

Биологическая ХИМИЯ

*Утверждено
Министерством образования
Республики Беларусь
в качестве учебника
для студентов учреждений
высшего образования
по медицинским специальностям*

Под редакцией А.Д. Тагановича

2-е издание, исправленное



Минск
«Вышэйшая школа»

УДК 577.1(075.8)

ББК 28.072я73

Б63

Авторы: *А.Д. Таганович, Э.И. Олецкий, Н.Ю. Коневалова, В.В. Левич*

Рецензенты: кафедра биохимии Гомельского государственного медицинского университета (*А.И. Грицук*); заведующий кафедрой биохимии БГУ кандидат биологических наук, доцент *И.В. Семак*

Все права на данное издание защищены. Воспроизведение всей книги или любой ее части не может быть осуществлено без разрешения издательства

Биологическая химия : учебник / А. Д. Таганович [и др.] ;
Б63 под общ. ред. А. Д. Тагановича. 2-е изд., исправленное. –
Минск : Вышэйшая школа, 2016. – 671 с. : ил.
ISBN 978-985-06-2703-2.

Современным языком изложены основные темы биологической химии: химия аминокислот, пептидов, белков и ферментов, углеводов, липидов, гормонов, витаминов. Уделено внимание тканевому дыханию, метаболизму, обмену веществ. Подробно рассмотрена биохимия питания, крови, печени. Материал хорошо иллюстрирован, изложен последовательно и доступно.

Предыдущее издание вышло в 2013 г.

Для студентов учреждений высшего образования по медицинским специальностям. Может быть полезен магистрантам и преподавателям, читающим одноименный курс.

УДК 577.1(075.8)

ББК 28.072я73

ISBN 978-985-06-2703-2

© Оформление. УП «Издательство
“Вышэйшая школа”», 2016

В основе процессов жизнедеятельности клеток лежат молекулярные процессы. Изучением таких процессов занимается биологическая химия. Достигнуты огромные успехи в изучении химического состава живых организмов и природы химических процессов, происходящих как в целостном организме, так и в изолированных органах и тканях на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях. Созданы предпосылки для понимания молекулярных основ многих патологических процессов.

Биохимия относится к числу дисциплин, которые быстро развиваются. Последние два-три десятилетия ознаменовались рядом выдающихся открытий в биологической химии и в некоторых ее разделах: энзимологии, биохимической генетике, молекулярной биологии, биоэнергетике и других, выдвинувших ее в разряд фундаментальных научных дисциплин и сделавших биохимию мощным орудием решения многих важных проблем биологии и медицины. Многие новые открытия довольно быстро находят применение в практической деятельности, в частности в лабораторной диагностике ряда заболеваний.

Несомненно, подготовка высококвалифицированных врачей невозможна без овладения закономерностями и основополагающими принципами биологической химии, а быстрое развитие науки требует постоянного обновления и учебных пособий, используемых в изучении биологической химии. Именно этой цели служит издание данного учебника по биохимии. Он предназначен в первую очередь для студентов медицинских институтов и по структуре и содержанию соответствует программе по курсу биохимии, утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь, а участие в его создании ведущих специалистов медицинских вузов будет способствовать еще более глубокой унификации в преподавании курса биологической химии в медицинских вузах нашей страны.

В структуру учебника входят основные разделы курса биохимии.

Статическая биохимия знакомит со строением и свойствами важнейших молекул клеток – аминокислот, белков, нуклеотидов, нуклеиновых кислот, липидов, углеводов и витаминов.

Динамическая биохимия исследует механизмы метаболизма основных молекул клеток.

Биохимия регуляции и интеграции метаболизма отражает взаимоотношения между разными молекулами и их метаболизмом в едином внутриклеточном метаболизме.

Кроме того, в учебник включены главы, отражающие особенности метаболизма клеток специализированных тканей. Хорошим дополнением служит глава, посвященная данным лабораторных исследований и их интерпретации.

Каждая глава начинается с краткого ее содержания, которое одновременно содержит толкование терминов, используемых в данной главе.

Клинико-лабораторное значение материала главы показывает студенту роль приводимой информации в его общемедицинской подготовке. Во многих главах также приводятся примеры заболеваний, в основе которых лежат нарушения метаболических процессов.

Схемы процессов, рисунки и таблицы, приводимые в учебнике, должны послужить более глубокому пониманию изучаемого материала.

Авторы будут весьма признательны за критические замечания, полезные советы и пожелания по содержанию данного учебника.

Краткое содержание главы

Биохимическая индивидуальность организмов обеспечивается особенностями качественного и количественного набора белков, характерных для их клеток и тканей.

Основные проявления жизни – результат **функций белковых молекул**. Химические реакции катализируются ферментами, структуры клеток формируются при участии белков. Перемещение клеток обеспечивается сократительными белками, транспорт многих веществ – результат работы специальных транспортных белков, защита от проникновения или появления «чужих» молекул и регуляция процессов жизнедеятельности – все это обеспечивается белками.

Классификация аминокислот. Белки построены из аминокислот, соединенных пептидными связями. Основные свойства белков обусловлены свойствами аминокислот. Самая подробная классификация аминокислот использует особенности химического строения радикала аминокислоты. Однако аминокислоты можно классифицировать по их отношению к синтезу белков (протеиногенные и непротеиногенные), полярности их радикалов (полярные и неполярные), кислотно-основным характеристикам (кислые, основные или нейтральные) и т.д.

Физико-химические свойства аминокислот определяются их строением. Общие свойства обусловлены α -углеродным атомом; амино- и карбоксильной группами – амфотерность, оптическая активность, ряд химических реакций, нашедших применение в лабораторной практике и использующихся во внутриклеточном обмене. Специфические свойства связаны с радикалом аминокислоты.

Биологические функции пептидов. Пептиды – небольшие молекулы с молекулярной массой до 5–6 кД. Они широко используются в организме в качестве регуляторов активности ферментов, медиаторов в проведении нервных импульсов, гормонов.

Белки – большие молекулы, содержащие свыше 80 аминокислот. Для более глубокого понимания структуры таких длинных полимеров предложено выделить четыре **уровня структурной организации**: первичная, вторичная, третичная и четвертичная структура белковой молекулы.

Изопротеины. Различные условия в разных клетках привели в процессе эволюции к возникновению белков, которые выполняют одинаковые функции несмотря на различия их строения. Такие белки называли изопротеинами.

Белок-лигандные взаимодействия. Любое вещество, специфически взаимодействующее с белком, получило название лиганд. Взаимодействие с лигандами – основной путь функциональной активности белков.

Физико-химические свойства белков определяются свойствами аминокислот, из которых они построены. Полярные группы аминокислот придают заряд белковой молекуле и способность формировать гидратные оболочки, что позволяет белкам растворяться в воде. Неполярные группы способствуют образованию пространственной структуры белков. Как амфотерные соединения они участвуют в регуляции рН.

Методы выделения и очистки белков: высаливание, электрофорез, хроматография, количественный анализ.

Классификация белков основывается на их функциях (ферменты, сократительные, транспортные, регуляторные и т.д.). Можно классифицировать также по особенностям структуры, формы, степени сложности строения молекулы.

Простые и сложные белки. Простой белок состоит только из аминокислот, сложный – содержит дополнительные небелковые группы.

Миоглобин и гемоглобин – сравнительный анализ структуры и функции этих белков показывает преимущества белков с четвертичной структурной организацией: новые функциональные возможности, экономия генетического материала, снижение вероятности возникновения ошибок во время синтеза.

Аномальные гемоглобины – это гемоглобины, в структуре которых имеются аминокислотные замены, ведущие к нарушению их функции.

Гемоглобинопатии – группа заболеваний, вызванных нарушениями синтеза белкового компонента гемоглобина при нормальной структуре гема.

Клинико-лабораторное значение. Белки составляют основную часть органических веществ организма животных и человека, являются типичным материалом, связанным с понятием «живое». Построенные из аминокислот, белки формируют сложные пространственные структуры, способные к значительным конформационным изменениям, что позволяет активно регулировать их функции. Десять аминокислот, входящих в состав белков, не образуются в организме, что предъявляет особые требования к белковому питанию. Пептиды в организме животных и человека выполняют важные регуляторные функции.

Основные проявления жизни – результат функции белков. Белки – наиболее сложные соединения живых систем. Не только каждый вид живого, но и каждый орган, каждый тип клеток обладает своим специфическим набором белков. Наконец, каждый индивидуум отличается от подобных своего вида собственным набором белков (*биохимическая индивидуальность*). Эта индивидуальность поддерживается всеми живущими организмами. При внедрении чужих белков образуются защитные вещества (*антитела*), которые способны узнавать и связывать чужие белки. Однако имеется и общность между определенными белками одного и того же вида, которая позволяет проводить обмен белками (например, переливание крови). Многочисленность белков обусловлена особенностями их строения. Белки чувствительны к внешним воздействиям (температура, pH), что предъявляет особые требования к исследователю, занимающемуся химией белков.

Белки – это высокомолекулярные соединения, построенные из *аминокислот*. В создании белков участвует 20 аминокислот. Они связываются между собой в длинные цепи, которые образуют основу *белковой молекулы* большой молекулярной массы. Комбинируя разную последовательность этих аминокислот, можно создавать бесчисленное множество белковых молекул.

Белки выполняют такие важные функции в организме, как:

- каталитическая – свыше 2000 ферментов, биологических катализаторов, выделено к настоящему времени. Практически все они являются белками. Химические реакции, лежащие в основе процессов жизнедеятельности, катализируются ферментами;

- сократительная – важным признаком живого является подвижность. В основе ее лежит сократительная функция белков. Это относится не только к мышечным сокращениям, но и к изменениям формы клеток и субклеточных частиц;

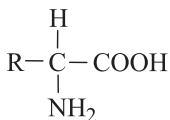
- структурная – существуют специальные белки, выполняющие структурную функцию, например главный белок соединительной ткани – коллаген. Структурная функция присуща и белкам, выполняющим другие функции;

- транспортная – белки обладают исключительными возможностями по специфическому связыванию различных соединений, что позволяет им выполнять транспорт веществ по крови и в пределах клетки;

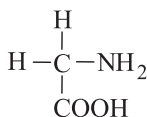
- защитная – как уже указывалось выше, каждый организм биохимически индивидуален, поэтому в процессе эволюции выработаны механизмы узнавания и связывания «чужих» молекул. Это успешно умеют делать белки (антитела);

- регуляторная – среди молекул-регуляторов важное место занимают регуляторы белковой природы, например гормоны гипофиза. Белки участвуют также в регуляции важных констант крови: осмотическое давление, рН и т.д.

Аминокислоты – главные составные части белков. Физико-химические и биологические свойства белков определяются их *аминокислотным составом*. Поэтому прежде чем познакомиться с этими свойствами белков, необходимо подробнее остановиться на основных свойствах аминокислот. **Аминокислоты** – это аминопроизводные класса карбоновых кислот, они входят не только в состав белков, многие из них выполняют специальные функции. Поэтому аминокислоты живых организмов можно разделить на *протеиногенные* (кодируются генетическим кодом) и *непротеиногенные* (не кодируются генетическим кодом). Протеиногенных аминокислот 20. Из них 19 являются *α-аминокислотами*, это означает, что аминогруппа у них присоединена к α-углеродному атому той карбоновой кислоты, производным которой они являются. Общая формула этих аминокислот выглядит следующим образом:



Только одна аминокислота – *пролин* не соответствует этой общей формуле. Ее относят к *иминокислотам*. α-Углеродный атом аминокислот является асимметричным (исключение составляет аминопроизводное уксусной кислоты – *глицин*):



Глицин

У каждой аминокислоты имеются, как минимум, два оптически активных антипода (рис. 1.1). Природа выбрала для создания белков L-форму, поэтому природные белки построены из L-α-аминокислот.

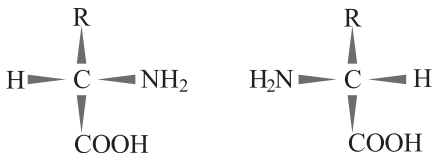


Рис. 1.1. Оптические изомеры аминокислот

Для **классификации аминокислот** пользуются физико-химическими свойствами их радикалов. Существуют разные подходы к такой классификации. Большая часть аминокислот – это алифатические соединения; две аминокислоты принадлежат к ароматическому ряду и две – к гетероциклическому.

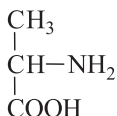
Аминокислоты можно разделить по их свойствам на *основные*, *нейтральные* и *кислые*. Они отличаются числом amino- и карбоксильных групп в молекуле. Нейтральные содержат по одной amino- и одной карбоксильной группе. Кислые имеют две карбоксильные и одну aminoгруппу, основные – две aminoгруппы и одну карбоксильную. Пользуясь таким свойством аминокислот, как полярность, можно разделить их на группу *неполярных* (гидрофобных) аминокислот (аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, пролин, фенилаланин, триптофан), группу *полярных* (гидрофильных) незаряженных аминокислот (глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин), группу *отрицательно заряженных* (кислых) аминокислот (аспарагиновая и глутаминовая кислоты) и группу *положительно заряженных* (основных) аминокислот (аргинин, лизин, гистидин). Более подробная классификация использует химические особенности групп радикалов:

- собственно алифатические аминокислоты, которые, обладая выраженными гидрофобными свойствами, играют важ-

ную роль в формировании пространственной структуры белковой молекулы. К ним относятся:

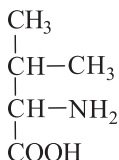
– глицин (гли, G)¹, или гликокол, – α -аминоуксусная кислота, является единственной оптически неактивной аминокислотой. Глицин участвует не только в синтезе белков. Его атомы входят в состав нуклеотидов, гема и в состав важного трипептида – глутатиона;

– аланин (ала, A), или α -аминопропионовая кислота (нередко используется в организме для синтеза глюкозы):



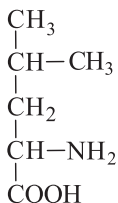
Ала

– валин (вал, V), или α -аминоизовалериановая кислота:



Вал

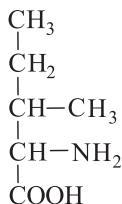
– лейцин (лей, L), или α -аминоизокапроновая кислота:



Лей

¹Здесь и далее в скобках указаны сокращенные обозначения названий аминокислот. В последнее время для записи первичной структуры чаще пользуются однобуквенными символами.

