниях.

Лекция 11/2

ПИРИМИДИНОВЫЕ НУКЛЕОТИДЫ. ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДЫ

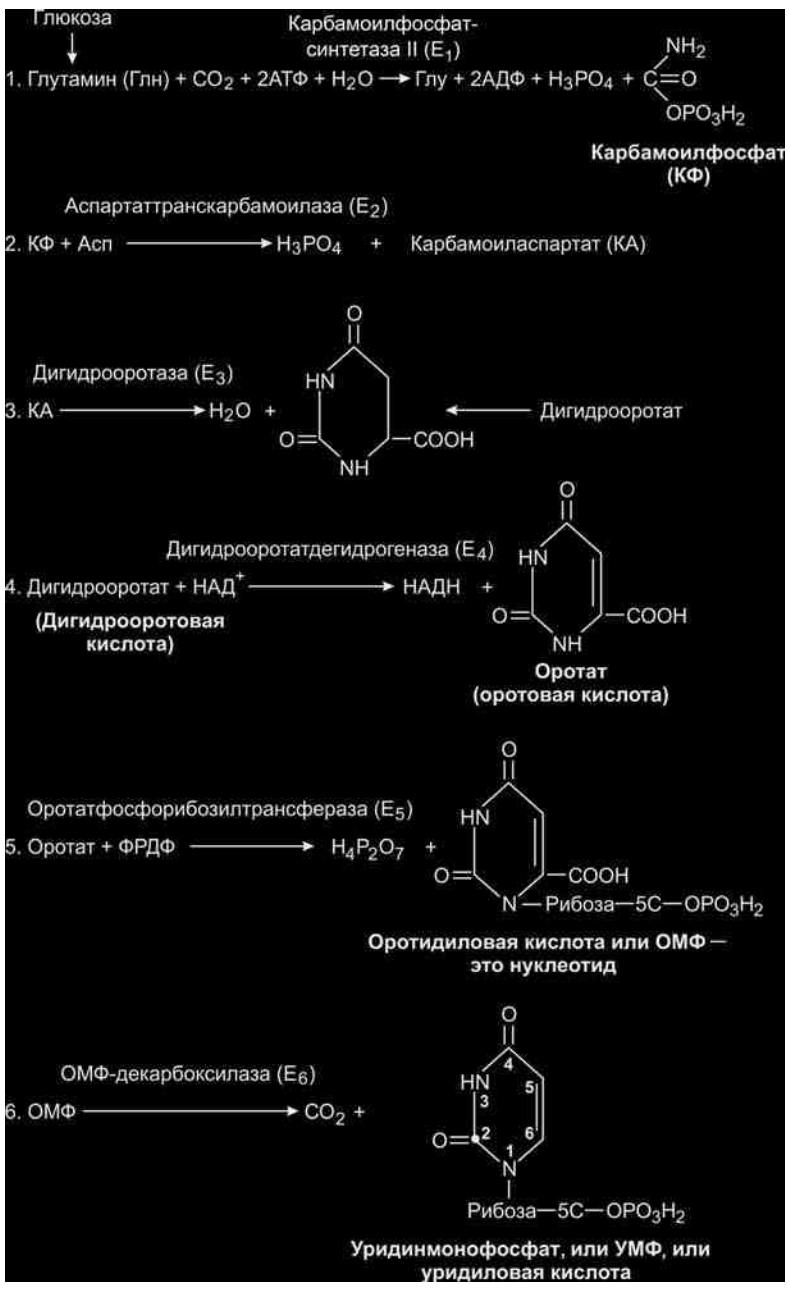
БИОСИНТЕЗ ПИРИМИДИНОВЫХ РИБОНУКЛЕОТИДОВ

Биосинтез пириимидиновых нуклеотидов, как и в случае пуриновых нуклеотидов, осуществляется за счет интермедиатов и других конечных веществ, образующихся из глюкозы.

Выделяем шесть реакций, происходящих практически во всех клетках: реакции 1–3 и 5, 6 – в цитозоле, реакция 4 – в митохондриях (см. с. 366).

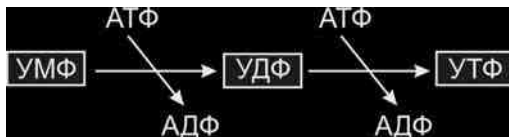
Первые три реакции катализирует один полифункциональный фермент, имеющий три разных активных центра и разные каталитические активности ($E_{1,2,3}$). Условно это фермент, являющийся к тому же регуляторным, называют КАД-ферментом. Аналогично две других разных ферментативных активностей – E_5 и E_6 также принадлежат полифункциональному ферменту – УМФ-синтазе.

Карбамоилфосфат мы с вами уже изучали при биосинтезе мочевины в гепатоцитах, в которых имеется самостоятельный митохондриальный фермент карбамоилфосфатсинтетаза I (лекция 7/2). Фермент E_1 с таким же названием, но с индексом II (см. ниже – реакция 1), содержащийся в цитозоле практически всех клеток, является частью полифункциональной крупной молекулы КАД-фермента, который образует, но не освобождает в цитозоль КФ. Все это объясняет, почему рассматриваемый в этой лекции КФ не участвует далее в образовании мочевины.

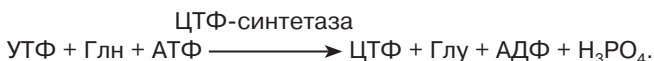


Синтез других пиридиновых нуклеотидов:

1. УДФ и УТФ образуются в последовательных реакциях за счет энергии АТФ при участии киназ.



2. Урацил превращается в цитозин в составе УТФ с образованием ЦТФ и других цитидиловых нуклеотидов:



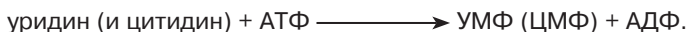
Представленный основной путь синтеза пиримидиновых нуклеотидов регулируется. Как? Тот же принцип и тот же механизм, как и для пуриновых нуклеотидов. А именно: избыток пиримидиновых нуклеотидов (особенно УМФ и ЦТФ) аллостерически ингибирует КАД-фермент с вектором по отрицательной обратной связи. Напротив, пуриновые нуклеотиды (АТФ), если их количество достаточно повышено, активируют этот фермент. Следовательно, имеется координация синтезов разных нуклеотидов для обеспечения нормального метаболизма нуклеиновых кислот.

О роли ФРДФ, который также участвует в координации обмена нуклеотидов. Синтез ФРДФ на основе углеводов представлен в предыдущей лекции. Там же рассмотрено его участие в основном и в запасном путях синтеза пуриновых нуклеотидов как косубстрата и как активатора основного пути. Роль ФРДФ для синтеза пиримидиновых нуклеотидов:

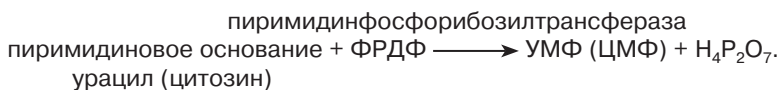
- как косубстрат для их синтеза в основном пути (реакция 5) и в запасном пути (см. ниже);
- как активатор КАД-фермента.

И наконец, если в клетках накапливается много и пуриновых, и пиримидиновых нуклеотидов, то они аллостерически угнетают ФРДФ-синтетазу и уменьшают количество ФРДФ для того, чтобы снизить собственный синтез. Вот как рационально в ходе эволюции создавались тонкие механизмы регуляции биохимических процессов!

Запасные пути синтеза дают очень небольшое количество пиримидиновых нуклеотидов. Во-первых, имеющий фармакологическое значение путь синтеза из нуклеозидов, катализируемый уридин-цитидинкиназой (Авдеева Л.В.):



Во-вторых, возможен синтез из свободных пиримидиновых оснований, как и в случае пуринов. Представим только уже знакомый нам способ с участием ФРДФ:



Патология. При различных мутациях генов УМФ-синтазы уменьшается (но совсем не прекращается) синтез пиримидиновых нуклеотидов, что нарушает дальнейшее образование дезоксирибонуклеотидов, синтез РНК, ДНК, белков и размножение клеток, особенно эритроидного ряда. Это заболевание или синдром назван оратацидурией: торможение реакций 5 и 6 (см. выше) приводит к накоплению в крови и моче оротовой кислоты (оротата). В моче она образует оранжевые кристаллы и даже камни с болевым симптомом. Но главное — «пиримидиновый голод» провоцирует более тяжелую патологию — мегалобластную анемию, физический и интеллектуальный инфантилизм. Возможны генетические варианты оратацидурии. Лечение: пожизненное пероральное введение уридина и/или цитидина (0,5–1,0 г/сут), которые превращаются в нуклеотиды, необходимые для синтезов РНК и ДНК. Кроме того, эти лекарства после биотрансформации как пиримидиновые нуклеотиды ингибируют регуляторный КАД-фермент и уменьшают образование оротата, нормализуя состав мочи.

Оратацидурия может быть дополнительным синдромом при других видах патологии: при наследственных формах гипераммониемии, кроме типа I (лекция 7/2), и в качестве побочного эффекта при лечении подагры аллопуринолом (лекция 10/2).

Катаболизм пиримидиновых нуклеотидов я не рассматриваю в связи с отсутствием у меня данных о его роли в патологии человека. Напомню только, что при распаде пиримидинов образуется β-аланин, который входит в состав карнозина и анзерина,

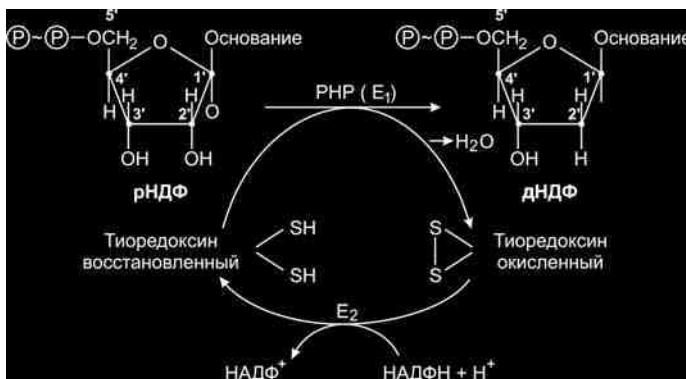
с которыми связана научная история нашей кафедры (лекции 15/1 и 9/2).

ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДЫ

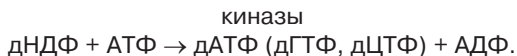
Дезоксирибонуклеотиды нужны для синтеза ДНК в S-фазе клеточного цикла. Поэтому активность рибонуклеотидредуктазного комплекса ферментов синтеза этих нуклеотидов и тимидилатсинтазы максимальна в S-период, что обеспечивают регуляторы — циклины и циклинзависимые протеинкиназы. Последние изменяют активность факторов транскрипции и таким путем изменяют в клетке количество ферментов, необходимых для каждой фазы клеточного цикла (лекция 5/1).

Главная реакция синтеза — восстановление 2'-гидроксигруппы рибозы в составе всех четырех рибонуклеозидифосфатов (рНДФ) с образованием метиленовой 2'-СН₂-группировки в 2'-дезоксирибозе дезоксинуклеозидифосфатов (дНДФ) вместо -СНОН- в составе рНДФ. Катализирует реакцию рибонуклеотидредуктаза — РНР (E₁), олигомерный фермент с кофактором — негемовым железом (Силаева С.А.).

Донором водорода для этой реакции восстановления является НАДФН, который при участии тиоредоксинредуктазы E₂ (ФАД, витамин В₂) предварительно восстанавливает дисульфидную связь небольшого белка — тиоредоксина. И далее два атома водорода сульфгидрильных (тиольных) групп восстановленного тиоредоксина служат донорами водорода для образования дезоксирибозы и дНДФ.



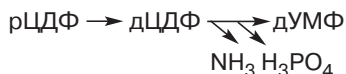
Затем происходит синтез трех дНТФ (кроме дТТФ), необходимых для репликации ДНК:



Регуляция активности РНР, которая должна быть очень активной в период синтеза ДНК, что обеспечивает репликацию субстратами — дНТФ. В первую очередь синтезируются пиримидиновые дНДФ, далее пуриновые дНДФ, и после их превращения в дНТФ избыток последних, особенно дАТФ, аллостерически ингибирует РНР. Накопление лишних дНДФ и дНТФ останавливается и возобновляется при необходимости.

На основе информации об эндогенной регуляции образования субстратов для синтеза ДНК созданы различные производные дезоксиаденозина, являющиеся ингибиторами РНР и лекарствами — противоопухолевыми препаратами.

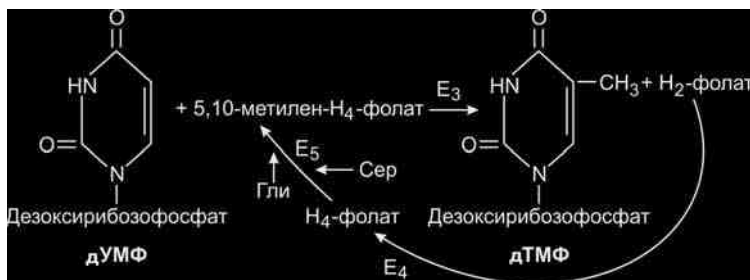
Формирование азотистого основания тимина происходит в составе нуклеотидов благодаря нескольким реакциям. Предварительно в клетках образуется достаточное количество дУМФ:



или в меньшей мере другим путем:

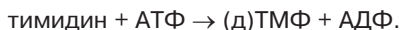


Затем начинается процесс превращения урацила в составе дУМФ в тимин при участии одноуглеродного фрагмента с присоединением метильной группы к 5-углероду пиримидинового гетероцикла урацила.



Эту реакцию катализирует второй ключевой (наряду с РНР) фермент — тимидилатсинтаза (E_3). Для пополнения фонда одноуглеродного фрагмента (5,10-метилен- H_4 -фолата) одновременно должны проходить дополнительные реакции: регенерация H_4 -фолата, катализируемая дигидрофолатредуктазой E_4 (лекция 8/2), и регенерация указанного мобильного одноуглеродного фрагмента за счет катаболизма Сер или Гли. Последнюю реакцию катализирует для Сер серингидроксиметилтрансфераза E_5 (лекция 8/2). В итоге образуется тимидинмонофосфат — дТМФ (или просто ТМФ), который после двойного фосфорилирования с участием АТФ и киназ превращается в ТТФ, необходимый для репликации ДНК.

Существует также запасной путь синтеза тимидиловых нуклеотидов из дезоксинуклеозида — тимидина, катализируемый тимидинкиназой (Силюянова С.Н.):



Подобным же путем, но на основе своих дезоксинуклеозидов синтезируется дополнительное количество дЦМФ, дАМФ и дГМФ.

Завершая две лекции по биохимии нуклеотидов, интересно выделить уровни фосфорилирования нуклеотидов, на которых происходит образование разных категорий нуклеотидов:

- на уровне НМФ идет синтез дУМФ \rightarrow дТМФ;
- на уровне НДФ осуществляется синтез рНДФ \rightarrow дНДФ;
- на уровне НТФ происходит синтез рУТФ \rightarrow рЦТФ.

Скорость синтеза дезоксирибонуклеотидов и интенсивность деления клеток очень зависят от активности РНР и ферментов синтеза тимидиловых нуклеотидов. Поэтому для ингибирования размножения быстро делящихся опухолевых клеток широко используются не только прямые ингибиторы репликации и транскрипции (лекция 7/1), но и ингибиторы ферментов синтеза нуклеотидов. Группа противоопухолевых препаратов — ингибиторов РНР указана выше. Соответствующими лекарствами, тормозящими образование в клетках человека тимидиловых нуклеотидов, являются следующие:

- для дигидрофолатредуктазы (E_4) — конкурентные обратимые ингибиторы метотрексат (аметоптерин) и амино-

птерин, являющиеся аналогами фолиевой кислоты; эти лекарства тормозят синтез не только тимидиловых нуклеотидов, но и пуриновых нуклеотидов для формирования и ДНК, и РНК (лекция 8/2);

- для тимидилатсинтазы (E_3) — азотистое основание 5-фторурацил, аналог тимина; этот препарат, во-первых, в организме превращается в аномальный нуклеотид ФдУМФ, который блокирует E_3 , а во-вторых, одновременно трансформируется в аномальный дезоксинуклеозидтрифосфат ФдУТФ, который при репликации включается в состав ДНК и провоцирует разрыв фосфодиэфирных связей в цепях ДНК.

Существует достаточный или недостаточный арсенал и других подобных лекарств — аномальных нуклеозидов и нуклеотидов.

Подводим итог. Противоопухолевые лекарства, во-первых, прямо тормозят репликацию и транскрипцию в раковых клетках. Во-вторых, другие противоопухолевые средства уменьшают образование в клетках дНТФ и рНТФ, необходимых для синтеза ДНК и РНК. Для них прямыми мишенями являются ферменты:

- рибонуклеотидредуктаза;
- дигидрофолатредуктаза;
- тимидилатсинтаза.

В лекции 7/1 я уже указывал, что, конечно, все эти противоопухолевые препараты могут несколько уменьшать скорость размножения и здоровых клеток. Но в последних матричные биосинтезы и митозы происходят медленнее, поэтому побочным действием рассматриваемых лекарств врач и пациент вынуждены пренебрегать.

Лекция 12/2

ГОРМОНЫ

В лекции 9/1 первого семестра вам уже была представлена общая информация о гормонах.

- Роль гормонов в регуляции метаболизма через посредников — через регуляторные ферменты, активность которых гормоны меняют качественно или количественно.
- Четыре системы передачи гормонами своих регуляторных сигналов через цитоплазматические мембраны внутрь клеточ-мишеней и соответствующая терминология (сигнальные молекулы, мессенджеры и др.).
- Сводная таблица по частным гормонам, характеризующая их структуру, гидрофильность или гидрофобность молекул гормонов в связи с механизмом передачи сигнала внутрь клеток и место синтеза гормонов.

В настоящей лекции вначале рассмотрим классификации гормонов.

1. Химическая классификация:

- а) белки (инсулин, паратгормон и др.);
- б) пептиды (глюкагон, ангиотензин II — АТ II, антидиуретический гормон — АДГ и др.);
- в) модифицированные аминокислоты (адреналин, йодтиронины);
- г) стероиды (кортизол, альдостерон, половые гормоны и др.).

2. Физико-химическая классификация: гидрофильные гормоны проникают внутрь клеток, а гидрофобные — не проникают (лекция 9/1).

3. Классификация по соответствию «физиологическое состояние человека — гормон» (таблица в лекции 9/1).

4. Классификация по функциям. Гормоны полифункциональны, но для каждого гормона характерна, как правило, одна главная функция.

5. Классификация по сигналу, стимулирующему секрецию гормона из эндокринной железы в кровь:

а) классическая схема через ЦНС: сигнал — ЦНС — гипоталамус — гипофиз — эндокринная железа (для кортизола, половых гормонов, йодтиронинов и др.);

б) ЦНС — спинной мозг — мозговое вещество надпочечников (для адреналина и для медиатора норадреналина);

в) без ЦНС при участии химического сигнала:

— много глюкозы в крови — β -клетки поджелудочной железы — инсулин;

— мало глюкозы в крови — α -клетки поджелудочной железы — глюкагон;

— мало Са в крови — паращитовидная железа — паратгормон;

— много Са в крови — щитовидная и паращитовидная железы — кальцитонин;

— мало Na и много K в крови — кора надпочечников — альдостерон;

г) при участии физико-химического сигнала:

— повышенное осмотическое давление — гипоталамус — гипофиз — антидиуретический гормон (АДГ);

— пониженное артериальное давление — почки — ренин — ангиотензин II.

6. Классификация по механизму передачи сигнала гормона внутрь клеток-мишеней (лекция 9/1):

а) через некаталитические рецепторы цитоплазматических мембран:

— аденилатциклазная система (АЦС) для адреналина, глюкагона, паратгормона и др.;

— инозитолфосфатная система (ИФС) для ангиотензина II, иногда для адреналина, частично для АДГ и для др.;

- б) через каталитические мембранные рецепторы для инсулина и для предсердного натрийуретического фактора;
- в) через некаталитические внутриклеточные рецепторы цитоплазмы или ядра клеток-мишеней для стероидных гормонов и йодтиронинов.

ГОРМОНЫ ГИПОТАЛАМУСА И ГИПОФИЗА

Гормоны гипоталамуса и гипофиза являются пептидами или белками, состоящими из 3–56 аминокислот для гипоталамуса и из 40–200 аминокислот для гипофиза с регуляторными функциями. Гормоны гипоталамуса или рилизинг-факторы могут быть либеринами (усилителями), которые передают сигнал в гипофиз и стимулируют в нем синтез и секрецию тропинов. Статины (ослабители) гипоталамуса подавляют секрецию таких гормонов передней доли гипофиза, как пролактин и соматотропин. Гормоны гипофиза – тропины – специфически стимулируют свои эндокринные железы к секреции конечного «рабочего» гормона (кортизол, йодтиронины и др.) или прямо действуют на органы и ткани (гормон роста, АДГ, окситоцин).