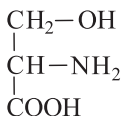
– изолейцин (иле, I)-, или α -амино- β -метилвалериановая кислота:



Иле

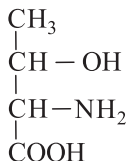
• гидроксиаминокислоты, которые играют важную роль в процессах ковалентной модификации структуры белков. Их гидроксильная группа легко взаимодействует с фосфорной кислотой, что бывает необходимо для изменения функциональной активности белков. К данным аминокислотам относятся:

– серин (сер, S), или α -амино- β -гидроксипропионовая кислота:



Сер

– треонин (тре, T), или α -амино- β -гидроксимасляная кислота:

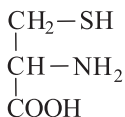


Тре

• серосодержащие аминокислоты. К ним относятся:

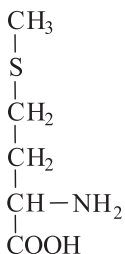
– цистеин (цис, C) , или α -амино- β -тиопропионовая кислота (благодаря активной $-\text{SH}$ группе легко вступает в окислительно-восстановительные реакции, защищая клетку от дей-

ствия окислителей, участвует в образовании дисульфидных мостиков, стабилизирующих структуру белков):



Цис

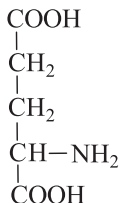
– метионин (мет, М), или α -амино- β -тиометилмасляная кислота (выполняет функцию донора подвижной метильной группы, необходимой для синтеза биологически активных соединений: холина, нуклеотидов и т.д.):



Мет

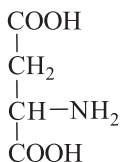
• дикарбоновые аминокислоты, которые, обладая дополнительной карбоксильной группой в радикале, способствуют ионному взаимодействию, придают заряд белковой молекуле. Эти аминокислоты могут образовывать амиды. К ним относятся наиболее распространенные аминокислоты белков животных организмов, такие как:

– глутаминовая (глу, Е), или α -аминоглутаровая, кислота:



Глу

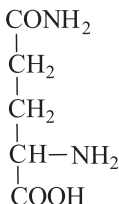
– аспарагиновая (асп, D), или α -аминоянтарная, кислота:



Асп

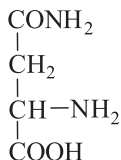
• амиды дикарбоновых аминокислот, которые выполняют важную функцию в обезвреживании и транспорте аммиака в организме. К ним относятся:

– глутамин (гln, Q):



Глн

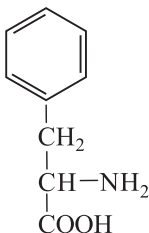
– аспарагин (асн, N):



Асн

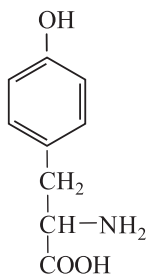
• циклические аминокислоты, которые имеют в своем радикале ароматическое или гетероциклическое ядро. К ним относятся:

– фенилаланин (фен, F), или α -амино- β -фенилпропионовая кислота:



Фен

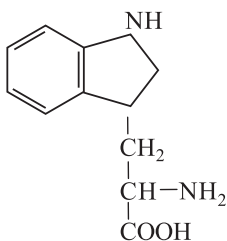
– тирозин (тир, Y), или α -амино- β -параоксифенилпропионовая кислота:



Тир

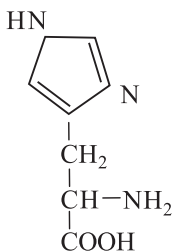
Фенилаланин и тирозин образуют взаимосвязанную пару, выполняющую важные функции в организме, например участие их в синтезе ряда биологически активных веществ (адреналин, тироксин);

– триптофан (три, W), или α -амино- β -индолилпропионовая кислота (используется для синтеза витамина РР, серотонина, гормонов эпифиза):



Три

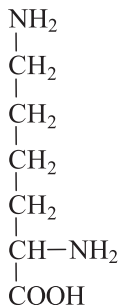
– гистидин (гис, H), или α -амино- β -имидазолпропионовая кислота (может использоваться при образовании гистамина, регулирующего проницаемость тканей и проявляющего свое действие при аллергии):



Гис

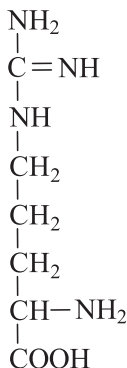
• диаминомонокарбоновые аминокислоты, которые имеют дополнительную аминогруппу, придающую основные свойства белкам, содержащим много таких аминокислот. К ним относятся:

– лизин (лиз, K), или диаминокапроновая кислота:



Лиз

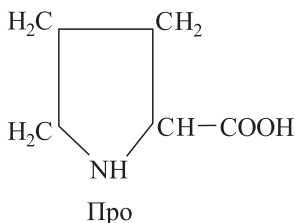
– аргинин (арг, R), или α -амино- δ -гуанидинвалериановая кислота:



Арг

Образование аргинина является частью метаболического пути обезвреживания аммиака (синтез мочевины);

• иминокислота, или пролин (про, P):



Пролин отличается от других аминокислот по строению. Особое место отводится этой аминокислоте в структуре коллагена, где пролин в процессе синтеза коллагена может превращаться в гидроксипролин.

Свойства аминокислот – основа свойств белков. Химические и физико-химические свойства аминокислот обусловлены тем, что они имеют две функциональные группы с противоположными свойствами: кислую карбоксильную группу и основную аминогруппу. Поэтому в водном растворе аминокислоты существуют в виде равновесной смеси *биполярного иона*, *катионной* и *анионной* форм молекулы. Равновесие зависит от pH среды (рис. 1.2).

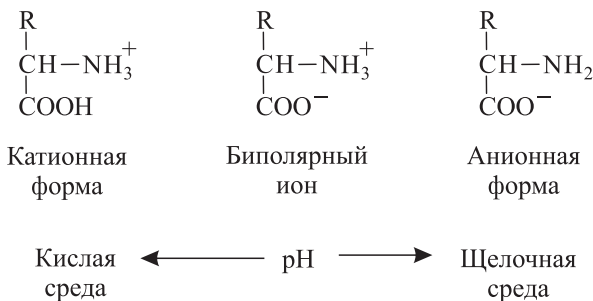


Рис. 1.2. Биполярность аминокислот

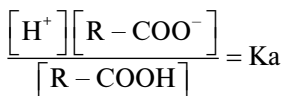
Нейтральные аминокислоты в воде не имеют заряда. Иначе ведут себя дикарбоновые аминокислоты. Обе их карбоксильные группы диссоциируют, отдавая два протона, но поскольку у них только одна аминогруппа, принимающая один протон, то такие аминокислоты ведут себя как *кислоты*, и их раствор имеет кислую реакцию. Ион, возникающий при этой диссоциации, имеет избыток отрицательного заряда.

Основные аминокислоты реагируют в водном растворе как *слабые основания*. Это связано с тем, что один протон, кото-

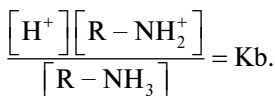
рый освобождается при диссоциации карбоксильной группы таких аминокислот, связывается с одной из аминогрупп, а вторая аминогруппа связывает протон из водного окружения, увеличивая тем самым количество ОН групп и повышая рН. Заряд иона таких аминокислот положительный.

При добавлении в раствор аминокислот дополнительного количества протонов (кислоты) подавляется диссоциация карбоксильных групп и увеличивается количество NH_3^+ групп. Аминокислоты при этом переходят в катионную форму (приобретают положительный заряд). При добавлении же щелочи улучшаются условия для диссоциации карбоксильных групп – аминокислоты переходят в анионную форму (приобретают отрицательный заряд). Изменяя таким образом рН раствора, можно изменять заряд молекул аминокислот. В зависимости от свойств аминокислот количество добавляемой кислоты или щелочи для изменения величины заряда будет разным. При определенном для каждой аминокислоты значении рН наступает такое состояние, при котором заряд аминокислоты становится нейтральным. Такое значение рН получило название *изоэлектрической точки* (pI). При значении рН, равном изоэлектрической точке, аминокислоты не перемещаются в электрическом поле. При рН ниже изоэлектрической точки катион аминокислоты движется к катоду, а при рН выше pI – анион аминокислоты движется к аноду. На этих свойствах аминокислот основана возможность разделения их в электрическом поле (электрофорез). Кислые аминокислоты имеют pI в слабокислой среде, основные – в слабоосновной, а нейтральные – в нейтральной.

Аминокислоты, обладая одновременно свойствами слабой кислоты и слабого основания (амфотерные свойства), могут играть роль буферной системы, реагируя как слабая кислота:



или как слабое основание:



Следовательно, аминокислотная буферная система может обладать двумя областями рН с высокой буферной емкостью.

Аминокислота, полипептид, белок. Аминокислоты могут объединяться в длинные цепи, образуя между собой **пептидные связи**. Две аминокислоты при этом образуют **дипептид**, если к нему добавить еще одну, то возникнет **трипептид**, и т.д. Пептиды, содержащие до 10 аминокислот, называют **олигопептидами**, а до 50 – **полипептидами**. Полипептиды, содержащие более 50 аминокислот, уже могут быть **белками**, хотя это название чаще используют для соединений, содержащих более 100 аминокислот. Цепи аминокислот имеют на одном конце аминокислоту со свободной α -аминогруппой (N-конец пептида, белка), а на другом конце – аминокислоту со свободной α -карбоксильной группой (C-конец пептида, белка).

Пептидная связь довольно прочная. Ее можно разорвать, например, путем нагревания раствора белка в присутствии кислоты или щелочи, которые активируют гидролиз этой связи. Гидролиз пептидной связи в клетках ускоряется с помощью специальных ферментов. При гидролизе белки распадаются на составляющие их аминокислоты.

Небольшие пептиды в организме присутствуют в незначительных количествах. В последние годы много внимания уделяется изучению структуры и функции небольших пептидов, выполняющих многие важные биологические функции. Природные пептиды разделяются на несколько групп в зависимости от выполняемых ими функций:

- γ -глутаминилпептиды – группа пептидов, содержащих глутаминовую кислоту и образующих пептидную связь своей γ -карбоксильной группой. К данной группе относится *глутатион* – трипептид, участвующий в окислительно-восстановительных реакциях и обладающий антиоксидантными свойствами;

- пептиды-кинины – группа пептидов, являющихся регуляторами тонуса сосудов. Примером могут служить *ангиотензины I и II*. Они образуются из предшественника – ангиотензиногена – высокомолекулярного белка плазмы крови;

- пептиды – регуляторы функций гипофиза – группа пептидов, являющихся посредниками между гипоталамической областью мозга и эндокринной системой. К ним относятся *либерины* и *статины*;

- пептиды-гормоны – пептиды с широким спектром действия на многие ткани, являющиеся продуктами синтеза ряда желез внутренней секреции. Примерами могут быть *инсулин*, *глюкагон* и др.;

- пептиды-нейромедиаторы – существуют группы нейронов, связанных между собой молекулами – посредниками пептидной природы (субстанция Р);
- нейропептиды – секретируются нервными клетками, могут оказывать обезболивающий эффект (*энкефалины* и *эндорфины*), модулировать поведенческие реакции (*скотофобин* – пептид, вызывающий у животных чувство страха от темноты) и т.д.;
- пептиды-антибиотики – ряд пептидов, образуемых микроорганизмами. Используются в медицинской и исследовательской практике в качестве регуляторов синтеза белка, проницаемости мембран;
- пептиды-токсины – большое число пептидов, выделенных из грибов и растений и вызывающих отравления у человека и животных (пептиды бледной поганки, пептиды насекомых). Исследование строения и функции этих соединений позволяет понять многие стороны регуляции процессов жизнедеятельности.

В пространственной структуре белков выделяют четыре уровня организации. Белки – высокомолекулярные соединения с довольно сложной пространственной структурой. Попытки разобраться в их структурной организации заставили исследователей выделить в структуре белков несколько уров-

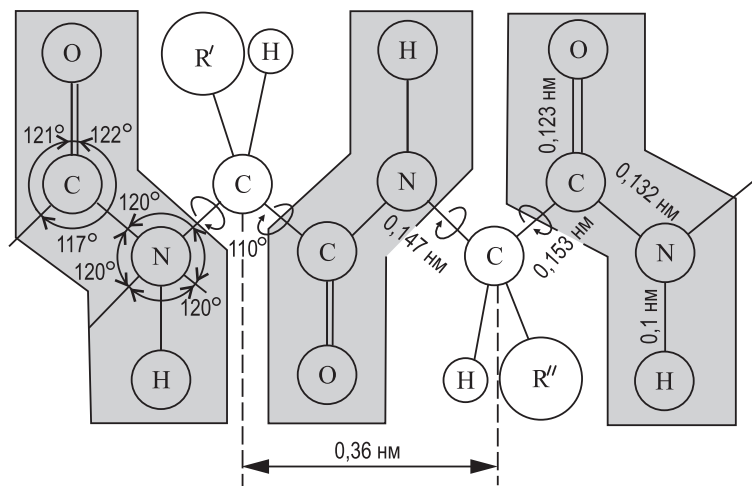
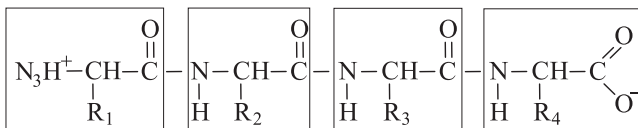


Рис. 1.3. Первичная структура белковой молекулы:
 R' и R'' – боковые радикалы аминокислотных остатков. Указаны атомы, углы и длины связей. Фоном выделены пептидные группы

ней. Последовательность аминокислот полипептидной цепи назвали **первичной структурной организацией** (рис. 1.3).

Основной тип связи этого уровня – *ковалентная пептидная связь*. Основу цепи составляет повторяющаяся последовательность $-\text{NH}-\text{CH}-\text{CO}-$. Характерные для каждой аминокислоты радикалы расположены вне цепи. Именно эти радикалы и несут главную нагрузку при выполнении белками их функций.

Схематически первичную структуру можно изобразить следующим образом:



N-конец

C-конец

Измерения расстояний между атомами пептидной группировки показали, что пептидная связь по своим свойствам напоминает двойную связь, которая ограничивает подвижность атомов, прилежащих к ней. Это позволило американскому химику и биохимику Л. Полингу выдвинуть предположение, что пептидная цепь в пространстве может принимать спиральную форму (рис. 1.4).

Стабильность спирали поддерживают водородные связи между атомами пептидных группировок аминокислот, расположенных на соседних витках спирали. Все условия, ведущие к формированию спиральных структур, могут успешно реализоваться и при другой форме расположения полипептидной цепи. Эту форму, альтернативную α -спирали, назвали β -структурой. Она формируется при укладке цепи в форме плоских шпилек. β -Структура также стабилизирована водородными связями. α -Спираль и β -структуру назвали формами **вторичной структуры** белковой молекулы. На этом уровне еще не принимались во внимание возможности взаимодействия радикалов аминокислот между собой и с растворителем (водой), в котором белок должен выполнять свои функции. Не учитывалась и нестандартность включения пролина в полипептидную цепь, а также возможности образования дисульфидных мостиков между цистеинами.

Третичной структурой белков назвали расположение в пространстве всей полипептидной цепи. Отдельные ее участ-

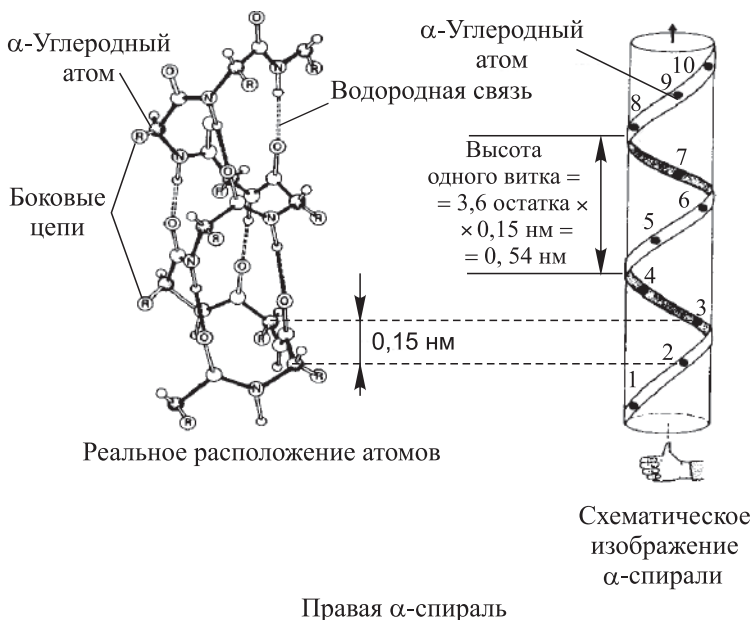


Рис. 1.4. Схематическое изображение правой α -спирали

ки при этом могут сохранять спиральные или β -структурные формы. Большая часть белков на уровне третичной структуры принимает глобулярную (шаровидную) форму. Это связано в первую очередь с тем, что многие неполярные группы радикалов аминокислот под влиянием полярного растворителя, воды, объединяются между собой, сближаясь на расстояния, доступные для электростатического взаимодействия между ними.

Это взаимодействие получило название **гидрофобного взаимодействия**. Оно требует небольших усилий для разрыва, но тем не менее важно для стабилизации пространственной структуры белка, в которой большая роль принадлежит водородным связям и ионному взаимодействию. Силы гидрофобного взаимодействия успешно обеспечивают сочетание прочности структуры белка и ее довольно значительной подвижности, что чрезвычайно важно для выполнения функций. В ряде белков прочность структуры укрепляется дополнительно ковалентными дисульфидными связями (рис. 1.5).

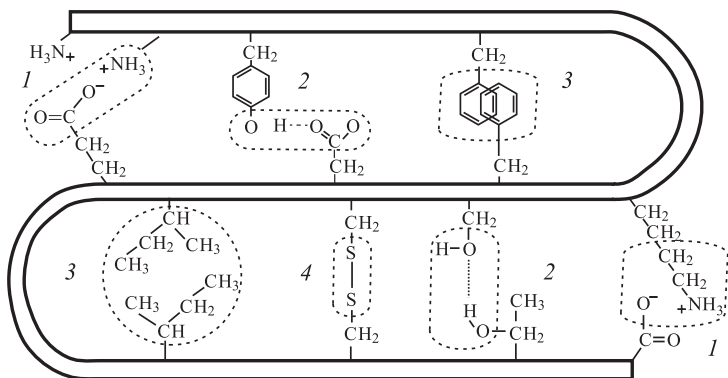


Рис. 1.5. Основные типы связей между радикалами аминокислот полипептидной цепи:

1 – ионное взаимодействие; 2 – водородные связи; 3 – гидрофобное взаимодействие; 4 – дисульфидные связи

В фибриллярных (нитевидных) белках третичная структура формируется или путем многослойной укладки плоских β -структур или параллельной укладкой нескольких спиральных структур. В любом случае возникают ориентированные в длину волокнистые структуры. Такие волокна имеют высокую прочность. Пример такого белка – белок соединительной ткани коллаген. Его молекула представляет своеобразную суперспираль, состоящую из трех спирально свернутых полипептидных цепей. Такие суперспирали в свою очередь, укладываются в форме более толстых протофибрилл, объединяемых затем в коллагеновое волокно.

Увеличение числа исследованных белков привело к необходимости более подробно изучить пространственную структуру полипептидных цепей. Несколько участков цепи, организованных в пространстве в форме α -спирали или β -структуры, могут объединяться, формируя так называемую **надвторичную структуру**. В белке может быть несколько организованных таким образом участков. Еще одна форма пространственной организации получила название **домен**. Это элемент третичной структуры белка, представляющий собой достаточно стабильную и независимую подструктуру белка. В состав домена обычно входит несколько элементов вторичной структуры.

Под **четвертичной структурой** понимают структуру белков, состоящих из нескольких полипептидных цепей. Каждая

из этих цепей имеет свою завершенную пространственную структуру и называется *субъединицей* белка с четвертичной структурой. Белок при таком объединении нескольких цепей приобретает новую функцию. Связи между субъединицами, как правило, *нековалентные* (силы гидрофобного взаимодействия, ионные, водородные), хотя в ряде белков (например, белки плазмы крови) субъединицы соединены ковалентными дисульфидными мостиками. Создание белков с четвертичной структурной организацией позволило Природе расширить свои возможности в области качественного разнообразия белков при незначительном увеличении количества генетического материала. Например, фермент лактатдегидрогеназа, состоящий из четырех субъединиц, формируется из двух генетически детерминированных полипептидных цепей Н и М. Их разные комбинации позволяют создать пять ферментов, катализирующих одинаковую реакцию в разных органах и тканях:

НННН, НННМ, ННММ, НМММ, ММММ.

Такие белки с одинаковыми функциями, но отличающимися физико-химическими свойствами получили название *изопротеинов*.

Слабое взаимодействие между отдельными частями белковой молекулы дает ей некоторую свободу к изменениям пространственной структуры. Расположение атомов или групп атомов молекулы органического вещества, обусловленное возможностями вращения их вокруг ковалентных связей, получило название *конформации*. Изменение конформации белковой молекулы лежит в основе ее биологической активности. Уникальная пространственная структура каждой белковой молекулы (рис. 1.6) и ее возможности в определенных пределах изменять эту структуру придают белкам способность выполнять многочисленные специфические функции. Главный принцип, лежащий в основе этой специфичности, это *принцип комплементарности* – принцип пространственной дополнителности между определенным участком белковой молекулы (активным участком) и молекулой или участком молекулы (лигандом), с которой реагирует этот белок. Активные участки белковых молекул образуются на поверхности в «карманах», «расщелинах». При этом если для функции необходимы гидрофобные радикалы аминокислот, то они, недо-

Первичная структура

Сер-Ала-Глу-Вал-Лей-Арг-Гли-

Вторичная структура

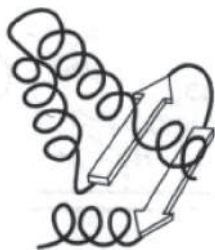


α -Спираль



β -Структура

Третичная структура



Четвертичная структура



Субъединица 1

Субъединица 2

Рис. 1.6. Схематическое изображение первичной, вторичной, третичной и четвертичной структур белка

ступные для воды в глубине белковой молекулы, могут появляться на поверхности белковой молекулы благодаря изменению конформации всей белковой молекулы. Говорят в таком случае о *кооперативном эффекте*, который образно можно представить на модели «рука – перчатка».

Лигандами могут быть самые разные по химической природе вещества: белки, углеводы, липиды, неорганические вещества и т.д. Примерами такого специфического взаимодействия белка с лигандом может быть взаимодействие фермента с субстратом, антитела с антигеном, рецептора с гормоном и т.д.

Учитывая важность конформационных изменений для выполнения белками их функций, становится понятным, что в регуляции функциональной активности белков важная роль отводится факторам, влияющим на конформацию белка: изменениям pH, температуры, которые в равной мере влияют од-

новременно на все белки и могут быть названы **неспецифическими факторами регуляции**. Специфически взаимодействующие с белками вещества относят к **специфическим факторам регуляции**. Они создают неограниченные возможности для специфической регуляции процессов жизнедеятельности.

Увеличение числа белков, пространственная структура которых была исследована, позволило выявить некоторые закономерности, которые можно было использовать для создания нового подхода к классификации белков. Одна из таких классификаций разделяет белки на четыре класса (рис. 1.7) по особенностям строения их вторичной структуры (*C-class*-уровень):

- белки с преимущественно α -спиральной формой организации вторичной структуры (α/α);
- белки с преимущественно β -структурной формой организации вторичной структуры (β/β);
- белки со смешанной формой вторичных структур (α/β , $\alpha + \beta$);
- белки, не имеющие ни α -спиралей, ни β -структур.

Свойства белков определяются свойствами аминокислот, из которых состоит белок. Как упоминалось выше, аминокислоты – амфотерные соединения, и это их свойство обусловлено амино- и карбоксильными группами. В белке большая часть этих групп связана в пептидной связи, однако группы концевых аминокислот и группы радикалов аминокислот по-прежнему придают белку те же свойства. Число таких групп зависит от числа основных и кислых аминокислот

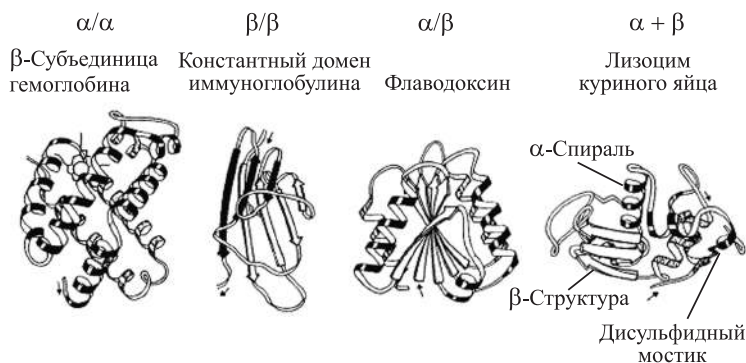


Рис. 1.7. Примеры белков, принадлежащих разным классам по структурной классификации

в белковой молекуле. Все эти группы в белке находятся в ионизированном состоянии в зависимости от рН. Как и аминокислоты белки при определенном значении рН имеют нейтральный заряд, и такое значение рН называют **изоэлектрической точкой** (рI) белка. При рН ниже рI увеличивается число положительных зарядов, и молекула белка становится катионом. При рН выше рI увеличивается число отрицательных зарядов, и белок становится анионом. Изоэлектрическая точка большинства белков – в пределах 2,7–7,9. Знания рI белка важно для разделения белков методом электрофореза, который занимает в лабораторной практике довольно важное место.

Все несущие заряд частицы передвигаются в электрическом поле в зависимости от величины заряда. Постоянное электрическое поле можно получить, используя источники постоянного напряжения и пропуская постоянный ток через буферный раствор. Выбирая рН буферного раствора, можно управлять и характером распределения белков в электрическом поле. Скорость перемещения молекул, кроме того, зависит от целого ряда факторов: присутствия других ионов, температуры, молекул носителя, на котором проводится разделение, величины заряда самой белковой молекулы. Метод разделения, учитывающий все указанные факторы, получил название **электрофорез**. Его применяют как для разделения белков, так и для разделения любых частиц, имеющих заряд.

Большее распространение получил **электрофорез на носителях**. Носителем служат полоски бумаги, ацетатцеллюлозы, агаровый, крахмальный, полиакриламидный гели, смоченные или содержащие буферный раствор. В клинической практике наибольшую популярность приобрел электрофорез на ацетилцеллюлозных полосках для разделения белков плазмы крови. Обычно белки плазмы в стандартных условиях электрофореза (буферный раствор рН 8,8) разделяются на пять фракций. Полоски прокрашивают красителем, который количественно связывается с белками, что позволяет после извлечения краски количественно оценить **электрофореграмму**. Соотношение между отдельными фракциями меняется при разных заболеваниях. Учитывая то обстоятельство, что в сложной смеси белков многие могут иметь одинаковую подвижность, для определения индивидуальных белков пользуются сочетанием электрофореза с иммунологическими реакциями (**иммуноэлектрофорез**).

Белки выполняют роль *буферных систем*. Подобно аминокислотам белки обладают буферными свойствами. Наибольший эффект буфер проявляет при значении рН, равном значениям рК ионизированных групп. Учитывая, что у белков таких групп на поверхности молекулы довольно много, белок как буферная система может перекрыть широкий диапазон значений рН. Поэтому в плазме крови белки плазмы проявляют эти свои свойства в поддержании кислотно-основного состояния крови (подробнее см. гл. 14).