Гормон роста, или соматотропин (191 аминокислота), синтезируется в передней доле гипофиза и далее прямо взаимодействует с рецепторами многих органов и тканей без участия специальной эндокринной железы. Соматотропин ускоряет метаболизм разнообразных веществ и постнатальный рост тканей. Дефицит гормона роста приводит к гипофизарной карликовости или к нанизму. Напротив, опухоли передней доли гипофиза и гиперпродукция гормона у детей являются причиной большого роста (гигантизм) или у взрослых причиной акромегалии (непропорциональные части тела).

АДРЕНАЛИН И ГЛЮКАГОН

Эти два гормона и их роль в регуляции метаболизма соответственно при физической работе (преимущественно интенсивной и быстрой) и при голодании мы уже многократно рассматривали в 1-м и во 2-м семестрах (лекции 9/1, 12/1, 3/2).

В таблице 12/2.1 суммирована информация об адреналине и глюкагоне. Оба гормона ускоряют или замедляют указанные метаболические процессы благодаря химической модификации ими соответствующих регуляторных ферментов путем фосфорилирования.

Таблица 12/2.1

Сравнение свойств адреналина и глюкагона

Показатель	Адреналин	Глюкагон
Химическая структура	Модифицированный тирозин	Полипептид из 29 аминокислот
Место синтеза	Надпочечники (мозговое вещество, табл. 12/2.2)	α -клетки поджелудочной железы
Сигнал для секреции	Физическая работа, стресс	Пониженное содержание глюкозы в крови
Передача сигнала гормоном внутрь клеточ-мишеней	Через аденилатциклазную систему	
	Реже — через инозитол-фосфатную систему в печени	—
Функции (эффекты) в:	Гормоны ускоряют	
– печени	1. Гликогенолиз 2. β -окисление жирных кислот (непрямой эффект)	1. Гликогенолиз 2. Синтез глюкозы 3. β -окисление жирных кислот и синтез кетоновых тел (непрямой эффект)
– жировой ткани – мышцах	Липолиз Гликогенолиз	Липолиз Без эффектов в связи с отсутствием рецепторов
Влияние на содержание кислорода в организме	Увеличивает через тахикардию и повышение артериального давления	Не изменяет

В таблице 12/2.1 выделены функции, одинаковые для адреналина и глюкагона. Это гликогенолиз, липолиз и β -окисление жирных кислот. В результате в крови увеличивается или поддерживается в норме концентрация глюкозы и жирных кислот. Различными являются следующие свойства:

- для адреналина имеются адренорецепторы во многих органах и тканях, и они представлены в организме челове-

ка набором тканеспецифических изоформ (лекция 9/1), а для глюкагона рецепторы существуют только в печени и жировой ткани;

- по сигналам для секреции гормона в кровь;
- благодаря своему физиологическому воздействию на сердечно-сосудистую систему адреналин увеличивает содержание кислорода в тканях и поэтому делает возможным полное аэробное окисление глюкозы, освобождающейся при распаде гликогена;
- глюкагон обеспечивает организм глюкозой, ускоряя глюконеогенез и гликогенолиз.

Патология и соответствующие онкологические заболевания, связанные с адреналином, были рассмотрены в лекции 3/2. Известен также довольно редкий синдром Марфана, при котором наследственный дефект структурного белка соединительной ткани фибрилина 1 приводит к полиорганной патологии с изменением пропорциональности размеров разных органов. У больных возникает высокий уровень адреналина, вероятно, вследствие постоянного стресса и напряжения. Предполагается, что избыток адреналина стимулирует физическую и интеллектуальную активность человека. Синдром Марфана был свойственен таким личностям, как Кюхельбекер, Линкольн, Андерсен, Тесла, Паганини.

КОРТИКОСТЕРОИДЫ

В периферической части надпочечников, в их коре синтезируются из холестерина стероидные гормоны (три группы).

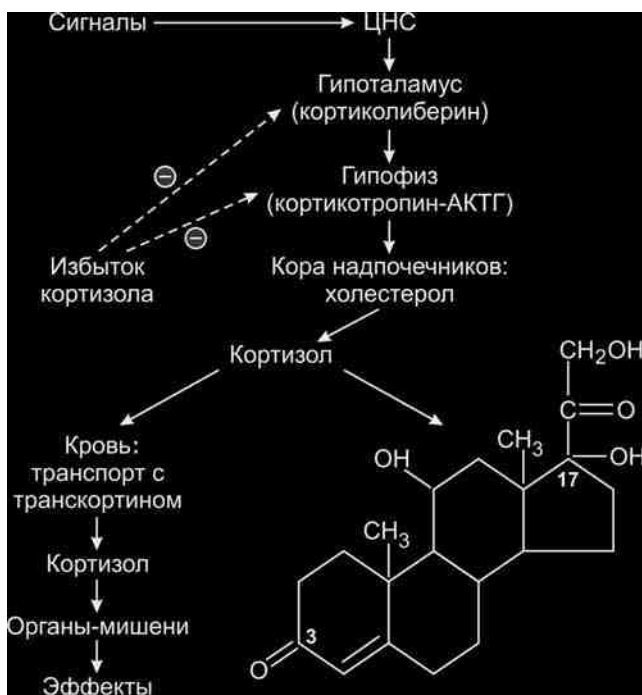
Таблица 12/2.2

Гормоны надпочечников

Часть железы	Зоны	Синтезируемые гормоны
Кора	Клубочковая, или гломерулярная Пучковая, или фасцикулярная Сетчатая, или ретикулярная	Минералокортикоиды (альдостерон) Глюкокортикоиды (кортизол) Предшественники половых гормонов
Мозговое вещество	—	Адреналин, норадреналин

На схеме 12/2.1 представлены синтез кортизола и его регуляция. Сигналы для синтеза кортизола (пониженная концентрация глюкозы в крови, стресс, травмы) через ЦНС, гипоталамус (его кортиколиберин) и гипофиз (его кортикотропин или АКТГ) достигают коры надпочечников. В пучковой зоне коры имеется депо холестерина (ХС) в виде эфиров ХС, которое создается за счет транспортера — ЛНП — и за счет синтеза в коре ХС, стимулируемого кортикотропином. Происходит образование гидрофобного кортизола (без деталей), который поступает в кровь и транспортируется с переносчиком-транскортином в органы-мишени. При слишком большом количестве кортизола он ингибирует образование кортиколиберина и кортикотропина в гипоталамусе и в гипофизе по принципу отрицательной обратной связи (ретроингибирование) и количество кортизола снижается.

Схема 12/2.1. Синтез кортизола и его регуляция



Гидрофобный кортизол, освобождаясь от транскортина, проникает в клетки-мишени и в комплексе со своими цитоплазматическими или ядерными рецепторами взаимодействует с регуляторными участками генов, выключает или включает транскрипцию и так уменьшает или увеличивает количество белков-ферментов в клетках. Внутриклеточные рецепторы для кортизола имеются во многих органах и тканях, за исключением, вероятно, жировой ткани.

Физиологические функции (эффекты) кортизола:

- 1) в большинстве органов, кроме печени, кортизол тормозит вторично трансляцию. Обычно синтез и распад белка синхронизированы. Угнетение синтеза белка приводит к ускорению его распада и к освобождению аминокислот;
- 2) аминокислоты поступают в печень;
- 3) в печени кортизол ускоряет транскрипцию генов ферментов распада аминокислот и ферментов глюконеогенеза (лекции 14/1 и 6/2). В итоге в печени кортизол при участии глюкагона стимулирует синтез глюкозы.

Все эти функции строго скоординированы. При голодании и снижении уровня глюкозы крови возрастает количество кортизола и усиливается глюконеогенез, и наоборот. При патологически значительном содержании кортизола он резко тормозит синтез белка (коллагена) в соединительной ткани, особенно костей, что может приводить к их переломам; угнетает образование антител в плазматических клетках, создавая иммунодефицит; повышает артериальное давление как родственник альдостерона (следующая лекция).

Кортизол угнетает фосфолипазу A_2 и поэтому уменьшает образование эйкозаноидов (медиаторов) воспаления из арахидоновой кислоты (лекция 3/2). В связи с этой его особенностью на базе кортизола создано множество противовоспалительных лекарств.

Экзаменационная задача: пациент длительное время лечил воспалительное заболевание (ревматизм) кортикостероидом и вдруг самовольно прекратил прием препарата, но почувствовал слабость, головокружение, тошноту, а в крови у него выявлена гипогликемия. Что произошло? Стероидное лекарство, подменяя собой эндогенный кортизол, кроме основного противовоспали-

тельного действия, привело к угнетению синтеза кортиколиберина, кортикотропина и собственного кортизола (см. схему 12/2.1). Поэтому при отмене лекарства замедлен синтез глюкозы в печени, что и вызвало указанные симптомы. До отмены препарата собственный глюконеогенез все-таки происходил при стимулирующем действии на регуляторные ферменты лекарства — аналога кортизола. Для профилактики таких побочных явлений при лечении врачи одновременно назначают АКТГ (кортикотропин), который может предотвратить атрофию клеток пучковой зоны надпочечников.

После своего действия кортизол, а также тестостерон в результате окислительно-восстановительных реакций превращается в 17-кетостероиды, которые при 17С в своей формуле потеряли радикал и приобрели 17-кетогруппу. Определение выделяемых с мочой 17-кетостероидов (в виде конъюгатов с глюкуроновой или серной кислотами) имеет диагностическое значение. При опухолях пучковой зоны коры надпочечников мужчин и женщин, а также при опухолях интерстиции яичек мужчин содержание 17-кетостероидов повышено. Нормальное содержание этих катаболитов в суточной моче: мужчины — 9–17 мг, женщины — 5–14 мг.

Заболевания

I. Болезнь и синдром Иценко—Кушинга, вызванные соответственно опухолями передней доли гипофиза или надпочечников. Другие названия патологии — гиперкортицизм, стероидный диабет.

Биохимические и клинические показатели заболеваний

1. Много кортизола в организме человека, продуцируемого нормальными или опухолевыми клетками надпочечников.
2. Повышение глюкозы в крови (гипергликемия) и в моче (глюкозурия) вследствие ускорения кортизолом глюконеогенеза. Отсюда термин «диабет», но «стероидный».
3. В результате угнетения кортизолом синтеза белков во многих органах и в результате вторичного ускорения распада белков, особенно в мышцах, увеличено содержание мочевины (азотемия и азотурия), имеется дефицит антител (иммунодефицит), остеопороз и переломы костей.

4. Артериальная гипертония.
5. Ожирение туловища: на груди, животе и в области нижних шейных позвонков увеличение количества подкожного жира. Круглое лунообразное лицо. Напротив, на конечностях — уменьшение содержания жира в сочетании с мышечной атрофией. Я испытываю затруднения с объяснением такого перераспределения подкожного жира у больных при имеющейся у меня информации об отсутствии в жировой ткани рецепторов для кортизола. Увеличение синтеза жира можно объяснить так: гиперпродукция кортизола — усиленный синтез глюкозы — избыточная секреция инсулина и синтез жира из глюкозы при участии инсулина.

Общая биохимическая картина: в крови и в моче много глюкозы, мочевины и 17-кетостероидов.

II. Болезнь Аддисона, гипокортицизм, или «бронзовая» болезнь. Причина — недостаток кортизола, вызванный:

- туберкулезным поражением коры надпочечников;
- гипофункцией передней доли гипофиза и недостатком АКТГ; эта гипофункция может быть разного происхождения, в том числе это результат длительного лечения лекарствами-кортикостероидами, как объяснено выше.

Симптомы заболевания противоположны тем, которые характерны для гиперкортицизма. Темный цвет кожи больного можно объяснить так: недостаток кортизола повышает содержание кортиколиберина (по схеме 12/2.1 в связи с регуляцией), который стимулирует промежуточную долю гипофиза к продукции меланоцитстимулирующего гормона; последний активирует в меланоцитах синтез темного пигмента меланина для кожи.

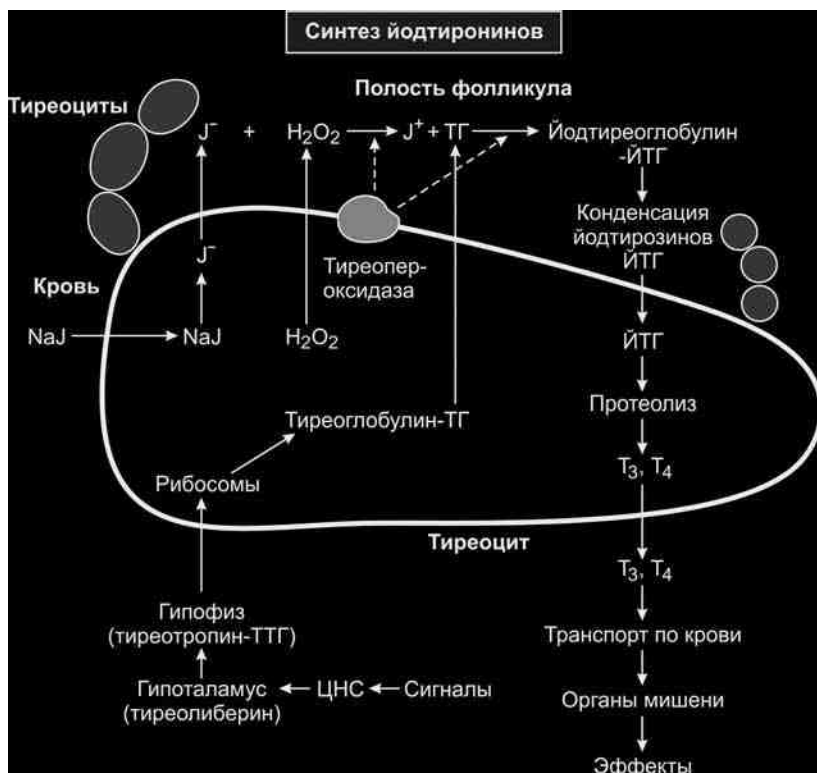
III. Адреногенитальный синдром проявляется у детей в виде раннего полового созревания, особенно в форме мужских половых признаков у девочек. Это наследственное заболевание вызвано мутационным дефицитом 21-гидроксилазы (реже 11-гидроксилазы) в сложной цепочке синтеза стероидных гормонов из холестерина. В результате вначале возникает недостаток кортизола, далее избыток АКТГ (см. схему 12/2.1), который увеличивает синтез предшественников андрогенов в ко-

ре надпочечников и затем — синтез андрогенов. По законам РФ всех новорожденных должны проверять на отсутствие этого заболевания.

ГОРМОНЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Это трийодтиронин (T_3) и тетраiodтиронин или тироксин (T_4). Синтез происходит в эпителии железы (в тиреоцитах), точнее, в фолликулах щитовидной железы (схема 12/2.2).

Схема 12/2.2. Синтез йодтиронинов



Сигналом для синтеза йодтиронинов являются уменьшенное их содержание в организме, а также стресс и пониженная температура тела. Эти сигналы по классической схеме:

ЦНС — гипоталамус (тиреолиберин) — гипофиз (тиреотропин или ТТГ) — кровь достигают эпителий щитовидной железы и в его рибосомах сам ТТГ (через АЦС) включает синтез тиреоглобулина (ТГ). ТГ — большой белок (5000 аминокислот) из двух полипептидных цепей с высоким содержанием тирозина. В эпителий (в тиреоциты) одновременно поступает из крови йодид натрия при участии системы транспорта Na^+, K^+ -АТФазы, а также в этих клетках образуется перекись водорода при окислении НАДН кислородом с участием НАДН-оксидазы. Далее ТГ, J^- и H_2O_2 проникают из клеток эпителия в полость фолликула. На люминальной поверхности клеток, обращенных в полость фолликула, имеется тиреопероксидаза (тетрамер, кофактор — гем), которая катализирует две реакции: окисление перекисью водорода аниона-йодида J^- в катион J^+ и йодирование тирозинов в ТГ. Антитиреоидные лекарства типа тиомочевины и тиоурацила угнетают тиреопероксидазу и эти две реакции, что уменьшает синтез конечных йодтиронинов у больных с гипертиреозом.

Продолжаем синтез. Йодированный теперь ТГ, или йодтиреоглобулин, подвергается в полости фолликула модификации, а именно в нем объединяются (конденсируются) между собой по две молекулы йодтирозинов с формированием гормонов T_3 и T_4 , связанных ковалентно с пептидной цепочкой. Такой йодтиреоглобулин возвращается в тиреоцит, где в результате частичного протеолиза в лизосомах освобождаются T_3 и T_4 , которые поступают в кровь. Основная масса этих гидрофобных гормонов переносится по крови к органам в комплексе с транспортерами (α_1 -глобулином и альбумином). Перед воздействием на клетку-мишени гормоны освобождаются от переносчиков и становятся биологически активными для клеток. Поэтому при анализах крови определяют суммарные йодтиронины, а также свободные T_3 (около 0,3%) и T_4 (около 0,03%).

Щитовидная железа может накапливать йодтиронины в виде депо-резерва и освобождает их в кровь при указанных выше стимулирующих сигналах.

Регуляция синтеза и секреции в кровь этих гормонов происходит по уже известной вам схеме, как для кортизола, т.е. по обратной отрицательной или обратной положительной связи.

Таблица 12/2.3

Некоторые особенности разных йодтиронинов

Гормон	Содержание общего количества гормона в организме	Физиологическая активность
T ₃	Меньше, в крови около 0,1 мкг/дл	Больше
T ₄	Больше, в крови около 4–10 мкг/дл	Меньше примерно в пять раз

Выше и в лекции 9/1 уже указывалось, что эти гормоны передают свой сигнал внутрь клеток-мишеней через внутриклеточные рецепторы на уровне транскрипции и вторично, как правило, увеличивают или, реже, уменьшают в клетках количество белков-ферментов. Физиологическое действие йодтиронинов заключается в ускорении синтезов многих веществ и в стимуляции роста и дифференцировки тканей и органов, особенно мозга и клеток иммунной системы у детей. Эти синтезы требуют значительных затрат энергии, и поэтому происходит усиление энергетического обмена с формированием АТФ для различных видов метаболизма.

Катаболизм йодтиронинов завершается в печени и заключается в потере ими йода и аминокрупп (трансаминирование) с образованием конъюгатов с серной и глюкуроновой кислотами, удаляемых с мочой.

Патология

I. Болезнь Грейвса, гипертиреоз, тиреотоксикоз, диффузная токсическая гиперплазия щитовидной железы. Увеличена нерегулируемая и неконтролируемая продукция йодтиронинов, вызванная разными ненаследственными или наследственными причинами. В частности, заболевание могут вызвать повышенное содержание йода в пище и воде, опухоли щитовидной железы, аутоиммунный статус. Допускается следующий механизм болезни: в крови человека появляется особый иммуноглобулин, который как псевдотиреотропин стимулирует синтез йодтиронинов в железе; содержание йодтиронинов увеличивается, но количество истинного тиреотропина гипофиза уменьшено по принципу отрицательной обратной связи.

Избыток йодтиронинов вызывает ускорение обмена веществ, в том числе так называемого физиологами основного обмена.

Преобладает катаболизм, особенно под воздействием T_3 , что приводит к уменьшению массы тела, отрицательному азотистому балансу и к повышению аппетита. Повышена температура вследствие того, что йодтиронины являются разобщителями окислительных процессов в цепи переноса электронов и окислительного фосфорилирования АДФ (лекция 10/1). Возникает и ряд других клинических симптомов.

II. Гипофункция щитовидной железы провоцируется наследственными или ненаследственными факторами:

- 1) мутации и недостаток белков-ферментов синтеза йодтиронинов;
- 2) повреждения гипоталамуса, гипофиза и щитовидной железы.

Недостаток йодтиронинов особенно опасен для детей из-за недоразвития мозга и иммунной системы. При отсутствии лечения у детей развивается гипотиреоидный кретинизм — физические, психические и иммунологические дефекты. Поэтому в СССР и в РФ была законодательно закреплена обязательная проверка новорожденных на отсутствие гипотиреоза — по анализу в крови йодтиронинов (лекция 8/1).

Гипотиреоз у взрослых проявляется в двух формах.

- *Микседема* — нарушения метаболизма в межклеточном матриксе, особенно обмена мукополисахаридов (лекция 16/1). Это приводит к накоплению гиалуроновой и хондроитинсерной кислот и уже вторично — к избытку в матриксе воды, солей, к отеку тканей, к снижению температуры и к увеличению массы тела. Такое заболевание или «слизистый отек» сопровождается еще повышением уровня холестерина в крови и вторичным атеросклерозом. Напомню, что йодтиронины понижают концентрацию холестерина в крови (лекции 4/2 и 5/2).
- *Эндемический зоб*. При недостатке пищевого йода уменьшается синтез йодтиронинов и увеличивается количество тиреотропного гормона (ТТГ) гипофиза по принципу положительной обратной связи. ТТГ компенсаторно вызывает разрастание в щитовидной железе в основном соединительной ткани в виде узелка — зоба. Описан комплекс симптомов йодной недостаточности, в том числе ухудше-

ние памяти, отечность лица. Гигиенисты должны контролировать в разных регионах суточные нормы (пища, вода) поступления йода, которые по рекомендации ВОЗ составляют 150 мкг (50–300 мкг) для взрослых и 50–120 мкг для детей в зависимости от возраста.