Белки в воде образуют *растворы с особыми свойствами*. Белки образуют в воде особую форму растворов – *растворы высокомолекулярных соединений*. По механизму их образования они напоминают истинные растворы, однако размеры белковых частиц придают растворам свойства коллоидных растворов. Агрегации молекул препятствует гидратная оболочка вокруг каждой молекулы белка, образуемая дипольными молекулами воды. Образование этих оболочек связано с наличием заряда у белковых молекул. Все воздействия, которые могут повлиять на заряд и гидратную оболочку, вызывают нарушения растворимости белка в воде. Это прежде всего изменения рН. Белки в растворе при рН, приближающемся к рI, менее стабильны и легко осаждаются. Именно такой прием довольно часто применяется при необходимости удалить белки из раствора.

Осаждение белков из водных растворов можно вызвать добавлением солей щелочно-земельных металлов. В основе действия лежит конкуренция их с белками за воду. Такой процесс называют **высаливанием**.

Высаливающий эффект наступает при достаточно высоких концентрациях солей (насыщенные или полунасыщенные растворы). Глобулины плазмы более склонны к агрегации под влиянием солей, поэтому их осаждение начинается при более низких концентрациях солей, чем альбуминов (полунасыщенный раствор сульфата аммония для глобулинов и насыщенный – для альбуминов). Это издавна используется для *фракционирования белков*. Комбинируя разные концентрации солей и спирта или ацетона, действующих при непродолжительном контакте с белками подобно солям щелочно-земельных металлов, белки плазмы крови разделяют на ряд фракций, которые затем используются для получения чистых белковых препаратов.

Высаливание не вызывает нарушений структуры белков, поэтому после удаления солей эти препараты сохраняют свое биологическое действие. Правда, спирт или ацетон можно использовать только при низких температурах (-20°C).

Белки чувствительны к *внешним воздействиям*. Нарушение пространственной структуры белков называют **денатурацией**. При этом белок теряет все свои биологические и физико-химические свойства. Денатурация сопровождается разрывом связей, стабилизирующих нативную структуру белка. Как уже отмечалось выше, в основе стабилизации структуры белков основную роль играет слабое взаимодействие. Поэтому денатурацию могут вызывать различные факторы: нагревание, облучение, механическое встряхивание, охлаждение, химическое воздействие. При денатурации, как правило, нарушается и растворимость белков, так как нарушение структуры приводит к появлению на поверхности большого числа гидрофобных групп, обычно расположенных в центре белковой молекулы. Первичная структура белка при денатурации не изменяется, что делает возможным восстановление структуры и функций денатурированного белка, хотя в большинстве случаев денатурация является необратимым процессом. В лабораторной практике денатурация используется для депротеинизации биологических жидкостей. Факторы, вызывающие денатурацию, называют **денатурирующими агентами**. К ним можно отнести:

- нагревание и действие облучения высоких энергий (ультрафиолетовое, рентгеновское, нейтронное и т.д.). В основе лежит возбуждение колебаний атомов, сопровождающееся разрывом связей;
- действие кислот и щелочей. Они изменяют диссоциацию групп, уменьшают число ионных связей;
- ионы тяжелых металлов. Образуют комплексные соединения с группами белка, что сопровождается разрывом слабого взаимодействия;
- восстановители. Вызывают разрыв дисульфидных мостиков;
- мочевины, гуанидиния хлорид. Формируют новые водородные связи и разрывают старые.

Явление денатурации можно использовать и для качественного анализа присутствия белков в растворах. Для этого пробу с исследуемой жидкостью кипятят после ее подкисления. Образующееся при этом помутнение связано с де-

натурацией белка. Часто используют и осаждение органическими кислотами: сульфосалициловой или трихлоруксусной.

Для определения количества белков используют разные подходы. Для количественного анализа белков можно использовать определение *белкового азота*. Для этого пробу сжигают при высокой температуре в присутствии серной кислоты и перекиси водорода (окислитель). Происходит минерализация, при этом азот в форме аммиака связывается серной кислотой (сульфат аммония). Количество сульфата аммония определяют или с реактивом Несслера, или после перегонки аммиака титриметрически.

Значительно чаще для количественного определения используют *цветные реакции* (биуретовая или реакция Лоури на фенольные группы). Биуретовая реакция основана на том, что в щелочной среде ионы меди реагируют с пептидными группировками, образуя комплексные соединения, окрашенные в фиолетовый цвет. Интенсивность окраски фотометрируется. Сочетание биуретовой реакции и реакции на фенольные группировки используется в методе Лоури.

Для количественного определения индивидуальных белков в сложных смесях белков популярны *иммунологические методы*. При взаимодействии белка со специфической антисывороткой образуется мутный раствор. Интенсивность помутнения может быть измерена колориметрическими методами или методами, применяемыми в иммунологии.

Белки классифицируются разными способами. Большое число белков и их многообразие требует создания классификации белков. К сожалению, обычные принципы классификации, используемые в химии, не могут быть использованы в приложении к белкам. Выше уже упоминался структурный принцип классификации, однако пока чаще применяют функциональную классификацию, разделяя их по выполняемым ими функциям (см. выше).

Белки можно разделить по степени сложности их молекул на *простые* и *сложные*. Простые построены только из аминокислот, а сложные содержат в своем составе дополнительные небелковые группы, называемые простетическими. По форме белковой молекулы белки делят на *глобулярные* (шаровидные) и *фибриллярные* (нитевидные). По растворимости в воде выделяют *водорастворимые*, *солерастворимые*, *не растворимые* в воде. Последние характерны для биологических мембран.

Простые белки построены только из *аминокислот*. Водорастворимые представители простых белков обычно имеют глобулярную форму. Эта форма описывается моделью «эллипсоид вращения». Соотношение осей в таком эллипсоиде может колебаться в широких пределах. Простые белки такого типа обычно находятся в биологических жидкостях, выполняют транспортные функции, являются ферментами и т.д.

На основании различной растворимости простых белков в воде и солевых растворах различают *альбумины* и *глобулины*. Глобулины высаливаются при относительно низких концентрациях солей, а альбумины – при более высоких. Альбумины имеют более низкую молекулярную массу, глобулины более разнообразны, с широким пределом колебаний молекулярной массы от нескольких десятков тысяч до миллионов. Альбумины выполняют, в основном, транспортную функцию, а у глобулинов более широкий спектр функций. Это и транспорт веществ, и катализ реакций (ферменты крови), и защитная функция (*иммуноглобулины*). В крови поддерживается постоянное отношение альбуминов к глобулинам (коэффициент равен 1,7–2,3).

Водонерастворимые белки имеют форму нитей. Их называют фибриллярными. Им присуща структурная функция. Они выделены из кожи, костей, сухожилий и других разновидностей соединительной ткани. Эта ткань образует каркас для всего организма и для отдельных органов. Типичным белком этого типа можно считать *коллаген* – один из самых распространенных белков в организме человека.

Сложные белки содержат *небелковые компоненты*. Многие белки в своем составе помимо аминокислот могут содержать и небелковые компоненты. В зависимости от химического состава небелкового компонента сложные белки разделяют на несколько групп или классов:

- *хромопротеины* – это белки, небелковые компоненты которых имеют окраску. К ним относятся многие белки, содержащие металлы, например церулоплазмин – белок, содержащий медь, имеет синюю окраску. Белок, переносящий витамин B_{12} , имеет розовый цвет (этот витамин содержит в своем составе кобальт). Хорошо изучены белки, содержащие железо: гемоглобин, миоглобин, цитохромы. Они имеют красную окраску. Присутствие витамина B_2 придает белкам желтый цвет (флавопротеины);

- гликопротеины – белки, небелковая часть которых содержит углеводы. Гликопротеины – небольшая часть белково-углеводных комплексов, к которым относятся также протеогликаны и мукопротеины. Этим белкам принадлежит важная роль в структурной организации клеток и тканей, они выполняют защитные функции. Основная часть внеклеточных белков – это гликопротеины;

- липопротеины – белки, небелковая часть которых содержит липиды. Они обеспечивают транспорт липидов в крови, являются компонентами биологических мембран;

- металлопротеины – их простетическая группа представлена металлами. Они транспортируют или участвуют в депонировании металлов (ферритин, трансферрин);

- нуклеопротеины – белки, небелковая часть у которых – нуклеиновая кислота. Различают дезоксирибонуклеопротеины (простетическая группа – ДНК) и рибонуклеопротеины (простетическая группа – РНК). Им принадлежит важная роль в сохранении, передаче и реализации генетической информации;

- фосфопротеины – белки, которые содержат в своем составе фосфорную кислоту, широко представлены в клетке, видимо потому, что процесс фосфорилирования является способом влияния на конформацию белка и поэтому используется в системах регуляции процессов жизнедеятельности.

Небелковые группы соединяются с белками разными типами связей. Так, для нуклеопротеинов характерной является ионная связь, у гликопротеинов и фосфопротеинов преобладает связь ковалентная, у липопротеинов – силы гидрофобного взаимодействия, для металлопротеинов характерны донорно-акцепторные связи.

В качестве примера функционально-структурных взаимоотношений в химии белков можно привести данные по двум белкам – миоглобину и гемоглобину, имеющим некоторое структурное и функциональное подобие, позволяющее подчеркнуть особенности роли структуры в биологических функциях. Миоглобин и гемоглобин обладают простетической группой – гемом, циклическим тетрапирролом, придающим им красный цвет. Тетрапиррол состоит из четырех пиррольных колец, соединенных в плоскую молекулу метиленовыми мостиками. Атом железа занимает центральное положение в этой плоской молекуле. Существуют и другие белки с тетрапиррольными структурами (цитохромы, каталаза и т.д.). Же-

лезо в составе гема цитохромов способно менять свою валентность. Напротив, в гемоглобине и миоглобине изменение валентности нарушает их функцию. Главная функция этих белков – связывание кислорода.

Миоглобин – это сферическая молекула $4,5 \times 3,5 \times 2,5$ нм; состоит из 153 аминокислот с общей молекулярной массой 17 000. На уровне вторичной структуры он образует восемь спиральных участков, захватывающих почти 75% всех аминокислот молекулы. Атом железа в геме миоглобина, не связанный с кислородом, выступает из плоскости молекулы на 0,03 нм. В оксигенированной форме атом железа как бы погружается в плоскость молекулы гема. Образуя связь с одной из молекул гистидина глобиновой части, железо при соединении с кислородом изменяет и конформацию белковой части.

Чем можно объяснить, что миоглобин удобен для хранения кислорода, но не удобен для транспорта его по крови? Ответ на этот вопрос можно получить, если познакомиться с графическим выражением процесса насыщения миоглобина и гемоглобина кислородом в зависимости от парциального давления кислорода (рис. 1.8).

Кривая насыщения миоглобина кислородом представлена гиперболой. Так как в легких парциальное давление кислорода 13,3 кПа, миоглобин хорошо бы насыщался кислородом, но в венозной крови это давление составляет 5,3 кПа, а в мышцах еще меньше – 2,6 кПа. Миоглобин в таких условиях сможет отдавать мало кислорода и будет недостаточно эффективен в транспорте кислорода от легких к тканям. Эту функцию более эффективно выполняет гемоглобин.

В отличие от миоглобина гемоглобин – это белок с четвертичной структурой. Он состоит из четырех попарно одинаковых полипептидных цепей α и β . Тетрамеры пептидных цепей формируют молекулы, обозначаемые буквами латинского алфавита. Основной гемоглобин взрослого здорового человека обозначается Hb A₁ и состоит из двух α - и двух β -цепей.

Гемоглобин связывает четыре молекулы кислорода. Кривая насыщения гемоглобина кислородом в отличие от миоглобина имеет S-образный характер. Такой тип кривой показывает, что присоединение одной молекулы кислорода ускоряет присоединение последующих, что говорит о кинетике кооперативного связывания. Сравнение зависимости насыщения от парциального давления кислорода показывает, что при парциальных давлениях кислорода, характерных для тканей, гемоглобин от-

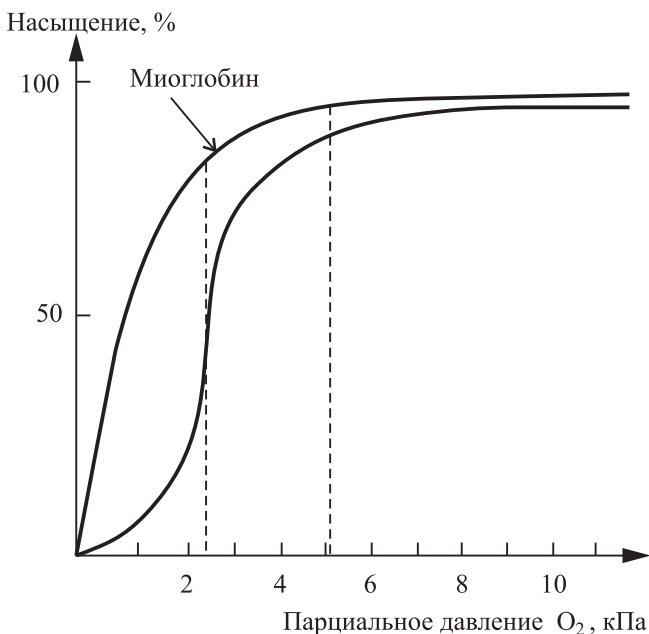


Рис. 1.8. Кривые насыщения кислородом гемоглобина и миоглобина: кПа – единицы измерения давления – килопаскали

дает значительное количество кислорода. Это подтверждает, что гемоглобин – хорошее транспортное средство для переноса кислорода и обеспечения им тканей.