Лекция 13/2

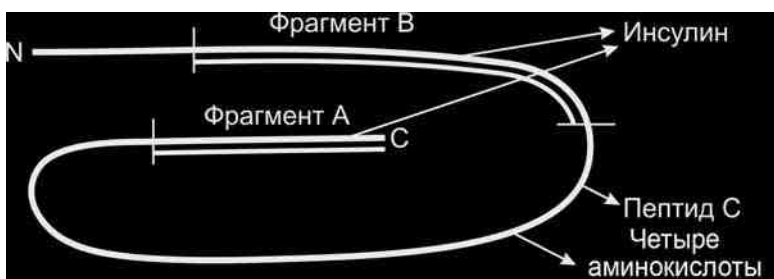
ИНСУЛИН. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА В СЛУЧАЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА И ГОЛОДАНИЯ

ИНСУЛИН

(Нобелевские премии 1923 и 1958 гг.)

Инсулин — гормон β -клеток поджелудочной железы, синтез и секрецию которого стимулирует глюкоза при достаточно высокой концентрации ее в крови и в межклеточной жидкости. Глюкоза проникает в β -клетки способом облегченной диффузии через мембранный канал, создаваемый белком-переносчиком — ГЛЮТ-2, и индуцирует ген хромосомы 11 с образованием мРНК и предшественника инсулина (110 аминокислот). Далее при двойном частичном протеолизе удаляются:

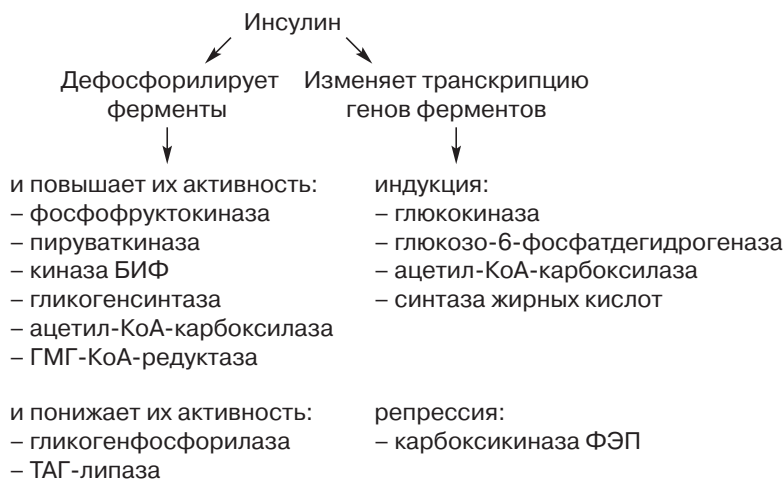
- 24 аминокислоты с N-конца молекулы с образованием проинсулина;
- 35 аминокислот из внутренней части последнего с формированием двух свободных полипептидных цепей А (21 аминокислота) и В (30 аминокислот), которые объединяются с помощью дисульфидных и других связей в активный инсулин (51 аминокислота). Схема строения молекулы инсулина и данные о различии в первичной структуре инсулинов человека и животных были представлены в лекции 1/1. При втором протеолизе также образуются четыре свободные аминокислоты (три Арг и один Лиз) и 31-членный пептид С.



Поджелудочная железа секретирует в кровь инсулин и пептид С в соотношении 1:1, но довольно быстро при циркуляции их через печень часть инсулина разрушается при участии редуктазы и инсулиназы (протеазы) и соотношение двух компонентов становится равным 1:3. Более устойчивый пептид С имеет, наряду с инсулином, диагностическое значение как критерий качества процессов формирования инсулина.

Гидрофильный гормон инсулин не проникает внутрь клеток органов (тканей)-мишеней (мышцы, жировая ткань, печень). Последние принято называть инсулинзависимыми органами и тканями. Схема и детали трансмиссии сигнала инсулина в эти органы были рассмотрены в лекции 9/1 (см. рис. 9/1.7). Кратко повторим только начало и конец «работы» инсулина, который взаимодействует со своим мембранным каталитическим рецептором перечисленных органов и тканей. Конечные эффекты инсулина на метаболические ферменты — дефосфорилирование молекул ферментов с изменением их активности и индукция или репрессия на уровне транскрипции с изменением числа молекул ферментов внутри клеток. В обоих случаях повышается или уменьшается ферментативная активность клеток и, следовательно, изменяется скорость метаболизма углеводов, липидов и белков.

Из различных эффектов инсулина надо выделить прежде всего его способность направлять потоки глюкозы из крови в клетки инсулинзависимых органов и тканей. Подробно этот вопрос представлен в лекции 13/1 (см. рис. 13/1.2 и 13/1.3) для мышц, жировой ткани и печени. Что касается отдельных, но многочисленных ферментов в этих органах, то влияние инсулина на их активность представляю в следующем виде.



Такое многообразие эффектов инсулина на ферменты приводит к тому, что он изменяет метаболизм и углеводов, и липидов, и белков. Практически все эти изменения, вызванные инсулином, мы с вами уже рассмотрели в лекциях 1-го и 2-го семестров в разделах регуляции обмена веществ. Сейчас целесообразно кратко подвести итог в виде таблицы, которая четко демонстрирует, что инсулин у здорового человека ускоряет синтезы всех перечисленных соединений, кроме глюкозы, синтез которой в печени он угнетает, а его эффект на катаболизм этих веществ является противоположным. На основании прочитанных ранее лекций повторим и подчеркнем, что главный контринсулярный гормон — глюкагон — изменяет, наоборот, перечисленные в таблице синтезы и распады по сравнению с инсулином. Забегая вперед (для лучшего запоминания), добавим, что при сахарном диабете, при котором инсулин не работает или работает слабо, практически все изменения метаболизма обусловлены глюкагоном, т.е. они являются противоположными тому, что приведено в таблице 13/2.1.

В клетки инсулиннезависимых органов (мозг и его нейроны, почки, кишечник, эритроциты, клетки глаза, кровеносных сосудов и др.) глюкоза проникает из крови способом облегченной диффузии без участия инсулина. Такое различие инсулинзависимых и инсулиннезависимых органов и тканей по их способ-

ности поглощать глюкозу определяет особенности патологии сахарного диабета.

Таблица 13/2.1

Влияние инсулина на метаболизм здорового человека

Соединения	Синтез	Распад
Глюкоза	↓	↑
Гликоген	↑	↓
Жиры	↑	↓
Холестерол	↑	–
Аминокислоты и белки	↑	↓

Примечание. ↑ – ускорение, ↓ – торможение.

САХАРНЫЙ ДИАБЕТ

Сахарный диабет (СД) – очень распространенное заболевание. СД поражает до 5% от всего населения мира или даже более, в РФ – около 8 млн человек (цифры относительны). Соотношение частоты встречаемости СД 1-го и 2-го типов – 25:75.

Существует понятие «скрытый, или латентный СД» при отсутствии клинических симптомов этого тяжелого заболевания, но уже при наличии некоторых ранних диагностических маркеров, например, определенных особенностей «сахарной кривой», подробно проанализированных в лекции 15/1 (см. рис. 15/1.1). За 7–8 лет до клинических симптомов СД в крови могут появляться аутоантитела к β-клеткам и к декарбоксилазе Глу, что свидетельствует о риске развития в будущем СД типа 1.

Причина инсулинзависимого сахарного диабета типа 1 – гибель β-клеток в результате аутоиммунных разрушительных процессов в панкреатической железе. Аутоиммунный статус человека может быть вызван очень многими эндогенными и экзогенными факторами ненаследственной и даже наследственной природы, например определенным сочетанием генов белков главного комплекса гистосовместимости. Известно много других аутоиммунных заболеваний человека: болезни печени, почек, щитовидной железы, легких, кожи (красная волчанка, псориаз), рассеянный склероз.

Сахарный диабет 1-го типа клинически проявляется у молодых людей при гибели около 90% β -клеток, а при полной гибели этих клеток наступает абсолютный дефицит инсулина. «Молодые и худые» — это расхожие афоризмы для больных диабетом 1-го типа. Еще интересный факт. По сравнительным материалам для многих стран, раннее прекращение кормления детей материнским молоком и перевод их на кормление коровьим молоком повышает риск развития у этих детей СД типа 1. Причина — недостаточная активность протеаз желудочно-кишечного тракта новорожденных не обеспечивает распад чужеродных белков (в отличие от белков молока матери) до свободных аминокислот. Всасываются не свободные аминокислоты, а фрагменты белков коров, которые вызывают аутоиммунный статус ребенка.

Причины инсулиннезависимого СД типа 2 (не поддается лечению инсулином, заболевание характерно для пожилых людей) очень многочисленны. Количество β -клеток не уменьшается, синтез инсулина может происходить, но он не функционирует или функционирует слабо. Многообразие причин можно свести к двум группам.

1. Различная патология эндокринного аппарата поджелудочной железы ненаследственной природы (амилоидоз β -клеток), мутация гена инсулина, приводящая к секреции неактивного гормона, нарушения процессов синтеза, созревания и его секреции, мутантная глюкокиназа β -клеток.

2. Вторая группа причин не связана с патологией самой поджелудочной железы. Это инсулинорезистентность органов-мишеней (мутация генов рецептора инсулина или переносчика глюкозы в мышцы и жировую ткань — ГЛЮТ-4); аутоантитела к инсулину или к его рецептору; быстрое разрушение гормона в организме и другие причины.

Гормональный статус больного

- При СД типа 1 количество инсулина и пептида С снижено или они в крови не определяются. Относительная активность глюкагона и кортизола как контринсулярных гормонов увеличена.
- При СД типа 2 в начальный период болезни концентрация инсулина в крови может быть компенсаторно выше нормы или постоянно является нормальной. При дли-

тельном течении болезни и хроническом раздражении β -клеток глюкозой в высокой концентрации происходит истощение этих клеток и содержание инсулина снижено. Уровень пептида С может дублировать уровень инсулина. Эффекты глюкагона и кортизола усилены.

Итог: при любом типе СД инсулин не работает или работает слабо, т.е. не изменяет активность «своих» ферментов; активно функционируют глюкагон и кортизол; практически вся симптоматика СД обусловлена влиянием последних двух гормонов на «свои» ферменты и на метаболизм.

Биохимические маркеры и симптомы сахарного диабета обоих типов являются близкими. При СД 2-го типа клинические проявления болезни (особенно связанные с кетоновыми телами) более мягкие.

Перечисляю биохимические маркеры и симптомы сахарного диабета.

1. Повышенный уровень глюкозы в крови (гипергликемия) и в моче (глюкозурия). Три причины гипергликемии:
 - а) глюкоза не поступает в мышцы, печень, жировую ткань и остается в крови;
 - б) инсулин не ингибирует синтез глюкозы в печени, и она выходит в кровь;
 - в) глюкагон и кортизол ускоряют синтез эндогенной глюкозы.
2. Повышенный уровень жирных кислот в крови, кетоновых тел — в крови (кетонемия) и в моче (кетонурия), что создает ацидоз и разнообразные нарушения биохимического статуса.
3. Повышенный уровень в крови гликированного (гликозилированного) гемоглобина HbA_1 . У здорового человека также содержится в крови гликированный Hb трех видов, в котором гексозы связаны с белком ковалентной связью (норма 5,5–8,0%): HbA_{1c} (Hb–глюкоза), HbA_{1b} (Hb–глюкозо-6-фосфат), HbA_{1a} (Hb–фруктоза). Такой гемоглобин плохо переносит в ткани кислород, вероятно, потому что его родство к гемоглобину увеличено (см. лекцию 2/1). Повышенная концентрация гликированного гемоглобина создает гипоксию в тканях.

4. Недостаток кислорода в тканях, недостаток глюкозы в больших по массе мышцах и в жировой ткани приводят к угнетению окислительного катаболизма, цитратного цикла и синтеза АТФ (лекция 11/1). Создается гипознергетическое состояние больного человека на фоне избытка в крови и в органах богатых энергией жирных кислот, кетоновых тел, а в крови и во всех тканях, кроме мышц и жировой ткани, — избыток глюкозы. Отсюда выражение «Сахарный диабет — голод среди изобилия».
5. Повышенный уровень мочевины в крови (азотемия) и в моче (азотурия) вследствие усиленного распада белков в тканях, индуцированного кортизолом. Кортизол и глюкокагон стимулирует синтез глюкозы из аминокислот. Это патологически излишний синтез!
6. И в итоге возникают «классические» клинические симптомы сахарного диабета («три П»):
 - а) *полиурия* — большой объем мочи, вызванный потерей воды при удалении через почки гидрофильных кетоновых тел, глюкозы и мочевины, содержащихся в моче в избытке;
 - б) отсюда *полидипсия* — жажда, сухость кожи, слизистых, особенно в ротовой полости, — ранние симптомы СД;
 - в) *полифагия* — повышенный аппетит, индуцированный гипознергетическим состоянием больного человека.
7. Масса тела больного. При СД типа 1 человек худой вследствие усиленного распада жиров, катализируемого активированной глюкокагоном ТАГ-липазой. При СД типа 2 вес тела человека или не изменен, или увеличен как результат ожирения. Это ожирение может быть связано с неправильным питанием больного человека, испытывающего чувство голода. Или высококалорийное питание с избытком сладостей приводит к ожирению и провоцирует возникновение СД 2-го типа вследствие длительного раздражения и истощения β -клеток поджелудочной железы.

Сомнительный постулат, требующий проверки: низкорослые люди склонны к заболеванию СД, а высокие — раком.

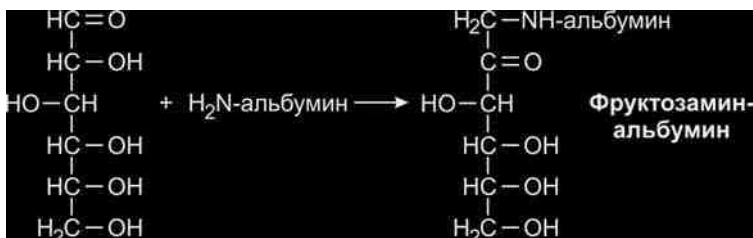
При длительном течении заболевания и отсутствии эффективного лечения возникают острые ранние осложнения СД вплоть до гибели человека. Это комы двух видов.

1. Гипогликемическая кома в результате медицинских ошибок при лечении инсулином больного СД 1-го типа: слишком большая доза инсулина резко снижает концентрацию глюкозы в крови и при ее концентрации около 40 мг/дл возможна потеря сознания, а при 20 мг/дл — смерть.
2. Три варианта диабетических ком:
 - кетоацидотическая кома, вызванная кетоновыми телами и кетоацидозом;
 - гиперосмолярная кома, вызванная потерей воды с мочой и повышением осмотического давления;
 - лактатацидотическая кома, вызванная гипоксией и преобладанием анаэробных процессов, в том числе анаэробного гликолиза с избытком лактата и с лактацидозом.

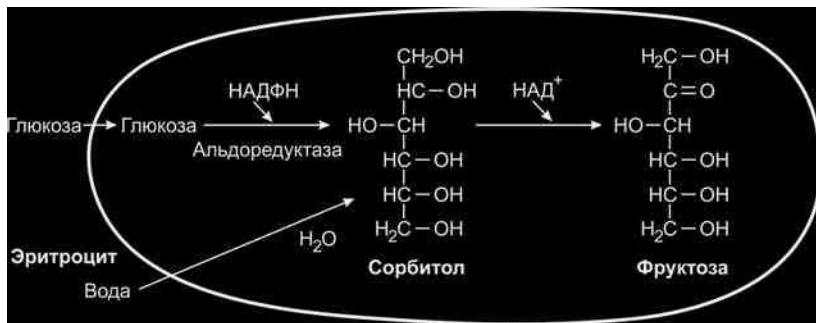
Каждая кома имеет свои клинические особенности, которые вы будете изучать на других кафедрах.

Поздние хронические осложнения сахарного диабета наступают через несколько лет течения заболевания. Они возникают вследствие токсического действия глюкозы в крови и межклеточной жидкости, а также глюкозы, постоянно проникающей в больших количествах в клетки инсулиннезависимых органов и тканей. Глюкоза индуцирует следующие процессы.

1. В крови, тканях и клетках она образует ковалентные связи со многими белками (с гемоглобином, с альбумином, с белками мембран, межклеточного матрикса и с ферментами) и нарушает их функции. Гликозилирование коллагена IV типа в базальных мембранах капилляров и клубочек почек приводит к их утолщению, уменьшению проницаемости для питательных и экскретируемых веществ. С альбумином крови глюкоза образует связь типа оснований Шиффа.



2. Внутри клеток инсулиннезависимых органов и тканей глюкоза превращается в более гидрофильный сорбитол, который задерживается в клетках, вызывает интенсивную диффузию в них воды с набуханием клеток и с нарушением их функций. Дальнейшее превращение сорбитола во фруктозу происходит внутри клеток с очень низкой скоростью.



Клинические следствия поздних осложнений сахарного диабета, главный виновник которых — глюкоза, являются главной причиной гибели таких больных.

Перечень поздних хронических осложнений.

- Макроангиопатии — образование атеросклеротических бляшек в крупных артериях эластического типа вследствие гликозилирования ЛНП-рецептора и белка апоВ-100 ЛНП (лекция 5/2).
- Микроангиопатии мелких сосудов и капилляров из-за уменьшения их проницаемости для питательных веществ и кислорода, что нарушает питание клеток и вызывает поражение кожи и органов. Представленные две сосудистые патологии являются причиной формирования диабетической стопы (язвы, гангрена конечностей).
- Нефропатии с уменьшением фильтрующей способности почек и со вторичным проявлением других заболеваний и синдромов, например, подагры и уремии.
- Нейропатии. Гликозилирование белков аксонов и клеток Шванна нарушает передачу нервных импульсов.
- Ретинопатии вызваны, во-первых, набуханием клеток хрусталика глаза (по сорбитоловому механизму) с появле-

нием катаракты и, во-вторых, гликозилированием белков клеток роговицы и хрусталика глаза.

- Избыток глюкозы стимулирует размножение микрофлоры и развитие бактериальных вторичных инфекций.

Кратко о принципах лечения.

1. Строгая диета в соответствии с многочисленными рекомендациями эндокринологов. Не рассматривая специально вопрос об ограничениях пищевых углеводов в диете, напомню, что в лекции 15/1 я представлял информацию о сахарозаменителях. В лекции 13/1 был подробно рассмотрен вопрос о фруктозе в пищевом рационе диабетика.

2. СД типа 1 — лечение с помощью препаратов инсулина, различных как по их источнику (генно-инженерный инсулин человека, инсулин свиней и коров), так и по способам их применения (инсулины короткого и пролонгированного действия). Генные инженеры синтезировали рекомбинантный ЛизПро-инсулин, или хумалог, с измененной первичной структурой В-цепи в положениях 28—29—30 на С-конце: Лиз—Про—Тре. Эта триада для обычного инсулина человека следующая: Про—Лиз—Тре. Хумалог является быстродействующим и короткодействующим препаратом по сравнению с натуральным инсулином человека, потому что его молекулы почти не агрегируют между собой в отличие от агрегатов-гексамеров естественного инсулина.

3. Инсулиннезависимый СД 2-го типа — лечение с помощью сахаропонижающих препаратов: производные сульфонилмочевины и бигуаниды, препараты хрома.

4. Предлагаются также методы пересадки здоровых панкреатических островков и самих β -клеток.

ОБМЕН ВЕЩЕСТВ ПРИ ПОЛНОМ ГОЛОДАНИИ

Первая фаза — голодание в течение одних суток.

1. Гормональный статус: мало инсулина, много глюкагона.

2. Углеводы: распад гликогена при участии глюкагона и освобождение глюкозы как источника энергии.

Вторая фаза — голодание в течение одной недели.

1. Гормональный статус: мало инсулина, много кортизола и глюкагона.

2. Углеводы: гликоген израсходован; главный источник глюкозы для обеспечения мозга и эритроцитов — глюконеогенез на основе гликогенных предшественников (аминокислот, глицерола, молочной кислоты); этот процесс активируют кортизол и глюкагон.

3. Липиды: начинается липолиз (глюкагон), освобождается глицерол и жирные кислоты, которые после полного окисления дают АТФ; β -окисление жирных кислот (глюкагон) обеспечивает выход ацетил-КоА как предшественника кетонных тел (глюкагон), являющихся источником энергии в мозгу, в мышцах и других органах. Липиды частично заменяют глюкозу.

4. Белки: распад и освобождение аминокислот (кортизол) для синтеза эндогенной глюкозы (кортизол, глюкагон).

5. Отрицательный азотистый баланс.

Третья фаза — голодание в течение нескольких недель.

1. Продолжается доминирование кортизола и глюкагона.

2. Главные энергетические источники: для мозга — кетонные тела, для мышц — жирные кислоты.

3. Распад белков и глюконеогенез из аминокислот замедляются в связи с истощением запаса белка в организме.

4. Выраженный отрицательный азотистый баланс.

5. Смерть голодающего человека наступает после катаболизма 30–50% белков или при снижении концентрации глюкозы в крови до 20 мг/дл.

Лекция 14/2

РОЛЬ ГОРМОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА ВОДЫ И СОЛЕЙ

Метаболизм воды и солей в организме человека регулируется, во-первых, почками (что более подробно рассматривает физиология) и, во-вторых, гормонами. Эта регуляция обеспечивает постоянство параметров внеклеточной жидкости организма или постоянство гомеостаза: объема воды, состава солей, индекса рН и величины осмотического давления жидкостей организма.

Водно-солевой обмен внутри клеток мы в определенной мере рассматривали ранее, в том числе при участии транспортных АТФаз.

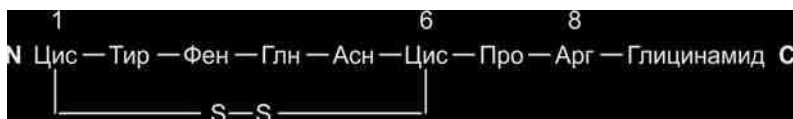
АНТИДИУРЕТИЧЕСКИЙ ГОРМОН

Антидиуретический гормон (АДГ) регулирует объем внеклеточной жидкости и постоянство осмотического давления в ней.

Напомним, что вода в организме человека состоит из:

- внутриклеточной воды — 70%;
- внеклеточной воды — 30%, которая находится в крови (5%) и в межклеточном матриксе (25%, интерстициальная вода).

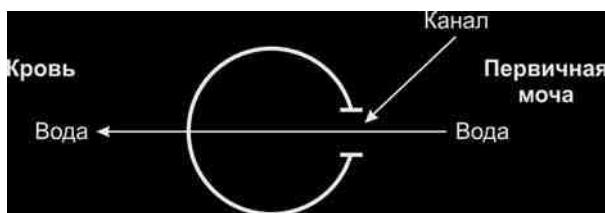
АДГ является пептидом из девяти аминокислот:



Синтез предшественника происходит в гипоталамусе. После частичного протеолиза образуется АДГ, который перемещается вместе с транспортером нейрофизином в заднюю долю гипофиза и остается там в гранулах. Два сигнала для секреции АДГ в кровь:

- 1) повышенное осмотическое давление (потеря воды, например, при поносах, или избыток Na-солей) возбуждает осморцепторы гипоталамуса → секреция АДГ;
- 2) ангиотензин II воздействует на гипоталамус прямо или косвенно (через альдостерон, увеличение содержания Na и осмотического давления).

Главный эффект АДГ — увеличение реабсорбции воды из первичной мочи в кровь и в межклеточную жидкость. Механизм: АДГ → некаталитические мембранные рецепторы V_2 в апиксе эпителия канальцев и трубочек нефрона → через аденилатциклазную систему (АЦС) фосфорилирование факторов транскрипции → синтез белков аквапоринов, создающих канал для воды в мембранах эпителия:



При больших концентрациях, которые считаются нефизиологическими, АДГ взаимодействует с некаталитическими мембранными рецепторами V_1 гладких мышц артерий и через инозитолфосфатную систему (ИФС) увеличивает в них содержание Са, включая мышечное сокращение и повышение артериального давления. Отсюда второе и, видимо, нефизиологическое название гормона — вазопрессин.

Патология: несахарный диабет (полиурия до 10–20 л мочи в сутки с уменьшением ее плотности, обезвоживание, жажда — полидипсия) как результат чаще всего травмы или кровоизлияний в голове с повреждением гипоталамуса-гипофиза. Возможны и другие генетические причины (мутации генов белков-ферментов и рецептора V_2).

АЛЬДОСТЕРОН

Альдостерон является стероидным гормоном (минералокортикоидом) с альдегидной группой в 13-м положении. Он синтезируется в клубочковой или гломерулярной зоне коры надпочечников из холестерина. Синтез и его секреция стимулируются главным образом химическим сигналом — пониженной концентрацией натрия в крови и жидкостях и другими сигналами — повышенной концентрацией калия и гормоном ангиотензином II (табл. 14/2.1).

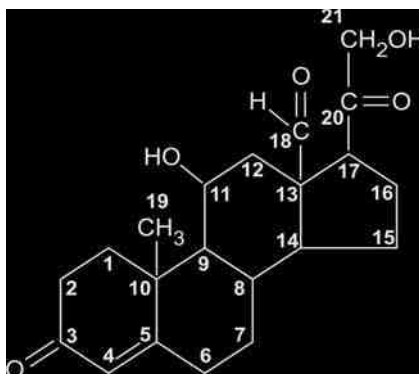


Таблица 14/2.1

Сигналы для секреции альдостерона и его эффекты

Сигнал	Эффекты	
$\text{Na}^+ \downarrow$	$\text{Na}^+ \uparrow$	
$\text{K}^+ \uparrow$	$\text{K}^+ \downarrow$	Ускоренное выведение с мочой
Ангиотензин II	$\text{Mg}^{2+} \downarrow$	
	$\text{H}^+ \downarrow$	
	Итог — возможен алкалоз	
$\text{K}^+ \downarrow$ в результате действия альдостерона и фуросемида	Противоположные эффекты в результате угнетения секреции альдостерона	

Примечание. Символы \uparrow и \downarrow обозначают высокое или низкое содержание ионов соответственно.

Эффекты альдостерона противоположны тем сигналам, которые стимулируют его секрецию (см. табл. 14/2.1). А именно:

он увеличивает концентрацию Na в крови, уменьшает — K^+ , Mg^{2+} и содержание протонов H^+ , т.е. в итоге поддерживает в жидкостях организма слабощелочную реакцию (напомним рН крови здорового человека — 7,4). Более детально: альдостерон как стероид легко проникает в клетки эпителия почечных канальцев (простая диффузия) и вместе со своими внутриклеточными рецепторами включает транскрипцию и увеличивает количество белков-ферментов, необходимых для реабсорбции натрия из первичной мочи в кровь и для ускоренного выведения с мочой калия, магния и протонов. В отношении Na это белки-транспортеры Na для пересечения им мембран и переноса Na из мочи в кровь, а также Na^+, K^+ -АТФаза и необходимые для последней ферменты синтеза АТФ.

Патология. При опухолях коры надпочечников развивается первичный гиперальдостеронизм или болезнь Конна с повышенным артериальным давлением и со следующими биохимическими синдромами: гипернатриемия, гипокалиемия, гипопротонемия, алкалоз (повышение рН). Однако содержание глюкозы в крови и 17-кетостероидов в моче не увеличено в отличие от стероидного диабета или гиперкортицизма (лекция 12/2). Гипертензия обусловлена задержкой натрия и отсюда — вторичной задержкой воды. Последнее происходит и дополнительно за счет повышения осмотического давления и секреции АДГ. Возможен вторичный гиперальдостеронизм (вызванный разными причинами) при первичном увеличении содержания ренина и ангиотензина II и уже со вторичной гиперсекрецией альдостерона в соответствии с табл. 14/2.1.

Лекарства для лечения гиперальдостеронизма типа диуретиков:

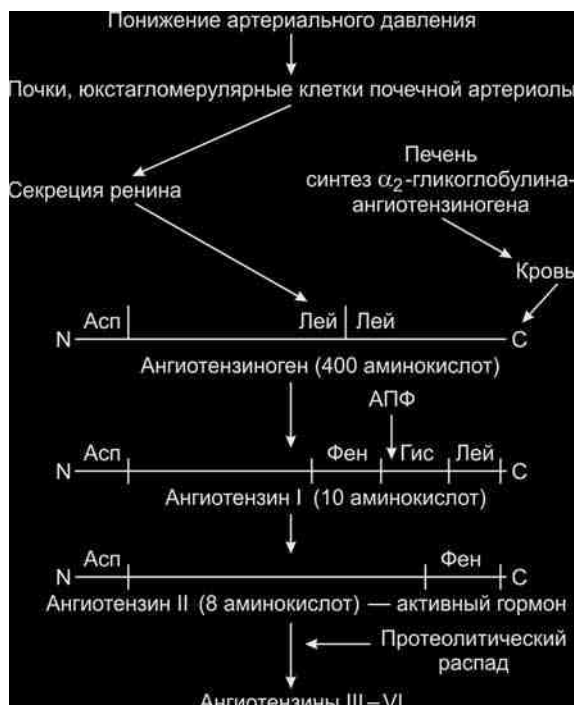
- 1) альдактон — блокатор рецепторов альдостерона уменьшает содержание в организме Na-солей и воды, увеличивает удаление их с мочой;
- 2) фуросемид — антагонист альдостерона в отношении натрия, уменьшающий его реабсорбцию в почках и увеличивающий объем мочи; однако фуросемид повышает и выведения калия с мочой, что при его передозировке и резкой потере калия опасно для работы сердца.

Более радикальным лечением гиперальдостеронизма является хирургическое удаление опухоли надпочечников.

РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВАЯ СИСТЕМА

Схема 14/2.1 раскрывает основной сигнал, приводящий в действие эту гормональную систему, — понижение артериального давления (АД) в общем кровотоке, но главное — в почечной артериоле, а также основные компоненты этой системы: протеазу ренин, гормон ангиотензин II (АТ II) и формирующий его ангиотензинпревращающий фермент (АПФ).

Схема 14/2.1. Ренин-ангиотензиновая система



Пониженное АД в почечной артериоле (чаще всего в результате кровопотери), потеря натрия и гипонатриемия (табл. 14/2.2) стимулируют юстагломерулярные клетки почечных артериол,

которые синтезируют проренин и после его частичного протеолиза секретируют в общий кровоток ренин. Последний как протеаза катализирует в крови превращение большого белка ангиотензиногена в 10-членный пептид ангиотензин I, а далее там же в крови АПФ катализирует образование активного гормона АТ II, состоящего из восьми аминокислот.

Таблица 14/2.2

Сигналы для включения и выключения системы ренин-ангиотензин

Сигналы для включения системы	Сигналы для выключения системы
1. Пониженное АД в почечной артериоле, кровопотеря, обезвоживание	1. Нормальное и повышенное АД
2. Пониженное содержание натрия в крови и жидкостях (гипонатриемия)	2. Нормальное и повышенное содержание натрия
3. Сигнал симпатической нервной системы	3. Избыток ангиотензина II

Ангиотензин II — полифункциональный гидрофильный гормон (схема 14/2.2). Он не проникает внутрь клеток органов-мишеней и передает свой сигнал только через инозитолфосфатную систему. С помощью своего основного вторичного мессенджера — иона кальция — АТ II в цитозоле изменяет активность ряда ферментов и скорость биохимических процессов. Схема 14/2.2 демонстрирует четыре эффекта АТ II:

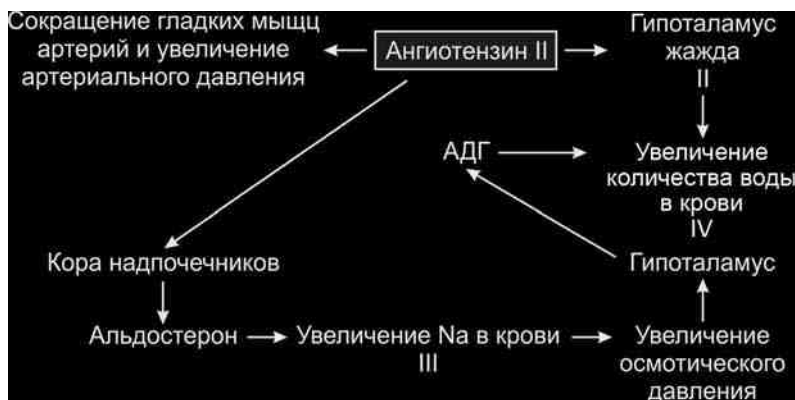
- два прямых действия АТ II на гладкомышечные клетки артерий с увеличением артериального давления и на гипоталамус с активацией центра жажды, что приводит к необходимости употребления человеком воды и увеличения ее объема в организме;
- и два непрямых эффекта: формирование гипернатриемии на (через надпочечники и альдостерон), которая в свою очередь повышает осмотическое давление, уровень АДГ и содержание воды в крови.

Общий итог эффектов АТ II — задержка в организме воды, солей, повышение АД и скорости кровотока. Поэтому именно эта гормональная система реагирует в первую очередь при острой

кровопотере, восполняя жидкую часть крови и ее солевой компонент. При этом порядок проявления четырех эффектов АТ II при кровопотере можно представить как I → II → III → IV в соответствии с обозначениями на схеме 14/2.2. При обезвоживании в результате разных причин, в том числе при диарее (дизентерия), в результате уменьшения объема крови система АТ II также может восстанавливать водную фазу кровеносной системы.

После прекращения действия стимулирующих сигналов протеазы разрушают ренин и АТ II. Последний постепенно распадается на менее активные 7-6-5-членные пептиды (ангиотензины III, V, VI) и свободные аминокислоты.

Схема 14/2.2. Гормональные эффекты ангиотензина II



АПФ, или карбоксидипептидилпептидаза, — это биохимически уникальный фермент, который удаляет с С-конца пептида (ангиотензина I) дипептид Гис-Лей. АПФ имеет в одной полипептидной цепи (около 1300 аминокислот) два активных центра с двумя атомами цинка. Изоферменты АПФ синтезируются в эндотелии разных органов, особенно легких и почек, в эпителии кишечника и в нервных клетках. Показано существование мутаций с понижением или повышением активности АПФ. В первом случае снижение содержания АТ II приводит к расширению сосудов в скелетных и сердечной мышцах и к замедленному кровотоку в них, что стимулирует их развитие у некоторых жителей высокогорья и у альпинистов.

Во втором случае, как предполагается, повышенная активность АПФ и высокий уровень АТ II провоцируют развитие эссенциальной гипертонической болезни центрального типа. Для лечения этого распространенного заболевания используют ингибиторы АПФ и ингибиторы рецепторов АТ II. Первый ингибитор АПФ был выделен из яда бразильской змеи жерараки в 1965 г., и сегодня в клинике используют многочисленные синтетические ингибиторы АПФ нескольких поколений. Эти препараты очень эффективно расширяют сосуды и освобождают организм от воды и солей, что можно понять, изучив схему 14/2.2. Поэтому они назначаются при гипертонических синдромах, ишемической болезни сердца, после инфаркта миокарда и при других осложнениях атеросклероза. Сочетание ингибиторов АПФ и ингибиторов рецепторов альдостерона (см. выше) увеличивает продолжительность жизни больных с сердечно-сосудистой недостаточностью.

При особой форме — почечной гипертонии — эти препараты малоэффективны. В этом случае причиной гипертонии является стеноз почечной артерии, вызванный ее атеросклерозом или давлением внешней опухоли, уменьшающими кровенаполнение почечной артериолы и включающими систему АТ II. Нужна хирургическая операция по восстановлению просвета *a. renalis*.

ПРЕДСЕРДНЫЙ НАТРИЙУРЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР

Синтез и хранение предсердного натрийуретического фактора происходят в кардиомиоцитах. Этот пептид из 28 аминокислот является практически полным физиологическим антагонистом АТ II как по сигналам для его секреции, так и по эффектам: предсердный натрийуретический фактор способствует удалению с мочой воды, солей и уменьшает АД. Однако его физиологическая конкурентная роль относительно АТ II до конца не ясна.

ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА КАЛЬЦИЯ И ФОСФАТОВ

Обмен внутриклеточного кальция был рассмотрен ранее в лекциях 1-го и 2-го семестров (Ca^{2+} -АТФаза, Na^+ , Ca^{2+} -переносчик, ангиотензин II и инозитолфосфатная система). Этот кальций

служит кофактором ферментов и посредником в передаче сигналов некоторых гормонов, хотя концентрация внутриклеточного кальция в 10^4 раз меньше его концентрации в крови. Сейчас представляю информацию о гормонах, регулирующих содержание внеклеточных кальция и фосфатов в крови и в костях. Кости содержат в межклеточном матриксе 99% кальция организма человека, а кровь — 1%. Нормальное содержание кальция в крови составляет 8,5–10,5 мг/дл, или 2,1–2,6 ммоль/л, т.е. это довольно узкий диапазон, что вызывает патологию при концентрации кальция за пределами этого интервала. В крови 50% кальция находится в виде свободного катиона Ca^{2+} , 45% связано с альбумином и 5% — в виде солей. Биологически активен свободный катион.

ПАРАТГОРМОН

Паратгормон является белком из 84 аминокислот, синтезируемым в паращитовидных железах в виде предшественника (115 аминокислот). Сигнал для секреции паратгормона в кровь — снижение уровня кальция крови ниже 8,5 мг/дл.

Эффекты паратгормона

1. В костях — мобилизация (удаление) кальция и фосфатов и их выход в кровь. Паратгормон как белок передает свой сигнал через АПС в остеобласты, которые выделяют цитокины, активирующие остеокласты. Последние секретируют коллагеназу, гликозидазы и фосфатазу, разрушающие межклеточный матрикс костей и освобождающие кальций и фосфаты.

2. Почки. Паратгормон ускоряет реабсорбцию Са из первичной мочи в кровь и замедляет реабсорбцию фосфатов, которые удаляются с мочой.

Итог: в крови увеличение кальция и уменьшение фосфатов.

3. В почках паратгормон активирует регуляторный фермент синтеза гормона кальцитриола (из витамина D_3), что также увеличивает Са крови (см. ниже).

КАЛЬЦИТОНИН

Кальцитонин как пептид (32 аминокислоты) синтезируется из предшественника в К-клетках щитовидной железы и в С-клетках

парацитовидных желез. Сигнал для его секреции — повышенная концентрация кальция. После нормализации уровня кальция кальцитонин и паратгормон разрушаются протеазами.

Эффекты кальцитонина

1. Как антагонист паратгормона он через АЦС подавляет способность остеокластов освобождать кальций из костей.

2. Кальцитонин уменьшает реабсорбцию кальция в почках.

Итог: уменьшение кальция в крови и увеличение его выделения с мочой.

Врачу полезно знать, что у женщин эстрогены увеличивают синтез и секрецию кальцитонина, и поэтому они сберегают кальций в костях. После менопаузы при отсутствии заместительной эстрогенотерапии кости усиленно теряют кальций и становятся ломкими. Вспомните переломы шейки бедра у пожилых женщин.

КАЛЬЦИТРИОЛ

Кальцитриол (КТ) — это стероидный гормон, который образуется из жирорастворимого витамина D_3 (Нобелевская премия 1928 г.). Источники витамина D_3 — пища (молоко и молочные продукты, жир рыб, куриные яйца и др.), а также эндогенный синтез из холестерина в коже человека при использовании энергии ультрафиолетовых лучей. Поэтому термин «витамин» является в данном случае некорректным, тем более что этот «витамин» не формирует кофермент.

Синтез кальцитриола в митохондриях:



Регуляторный фермент этого синтеза — 1α -гидроксилаза. Ингибиторы этого фермента: избыток свободного Са и сам КТ; активаторы: низкая концентрация Са и паратгормон.

Как стероидный гормон КТ проникает внутрь клеток кишечника, костей, почек, в их ядра и на уровне транскрипции индуцирует синтез белков-ферментов для реализации своих эффектов.

Эффекты кальцитриола

1. В тонком кишечнике КТ индуцирует синтез в энтероцитах белка-транспортера кальция через клеточные мембраны. Пищевой кальций проникает в энтероциты и далее в кровь. Это главный результат действия КТ для детей, при отсутствии которого развивается рахит.

2. В костях ускоряет мобилизацию кальция и фосфатов.

3. В почках усиливает реабсорбцию кальция и фосфатов.

Итог: увеличение в крови содержания кальция и фосфатов.

Подводим общий итог результатам функционирования трех гормонов:



Патология обмена кальция

Гиперкальциемия — повышение содержания кальция в крови и органах.

Кальций как тормозной фактор нервно-мышечной системы при своем избытке повышает порог возбудимости этой системы и вызывает физическую слабость, вялость, сонливость, осаждаются в виде камней в почках и других органах. Возможны переломы костей из-за удаления из них кальция.

При сильном снижении возбудимости нервной системы (например, при отравлении большими дозами витамина D_3) возможна кома и даже смерть человека.

Гиперкальциемии наблюдаются при:

- опухлях паращитовидных желез — это гиперпаратиреоз;
- миеломной болезни, заключающейся в распаде костной ткани от разных причин;
- передозировке витамина D_3 , случайной или при лечении этим витамином туберкулеза, красной волчанки, дерматитов, переломов костей; в СМИ описаны смертельные случаи при несанкционированном употреблении работниками птицеферм предназначенного для цыплят растительного масла, обогащенного витамином D_3 .

Гипокальциемии. При снижении уровня кальция порог возбудимости нервно-мышечной системы снижен, что повышает возбудимость системы и приводит к появлению мышечных судорог, спазмов и даже ларингоспазма со смертельным исходом. Такие симптомы наблюдаются при гипопаратиреозе после ошибочного удаления хирургом паращитовидных желез. Недостаток в пище кальция и витамина D_3 , пониженная продукция большой печенью желчи, необходимой для эмульгирования и всасывания данного жирорастворимого витамина, также приводят к гипокальциемии.

К этому же типу патологии можно отнести и рахит детей, и рахитоподобные заболевания взрослых. Выделяют два вида детского рахита.