Подобно изменениям, отмеченным выше при описании механизма насыщения кислородом миоглобина, в гемоглобине также происходит перемещение атома железа в плоскость гема с одновременным изменением конформации полипептидной цепи, но то, что гемоглобин – белок с четвертичной структурой и отдельные его цепи связаны между собой, позволяет передать изменения конформации на область связи между полипептидными цепями. Это в свою очередь изменяет положение в пространстве всей молекулы и облегчает доступ кислорода к остальным гемам молекулы гемоглобина. Одновременно это изменение конформации сопровождается появлением на поверхности групп, которые, диссоциируя, отдают протоны в окружающую среду. При понижении парциального давления кислорода события повторяются, но уже в обратном направлении: отдача кислорода идет по мере сни-

жения парциального давления, гемоглобин переходит в другое конформационное состояние, при этом из окружающей среды (ткани), где высока концентрация протонов, последние присоединяются к гемоглобину.

В дополнение к основному гемоглобину в крови взрослого человека имеются и другие молекулярные разновидности этого белка. Так, например, гемоглобин, мигрирующий при электрофорезе с меньшей скоростью, чем основной гемоглобин, назван Hb A₂. Он состоит также из четырех полипептидных цепей: двух α -, как и у Hb A₁, и двух δ -цепей. На его долю приходится около 2,5% всего гемоглобина. У новорожденных имеется так называемый фетальный гемоглобин Hb F (до 80% всего гемоглобина). Он отличается структурно и функционально от гемоглобинов взрослых. К настоящему времени выделено и изучено свыше 150 так называемых аномальных гемоглобинов. Они отличаются друг от друга по аминокислотному составу. Замены аминокислот оказывают существенное влияние на функции этих молекул. Ниже приводятся примеры таких гемоглобинов (табл. 1.1).

Таблица 1.1. Нормальные и аномальные гемоглобины

Тип гемоглобина	Состав цепей	Аминокислота и ее заместитель
A ₁	$\alpha_2\beta_2$	
A ₂	$\alpha_2\delta_2$	
C	$\alpha_2\beta_2$	Замена ГЛУ(6) β -цепи на ЛИЗ
E	$\alpha_2\beta_2$	Замена ГЛУ(26) β -цепи на ЛИЗ
F	$\alpha_2\gamma_2$	
G	$\alpha_2\beta_2$	Замена ГЛУ(43) β -цепи на АЛА
H	β_4	
I	$\alpha_2\beta_2$	Замена ЛИЗ(16) α -цепи на АСП
S	$\alpha_2\beta_2$	Замена ГЛУ(6) β -цепи на ВАЛ

Мутации, вызывающие существенные изменения структуры гемоглобина, могут иметь различные клинические проявления. Некоторые замены аминокислот могут не оказывать существенного влияния на функцию и поэтому не обнаруживаются. В других случаях такие замены не совместимы с жизнью.

Гемоглобинопатии. К этой группе заболеваний относятся аномалии, вызванные нарушениями синтеза белкового компо-

нента гемоглобина при нормальной структуре гема. Известно более 200 вариантов гемоглобинопатий. Из них лишь некоторые проявляются в виде заболеваний, в основе которых лежит нарушение транспорта кислорода или накопление метгемоглобина.

Дефекты, обусловленные заменой аминокислоты в полипептидной цепи гемоглобина. Известно более 20 видов гемоглобина, в α - или β -цепи которых одна из аминокислот заменена другой. Такая замена изменяет ряд физико-химических свойств белка, в частности электрофоретическую подвижность, что позволяет идентифицировать вариант гемоглобина. Варианты обозначаются по названию местности, где был впервые выявлен носитель аномального гемоглобина, и описываются формулой, содержащей указание на место и характер замены.

Серповидноклеточная анемия сопровождается присутствием в эритроцитах больного аномального гемоглобина (HbS), описываемого формулой $\beta 6\text{Глу} \rightarrow \text{Вал}$ (в β -цепях Hb остаток глу в положении 6 заменен на остаток вал). Указанное замещение существенно отразилось на свойствах белка. HbS в восстановленной форме образует длинные ассоциированные цепи, и его растворимость снижается на 50% по сравнению с растворимостью окисленной формы. Эти особенности гемоглобина определяют укорочение жизни эритроцитов в связи со снижением их устойчивости к гемолизу. Причиной сравнительно широкого распространения серповидноклеточной анемии в районах, эндемичных по тропической малярии, считают устойчивость эритроцитов таких больных к размножению малярийного плазмодия. У взрослых спокойное течение болезни характеризуется умеренной анемией, слегка снижающей трудоспособность. Кризы (повышенный гемолиз, острая боль в участках эритростаза, боль в костях) провоцируются инфекциями, стрессовыми факторами. Эта форма обратима при энергичном лечении.

М-гемоглобинемии. Это группа гемоглобинопатий, при которых имеется дефект, затрудняющий восстановление железа из трех- в двухвалентное состояние. У этой группы гемоглобинов остаток гистидина, участвующий в связывании железа, замещен другими аминокислотами – тирозином, глутаматом. Замещение остатка гистидина приводит к тому, что в измененной цепи атом железа в составе гема окислен до трехвалентного состояния. Его восстановления метгемоглобинредуктазой или редуцирующими веществами не происходит. В связи

с этим способность Hb к транспорту кислорода утрачена. Главный признак заболевания – метгемоглобинемия, более выраженная у гомозигот, для которых это заболевание смертельно. У гетерозигот в крови имеется смесь гемоглобина и метгемоглобина.

Дефекты, обусловленные нарушением синтеза цепей гемоглобина. Имеется несколько вариантов патологии:

- α -талассемия – в основе заболевания лежит нарушение синтеза α -цепей, что ведет к уменьшению образования всех физиологических видов гемоглобина. Избыточно появляющиеся β - и γ -цепи не могут взаимодействовать с мутантными α -цепями, вследствие чего возникают два вида гемоглобина: Hb β_4 (HbH) и Hb γ_4 (гемоглобин Бартса). Тот и другой нестабильны и отличаются высоким сродством к кислороду. У гомозигот гемоглобин представлен преимущественно гемоглобином Бартса – гибель наступает в период внутриутробного развития. У гетерозигот присутствует смесь гемоглобина Бартса и гемоглобина H – проявление заболевания сводится к легкому гемолизу без существенных последствий для состояния;

- β -талассемия – вызвана нарушением синтеза β -цепей, что приводит к относительному избытку α -цепей и сопровождается усиленным образованием гемоглобина F ($\alpha_2\gamma_2$) и A₂ ($\alpha_2\delta_2$). Последняя форма гемоглобина обладает достаточной способностью к транспорту кислорода, обеспечивающей компенсацию дефицита гемоглобина A;

- σ -талассемия – связана с торможением синтеза β - и δ -цепей, что ведет к увеличенной продукции гемоглобина F ($\alpha_2\gamma_2$).

При всех видах талассемии нарушается продукция эритроидных клеток в костном мозге и насыщение эритроцитов гемоглобином. Это проявляется в виде микроцитоза и снижения эритроцитарных индексов.

Метгемоглобинемия. У здоровых лиц метгемоглобин, отличающийся наличием трехвалентного (окисленного) железа, составляет 0,1–0,3% от всего гемоглобина. За 24 ч в него превращается примерно 3% общего количества гемоглобина. Восстановление метгемоглобина в гемоглобин происходит при участии НАДФ-метгемоглобинредуктазы в присутствии аскорбиновой кислоты.

Метгемоглобинемия развивается при отравлении нитратами, нитритами, нитрозосоединениями, анилином, сульфон-

амидами, ацетиланилидом, бромидами. Для новорожденных особую опасность представляет собой нитратсодержащая вода. Метгемоглобинемия является результатом наследственного дефицита НАДФ-метгемоглобинредуктазы.

Протеомика – раздел биологии белков. После исследования нуклеотидной последовательности геномов ряда живых организмов возникла необходимость исследования состава и строения белков, экспрессируемых данными геномами в разных клетках, на разных этапах развития, при заболеваниях, под влиянием различных лекарственных препаратов. Эти задачи решаются новым разделом молекулярной биологии – **протеомикой**. Протеом [прот (протеин) + ом (геном)] – количественная и качественная характеристика белков, кодируемых геномом. Исследование протеома значительно сложнее, чем исследование генома. Геном постоянен, воспроизводится. Протеом хотя и воспроизводится, но лабилен, чувствителен к внешним воздействиям. Число белков протеома, которые предстоит исследовать, на порядок превышает число генов, входящих в состав генома. Для решения своих задач протеомика использует современные исследовательские технологии, требующие высокой автоматизации. Учитывая постоянное обновление и совершенствование методов, можно лишь перечислить наиболее популярные из них:

- воспроизводимый двухмерный гель-электрофорез (2D-электрофорез): тканевой или клеточный экстракт разделяется с помощью электрофореза в фиксированном градиенте pH (изоэлектрическое фокусирование), а затем в другом (перпендикулярно к первому) направлении проводят электрофорез с додецилсульфатом натрия, при котором белки разделяются по величине молекулярной массы;
- масс-спектрометрия ферментного гидролизата каждой фракции, полученной при 2D-электрофорезе. При этом пептиды разделяются по соотношению масса/заряд;
- создание баз данных на основании полученных результатов;
- разработка программного обеспечения для работы с базами данных.

Ключевая проблема протеомики – автоматизация и интеграция указанных технологий.

Создаваемые проекты предполагают исследование протеома не только у здорового человека, но и при различных заболеваниях, под влиянием лекарственных препаратов и т.д.

ГЛАВА 2

ФЕРМЕНТЫ

Краткое содержание главы

Ферменты как биокатализаторы. Ферменты – биокатализаторы белковой природы. Рибозимы – биокатализаторы, представленные нуклеотидными последовательностями. Ферменты катализируют только самопроизвольно протекающие реакции, ускоряя достижение равновесия химической реакции и способствуя протеканию реакции по путям с более низкими энергетическими барьерами.

Субстратная специфичность – одно из самых важных свойств ферментов, позволяющее избирательно изменять скорость химических реакций. Существует несколько типов специфичности: абсолютная, стереохимическая и групповая. Это свойство ферментов обеспечивается особенностями структурной организации молекул фермента, способствующими проявлению комплементарности – важнейшему принципу биологического узнавания одних молекул другими.

Множественные формы ферментов – ферменты, катализирующие одинаковые реакции, но отличающиеся по физико-химическим свойствам и первичной структуре. Это важное достижение эволюции, позволившее при выраженной экономии генетического материала обеспечить нормальное протекание химических процессов в разных условиях окружающей среды. Они являются или следствием генетического кодирования (изоферменты) или результатом посттрансляционной модификации молекул белков. Органоспецифичность изоферментного спектра – важное свойство, используемое в диагностике заболеваний отдельных органов.

Коферменты играют важную роль в катализе химических реакций. Эти небелковые компоненты фермента значительно увеличивают возможности химических групп белковой молекулы в катализе. Роль коферментов выполняют ароматические, алифатические соединения, активные формы водорастворимых витаминов, нуклеотиды и металлы.

Единицы активности ферментов. О скорости катализа принято судить по активности фермента. Под активностью понимают количество фермента, которое при определенных условиях катализирует превращение определенного количества субстрата в единицу времени. Активность фермента выражается в единицах активности. Обычно используют интернациональные единицы активности (мкмоль/мин) или катал (моль/с), пересчитанные на какие-либо единицы сравнения (мг белка в пробе или объем исследуемой жидкости).

Ферментативная кинетика – наука о скоростях химических реакций, катализируемых ферментами. Учитывается влияние температуры, pH и других факторов окружения, а также концентрации участников реакции (субстратов, продуктов, коферментов и т.д.). Особое место в понимании механизма действия фермента занимают исследования влияния количества субстрата на активность фермента. Константа Михаэлиса – важный показатель свойств фермента.

Регуляция активности ферментов – важное свойство фермента, отличающее его от других катализаторов. Молекулы фермента способны менять свою конформацию под влиянием многих факторов внешней среды. Некоторые из факторов оказывают неспецифическое влияние на большинство ферментов, другие обладают свойством избирательного влияния на отдельные ферменты. Последние играют ведущую роль в механизмах регуляции процессов жизнедеятельности. Наиболее распространенными типами специфической регуляции являются изостерическая, аллостерическая регуляция и ковалентная модификация структуры фермента.

Классификация ферментов основана на типе химической реакции, катализируемой ферментом. Все ферменты разделены на шесть классов. Каждый класс в свою очередь разделен на подклассы, а подкласс – на подподклассы. Ферменту каждого подподкласса присваивается постоянный порядковый номер. Это позволяет шифровать ферменты, используя порядковые номера их класса, подкласса, подподкласса и списка ферментов каждого подподкласса.

Распределение ферментов в клетке связано в первую очередь с функцией того или иного компартмента (плазматическая мембрана, ядро, митохондрии, лизосомы, эндоплазматическая сеть и т.д.) клетки и функцией самой клетки.

Энзимопатии – заболевания, вызванные снижением активности фермента или его отсутствием. Эти заболевания, как правило, детерминированы генетически. Различают первичные и вторичные энзимопатии.

Энзимодиагностика нашла широкое применение в медицинской практике. Внутриклеточные ферменты при физиологической регенерации клеток или при нарушении функций (проницаемости мембран), или при гибели клеток могут выходить во внеклеточное пространство и попадать в кровь и другие биологические жидкости. Определение активности ферментов в крови и других биологических жидкостях может служить доказательством в постановке диагноза многих заболеваний.

Имобилизованные ферменты – это ферменты, ковалентно связанные с не растворимыми (как правило) в воде носителями и сохраняющие при этом свою активность. Применяются в качестве лекарственных форм, в лабораторных исследованиях и промышленности.

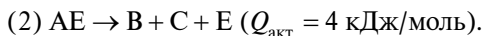
Клинико-лабораторное значение. Без участия ферментов жизнь невозможна. Они – основа здоровья и болезней. Нарушение функции одного фермента влечет за собой значительные нарушения последующих и сопряженных реакций. Повреждение тканей сопровождается выходом внутриклеточных ферментов в межклеточную жидкость и кровь. Определение активности таких ферментов используют в диагностике локализации патологического процесса и степени его развития. В лаборатории ферменты применяют как реактивы для количественного определения отдельных органических веществ в сложных смесях с другими соединениями.

Катализаторы ускоряют самопроизвольно протекающие реакции. Все сложные химические превращения в организме должны протекать в умеренных, с позиций химии, условиях (37 °С, нормальное атмосферное давление, рН около 7,0, водная среда) с довольно высокой скоростью. Это было бы невозможно, если бы организм не обладал специфически действующими катализаторами. Такие биокатализаторы, которые делают возможными реакции промежуточного обмена, называются **ферментами** или **энзимами**. Слово «фермент» происходит от лат. *fermentatio* – брожение, а слово «энзим» – от греч. *en zyme* – в дрожжах.

Под **катализатором** понимают вещество, присутствие которого даже в небольших количествах ускоряет химическую реакцию. Катализатор при этом принимает активное участие в реакции, но к концу ее не претерпевает изменений. Однако такой катализатор не всякую реакцию делает возможной. Катализатор может ускорять только самопроизвольно протекающую реакцию. Он ускоряет установление химического равновесия между субстратами и продуктами реакции. Значит, катализаторы ускоряют при соответствующих условиях реакции в обоих направлениях. Это зависит лишь от того, с какой стороны достигается равновесие участников реакции. Выражение «свободно протекающие процессы» означает только то, что процесс термодинамически возможен, т.е. он может, но совсем не обязательно должен протекать.

Для начала каждой реакции требуется «толчок», например для того чтобы загорелась головка спички, ей необходимо тепло, возникающее в результате трения. Химической системе нужно первоначально сообщить какую-то энергию в форме тепла, света, механической энергии, чтобы началась реакция. Энергия, необходимая для начала химической реакции, называется **энергией активации**. Она необходима для того, чтобы молекулы, участвующие в реакции, могли перейти в реакционноспособное (активное) состояние. Затем реакция между такими молекулами протекает уже спонтанно. В лабораторных условиях энергию активации, как правило, сообщают системе путем нагревания. При 37 °С органические молекулы, особенно в водной среде, имеют малую реакционную способность. Это связано с тем, что повышение температуры до 37 °С недостаточно для преодоления энергии активации. Механизм действия катализатора или фермента направлен на то, чтобы понизить энергетический барьер или энергию активации процесса. Это достигается разделением реакции на отдельные шаги, или этапы, благодаря участию самого катализатора. Каждый новый этап обладает более низкой энергией активации. Тогда и температуры тела оказывается достаточно, чтобы реакция пошла. Реакция идет как бы в обход энергетического барьера, в чем практически и заключается повышение скорости реакции. Разделение реакции на отдельные этапы становится возможным благодаря образованию комплекса фермента с исходными веществами, так называемыми субстратами. Такой комплекс называется **фермент-субстратным**. В последующем этот комплекс расщепляется с образованием продукта и неизмененного фермента.

Рассмотрим распад вещества А на конечные продукты В и С. Для процесса $A \rightarrow B + C$, протекающего в отсутствие катализатора, энергия активации ($Q_{\text{акт}}$), допустим, составляет 63 кДж/моль. Пусть тот же процесс протекает в организме под влиянием катализатора Е. На первом этапе образуется фермент-субстратный комплекс (1), который на втором этапе разрушается:



Необходимая энергия активации каждого этапа намного ниже, чем для прямой реакции. В данном случае величины выбраны произвольно. Однако аналогичным образом протекает распад H_2O_2 на H_2O и O_2 , который катализируется в клетках специальным ферментом – каталазой. Скорость этой реакции повышается в присутствии каталазы в тысячи раз. Итак, **фермент** – это биокатализатор, который путем образования фермент-субстратного комплекса разбивает реакцию на отдельные этапы с более низкой энергией активации и тем самым резко повышает скорость реакции.

Ферменты – это белки с высокой специфичностью действия. Сами ферменты являются белками и обладают их строением, свойствами. Около 1/3 белков клетки – ферменты. В некоторых органах эта величина еще больше. Многие ферменты выделены в чистом виде, их действие изучено в лабораторных условиях. Характерным признаком биокатализаторов является их *специфичность*. Можно без всякого преувеличения сказать, что каждая реакция промежуточного обмена имеет свои ферменты. Знаменитый ученый-химик Э. Фишер сравнивал взаимоотношение фермента и субстрата как ключ и замок. И тот, и другой соединяются друг с другом таким образом, чтобы могла состояться ферментная реакция со своими этапами (образование фермент-субстратного комплекса и последующий разрыв). Молекула субстрата должна соединиться с определенным участком фермента (*субстратсвязывающий участок*). Если фермент работает с коферментом (небелковое вещество), он должен связываться и с ним.

Специфическое строение фермента служит гарантией того, что соответствующие группы субстрата приходят в тесный контакт со строго определенным местом фермента. Это

контактное место, на котором протекает реакция, называется **активным центром** фермента. Активный центр обеспечивает полное связывание только для субстрата. Этим и объясняется специфичность действия фермента. Во время взаимодействия фермент и субстрат претерпевают структурные изменения, как бы приспособляясь друг к другу (рис. 2.1), что не совпадает с представлением Фишера о ключе и замке.

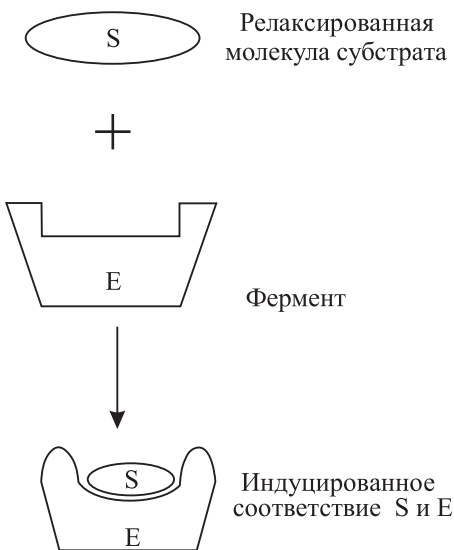


Рис. 2.1. Взаимодействие фермента с субстратом:
S – субстрат; E – фермент

Поэтому на смену модели Фишера пришла модель «рука – перчатка», предложенная американцем Кошландом. Эта модель более адекватно отражает события во время взаимодействия фермента и субстрата. В активный центр, который представляет фрагмент аминокислотной последовательности, входит много функциональных групп ($-\text{SH}$, $=\text{NH}$, $-\text{OH}$ и т.д.), которые находятся там в определенном пространственном расположении по отношению друг к другу. Специфичность может проявляться в разных формах. Об *абсолютной специфичности* говорят в том случае, если фермент действует на один субстрат (уреаза действует только на мочевины). Если фермент выбирает один из пространственных изомеров суб-

страта, то он обладает *стереохимической специфичностью*. При *групповой специфичности* ферменты могут действовать на группу субстратов, имеющих общий тип строения (алкогольдегидрогеназа окисляет спирты) или одинаковый тип связи (эстеразы гидролизуют эфирные связи).

Одинаковые реакции могут катализировать разные по свойствам ферменты. Хотя фермент обычно катализирует одну реакцию, в организме имеются белки, катализирующие схожие реакции. Белки, которые обладают способностью катализировать одинаковые реакции, но отличаются физико-химическими и биохимическими параметрами (электрофоретическая подвижность, рН-оптимум, чувствительность к ингибиторам) относят к множественным формам ферментов. Различают два основных вида множественных форм ферментов. Один вид называют ***изоферментами***. Они отличаются своей первичной структурой, и это различие закодировано генетически. Например, окисление молочной кислоты (лактат) в организме катализирует фермент лактатдегидрогеназа (ЛДГ). Под ЛДГ понимают пять разных ферментов, которые обозначаются цифрами от 1 до 5: ЛДГ₁, ЛДГ₂, ..., ЛДГ₅. Большое число изоферментов обусловлено субъединичным их строением. Молекула ЛДГ состоит из четырех полипептидных цепей, которые формируют четвертичную структуру фермента. У человека синтезируются две разные по составу ЛДГ-полипептидные цепи, которые позволяют на уровне четвертичной структуры создавать пять различных комбинаций. Этим и объясняется существование пяти различных типов ЛДГ. Если фермент состоит из нескольких полипептидных цепей (больше двух), то число возможных изоферментов резко повышается. В любом отсеке организма одновременно присутствуют разные изоферментные формы, однако соотношение их в разных органах отличается. Так, в сердце преобладают ЛДГ₁ и ЛДГ₂, а в мышцах – ЛДГ₄ и ЛДГ₅. Такая органоспецифичность изоферментного спектра широко используется в энзимодиагностике для выяснения локализации патологического процесса. Изоферменты могут различаться не только по органной локализации, но и по локализации в клетке (малатдегидрогеназы цитозоля и митохондрий).

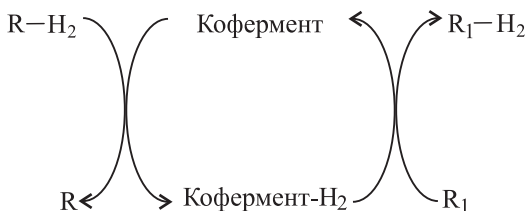
Множественные формы могут возникать и после синтеза фермента путем их химической модификации, например путем фосфорилирования, аденилирования, присо-

единения других низкомолекулярных продуктов или путем протеолитического гидролиза части молекулы исходного фермента.

Некоторые ферменты требуют для работы дополнительные небелковые соединения. Ряд ферментов становятся функционально полноценными только после соединения с небелковыми компонентами. Небелковые компоненты при этом могут или соединяться с белковой частью только на время реакции, или связываться с ней постоянной прочной связью. Однако в любом случае небелковые компоненты принимают непосредственное участие в химических реакциях путем взаимодействия с субстратом, где они играют роль промежуточного субстрата. По завершении реакции фермент вместе с небелковой частью возвращаются в исходное состояние.

Небелковые компоненты, непрочно связанные с белковой частью, получили название **коферменты**, а белковую часть называют **апоферментом**. Кофермент с апоферментом образуют **холофермент**. Такие двухкомпонентные ферменты обычно катализируют определенные типы реакций (дегидрирование, декарбоксилирование и т.д.). Как правило, в одном типе реакций принимает участие один кофермент или строго ограниченное их количество. Поэтому в большинстве случаев по коферменту можно узнать, какой тип реакций катализирует фермент. Белковая часть двухкомпонентного фермента ответственна за субстратную специфичность. Так как кофермент во время реакции изменяется, его можно назвать косубстратом. Если небелковая часть прочно связана с апоферментом (ковалентной связью или другим взаимодействием), она называется **протетической группой**.

Взаимодействие между субстратом и небелковой частью фермента протекает строго стехиометрически. Общий принцип реакции, в которой участвует небелковый компонент, состоит в том, что часть молекулы субстрата или целая молекула субстрата переносится на небелковую часть, и перенесенная группа вступает в реакцию с новым субстратом, а небелковая часть возвращается в исходное состояние. Переносимые группы могут быть простыми молекулами (H_2 , CO_2) или остатками более сложных соединений. В случае переноса водородов с помощью упомянутых уже пиридиновых и флавиновых коферментов это выглядит следующим образом:



Небелковыми компонентами фермента могут быть:

- соединения алифатического ряда (глутатион, липоевая кислота);
- соединения ароматического ряда (убихинон);
- нуклеотиды;
- металлы;
- производные водорастворимых витаминов.

В качестве примера можно привести никотинамидадениндинуклеотид (НАД^+) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат – (НАДФ^+), содержащие витамин РР (никотинамид, витамин B_3), а также флавиномононуклеотид (ФМН) и флавинадениндинуклеотид (ФАД), содержащие витамин B_2 (рибофлавин) (рис. 2.2). НАД^+ и НАДФ^+ входят в состав дегидрогеназ, а ФМН и ФАД – в состав дегидрогеназ и оксидаз, катализирующих окислительно-восстановительные реакции. Они выполняют функцию промежуточных акцепторов электронов и протонов.

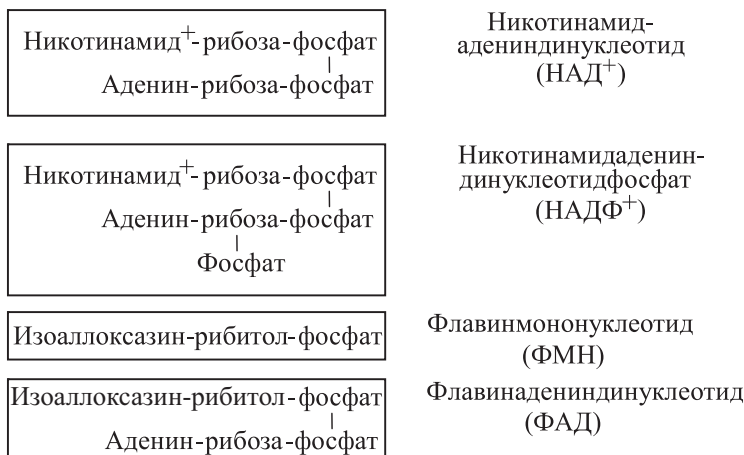


Рис. 2.2. Блок-схема структуры НАД^+ , НАДФ^+ , ФМН и ФАД

Группа производных витаминов приобретает важное значение еще и потому, что ряд витаминов не может синтезироваться клетками человека и многих животных. Поэтому протекание реакций, катализируемых ферментами с участием производных витаминов, зависит от поступления витаминов с пищей.

Кинетика изучает закономерности протекания ферментативных реакций, а о деятельности фермента судят по его активности. Поскольку ферментативные реакции могут протекать вне организма, их изучают в специальных лабораторных условиях. Для этого ферменты выделяют из клеток животных, растений, из биологических жидкостей. Затем их используют для исследования тонких механизмов и выявления путей управления ходом (кинетики) реакции. Изучение ***ферментативной кинетики*** дает возможность составить представление о механизмах регуляции физиологических реакций. Кроме того, знание кинетики ферментативных реакций важно для проведения ферментативной реакции в клинической лаборатории, для диагностики заболеваний, контроля проводимого лечения. Скорость ферментативной реакции отражает активность ферментов.