Ненаследственная форма детского рахита вызвана следующими причинами:

- недостатком витамина D_3 и кальция в пище;
- недостаточным синтезом витамина D_3 в коже детей из-за ограниченного облучения солнечным светом;
- недостаточной выработкой большой печенью желчи.

Схема возникновения данной формы рахита: мало витамина D_3 в организме → недостаток кальцитриола → недостаточное всасывание пищевого кальция в кишечнике → пониженное содержание кальция в крови → секреция паратгормона → паратгормон действует на кости ребенка и удаляет кальций из костей, а точнее, препятствует их кальцификации → наступает остеомаляция и под нагрузкой дугообразно искривляются нижние конечности, а роднички не зарастают. Такой рахит можно лечить препаратами или продуктами, содержащими витамин D_3 , и по-

этому его еще называют рахитом, который зависит или лечится витамином D₃ (при условии, что печень нормально продуцирует желчь).

Генетически обусловленная форма детского рахита, в случае которого витамин D₃ неэффективен, связана, во-первых, с доминантной мутацией в X-хромосомах — в генах 1 α - и 25-гидроксилаз. В результате возникает дефицит кальцитриола со всеми рассмотренными выше последствиями. Лечение возможно с помощью препаратов, содержащих кальцитриол. Вторая причина патологии — мутация гена внутриклеточного рецептора для кальцитриола.

Описаны рахитоподобные состояния или заболевания взрослых людей с множественной симптоматикой, вызванной разными причинами (болезнями почек, печени, некоторыми лекарствами). Во всех этих случаях в основе лежит гипокальциемия и дефицит кальцитриола, связанный с недостатком активности рассмотренных выше гидроксилаз (цитохромов P450). Например, при хронической почечной недостаточности в почках нарушен синтез 1 α -гидроксилазы.

Лекция 15/2

ДЕТОКСИКАЦИЯ КСЕНОБИОТИКОВ. КАТАБОЛИЗМ ГЕМА. БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ЛЕКАРСТВ. ХИМИЧЕСКИЙ КАНЦЕРОГЕНЕЗ

ДЕТОКСИКАЦИЯ КСЕНОБИОТИКОВ

В процессе своей эволюции человек приобрел способность обезвреживать различные вредные и токсические, эндогенные и экзогенные вещества, во-первых, благодаря иммунной системе. Последняя распознает чужеродные и эндогенные антигены и гаптены, которые после образования комплексов с антителами разрушаются в макрофагах и в других иммунокомпетентных клетках. Во-вторых, существует биохимическая система детоксикации чужеродных экзогенных (ксенобиотики) и эндогенных токсических веществ.

Ксенобиотики — это различные химические соединения, пестициды, инсектициды, яды, тяжелые металлы, медикаменты, наркотики, никотин табака и отчасти алкоголь. В организме человека образуются и некоторые собственные токсические продукты (билирубин, окисленный холестерол). По крови гидрофобные вещества транспортируются в комплексах с альбумином и с другими белками-гликопротеинами, а также в составе липопротеинов.

Главной биохимической системой детоксикации является система с участием цитохрома P450, которая активно функционирует в печени, почках, слизистой кишечника. Она состоит из трех фаз.

Первая фаза — окислительно-восстановительные реакции, катализируемые изоферментами цитохрома P450 и другими ферментами. В результате этих реакций токсичность гидрофобных ксенобиотиков уменьшается, они приобретают некоторую гидрофильность и растворимость в крови, моче и желчи. Увеличивается возможность их удаления с мочой и экскрементами.

Вторая фаза обеспечивает еще большее снижение токсичности и повышение гидрофильности ксенобиотиков за счет конъюгации с очень гидрофильными соединениями при участии ферментов — трансфераз.

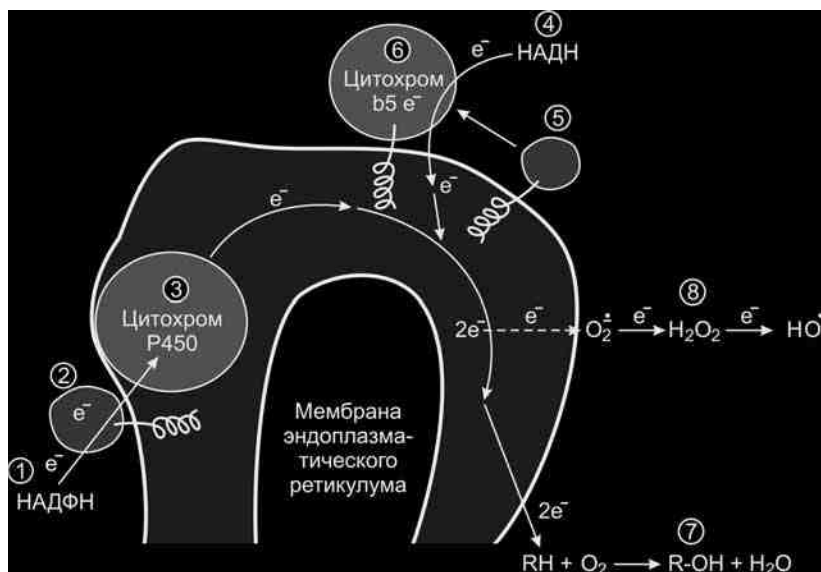
Третья фаза — элиминация модифицированных ксенобиотиков по схемам: кровь → почки → моча и печень → желчь → экскременты.

Первая фаза детоксикации (система цитохрома P450) происходит в эндоплазматическом ретикулуме указанных выше органов. Ее не очень корректное другое название — микросомальная система окисления. Эта система состоит из ряда реакций переноса электронов от НАДФН и НАДН до одного атома кислорода с образованием из него воды и с одновременным окислением (вторым атомом кислорода) ксенобиотика RH, который превращается или в оксипроизводное, или в эпоксид, или в N-оксид и S-оксид.

Первый электрон из молекулы НАДФН цитозоля (№ 1 в схеме 15/2.1) переносится ферментом 2 (НАДФН-цитохром P450-редуктаза) на цитохром P450 (№ 3), находящийся в мембране эндоплазматического ретикулума. Второй электрон из молекулы НАДН (цифра 4 схемы 15/2.1) транспортируется НАДН-цитохром b₅-редуктазой (№ 5) в цитохром b₅ (№ 6), связанный с той же мембраной, и далее оба электрона завершают построение внешней орбитали одного атома кислорода. Последний после неферментативного протонирования превращается в воду, а второй атом кислорода формирует гидроксильную группу в ксенобиотике (№ 7). Это наиболее частая или наиболее изученная монооксигеназная (гидроксилазная) реакция, катализируемая главным образом цитохромом P450:



Схема 15/2.1. Система цитохрома P450



Цитохром P450 — сложный белок-фермент, гемопротеин, состоящий из апопротеина и кофактора — гема. Функционирует фермент как переносчик электронов (по одному) благодаря изменению степени окисления атома железа гема: $e^- \rightarrow Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ и т.д. В организме человека имеется множество (вероятно около 150) изоферментов цитохрома P450 и соответствующих генов. Эти изоферменты сгруппированы в восемь семейств, которые специфически распределяются по разным органам, например в печени — четыре семейства ферментов. Соответственно изоферменты катализируют реакции с разными субстратами — ксенобиотиками, но их субстратная специфичность является относительной.

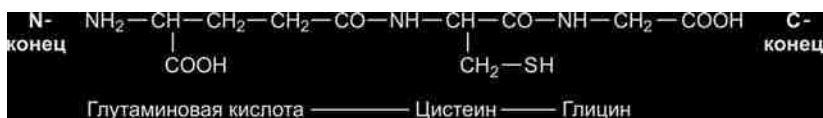
Еще особенность: эти субстраты служат индукторами для синтеза своего изофермента. Поэтому при длительном воздействии одного ксенобиотика (наркотика, лекарства) на клетки человека в них синтезируется много соответствующего этому субстрату изофермента, и детоксикация ксенобиотика ускоряется. Поэтому наркоман, курительщик, больной человек вынуждены повышать дозу препарата-ксенобиотика или лекарства для до-

стижения нужного эффекта. При интенсивной работе системы цитохрома P450 в качестве побочных реакций происходит образование токсических форм кислорода (№ 8) — супероксидного анион-радикала, перекиси водорода и гидроксильного радикала (см. схему 15/2.1), которые включают перекисное окисление липидов мембран и другие перекисные процессы. Поэтому у наркоманов и курильщиков возникает «перекисная патология», например инфаркты миокарда. Более того, из-за относительной субстратной специфичности цитохромов P450 увеличенное количество «этанольного» изофермента II E₁, окисляющего большие дозы этанола, будет приводить к быстрой инактивации и ряда лекарств. В связи с этим алкоголик не только сам постепенно увеличивает свою «рабочую» дозу алкоголя, но и врач должен увеличивать ему дозировку лекарств, или они будут неэффективны. Так создается заколдованный круг при перечисленных вредных привычках и при длительном лечении одним и тем же препаратом.

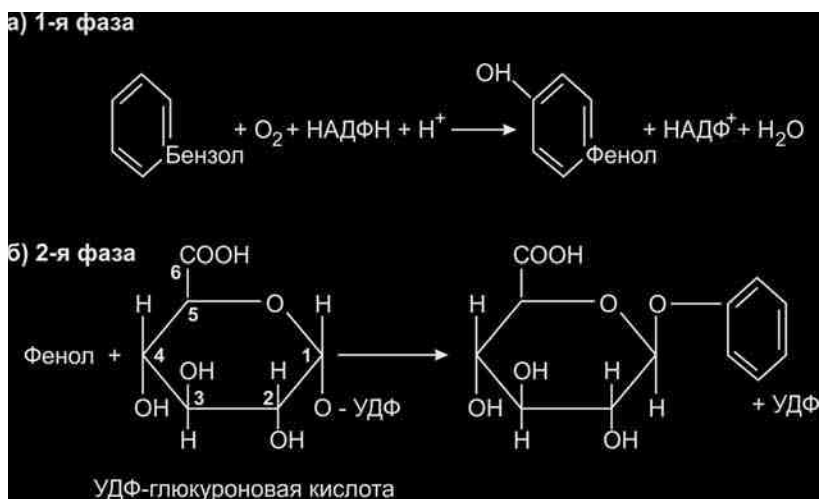
Другие изоформы цитохрома P450 катализируют с некоторыми особенностями реакции, которые одновременно уменьшают уровень потенциально вредных эндогенных веществ и приводят к синтезу необходимых организму соединений: холестерина из ланостерола, желчных кислот и стероидных гормонов из холестерина, кальцитриола из витамина D₃. Эти реакции происходят в митохондриях коры надпочечников, половых желез, почек или в эндоплазматическом ретикулуле печени. Эволюция целесообразно создала группу родственных ферментов и для необходимых синтезов, и для защиты живых организмов от вредных веществ.

Вторая фаза детоксикации — конъюгация окисленных в первой фазе ксенобиотиков с гидрофильными веществами (глутатионом, глюкуроновой кислотой, сульфатом, глицином и другими) при участии трансфераз. Теперь конъюгаты с высокой гидрофильностью могут быстро выводиться из организма с мочой и калом.

Многие ксенобиотики, лекарства и нормальные метаболиты образуют конъюгаты с гидрофильным глутатионом в реакциях, катализируемых различными изоферментами глутатионтрансферазы. Глутатион — трипептид оригинального строения с γ -глутаминовой кислотой на N-конце:



Очень часто конъюгация происходит также с глюкуроновой кислотой. Например, привожу реакции обезвреживания нерастворимого в воде и крови токсического бензола, который после 1-й фазы (фермент цитохром Р450) превращается в слаборастворимый фенол, а после 2-й фазы (фермент УДФ-глюкуронилтрансфераза) — в хорошо растворимый в крови фенол-β-глюкуронид.



Реакция детоксикации фенола при конъюгации с активированной серной кислотой — фосфоаденозинфосфосульфатом (ФАФС), фермент — сульфотрансфераза:



Трансферазы, катализирующие реакции конъюгации, имеют свои особенности:

- их специфичность к донору гидрофильной группы (глутатиону, серной кислоте) высокая;
- их специфичность к акцептору гидрофильной группы (разные ксенобиотики и лекарства) низкая;

- как и цитохромы P450, эти трансферазы индуцибельны, т.е. сами ксенобиотики увеличивают на уровне транскрипции количество молекул трансфераз; так, например, фенobarбитал повышает в гепатоцитах активность УДФ-глюкуронилтрансферазы.

В организме человека функционируют и некоторые другие белки, связанные с детоксикацией.

1. Белок металлотioneин (см. лекцию 7/1).

2. Белок множественной лекарственной устойчивости, или Р-гликопротеин, находится внутри цитоплазматической мембраны клетки. Он представляет из себя транспортную АТФазу, которая удаляет из клетки в межклеточную жидкость и в кровь (против градиента концентрации) ксенобиотики и, к сожалению, некоторые лекарства. Поэтому опухолевые клетки становятся устойчивыми к действию таких препаратов. Более того, при увеличении дозы противоопухолевые лекарства индуцируют на уровне транскрипции синтез и Р-гликопротеина, и глутатионтрансферазы. Аналогично тяжелые металлы индуцируют синтез связывающего их металлотioneина, что снижает вредный эффект металлов.

КАТАБОЛИЗМ ГЕМА

Гем — простетическая группа и кофактор для ряда белков (гемоглобина, миоглобина) и ферментов (цитохромов — ферментов ЦПЭ, цитохрома P450, пероксидазы, каталазы). Гемоглобин содержит 80% гема организма. Поэтому на схеме 15/2.2 представлен в деталях катаболизм именно гемоглобина и его гема.

Первая окислительная фаза катаболизма происходит в эндоплазматическом ретикулуме (в ретикулоэндотелиальной системе) клеток костного мозга, селезенки, лимфатических узлов и в печени детей при участии ферментов гем-оксигеназной системы. Освободившиеся белки-глобины и железо Fe^{3+} повторно используются организмом, а продукты распада гема являются ненужными пигментами, которые удаляются с калом и мочой. Образовавшийся неконъюгированный билирубин (НКБ) желто-красного цвета поступает в кровь и, являясь гидрофобным веществом, транспортируется по крови в виде комплекса с альбумином, достигая печени.

Схема 15/2.2. Катаболизм гемоглобина и гема



Вторая фаза — конъюгация и детоксикация. Токсический для мозга и для других органов НКБ освобождается на поверхности гепатоцитов от альбумина и после фиксации микроворсинками гепатоцитов проникает в эти клетки, в цитозоле которых транспортируется с белком лигандином в эндоплазматический ретикулум. Мембранная УДФ-глюкуронилтрансфераза катализирует далее превращение гидрофобного токсического НКБ в гидрофильный нетоксический конъюгированный билирубин-глюкуронид (КБ) темного цвета. Часть КБ выходит в кровь, и следовательно, в крови здорового человека находятся НКБ (в комплексе с альбумином) и свободный КБ в соотношении 3:1 при суммарной концентрации в диапазоне 0,3–1,0 мг/дл, или 1,7–17,0 мкмоль/л. При такой небольшой концентрации гидрофильный КБ в мочу здорового человека практически не поступает. Из-за особенностей химического определения билирубинов в клинике используется другая терминология: непрямой билирубин — это НКБ и прямой билирубин — это КБ.

Третья фаза — элиминация в кал и мочу. Прямой билирубин поступает в печени в желчные пути и вместе с желчью выделяется в двенадцатиперстную кишку (активный транспорт). В тощей кишке β -глюкуронидаза бактерий кишечника расщепляет КБ, отделяет от него глюкуроновую кислоту и освобождает билирубин. Редуктазы бактерий превращают билирубин в ряд продуктов — бесцветные уробилиногены. Основная их масса (95%) поступает в толстый кишечник под названием стеркобилиногенов, далее они окисляются главным образом в прямой кишке при участии бактериальных дегидрогеназ, превращаясь в коричневые стеркобилины, выделяющиеся с калом в количестве около 300 мг/сут. Цвет экскрементов во внешней среде становится более темным после дополнительного их окисления кислородом воздуха.

Небольшая часть (5%) уробилиногенов доходит из тонкого кишечника до почек двумя путями:

- 1) через лимфу стенки кишечника → кровь → почки;
- 2) через портальную вену → печень → кровь → почки.

Далее в свежевыпущенной моче бесцветный уробилиноген под действием кислорода воздуха и света окисляется в окрашенный уробилин (2–6 мг/сут). Моча приобретает соломенно-желтый цвет, обусловленный уробилином и в большей степе-

ни — урохромом, продуктом трансформации триптофана. Часть уробилиногена печени или распадается до пирролов, или через желчь вновь поступает в кишечник, присоединяясь к основной порции стеркобилиногена. И наконец, очень небольшая порция стеркобилиногена всасывается в прямой кишке и через геморроидальные вены, кровь и почки выводится с мочой (см. схему 15/2.2). Рассмотренные и другие продукты превращения билирубина называют желчными пигментами.

При ряде заболеваний производят лабораторный анализ желчных пигментов, прямого и непрямого билирубина. Повышенное содержание в желчи билирубина приводит к образованию билирубиновых или смешанных камней в желчных путях, хотя основной компонент таких камней — холестерол. При повышении содержания в крови прямого билирубина (гепатит, обтурационная желтуха) он появляется в моче, придавая ей интенсивно темный цвет чая или коньяка (в зависимости от точки зрения врача). Если общее содержание билирубина крови превышает 2–3 мг/дл, он окрашивает в желтый цвет кожу и слизистые, что характерно для ряда заболеваний — желтух. При концентрациях 20–25 мг/дл преобладающий не прямой токсический НКБ легко проникает в нейроны, окрашивает их, вызывает нарушение функций, в том числе уменьшает синтез АТФ благодаря его способности разобщать окисление и фосфорилирование АДФ в ЦПЭ (лекция 10/1). Развивается энцефалопатия, особенно опасная в случае желтухи новорожденных.

Желтухи. В таблице 15/2.1 представлены классификация, минимальная информация о ненаследственных желтухах и, главное, биохимические компоненты в крови, моче, кале при этих заболеваниях. Анализировать и понимать эту информацию можно гораздо продуктивнее, если сопоставлять ее со схемой 15/2.2.

Механическая, или обтурационная, или подпеченочная желтуха провоцируется желчными камнями (из холестерола, билирубина, кальция), которые блокируют поступление желчи и билирубина в тонкий кишечник. Отсюда симптомы: печеночные боли, в крови — увеличение КБ, темная моча с КБ, кал слабо окрашен и мало стеркобилина, стеаторея, желтушность кожи и слизистых.

Виды ненаследственных желтух

Названия желтух	Причины возникновения	Биохимические показатели продуктов обмена билирубина		
		Кровь	Моча	Кал
Гемолитическая	Разрушение эритроцитов (гемолиз)	Увеличение НКБ и в меньшей степени — КБ	Увеличение уробилина	Увеличение стеркобилина и темный кал
Паренхиматозная (гепатит)	Повреждение клеток печени вирусами, токсическими гепатотропными агентами	Увеличение КБ и позже — НКБ	Появление КБ в моче и ее потемнение, уменьшение уробилина	Уменьшение стеркобилина, обесцвеченный кал, стеаторея
Обтурационная (механическая)	Камни желчных путей, нарушение поступления желчи в кишечник	Увеличение КБ и в меньшей мере — НКБ	Появление КБ в моче и ее потемнение, уменьшение или отсутствие уробилина	Уменьшение или отсутствие стеркобилина, обесцвеченный кал, стеаторея

Примечание. В клинической литературе, как правило, используется следующая терминология: прямой билирубин — это КБ, непрямой билирубин — это НКБ.

Гепатит, или паренхиматозная желтуха. Причины — вирусы гепатита и токсические вещества. В начальной стадии до желтухи поврежденные при воспалении мембраны гепатоцитов увеличивают свою проницаемость для КБ, количество его возрастает в крови, и он появляется в моче, которая темнеет. Это ранний признак рассматриваемого заболевания на безжелтушной стадии. После повреждения воспалительным процессом эндоплазматического ретикулама и УДФ-глюкуронилтрансферазы увеличивается в крови концентрация НКБ, уменьшается количество желчи, КБ в крови и уробилиногена в кишечнике. Поэтому в моче мало уробилина, а в кале стеркобилина и их окраска слабая. Имеется стеаторея, желтушность кожи и слизистых благодаря НКБ.

Гемолитическая, или надпеченочная желтуха вызвана быстрым распадом эритроцитов вследствие:

- неправильного переливания крови, действия ядов змей, некоторых лекарств и ксенобиотиков-окислителей;
- мутаций генов ферментов пируваткиназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы с понижением их активности, что приводит к гемолизу (лекции 15/1 и 16/2).

Первично создается избыток НКБ в крови и в печени и уже вторично — КБ в крови и в желчи. Поэтому значительно увеличивается содержание уробилина в моче и стеркобилина в кале и возрастает окраска мочи и кала.

Особая форма патологии — *гемолитическая желтуха новорожденных детей*. После рождения почти все эритроциты ребенка с фетальным гемоглобином HbF разрушаются и заменяются на эритроциты с HbA. Поэтому у ряда детей если и возникает краткосрочный избыток НКБ, КБ, то без желтухи, потому что желчные пигменты ускоренно удаляются с калом и мочой (см. схему 15/2.2). Нередко этот избыток билирубина может вызвать краткосрочную физиологическую желтуху, которая быстро проходит и не требует лечения. Однако у некоторых новорожденных ген УДФ-глюкуронилтрансферазы репрессирован и низкая активность этого фермента не обеспечивает быстрое уменьшение в крови уровня НКБ, что провоцирует желтуху и создает опасность повреждения мозга токсическим НКБ с развитием энцефалопатии при отсутствии срочного лечения. Еще одна причина

заболевания — несовместимость ребенка и матери по группам крови или по резус-фактору.

Лечение желтухи новорожденных

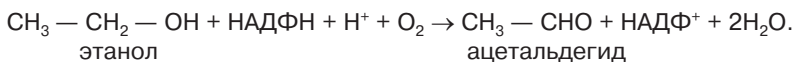
1. Ранее назначали фенobarбитал, который уменьшает репрессию гена указанного фермента, увеличивает его транскрипцию и активность УДФ-глюкуронилтрансферазы. Уровень НКБ и интенсивность желтухи снижаются. Сегодня в РФ этот метод считается устаревшим.

2. Фототерапия. Ребенок в боксе подвергается длительному облучению видимым светом (620 нм), который вызывает окисление и изомеризацию НКБ с увеличением его гидрофильности, растворимости и со снижением токсичности. Модифицированный НКБ удаляется с калом и мочой. Во время облучения контролируется уровень билирубина крови.

Кроме трех рассмотренных ненаследственных желтух существуют наследственные желтухи, вызванные мутациями генов следующих ферментов и белков: пируваткиназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, УДФ-глюкуронилтрансферазы (синдром Криглера—Найара), белков микроворсинок гепатоцитов, захватывающих из крови НКБ (синдром Жильбера), белков-ферментов системы поступления КБ в желчь и далее в кишечник (синдромы Дабина—Джонса и Ротора).

МЕТАБОЛИЗМ ЭТАНОЛА

В лекции 15/1 был рассмотрен главный путь дегидрогеназного окисления этанола с помощью НАД-зависимых дегидрогеназ и было дано объяснение, как этот процесс приводит к торможению синтеза эндогенной глюкозы. При больших дозах этанола включается дополнительная реакция его окисления, катализируемая специфическим для этанола изоферментом II E₁ цитохрома P450:



Главный орган обезвреживания алкоголя — печень. Продукты метаболизма этанола (ацетальдегид, НАДН, кетоновые тела, активные формы кислорода), образующиеся в избытке при

больших дозах этанола, провоцируют следующие вредные и токсические эффекты:

- 1) повреждение печени, а именно накопление жира, печеночный стеатоз, перекисные процессы, разрастание соединительной ткани, цирроз;
- 2) ацидоз, вызванный большим количеством НАДН, кетоновых тел и молочной кислоты;
- 3) торможение глюконеогенеза и гипогликемия;
- 4) специфические нарушения метаболизма в нервной системе, которые я рассматриваю в специальной лекции для студентов на элективе «Клиническая биохимия»; эту лекцию можно прослушать в моем аудиокурсе лекций «Биохимия» (35 лекций), выпущенном в 2011 г. издательством «Равновесие» (<http://salebook.ru/index.php?cd=2819>).

Известно много лекарств с относительной эффективностью для лечения разных стадий и форм алкогольной болезни. Выделим препараты, обезвреживающие токсический ацетальдегид путем его связывания (глицин) при остром отравлении; тетурам (дисульфирам, антабус, эспераль), который ингибирует ацетальдегиддегидрогеназу и, наоборот, увеличивает количество ацетальдегида для выработки у хроника отрицательной реакции на алкоголь; препараты, нормализующие энергетический обмен (янтарная кислота или сукцинат), обмен биогенных аминов (антидепрессанты) и эндогенных опиоидных нейропептидов.

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ЛЕКАРСТВ

Биотрансформация лекарств является процессом биохимической модификации лекарств в организме человека, который приводит к следующим результатам:

- увеличение растворимости лекарств в крови;
- ускорение их доставки в органы-мишени;
- увеличение или уменьшение активности и токсичности;
- ускорение выведения с мочой и калом.

Приведу примеры необходимой биотрансформации для активизации лекарств.

1. Природное вещество **ловастин** (мевакор, мевинолин) из аспергилл после модификации в печени превращается в аналог

ГМГ-КоА, поэтому ингибирует регуляторный фермент синтеза холестерина ГМГ-КоА-редуктазу и уменьшает количество холестерина в организме.

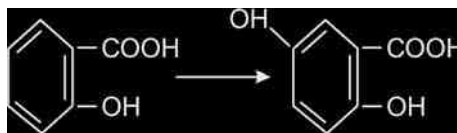
2. Противовоспалительный препарат фенацетин биотрансформируется в более эффективный и менее токсичный **парацетамол или панадол**, но другой его метаболит — парафенетидин окисляет гемоглобин, вызывает гемолиз, гемолитическую анемию и желтуху. Фенацетин сегодня снят с производства в пользу парацетамола.

Известное выражение: все лекарства являются ядами. Да, при неправильном назначении не по показаниям, при очень больших дозах, при очень длительном применении одного и того же препарата. Наряду с полезными эффектами лекарств выделяют возможные побочные эффекты: токсические, иммунодепрессивные, мутагенные, канцерогенные, тератогенные.

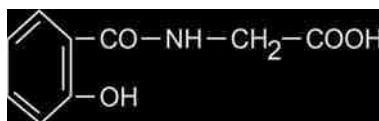
Далее отдельные примеры биотрансформации лекарств.

Общеизвестный **аспирин**, который мы уже с вами рассматривали ранее. Как необратимый ингибитор циклооксигеназы I (уравнение реакции в лекции 4/1) аспирин, во-первых, угнетает синтез (из арахидоновой кислоты) эйкозаноидов — медиаторов воспаления. Во-вторых, кроме противовоспалительного эффекта аспирин уменьшает синтез тромбксана ТХА₂ и поэтому понижает свертываемость крови (лекции 3/2 и 17/2), что позволяет врачам рекомендовать его в малых дозах для профилактики атеросклероза у пожилых людей. Однако при этом образуются побочные продукты, вызывающие некоторые осложнения, что не позволяет назначать аспирин малым детям. Образующийся из аспирина метаболит — салициловая кислота — превращается в более гидрофильные продукты, которые выводятся из организма:

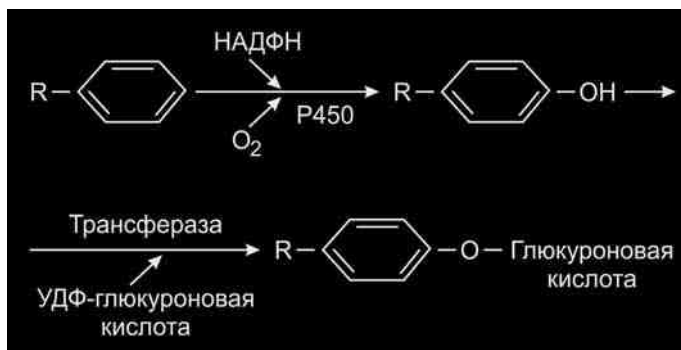
- Цитохром Р450 катализирует гидроксирование салициловой кислоты:



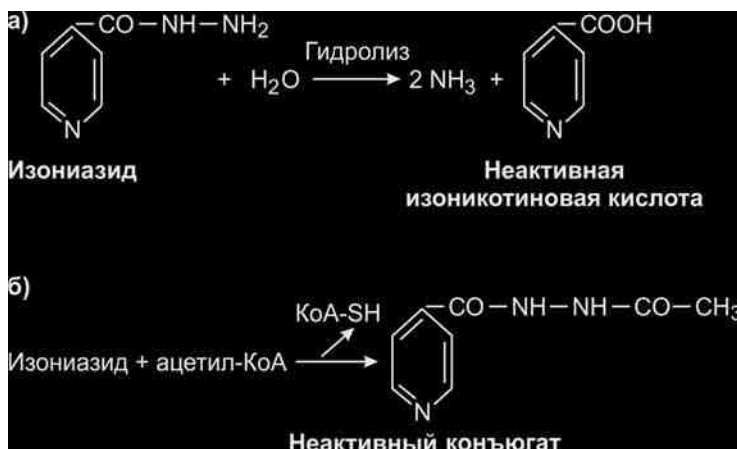
- Конъюгация с глицином или с глюкуроновой кислотой с образованием, например, салицил-глицина:



Фенобарбитал (люминал) как спотворное и противосудо-
рожное лекарство обезвреживается по классической двухфазной
схеме при участии своего цитохрома Р450 (гидроксилирование)
и трансферазы (конъюгация).

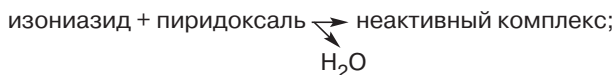


Противотуберкулезный препарат **изониазид**. После действия
на бактерии это лекарство модифицируется с повышением рас-
творимости и потерей активности. Два пути биотрансформа-
ции:

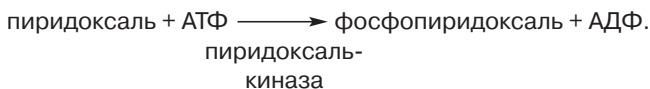


Однако при длительном применении изониазида несмотря на его обезвреживание часть препарата вызывает осложнения (невриты, поражение зрительного нерва, анемии). Причина — изониазид создает дефицит витамина В₆ и фосфопиридоксаль в результате следующих побочных реакций:

а) без фермента



б) изониазид ингибирует пиридоксалькиназу, которая при его отсутствии катализирует образование активного кофермента — фосфопиридоксаль, входящего в состав четырех важных групп ферментов (аминотрансфераз, декарбоксилаз аминокислот, мышечной гликогенфосфорилазы и аминолевулинатсинтазы):



Аминолевулинатсинтаза является регуляторным ферментом синтеза гема (лекция 16/2). Поэтому кроме нарушения других реакций и процессов изониазид нарушает синтез гема, гемоглобина, формирование эритроцитов и приводит к анемии.

Скорость биотрансформации лекарств может быть различной:

- у детей и взрослых; у детей ряд ферментов биотрансформации малоактивен из-за репрессии их генов;
- у здоровых и больных людей, особенно при болезнях печени, так как печень содержит много ферментов биотрансформации лекарств;
- у людей с мутациями соответствующих генов.

ХИМИЧЕСКИЙ КАНЦЕРОГЕНЕЗ

Некоторые ксенобиотики являются канцерогенами, а именно:

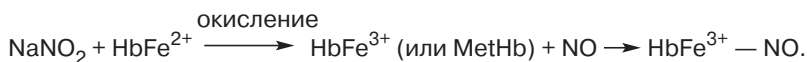
- 1) исходные компоненты и продукты химических заводов и других производств;

- 2) лекарства при их длительном использовании (фенацетин, провоцирующий опухоли мочевых путей);
- 3) компоненты некачественной пищи, окисленный пищевой холестерол, нитраты, красители, афлатоксин В₁.

Как и лекарства, часть ксенобиотиков становятся канцерогенами после биотрансформации в организме человека.

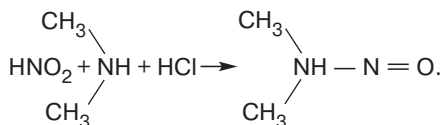
Пищевые продукты (консервы, вода, фрукты, овощи) могут содержать недопустимые количества нитратов, которые в процессе кулинарной обработки или прямо в организме человека восстанавливаются в нитриты и метаболиты-канцерогены.

Нитриты оказывают разнообразное неблагоприятное действие. Во-первых, они окисляют железо гема в цитохромах ЦПЭ, в цитохроме P450 и в гемоглобине:



Метгемоглобин не обладает способностью снабжать органы и ткани кислородом, и поэтому в итоге нитриты вызывают гипоксию. При окислении нитритами оксигемоглобина дополнительно образуется супероксидный анион-радикал $\text{O}_2^{\cdot-}$, вызывающий процессы перекисного окисления. Нитриты легче окисляют α -протомеры Hb, имеющие более широкую гемовую щель, чем β -протомеры.

Во-вторых, в кислой среде желудка нитриты и пищевые вторичные алифатические амины образуют нитрозамины, которые индуцируют мутации и рак желудка:



Нитрозамины вызывают злокачественные опухоли не только желудка, но и других органов (легких, печени, почек) путем метилирования ДНК до N₇-гуанина и путем образования O₆-метилгуанина в ДНК. Далее при репликации возникает нерепарируемое изменение первичной структуры ДНК и появление раковых клеток.

В-третьих, нитриты могут окислять цитозин в вирусных РНК и в эукариотических ДНК. Цитозин превращается в урацил (уравнение реакции в лекции 8/1) с изменением первичной структуры нуклеиновых кислот, приводящим к мутациям или онкогенезу.

Ароматические амины используются для производства анилиновых красителей. Один из них — 2-нафтиламин, попадая в организм человека, превращается в печени в канцероген в результате реакции, катализируемой цитохромом P450. После конъюгации с сульфатом канцероген обезвреживается, но при поступлении в мочевые пути гидролизует, освобождаясь от сульфата, и вновь превращается в канцероген — 2-амино-1-нафтол, который вызывает рак мочевого пузыря у работников химических производств.

Полициклические ароматические углеводороды, образующиеся при неполном сгорании угля, нефти, масел, табака (бензантрацен, бензпирен) в организме человека превращаются в эпоксидные производные при окислении кислородом с участием специальных изоформ цитохрома P450. Эти эпоксиды образуют ковалентные связи с пуринами ДНК, что индуцирует канцерогенез в коже, в мошонке трубочистов, в легких курильщиков. Эндогенный холестерол при определенных условиях воздействия солнечных лучей также формирует эпоксидные производные с канцерогенным потенциалом.

Афлатоксин В₁ продуцируется плесенью *Aspergillus flavus*, контаминирующей иногда пищевые зерновые продукты, морковь, мясо, какао, арахис. Афлатоксин не разрушается при тепловой обработке продуктов и при попадании в организм также превращается в эпоксиды, вызывающие рак печени.

Лекция 16/2

БИОХИМИЯ КРОВИ

Кровь выполняет многочисленные и разнообразные функции. Перечислим некоторые из них.

Функции плазмы крови:

- 1) трофическая (питательная) функция — перенос и доставка в органы и ткани питательных веществ и обмен биохимических компонентов между клетками разных органов и тканей;
- 2) буферная роль — создание кислотно-щелочного равновесия;
- 3) транспорт эндогенных регуляторов — гормонов и других эффекторов;
- 4) транспорт экзогенных веществ — лекарств, витаминов, металлов;
- 5) удаление из организма конечных продуктов метаболизма — мочевины, мочевой кислоты, солей и других веществ;
- 6) защитные функции — это антитела, а также система свертывания крови и антикоагулянтная система с их многочисленными факторами — белками и ферментами плазмы крови.

Функции клеток крови:

- 1) транспорт кислорода и углекислого газа эритроцитами;
- 2) иммунокомпетентные клетки, выполняющие разные функции. Клетки гуморального иммунитета — это В-лимфоциты, трансформирующиеся в плазматические клетки,

которые продуцируют антитела. Клетки тканевого специфического и неспецифического иммунитета — это несколько разновидностей Т-лимфоцитов и фагоциты (моноциты-макрофаги и лейкоциты-микрофаги).

БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ

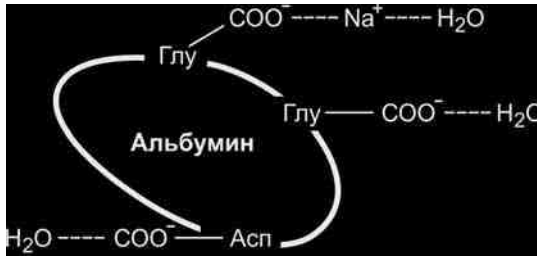
Плазма содержит множество разнообразных ферментов. Часть из них освобождается из клеток при их гибели и не функционирует в крови, оставаясь активными или инактивируясь разными способами. Среди этих ферментов некоторые являются органоспецифическими и используются в энзимодиагностике заболеваний, что подробно рассмотрено в лекции 4/1. Отдельные ферменты катализируют в крови биохимические реакции, например, липопротеинлипаза (лекция 1/2), ферменты системы свертывания крови (тромбин и другие) и противосвертывающей системы (плазмин, транглутамидаза) (лекция 17/2).

Белки плазмы крови — разнообразные глобулины и альбумины (Нобелевская премия 1948 г.) подробно рассмотрены в других лекциях. Напомним, это иммуноглобулины, антитела, каталитические антитела (абзимы) с их разнообразными структурными особенностями и функциями (дополнительная лекция 4/1 и лекция 7/1) и белки системы коагуляции (лекция 17/2).

Повторим некоторые транспортные функции белков плазмы крови:

- α_1 -глобулин переносит по крови йодтиронины, витамины А, В₁₂ и ряд стероидных гормонов (кортизол, кортикостерон, прогестерон); за транспорт стероидных гормонов этот белок называют транскортином или кортикостероидсвязывающим белком;
- α_2 -глобулин переносит витамины Е и К;
- β -глобулин транспортирует тестостерон и эстрогены (как тестостерон-эстрогенсвязывающий белок), а также Fe³⁺;
- альбумин осуществляет перенос по крови многих веществ: жирных кислот, желчных кислот, билирубина, альдостерона, йодтиронинов, витамина D₃, металлов (Ca, Cu, Zn, Mg) и некоторых лекарств (антибиотиков, салицилатов, барбитуратов, сульфаниламидов).

Другие функции альбумина — создание онкотического давления (благодаря самому альбумину) и участие в создании осмотического давления в крови и в межклеточной жидкости. Осмотическое давление непосредственно создают соли и вода, связанные с альбумином.



Концентрация альбумина в крови в четыре раза выше, чем в межклеточной жидкости, и поэтому в крови альбумин удерживает воду и соли, особенно хлорид натрия. При патологии, приводящей к повышению проницаемости капилляров и сосудов (болезни сердечно-сосудистой системы, аллергия и др.), альбумин перемещается в межклеточную жидкость и в ткани вместе с водой и солями. Так возникают отеки нижних конечностей и лица.

Итак, клиническое значение изменения концентрации альбумина крови:

- повышение концентрации происходит обычно при дегидратации организма человека;
- уменьшение концентрации — в случае болезней печени (альбумин синтезируется в печени), кишечника, почек, при голодании, а также при раковых процессах, при травмах, лихорадках и геморрагиях.

ЭРИТРОЦИТЫ

Эритроциты отличаются более простой структурой по сравнению с другими клетками: они имеют только цитоплазматическую мембрану, цитоплазму с гемоглобином и некоторые ферменты. В эритроцитах отсутствуют ядро, митохондрии и другие органеллы.

Схема созревания клеток эритроидного ряда:

- 1) плюрипотентные стволовые клетки;
- 2) эритробласты — полноценные по строению клетки, в которых начинается синтез гема, мРНК глобина и гемоглобина;
- 3) нормобласты, в которых происходит конденсация ДНК и прекращаются митозы, продолжается синтез гема и гемоглобина, создается избыток мРНК глобина, хранящейся в информосомах;
- 4) ретикулоциты без ядер и без митохондрий, но с эндоплазматическим ретикулумом и с рибосомами; синтез гема отсутствует (нужны митохондрии), но синтез глобина и гемоглобина продолжается на основе запасов мРНК глобина и гема;
- 5) эритроциты, в которых отсутствует синтез гемоглобина, но уже синтезированный гемоглобин, а также анаэробный гликолиз и пентозофосфатный путь обеспечивают функционирование эритроцита примерно в течение 120 суток.

Хорошо известный нефрологам и спортсменам-рекордсменам гормон эритропоэтин ускоряет пролиферацию, дифференциацию эритроидных клеток и их выживание (антиапоптотическое действие) и поэтому как лекарство (рекормон) увеличивает количество эритроцитов и гемоглобина у больных и у спортсменов, рискующих дисквалификацией из-за такого допинга.

Цитоплазматическая мембрана эритроцитов содержит.

1. Гликопротеины-гликофорины А, В, С; анкирин и спектрин со структурной функцией. Гликофорин А, содержащий углеводы на поверхности клетки, служит рецептором для вируса гриппа и для малярийного плазмодия. Гликофорины А и В являются антигенными детерминантами групп крови системы MNS.
2. Белок обмена анионов — трансмембранный гликопротеин, который осуществляет пассивный антипорт анионов в тканевых эритроцитах: хлориды — внутрь клетки, бикарбонаты — из клеток в плазму. В легких — обратный транспорт.
3. ГЛЮТ-1, который обеспечивает транспорт глюкозы в эритроциты.

4. Ферменты: Na^+ , K^+ -АТФаза, Ca^{2+} -АТФаза — транспортные АТФазы для первично активного транспорта Na и Ca из эритроцита, K — в эритроцит.
5. Гликолипиды — гликофинголипиды или антигены А, В, 0 детерминируют группы крови системы АВ0 вместе с мембранными гликопротеинами (лекция 9/1).