В общем виде под ***активностью*** понимают количество фермента или биологического материала, содержащего фермент, которое катализирует при определенных условиях в единицу времени превращение определенного количества субстрата. Иными словами, активность – это изменение количества субстрата под влиянием фермента в единицу времени. Под изменением субстрата понимают снижающееся в единицу времени количество субстрата или же увеличивающееся количество продукта. Мерой активности фермента является скорость ферментативной реакции.

Комиссией по ферментам Международного биохимического союза была рекомендована стандартная международная единица (Е или U): за единицу активности любого фермента принимается то его количество, которое в оптимальных условиях катализирует превращение 1 микромоля субстрата или образование 1 микромоля продукта в минуту (мкмоль/мин). В 1973 г. была принята новая единица активности ферментов – 1 катал (кат): количество фермента, которое катализирует превращение 1 моль субстрата за 1 с.

Размерность ее слишком велика, на практике пользуются меньшими кратными значениями, начиная с нанокатала

(нкат – это одна миллиардная единица катала, или 10^{-9} кат). В сравнении с международной единицей $1 \text{ U} = 16,67$ нкат.

В практике лабораторий широко пользуются понятием **удельная активность**. При этом число стандартных единиц пересчитывают на какую-либо единицу сравнения. Это может быть количество белка (мг) в пробе или объем исследуемой биологической жидкости.

Активность фермента в реакции $A + B \rightarrow C + D$ можно выразить или в снижении за определенное время количества A или B, или в увеличении количества вновь образующихся C и D, так как исчезновение A или B, как и появление C и D, находятся в прямом стехиометрическом отношении. Определение активности ферментов широко распространено в любой современной клинической лаборатории.

При изучении действия ферментов в пробирке (*in vitro*) было отмечено, что оптимальные условия его работы тесно связаны с различными факторами. Особое влияние на активность оказывают рН, температура, концентрация субстратов и химический состав реакционной среды.

Уравнение Михаэлиса и Ментен отражает влияние концентрации субстрата на активность фермента. При повышении концентрации субстратов от нуля до высоких значений скорость реакции меняется (рис. 2.3, а). При небольших концентрациях субстрата S отмечается прямая зависимость между концентрацией субстрата и скоростью реакции (реакция первого порядка). Повышение концентрации ведет к повышению скорости. При дальнейшем повышении имеет место все большее отклонение от прямой зависимости, прирост скорости реакции отстает от прироста концентрации субстрата. Кривая выходит на плато. Дальнейшее повышение концентрации субстрата до S_{\max} ведет к тому, что скорость реакции достигает максимума V_{\max} и далее не увеличивается, т.е. в данном случае скорость реакции не зависит от концентрации субстрата (реакция нулевого порядка).

При проведении ферментативных реакций обычно работают именно в этом интервале, так как здесь значительные колебания концентрации субстрата не оказывают влияния на измеряемую скорость реакции. Именно в зоне реакции нулевого порядка достигается пропорциональность между активностью фермента и его количеством (см. рис. 2.3, б). Это значит, что удвоение количества фермента удваивает активность и т.д.; так что в принципе здесь по измеряемой активности

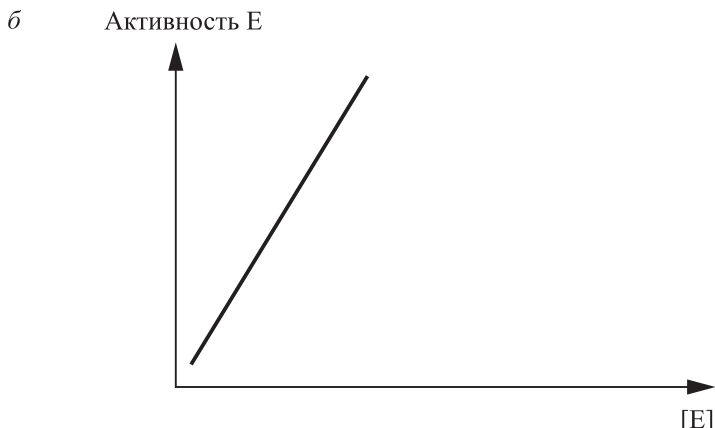
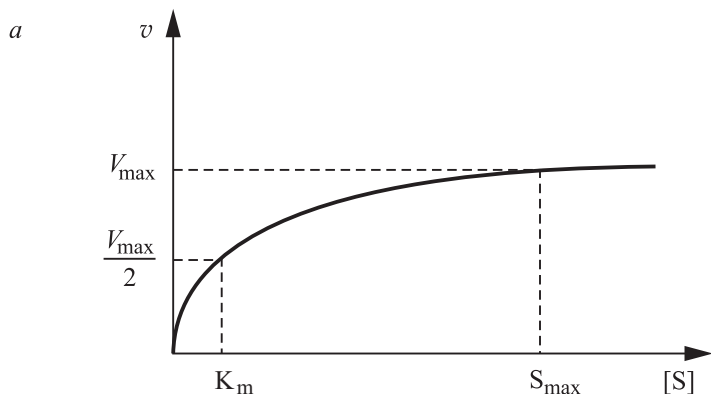


Рис. 2.3. Влияние концентрации субстрата (*a*) и количества фермента (*б*) на скорость химической реакции (объяснения в тексте)

можно оценить количество фермента. Такая зависимость приобретает особую важность в клинко-биохимической диагностике тех патологических состояний, когда ферменты из поврежденных тканей попадают в кровь.

Однако пропорциональность между активностью ферментов и их количеством может быть нарушена. В присутствии тормозящих или стимулирующих активность фермента веществ могут быть сделаны ложные выводы о количестве фермента. Поэтому, измеряя активность фермента, судят только

о его активности. О количестве фермента можно делать выводы только с учетом кинетики активности.

Исследование зависимости скорости ферментативных реакций от концентрации реагирующих веществ привело Л. Михаэлиса и М. Ментен в 1913 г. к созданию общей теории действия ферментов и ферментативной кинетики. Ферментная реакция состоит из двух этапов. Согласно этой теории на первом этапе, который представляет обратимый процесс, между ферментом и субстратом образуется комплекс ES. На втором этапе, протекающем много медленнее и поэтому определяющим скорость для всей реакции, ES разрушается на конечный продукт P и фермент:



где v_1 – скорость прямой реакции первого этапа; v_{-1} – скорость обратной реакции; v_2 – скорость второго этапа.

Символы, заключенные в угловые скобки, выражают концентрацию веществ. По **закону действующих масс** скорость второго этапа v_2 и общая скорость всей реакции зависит от $[ES]$ и эта зависимость пропорциональная:

$$v_2 = k_2 \cdot [ES],$$

где k_2 – фактор пропорциональности, называемый **константой скорости**.

Значение для $[ES]$ зависит от $[S]$, так как по закону действующих масс v_1 пропорционально $[E]$ и $[S]$:

$$v_1 = k_1 \cdot [E] \cdot [S],$$

где $[E]$ – концентрация фермента.

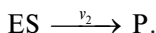
В равновесной реакции $v_1 = v_{-1}$ означает, что в единицу времени возникает столько ES, сколько разрушается. Поэтому в равновесной реакции количество ES остается постоянным. Для определенной $[S]$ устанавливается определенная $[ES]$, что со своей стороны обуславливает определенную v_2 . Если повышается $[S]$, повышается также концентрация $[ES]$ и v_2 . Общая реакция протекает быстрее. Это демонстрирует кривая на рис. 2.3 при низких концентрациях субстрата. Если $[S]$ повышается дальше, то вначале достигается точка, при которой все имеющиеся молекулы фермента насыщаются суб-

стратом, т.е. достигается максимальная $[ES]$, которая при дальнейшем повышении субстрата не меняется. В этой точке возникает максимальная v_2 , которую можно обозначить как V_{\max} всей общей реакции (см. рис. 2.3, а).

После математической обработки трех скоростей реакции v_1 , v_{-1} и v_2 по закону действующих масс рассчитывают смешанную константу для ES, которая названа **константой Михаэлиса** (K_m). Она состоит из трех констант скоростей k_1 , k_{-1} и k_2 (факторы пропорциональности для уравнения скоростей v_1 , v_{-1} и v_2 по закону действующих масс):

$$\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_m.$$

Однако во многих ферментативных реакциях константы k_1 и k_{-1} могут значительно превышать константу k_2 (фактор пропорциональности для v_2). В таких реакциях наиболее медленной стадией, лимитирующей суммарную реакцию, будет стадия



Поскольку величина k_2 в этом случае очень мала, ею можно пренебречь. Тогда уравнение может быть упрощено следующим образом:

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_{-1}}{k_1} = K = K_m \text{ (для } k_2 \ll k_1 \text{)}.$$

Очевидно, при этих условиях K_m является константой диссоциации комплекса ES и ее можно заменить фактором пропорциональности k .

Не трудно математически показать, что между измеряемым значением v , V_{\max} и константой Михаэлиса имеется связь:

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

Это уравнение названо **уравнением Михаэлиса**. Оно отражает не только течение экспериментально доказуемой формы кривой на рис. 2.3, но и возможность экспериментального измерения K_m .

Если применять концентрацию субстрата, численно равную K_m , то результирующая скорость (активность) равна половине максимальной. Конкретный пример: пусть $K_m = 1$, $[S] = 1$ (моль/л или г/л), тогда

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{1}{1+1} = \frac{1}{2}.$$

Это значит, $V = 1$, а $V_{\max} = 2$, т.е. v равно половине V_{\max} .

На практике это означает, что ход кривой, как на рис. 2.3, a , и V_{\max} можно определить, если измерить активность фермента при разных концентрациях субстрата. После установления концентрации субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной ($V_{\max}/2$), определяют значение K_m .

Константа Михаэлиса, подобно рН-оптимуму, чувствительности к температуре, относится к важным параметрам фермента, которые его характеризуют. В последующем изложении уравнение Михаэлиса будет использовано для характеристики типов торможения ферментов. Следует подчеркнуть, что кинетическое поведение большинства ферментов значительно сложнее, чем это вытекает из кинетики Михаэлиса и Ментен. Лучше всего подчиняется закономерностям начальная скорость ферментативной реакции. С точки зрения практики важно знать те условия и факторы, которые оказывают влияние на закономерности, приведенные на рис. 2.3.

Для более удобного представления экспериментальных данных уравнение (5.7) можно преобразовать по методу двойных обратных величин в уравнение Лайнуивера – Берка:

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

Это уравнение прямой линии (рис. 2.4).

Отрезок, отсекаемый на оси ординат, равен $1/V_{\max}$, наклон – K_m/V_{\max} . Отрезок, отсекаемый на оси абсцисс, равен $-1/K_m$.

Значения V_{\max} и K_m по этому графику определяются более точно по сравнению с графиком в прямых координатах (см. рис. 2.3, a).

У каждого фермента существует свой рН-оптимум. Существенное влияние на активность ферментов оказывает реакция среды. Для проявления их оптимального действия

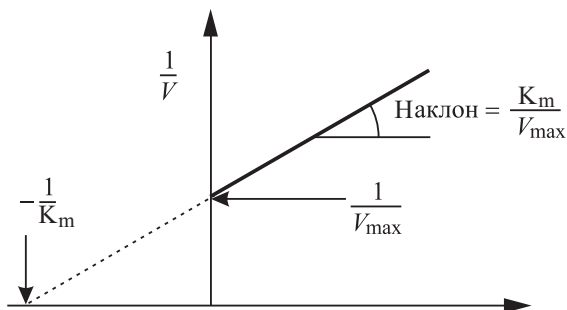


Рис. 2.4. График Лайнуивера – Берка

чаще всего существует узкий диапазон измерения pH среды — pH-оптимум. В некоторых случаях сдвиг pH на единицу приводит к изменению активности на 80%. Поэтому в экспериментальных условиях работы с ферментом важное значение имеет поддержание pH на постоянном уровне.

Например, пепсин желудочного сока, который катализирует гидролиз белков, имеет pH-оптимум при pH 2 (рис. 2.5). При pH 3 он теряет половину активности, а при pH 4 активность пепсина не измеряется. pH-Оптимум амилазы, фермен-

Активность, %

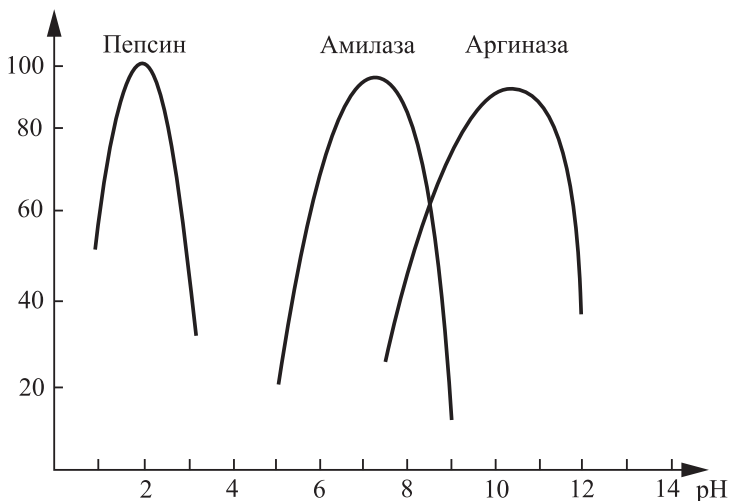


Рис. 2.5. Влияние pH на активность ферментов

та, катализирующего расщепление крахмала, составляет 7,0. Изменение pH на единицу приводит к снижению активности на 50%, а при изменении на две единицы отмечается полная потеря активности (см. рис. 2.4). Относительно редко встречаются случаи, когда pH-оптимум активности ферментов находится в сильно кислой или щелочной среде. Это характерно для таких ферментов, как пепсин и аргиназа (катализирует расщепление аргинина).