СИНТЕЗ ГЕМА И ГЕМОГЛОБИНА

(Нобелевская премия 1930 г.)

Гем синтезируется в костном мозге, в печени и в других клетках (схема 16/2.1), но главное — в клетках эритроидного ряда. Одновременно в эритроидных клетках идет синтез глобина и после объединения гема и глобина образуются разные виды гемоглобина, например основной гемоглобин А: два α -глобина, два β -глобина, четыре гема (лекции 2/1, 8/1).

Достаточно сложные детали синтеза гема из глюкозы представлены на схеме 16/2.1. Синтез происходит вначале в митохондриях, далее в цитозоле и заключительная часть — опять в митохондриях.

Регуляторные ферменты

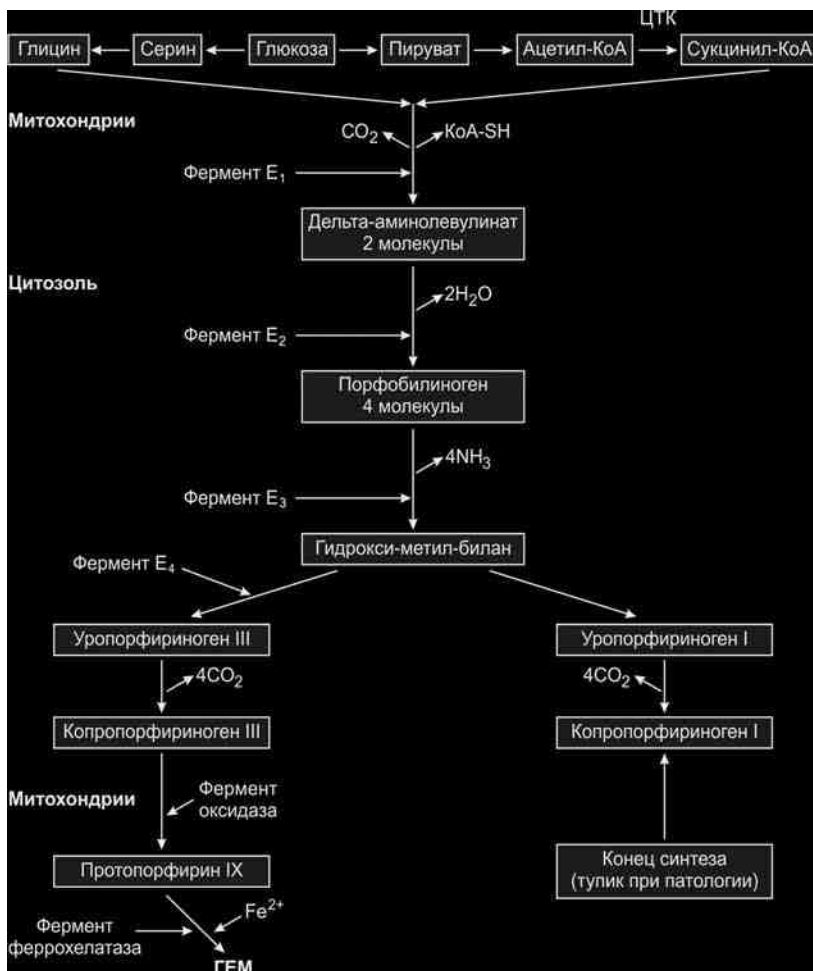
1. Дельта (5)-аминолевулинатсинтаза (E_1) с коферментом пиридоксальфосфатом. Регуляторы: аллостерический ингибитор — гем, активатор на уровне трансляции — железо, индукторы на уровне транскрипции — стероиды (кортизол, эстрогены). Лекарства, биотрансформация которых требует участия и расходования цитохрома P450 с коферментом гемом, также активируют этот фермент из-за уменьшения количества гема (барбитураты, сульфаниламиды, диклофенак).
2. Дельта-аминолевулинатдегидратаза (E_2), которую аллостерически ингибирует избыток гема.

Регуляция синтеза гема и гемоглобина

1. При избытке гема он аллостерически ингибирует собственный синтез через указанные ферменты и одновременно активирует синтез глобинов на уровне трансляции. Создается соответствие между количеством гема и глобинов. При недостатке гема — противоположные процессы.

2. При избытке в организме железа оно ускоряет синтез дельта-аминолевулинатсинтазы (E_1) на уровне трансляции и соответственно увеличивает синтез гема и гемоглобина. При недостатке железа — противоположные процессы.

Схема 16/2.1. Синтез гема



При наследственных нарушениях синтеза гема возникают заболевания — порфирии.

Острая перемежающаяся порфирия проявляется при аутосомно-доминантных мутациях гена фермента порфобилиногендезаминазы (E_3) (схема 16/2.1). Симптомы — избыток дельта-аминолевулиновой кислоты, порфобилиногена, особенно в печени, плазме, ликворе, моче, кале, а также анемия, абдоминальные боли, рвота, запоры, нарушения сердечно-сосудистых и нервно-психических функций. Уменьшение количества гема провоцирует активацию дельта-аминолевулинатсинтазы (E_1) и накопление указанных метаболитов. Поэтому индукторы этого регуляторного фермента (см. выше) провоцируют приступы заболевания. Некоторый лечебный эффект оказывает производное гема — гематин, который ингибирует дельта-аминолевулинатсинтазу (E_1).

Более редкое аутосомно-рецессивное заболевание — *врожденная эритроцитарная порфирия* — возникает при мутациях гена и недостатке фермента уропорфириноген III косинтазы (E_4) (схема 16/2.1). Поэтому, во-первых, увеличено количество метаболитов аналогично предыдущему заболеванию, уменьшено образование гема и эритроцитов (анемия). Во-вторых, блок левой нижней цепи схемы 16/2.1 приводит к усиленному образованию метаболитов правой нижней цепи — бесцветных порфириногенов, которые в коже, слизистых, моче, кале окисляются в темные порфирины. При этом окислении метиленовые группы превращаются в метильные с ненасыщенной связью. При последующем освещении большого энергия синих и ультрафиолетовых лучей используется порфиринами как фотосенсибилизаторами и происходит флуоресценция с излучением красного света, исходящего от слизистых, кожи, мочи и кала. Одновременно происходит превращение молекулы кислорода O_2 , содержащего два неспаренных электрона с параллельными спинами на разных внешних орбиталях каждого атома кислорода, в синглетный кислород 1O_2 . У последнего два неспаренных электрона с противоположными спинами находятся на внешней орбитали уже одного атома кислорода, что повышает окислительную способность синглетного кислорода и превращает его в активную или даже токсическую форму кислорода. Последняя провоцирует перекисное окисление липидов мембран, повышение их проницаемости и разрушение их структуры.

На коже и слизистых возникают эритемы, дерматит, трещины, раны, язвы, рубцы и даже рак («кожные порфирии»), т.е. больные сенсibilизированы к действию света и стараются находиться в темноте. В Средние века такие больные становились вампирами с деформацией кожи, лица, тела, с обнажением зубов и с кроваво-красным оттенком кожи и слизистой рта в полумраке. Недостаток гема и гемоглобина заставлял вампиров питаться чужой человеческой кровью. Современное лечение с относительной эффективностью — переливание крови.

Способность ряда фотосенсибилизаторов типа порфиринов (производные гема, хлорофилла и др.) продуцировать токсические формы кислорода при облучении светом (лазером) используется сегодня для фототерапии рака кожи и слизистых оболочек. Предварительно больному вводят фотосенсибилизаторы, которые накапливаются в опухолевых клетках.

ОБМЕН ЖЕЛЕЗА

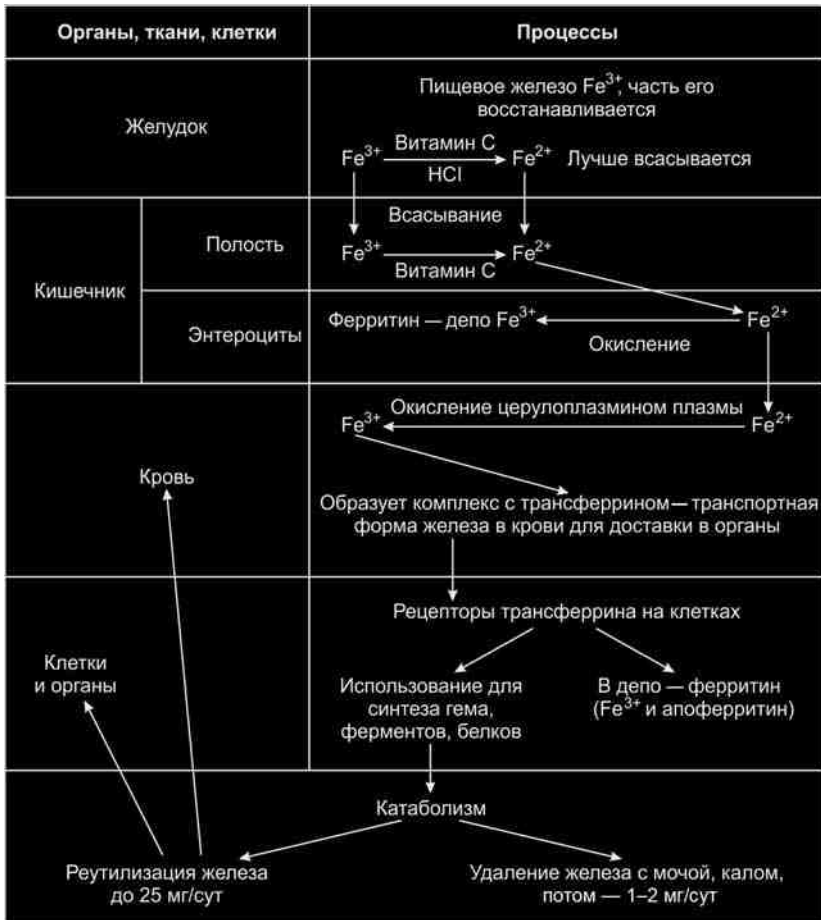
В организме человека содержится 3–4 г железа в составе гемоглобина (68%), миоглобина мышц (4%), ферритина (27%), ферментов и других белков (1%). Только около 10% железа пищевого рациона (15–20 мг/сут) всасывается в желудочно-кишечном тракте. Это компенсируется тем, что после распада железосодержащих белков организма их железо используется повторно.

На схеме 16/2.2 подробно представлен метаболизм железа в организме человека. Некоторые комментарии к этой схеме.

1. Пища содержит предельно окисленное железо в форме Fe^{3+} , которое хуже проникает через мембраны в клетки, чем Fe^{2+} . В полости желудка и кишечника происходит восстановление атомов железа до Fe^{2+} , в том числе при участии витамина С как восстановителя, который увеличивает ассимиляцию пищевого железа. Поэтому при недостатке железа в организме назначают лечебный препарат — аскорбинат железа.
2. Депо железа в клетках и тканях — это ферритин, состоящий из Fe^{3+} (23%) и белка — апоферритина.
3. Транспортная форма железа по крови — трансферрин, содержащий β_1 -глобулин и Fe^{3+} .

4. Ион частично восстановленного железа Fe^{2+} является индуктором активных (токсических) форм кислорода и инициатором перекисного окисления фосфолипидов мембран и их повреждения. Поэтому такой ион находится в организме краткосрочно и только для пересечения мембран клеток. При хранении железа в депо (ферритин) или при его циркуляции в крови (трансферрин) железо находится в более безопасной форме Fe^{3+} .

Схема 16/2.2. Метаболизм железа



Плазма крови содержит белок-фермент церулоплазмин, который постоянно окисляет в крови железо до Fe^{3+} (см. схеме 16/2.2) и, кроме того, переносит медь из печени в разные клетки.

Белок плазмы крови трансферрин, синтезируемый в печени, является гликопротеином с двумя сиаловыми кислотами. При алкогольном повреждении печени нарушается гликозилирование трансферрина, и он содержит одну или ни одной сиаловой кислоты. Выявление такого углеводдефицитного трансферрина является тонким диагностическим тестом на хроническое алкогольное поражение печени.

Регуляция обмена железа

- Избыток пищевого железа увеличивает в эритроцитах синтез апоферритина на уровне трансляции, и так создается кишечное депо железа в форме ферритина, и наоборот.
- Избыток железа внутри других клеток уменьшает на уровне трансляции синтез клеточных рецепторов для трансферрина и так уменьшается поступление железа в клетки, и наоборот.

Патология обмена железа

1. Гемохроматоз является болезнью избытка железа в тканях, что приводит к повреждению печени, селезенки, β -клеток поджелудочной железы, миокарда. При пересыщении железом ферритин превращается в плохо растворимый гемосидерин, который является комплексом из Fe^{3+} -фосфатов, белка и полисахаридов. Причины этого заболевания разные (частые переливания крови и частый гемолиз, мутации).
2. Железодефицитные анемии возникают при недостатке в организме пищевого железа (неполноценная пища, болезни желудочно-кишечного тракта, состояние после соответствующих операций) или при продолжительных потерях крови (хронические геморрагии, донорство), мутациях генов трансферрина и его рецепторов. При этом виде анемии уменьшено не только количество эритроцитов, но и их размер, содержание гемоглобина и пигментация клеток.

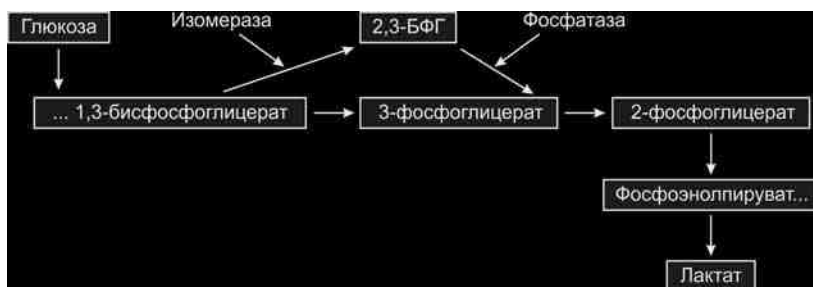
Завершая наш курс биохимии, давайте вспомним все рассмотренные нами виды анемий (уменьшение количества эритроцитов).

1. Железодефицитные анемии (настоящая лекция).
2. Серповидноклеточная анемия (лекция 1/1).
3. Макроцитарные или мегалобластические анемии с крупными эритроцитами при дефиците витамина В₁₂ или фолиевой кислоты (лекция 8/2) и при генетически обусловленной оратацидурии (лекция 11/2).
4. Гипохромная микролитическая анемия при недостатке витамина В₆, что относится также к настоящей лекции: пиридоксальфосфат является коферментом регуляторного фермента синтеза гема (см. схему 16/2.1). При длительном лечении туберкулеза изониазидом также возникает дефицит витамина В₆ и анемия (лекция 15/2). При этой форме болезни эритроциты небольшого размера и плохо окрашиваются.
5. При мутационном дефекте ферментов анаэробного гликолиза эритроидных клеток (например, пируваткиназы) создается в эритроците дефицит АТФ и активности Na⁺,K⁺-АТФазы, что приводит к избытку натрия и воды в эритроците, к осмотическому шоку эритроцитов, к их распаду и к гемолитической анемии.
6. Еще одна разновидность гемолитической анемии возникает при мутации гена и недостатке активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (регуляторного фермента пентозофосфатного пути), приводящих к дефициту НАДФН в эритроцитах. В результате может наступать разрушение эритроцитов, вызванное двумя механизмами (лекция 15/1).
7. Талассемии, при которых снижен или отсутствует синтез глобинов (лекция 2/1).
8. Порфирии (настоящая лекция).

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ЭРИТРОЦИТОВ

Особенности метаболизма эритроцитов обусловлены отсутствием в них ядра, митохондрий и рибосом. В эритроцитах происходят только два метаболических процесса. Это распады глюкозы: анаэробный гликолиз и пентозофосфатный путь. Глюкоза проникает в эритроциты способом облегченной диффузии с участием переносчика ГЛЮТ-1. Анаэробный гликолиз был рассмот-

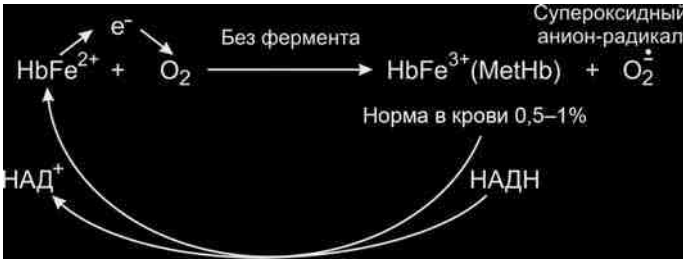
рен в лекции 13/1, и он заканчивается образованием молочной кислоты, которая постоянно покидает эритроциты и выходит в кровь. Повторим, что хотя в эритроцитах достаточное количество кислорода, но они не имеют митохондрий. Поэтому аэробный гликолиз в них невозможен. В отличие от анаэробного гликолиза в других клетках данный процесс в эритроцитах включает дополнительные реакции или цикл 2,3-бисфосфолицерата (2,3-БФГ):



2,3-БФГ необходим именно эритроцитам: он регулирует функционирование гемоглобина, уменьшает его сродство к кислороду и ускоряет поступление кислорода в ткани (лекция 2/1).

Роль анаэробного гликолиза для эритроцитов.

1. Это единственный источник АТФ, который необходим для работы Na^+, K^+ -АТФазы и соответственно для удаления из этих клеток натрия и для поступления внутрь калия. Иначе АТФ защищает эритроцит от осмотического шока и гемолиза.
2. Синтез 2,3-БФГ.
3. Образование НАДН, который в эритроцитах не является энергетическим предшественником АТФ в отличие от аэробного гликолиза в других клетках, а нужен для защиты железа гемоглобина Hb от окисления и для уменьшения количества метгемоглобина MetHb. В эритроцитах различные акцепторы электронов — оксиданты, включая некоторые лекарства, ускоряют образование MetHb, который не способен обеспечивать ткани кислородом.



НАДН при участии фермента НАДН-цитохром b_5 -редуктазы восстанавливает железо MetHb, обеспечивая минимальный уровень MetHb. При действии сильных окислителей (нитриты и др.) образуется много MetHb, что может вызвать цианоз (при 15% MetHb) и даже смерть от гипоксии (при 70%). НАДН защищает гемоглобин от окисления, предотвращая гипоксию тканей, а также уменьшает содержание токсического супероксид анион-радикала. Последний как токсическая форма кислорода инициирует перекисное окисление фосфолипидов мембран эритроцитов и гемолиз.

Пентозофосфатный путь распада глюкозы в эритроцитах использует 10% глюкозы (90% — для анаэробного гликолиза). Его главная роль — синтезировать НАДФН для эритроцитов. В отличие от других клеток с митохондриями для эритроцитов это единственный способ получения НАДФН. Вкратце назначение НАДФН — восстановление дисульфидных связей (-S-S-) и защита сульфгидрильных групп (-SH) глобинов гемоглобина от окисления (лекция 15/1) и также защита от окисления и разрушения (гемолиза) мембраны эритроцитов.

В эритроцитах НАДФН инициирует следующие реакции:

1. $\text{НАДФН} + \text{H}^+ + \text{окисленный глутатион ГССГ} \rightarrow \text{НАДФ}^+ + 2 \text{восстановленный глутатион 2ГSH}$.

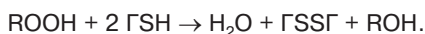
Фермент — глутатионредуктаза с коферментом ФАД.

Далее GSH как кофермент входит в состав глутатионпероксидазы, которая катализирует в эритроцитах следующие реакции 2 и 3.

2. Распад токсической перекиси водорода внутри эритроцитов:



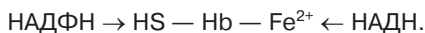
3. Распад гидроперекисей ненасыщенных жирных кислот (промежуточных продуктов перекисного окисления) фосфолипидов мембран эритроцитов:



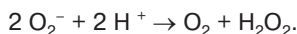
Разрушение перекиси водорода и образование стабильных оксиформ жирных кислот останавливают деградацию мембран эритроцитов и их гемолиз. При недостатке НАДФН (см. выше «Анемии» п. 6 и лекцию 15/1) происходит разрушение эритроцитов.

Следовательно, метаболизм эритроцитов служит двум целям:

- 1) защита цитоплазматической мембраны эритроцитов против окисления и деструкции, т.е. против гемолиза;
- 2) восстановление гемоглобина с помощью НАДН и НАДФН и обеспечение работоспособности гемоглобина:



Кроме того, эритроциты имеют другие ферменты антиоксидантной защиты, которые разрушают перекись водорода (каталаза) и супероксидный анион-радикал (супероксиддисмутаза). Церулоплазмин плазмы крови также катализирует распад супероксидного анион-радикала:



Лекция 17/2

СВЕРТЫВАНИЕ КРОВИ

Систему гемостаза вы будете изучать также и на других кафедрах. Наша задача — рассмотреть биохимические аспекты свертывания крови и факторы, в том числе лекарства, изменяющие этот процесс.

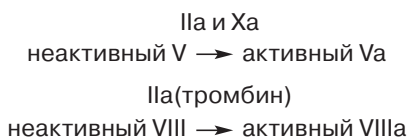
Система гемостаза человека включает:

- 1) набор белковых (ферментативных) факторов; они синтезируются в печени, за исключением фактора VIII, образующегося в эндотелии;
- 2) каскад реакций с прямыми положительными и с обратными положительными регуляторными сигналами.

Биохимические элементы процесса свертывания крови

I. Тканевой фактор III — мембранный липопротеин (с фосфатидилсерином) на поверхности эндотелия и тромбоцитов. В случае повреждения сосудов (раны, операции) он становится инициатором внешнего пути свертывания крови, являясь рецептором для фактора VII.

II. Белки-активаторы факторы V и VIII, которые приобретают свою способность участвовать в последующих реакциях после активации частичным протеолизом по следующим схемам:

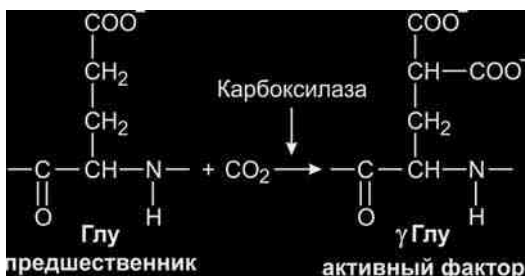


III. Ферменты — сериновые протеазы, которые становятся активными также после частичного протеолиза. Это факторы II, VII, IX, X, XI, XII. Схема активации тромбина:



Все неактивные предшественники рассмотренных белков и ферментов синтезируются в печени (кроме фактора VIII), но активируются в плазме крови.

IV. Витамин К (Нобелевская премия 1943 г.) трансформируется в кофермент KH_2 . Эту реакцию катализирует в печени НАДФН-зависимая редуктаза. Далее KH_2 как кофермент входит в состав фермента глутамилкарбоксилазы. Субстратом для последней является Глу в составе неактивных предшественников факторов II, VII, IX, X и в протеине С. Происходит реакция, в результате которой в радикале Глу, находящейся в составе полипептидной цепи, уже имеется не одна, а две карбоксильные группы. Образовалась γ -карбоксиглутаминовая кислота.



После этой реакции указанные факторы приобретают, кроме основного, еще один отрицательный заряд в диссоциированной радикальной дополнительной карбоксильной группе Глу, что позволяет им связывать больше ионов кальция.

V. Последний компонент системы гемостаза — ионы кальция, который через ионные связи образует три основных комплекса факторов (по типу ферменты—Ca—белки (не ферменты)), и именно в этих комплексах происходит активация факторов свертывания крови.

Эти комплексы:

- 1) *инициирующий комплекс* для внешнего пути свертывания: фактор VIIa–Ca²⁺–тканевой фактор III;
- 2) *тенназный комплекс* преимущественно для внутреннего пути свертывания: фактор IXa–Ca²⁺–фактор VIIIa;
- 3) *протромбиназный комплекс* для обоих путей: фактор Xa–Ca²⁺–фактор Va.

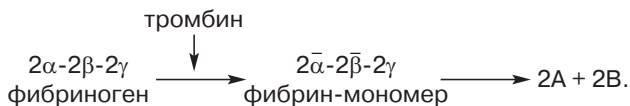
Как вы уже слышали, существуют два пути коагуляции крови (схема 17/2.1).

- Внешний, или прокоагулянтный путь включается при повреждении тканей и мембран их сосудов, при возникновении ран с освобождением тканевого фактора III. На схеме 17/2.1 показаны дальнейшие реакции этого пути, включая образование иницирующего комплекса.
- Внутренний путь, или контактная фаза свертывания, провоцируется различными эндогенными факторами без внешнего повреждения интимы сосудов, например атеросклеротическими бляшками, активированными тромбоцитами. Система прекалликреина-кининогенов во взаимодействии с фактором XII – XIIa включает этот путь. На внутренней стороне сосудов после поверхностного повреждения интимы обнажается коллаген, с которым связывается и активируется фактор XII. Дальнейшие события и формирование тенназного комплекса – на схеме 17/2.1.

Начало двух рассмотренных путей является различным, но после активации фактора X иницирующим или тенназным комплексами дальнейшие этапы являются одинаковыми.

Среди реакций этого общего участка процесса свертывания наиболее существенно образование тромба или сгустка вместе с тромбоцитами (белый тромб) или с эритроцитами (красный тромб).

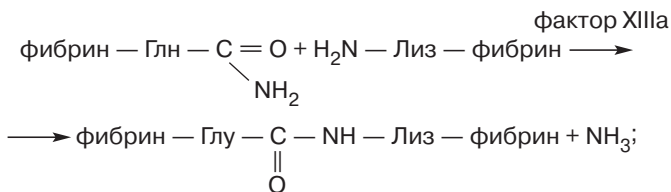
Более детально. Из печени в кровь поступает фибриноген (0,18–0,35 г/дл крови) – гетероолигомерный белок с молекулярной массой 340 кДа, содержащий три пары разных полипептидных цепей с дисульфидными связями. Активированный тромбин IIa как сериновая протеаза катализирует частичный протеолиз цепей α и β путем разрыва в них связей -Арг-Глу- с освобождением из них пептидов А и В:



Фибрин-мономер полимеризуется в нерастворимый, но непрочный фибрин-полимер, образованный нековалентными связями между мономерами. И все-таки это сгусток или гель, который закрывает повреждение в сосуде.

Далее следуют два этапа стабилизации тромба:

- 1) активированный тромбином (IIa) фактор XIIIa как фермент транслугтамидаза катализирует образование междикальных прочных изопептидных связей между Глн и Лиз разных фибрин-мономеров и между фибрином и фибронектином межклеточного матрикса стенки сосуда:



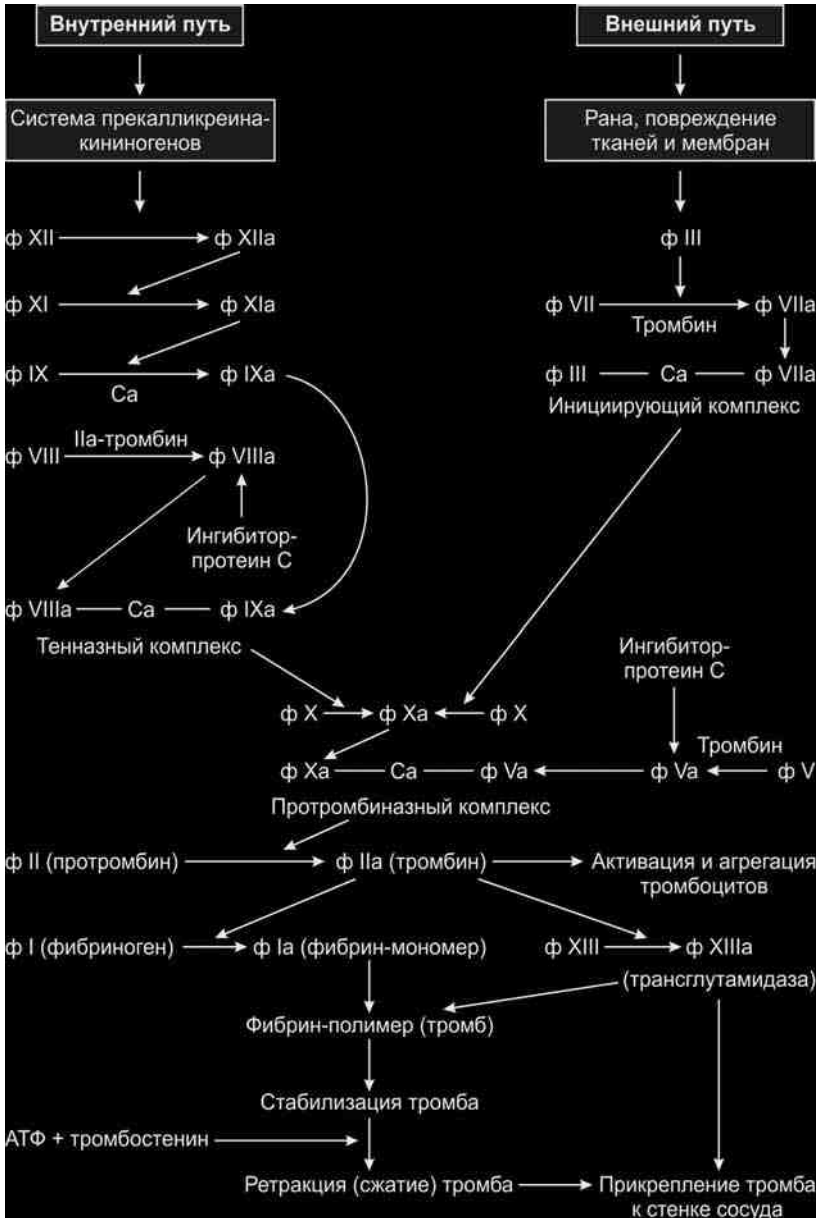
- 2) ретракция или сжатие сгустка, осуществляемое микрофиламентами тромбоцитов за счет их АТФазы (тромбостенина) и энергии АТФ.

Теперь стабилизированный тромб или прекращает кровотечение из поврежденного сосуда (внешний путь), или закупоривает сосуд (внутренний путь), провоцируя, например, инфаркт миокарда или инсульт.

Рассматривая в целом систему свертывания крови с точки зрения ее регуляции, необходимо, во-первых, выделить, что она содержит каскад ферментативных реакций с их ускорением при последовательном переходе от одной реакции к последующей. Иначе это результат прямых положительных связей. Во-вторых, система содержит ряд обратных положительных связей, что еще больше ускоряет процесс свертывания. Особенно четко это прослеживается в отношении тромбина IIa. Непосредственно тромбин катализирует основную реакцию:



Схема 17/2.1. Пути свертывания крови



Кроме того, как сериновая протеаза тромбин катализирует частичный протеолиз и приводит к образованию активных факторов VIIa, VIIIa, Va по принципу обратной положительной связи, а также формирует активную трансглутамидазу (фактор XIIIa) и ускоряет агрегацию тромбоцитов. Два последних примера — это прямая положительная связь.

Известно много наследственных и ненаследственных заболеваний, связанных с нарушениями системы коагуляции.

- Гемофилия А проявляется у мужчин частыми и спорадическими геморрагиями, вызванными мутационным недостатком фактора VIII, ген которого локализован в X-хромосоме. Рецессивная мутация этого гена приводит к одному из известных заболеваний, сцепленных с полом. Гемофилия А может проявляться также при аутоиммунном состоянии человека: каталитические аутоантитела (абзимы) к фактору VIII катализируют разрушение этого фактора.
- Более редкая гемофилия В также относится к заболеваниям, сцепленным с полом, и проявляется только у мужчин при рецессивных мутациях гена фактора IX в X-хромосоме. Обе эти гемофилии связаны с нарушениями внутреннего пути свертывания крови (см. схему 17/2.1) и с уменьшением скорости образования тромбов.
- Наоборот, при синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдром) частое и распространенное по кровеносной системе свертывание крови приводит к тромбозам в разных органах и участках тела с проявлением разнообразной полиорганной недостаточности. Причина патологии — ускоренное образование тромбина и тромбов по разным механизмам.
- Тромбозы возникают также при мутациях генов антикоагулянтной системы, в частности белка (протеина) С (см. ниже).
- В случае мутаций гена фактора XIII (трансглутамидазы) не происходит стабилизация тромба и его прикрепление к стенке сосуда, что вызывает повторные кровотечения.

Существуют некоторые лекарства, изменяющие скорость коагуляции. Структурные аналоги витамина К (дикумарин

и варфарин) ингибируют карбоксилазу Глу и уменьшают возможность образования указанных выше комплексов факторов свертывания с кальцием. Поэтому они являются противосвертывающими средствами. Наоборот, препараты витамина К увеличивают карбоксилирование Глу и усиливают гемостаз. Однако для достижения этого эффекта необходима нормальная секреция желчи, которая обеспечивает эмульгирование и всасывание в кишечнике жирорастворимого витамина К.

Даже у здорового человека постоянно функционирует внутренний путь свертывания крови и образуются микротромбы, потому что множество эндогенных факторов вызывает микроповреждения эндотелия и интимы сосудов. Для противодействия этому тромбообразованию в организме существует антикоагулянтная система. В нее входят следующие элементы.

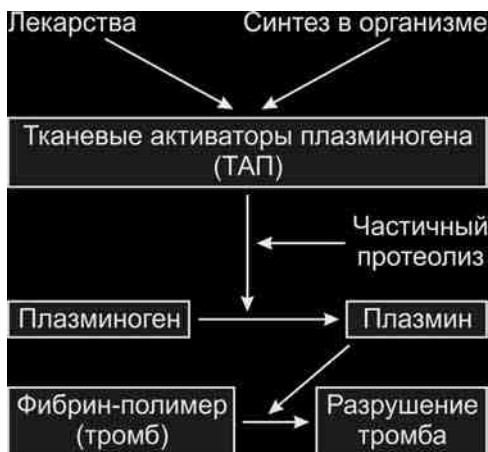
1. Система протеина С, которая прямо характеризует противосвертывающий потенциал организма. Тромбин (II) связывается в мембранах эндотелия со своим активатором тромбомодулином и кальцием, и в этом комплексе активированный тромбин (II) приобретает способность вызывать частичный протеолиз неактивного пока гликопротеина С (но уже с γ -карбоксиглутаматом) путем удаления 12 аминокислот. Активированный протеин C_a образует мембраносвязанный комплекс C_a -белок S-кальций, в составе которого протеин C_a как протеаза катализирует распад двух пептидных связей в активных факторах — белках Va и VIIIa. Это приводит соответственно к торможению внешнего и внутреннего путей свертывания крови (схема 17/2.1). При мутационных нарушениях в системе протеина С развиваются тромбозы: при мутационном дефиците активных белков С и S; при появлении фактора V, резистентного к протеолизу протеином C_a .

2. Белки плазмы крови: антитромбин III, α_2 -макроглобулин, α_1 -антитрипсин — ингибируют тромбин и другие ферменты системы свертывания по механизму белок-белкового взаимодействия (лекция 4/1). Антитромбин III инактивирует тромбин (IIa), факторы IXa, Xa, XIIa.

3. Эндогенный гепарин, гликозаминогликан (лекция 16/1), образующийся в тучных клетках, а также лекарственные формы гепарина, изменяют конформацию антитромбина III и усили-

вае его способность ингибировать тромбин. Так эндогенный и лекарственный гепарины уменьшают свертывание крови, и поэтому разные формы таких препаратов широко применяются в медицинской практике даже для профилактики атеросклероза и инфарктов миокарда.

4. Комплекс белков фибринолиза и тромболизиса: плазминоген печени, почек, костного мозга и тканевые активаторы плазминогена (сериновые протеазы), которые синтезируются в эндотелии разных органов (кроме печени) и эпителии канальцев почек. В последнем случае активатор плазминогена называют урокиназой. Указанные протеазы-активаторы трансформируют плазминоген в плазмин способом частичного протеолиза. Далее плазмин как активная протеаза катализирует распад пептидных связей в сгустках фибрина и разрушает тромб. Существуют специальные лекарства, которые являются тканевыми активаторами плазминогена, они разрушают тромбы или даже практически предупреждают их формирование. Сегодня это генно-инженерные активаторы плазминогена, а в прошлом — урокиназа, выделяемая из мочи, и стрептокиназа из β -гемолитического стрептококка. На современном уровне рекомендуется раннее введение активаторов плазминогена при острых состояниях, связанных с тромбозами сосудов жизненно важных органов, например при инфаркте миокарда на этапе транспортировки больного в машине скорой помощи.



С плазминогеном связано также объяснение механизма атерогенного действия особых липопротеинов ЛП(а). Белок этих липопротеинов апоЛП(а) имеет домены для связывания с фибрином (а также с фибронектином, коллагеном, эластином). При наследственном избытке ЛП(а) в крови (более 20–30 мг/дл) белок апоЛП(а) блокирует фибрин и мешает плазмину катализировать распад тромба, т.е. провоцирует атерогенный эффект. Так возникает одна из форм наследственной патологии, связанной с атеросклерозом.

Итак, перечислим рассмотренные выше лекарства, изменяющие процесс свертывания крови:

- дикумарин и варфарин;
- препараты витамина К;
- активаторы плазминогена;
- гепарины;
- гирудин — белок, выделяемый лечебными пиявками в кровь человека при процедуре гирудотерапии; гирудин ингибирует тромбин и поэтому лечение пиявками уменьшает свертывание крови; кроме того, пиявки выделяют в кровь пациента фермент — дестабилазу, которая разрушает в стабилизированном фибрин-полимере изопептидные связи между Глу и Лиз, сформированные транглутамидазой (см. выше), что приводит к распаду тромба; таков двойной эффект процедуры гирудотерапии, кроме, разумеется, отсасывания пиявками части крови из локальных участков тела человека;
- и наконец, общеизвестный аспирин в его многочисленных вариациях; механизм противовоспалительного действия аспирина и его способность уменьшать свертывание крови были рассмотрены нами в лекциях 4/1 и 3/2; кратко повторим: аспирин ингибирует циклооксигеназу I как необратимый ингибитор и поэтому уменьшает синтез в тромбоцитах (из арахидоновой кислоты) тромбоксанов, в частности тромбоксана ТХА₂, который увеличивает агрегацию тромбоцитов, отсюда — свертывание крови и сужение сосудов; в связи с этим аспирин, обладающий антиатерогенным действием, рекомендуется в малых дозах для профилактики атеросклероза и инфаркта миокарда пожилых людей.

ПРЕДМЕТНО–ТЕМАТИЧЕСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

№ лекции	Тема	Медицинские и клинические аспекты биохимии	Механизм действия лекарств	Биохимия детского возраста
<i>Часть 1</i>				
1/1	Белки 1	20–24	24	–
2/1	Белки 2	30, 33, 35–38	35, 37, 38	–
3/1	Ферменты 1	–	–	–
4/1	Ферменты 2	63–65	59–62	–
4/1 доп	Разные белки	68	67	72
5/1	Биосинтезы 1	87, 90–92	–	–
6/1	Биосинтезы 2	–	–	–
7/1	Биосинтезы 3	–	107–111	117
8/1	Биосинтезы 4	119, 121, 131–134	–	119–121
9/1	Мембраны	149	141, 142	–
10/1	Энергет. обмен 1	159	159, 160–161	159
11/1	Энергет. обмен 2	171, 172	–	–
12/1	Углеводы 1	179, 180, 187	–	–
13/1	Углеводы 2	197–199	–	197–199
14/1	Углеводы 3	–	–	–
15/1	Углеводы 4	214–221	–	–

Предметно-тематический указатель

№ лекции	Тема	Медицинские и клинические аспекты биохимии	Механизм действия лекарств	Биохимия детского возраста
16/1	Межклеточный матрикс	226, 229, 234, 235	232	–
Часть 2				
1/2	Липиды 1	249–251	243	243
2/2	Липиды 2	264–266	264–266	253–254
3/2	Липиды 3	268, 269, 275	275, 279–281	275
4/2	Липиды 4	288, 290, 295	285, 287, 288, 290, 295	–
5/2	Липиды 5	296–306	302, 305	303
6/2	Аминокислоты 1	312, 313, 315, 316	312, 313	307, 309, 310, 312, 314
7/2	Аминокислоты 2	322, 326–328	327, 330	–
8/2	Аминокислоты 3	336–339	332, 339–341	–
9/2	Аминокислоты 4	343–352	348, 350, 352	343–345, 349
10/2	Нуклеотиды 1	358–362	361–364	360, 361
11/2	Нуклеотиды 2	368	370–372	–
12/2	Гормоны 1	375, 377, 379–382, 384, 386	379, 380, 385, 386	375, 381, 382, 385
13/2	Гормоны 2	389–396	396	391
14/2	Гормоны 3	399, 401–405, 407–410	405, 407–410	409, 410
15/2	Ксенобиотики и лекарства	413, 414, 416–428	413, 414, 416, 422–426	421, 422, 424, 426
16/2	Биохимия крови	431, 434–436, 438, 439	430, 433, 436	–
17/2	Свертывание крови	448–451	448–451	–

Учебное издание

Зезеров Евгений Гаврилович

БИОХИМИЯ
(общая, медицинская и фармакологическая)

Курс лекций

Главный редактор *А.С. Петров*

Санитарно-эпидемиологическое заключение
№ 77.99.60.953.Д.000945.01.10 от 21.01.2010 г.

Подписано в печать 31.03.14. Формат 60 × 90/16.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура «Petersburg».
Объем 28,5 печ. л. Тираж 2000 экз. Заказ №

ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство»
119048, Москва, ул. Усачева, д. 62, стр. 1, оф. 6
Тел./факс: (499)245-45-55

e-mail: miapubl@mail.ru; <http://www.medagency.ru>
Интернет-магазин: www.medkniga.ru
Книга почтой на Украине: а/я 4539, г. Винница, 21037
E-mail: maxbooks@svitonline.com
Телефоны: +380688347389, 8(0432)660510

Отпечатано в ОАО «Тверской полиграфический комбинат»
170024, г. Тверь, проспект Ленина, д. 5

ISBN 978-5-9986-0179-8



9 785998 601798