Большинство белков при экстремальных значениях pH неустойчивы. pH-Оптимум является важной характеристикой фермента, но никак не исключительной, присущей только данному ферменту. Дело в том, что многие ферменты имеют схожие значения pH-оптимума. Причина влияния pH среды на активность ферментов заключается в том, что изменение этого показателя приводит к изменению *степени ионизации* аминокруппы (NH_3^+) и карбоксильных групп (COO^-) в молекуле фермента. В результате белковая молекула фермента подвергается конформационной перестройке. Это оказывает влияние на взаимоотношение между ферментом и субстратом.

Повышение температуры неоднозначно влияет на активность фермента. Старое правило о том, что повышение температуры на 10° удваивает скорость химической реакции, распространяется и на активность ферментов (рис. 2.6). Так как все ферменты являются белками, а белки при температуре выше $40\text{--}50^\circ\text{C}$ в большинстве своем необратимо изменяются,

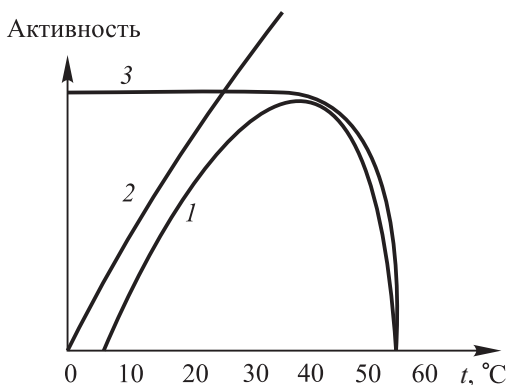


Рис. 2.6. Влияние температуры на активность фермента: активность фермента возрастает при повышении температуры (2); начиная с определенной температуры, совпадающей с началом денатурации белка (3), активность фермента (1) падает

температурный интервал для работы ферментов ограничивается определенными пределами.

Поскольку стабильность отдельных ферментов при нагревании различна, этот факт находит практическое применение при выделении и очистке ферментов. В смеси ферментов с различной температурной чувствительностью можно измерить активность более устойчивого к нагреванию фермента, если предварительно нагреть смесь до температуры, разрушающей другие ферменты этой смеси. Используя это свойство, например, в клинической практике, удастся разделить разные изоферменты ЛДГ. Так, специфический для сердца изофермент ЛДГ₁ значительно менее чувствителен к нагреванию, чем другие изоферменты. Поэтому после нагревания реакционной смеси остаточная активность ЛДГ₁ отражает активность ЛДГ, в то время как ферменты, специфичные для мышц и печени, при этом разрушаются.

Так как активность ферментов чувствительна к температуре, ферментативные реакции следует проводить при определенной температуре. Обычно работают при температурах между 25 и 40 °С.

Химический состав реакционной среды может тормозить или активировать фермент. Вещества, которые вызывают подобные эффекты, называют ***эффекторами***. Позитивные эффекторы ускоряют, а отрицательные тормозят активность ферментов. Это значит, что измеряемая активность в присутствии одного и того же количества фермента повышается при добавлении положительных эффекторов и снижается при добавлении отрицательных, по сравнению с реакцией, протекающей без эффектора. Подобное влияние имеет важное значение как в условиях исследований *in vitro*, так и в организмах (*in vivo*).

При исследовании ферментов в лабораторных условиях необходимо учитывать тот факт, что многие вещества могут оказывать влияние на ферментную активность, т.е. являются эффекторами. Поэтому любые изменения в методах исследования ферментов, к примеру, замене натрия калием в растворах и т.д., могут приводить к непредсказуемым результатам. Достаточно присутствия в зоне реакции следов тормозящего вещества, чтобы исказить результаты анализа.

Необходимым требованием является использование для ферментативных реакций тщательно очищенных веществ. Например, следы бихромата на стенках пробирок, даже после

тщательного полоскания их после мытья смесью серная кислота – бихромат могут нарушить работу фермента.

Подобно температурному влиянию, избирательное определение активности разных ферментов можно проводить с учетом чувствительности фермента к ингибиторам. Примером может служить использование мочевины для определения активности изоферментов щелочной фосфатазы, попадающей в кровь при заболевании разных органов.

В организме эффекторы регулируют активность ферментов, т.е. обратимо изменяют их функциональное состояние, при этом ключевые реакции могут или тормозиться, или стимулироваться. Ионы металлов (микроэлементов Mn, Co, Zn, Se и др. и ионов Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+) часто действуют как позитивные эффекторы, ибо они ускоряют связывание субстрата или влияют на конформацию активного центра. Органические соединения действуют часто как тормозящие вещества (ингибиторы).

Существуют разные типы торможения активности. При изменении внутренних и внешних условий организм способен регулировать обменные процессы и таким образом поддерживать гомеостаз. Так, изменение условий внутренней среды организма вследствие функциональных нарушений органа вызывает компенсаторные изменения обмена веществ, которые восстанавливают дефекты в органе. Если возникший дефект в организме таким образом устранить не удастся, развивается болезнь. Регуляция процессов жизнедеятельности должна быть высокоспецифической и обратимой. Неспецифические регуляторы могут оказать влияние сразу на несколько процессов в клетке, а необратимое изменение активности фермента не позволяет использовать его повторно в случае необходимости в быстро меняющихся условиях жизни клетки.

Рассмотрим, какие же существуют возможности в организме для регуляции ферментативной активности. Скорость ферментативных реакций регулируется в организме тремя принципиально разными механизмами: путем изменения количества фермента; путем изменения функционального состояния имеющегося количества ферментов; путем регуляции количества субстратов и продуктов в данном месте клетки (регуляция проницаемости мембран).

Чтобы достигнуть повышения активности путем ***увеличения количества фермента***, следует активировать процессы синтеза белков. Этот процесс называют ***индукцией***. Такая индукция ферментов у высших животных осуществляется с по-

мощью специальных сигнальных веществ – гормонов. Взаимодействуя с клетками, гормоны оказывают влияние на процессы синтеза белков. Выделение гормонов из мест их образования – желез внутренней секреции происходит в ответ на изменение концентрации субстратов. Последнее обстоятельство является своеобразным сигналом необходимости перестройки ферментативной активности. Если, например, в организме снижается уровень глюкозы, то компенсаторно активируются процессы синтеза глюкозы из других веществ, в данном случае – из аминокислот. Синтез необходимых для этого ферментов (ключевые ферменты глюконеогенеза или аминотрансферазы) стимулируется гормонами надпочечников – глюкокортикоидами. Восстановление нормальной концентрации метаболитов приводит к снижению выделения гормона, торможению вызванной ими транскрипции генов, кодирующих эти ферменты, и тем самым к снижению количества ферментов. Быстрая ответная реакция в таких условиях невозможна. Эта система включается как ответ на длительно действующие изменения метаболизма. В случае необходимости быстрого ответа клетки важным становится непосредственное влияние на активность ферментов (рис. 2.7).



Рис. 2.7. Принципиальные возможности регуляции функционального состояния ферментов

С позиции ферментативной кинетики следует различать конкурентное и неконкурентное торможение.

В случае конкурентного торможения регуляторы похожи на субстрат. В силу своей схожести они связываются с активным центром фермента. Возникает неактивный фермент-субстратный комплекс, который блокирует некоторое количество фермента. Такое торможение можно устранить избытком субстрата. Эти принципы широко используются клеткой, потому что наиболее похожим по структуре на субстрат может быть продукт реакции, а его накопление может по конкурентному механизму тормозить активность фермента. Многие лекарственные препараты специфически тормозят активность ферментов, потому что они похожи на субстрат. Хороший ингибирующий эффект достигается путем регулярного приема такого вещества (поддержание терапевтической концентрации). Такой способ торможения называют *изостерическим* (от греч. *isos* – похожий).

Второй принцип торможения исходит из представлений о месте связывания эффекторов на ферменте. Если эффектор не оказывает прямого влияния на связывание субстрата с активным центром, то говорят об *аллостерическом торможении*, или ингибировании. Фермент, ингибируемый таким образом, называют *аллостерическим*. Наряду с местом связывания субстрата он имеет специальное дополнительное место для связывания эффектора, которое называется *аллостерическим центром*. Аллостерический центр пространственно отделен от собственно каталитической единицы, в которой располагается центр, т.е. аллостерический фермент обладает четвертичной структурой. Торможение каталитической единицы при связывании аллостерического эффектора происходит в форме «дальнедействия». В результате изменяется конформация фермента и активный центр теряет способность присоединять субстрат (рис. 2.8). Аллостерическое торможение имеет большое значение для регуляции обмена веществ.

Модифицируя группы радикалов аминокислот фермента, можно изменить сродство аллостерического центра к эффектору. При этом активный центр остается каталитически действенным, но уже не подверженным влиянию аллостерического эффектора. Некоторые из таких молекул достаточно хорошо изучены у микроорганизмов.

Аллостерическая регуляция ферментов основана на принципах связывания аллостерического эффектора. Возможно

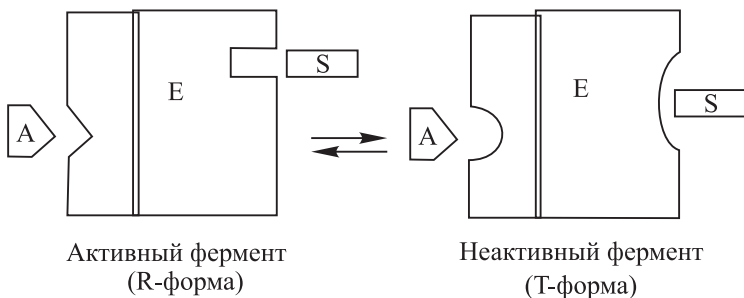
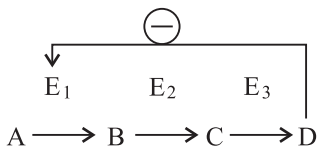


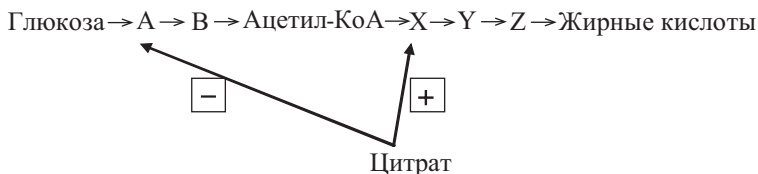
Рис. 2.8. Схематическое представление связывания аллостерического эффектора (А) на аллостерическом ферменте (Е) с последующим изменением конформации активного центра:
S – субстрат фермента

взаимодействие фермента с положительными и отрицательными эффекторами. Не исключается также одновременное связывание нескольких эффекторов.

Следует обратить внимание на то, что может быть и обратный эффект. Связывание субстрата в активном центре кооперативно изменяет конформацию и на регуляторном центре. В результате снижается аффинность (сродство) к эффектору. В этом случае имеет место своеобразная конкуренция между субстратом и эффектором, в результате которой действие эффектора может быть снято высокими концентрациями субстрата. В этом случае действие эффектора зависит от его же количества. Если, например, конечный продукт энзиматического процесса действует на фермент как нативный аллостерический эффектор, то при повышении продукции конечного продукта наступает торможение превращения субстрата. В свою очередь это приводит к накоплению субстрата. Тем самым создаются неблагоприятные условия для связывания эффектора, и превращение субстрата продолжается. Аллостерическая регуляция протекает чаще всего по принципу обратной связи. Конечный продукт цепи превращений тормозит ключевой фермент в начале цепи, т.е. вся цепь реакций регулируется конечным продуктом (например, при синтезе жирных кислот):



Возможны также разнонаправленные влияния одного и того же эффектора на различные цепи химических превращений. Так действует, например, *цитрат*. Он является негативным эффектором окисления глюкозы до ацетил-КоА. Одновременно он выступает в качестве положительного эффектора при использовании ацетил-КоА для процессов синтеза жирных кислот:

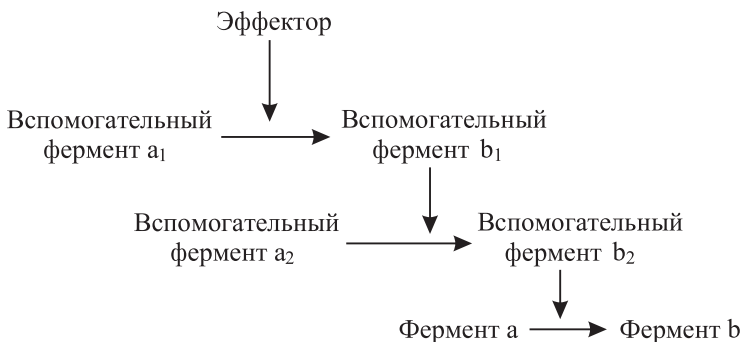


Тогда при интенсивном распаде глюкозы накопление цитрата будет тормозить окисление глюкозы и одновременно усиливать образование жирных кислот, тем самым увеличивается синтез нейтрального жира, который откладывается в депо.

Ковалентная модификация ферментов ведет к очень быстрому изменению их функционального состояния. Она заключается в ограниченном химическом изменении молекул фермента и включает введение или удаление небольшой группы атомов в молекуле фермента. Чаще всего речь идет об остатке фосфорной кислоты (фосфорилирование или дефосфорилирование ферментов) или об окислении SH группы. Функциональное состояние фермента до реакции отличается от такового после реакции. Обычно фермент существует в двух формах. В одной форме он неактивен, а в другой – активен. Химическая модификация, приводящая к переходу в другую форму, осуществляется вспомогательным ферментом. Причем для прямой и обратной реакций необходимы разные вспомогательные ферменты.

Эти вспомогательные ферменты регулируются модифицирующими эффекторами, которые появляются в ответ на гормональный сигнал. В качестве такого эффектора чаще всего выступает цАМФ. В противоположность аллостерическому эффектору, влияние модифицирующих эффекторов сохраняется даже после их исчезновения. В этом случае для возвращения фермента в исходное состояние необходим новый эффектор. Так как регуляция вспомогательных ферментов также является ферментзависимым процессом, в ряде случаев возни-

кают каскадные реакции в качестве тонких механизмов регуляции метаболизма:



Такие формы регуляции важны для активационного контроля мультиэнзимных комплексов. Под термином «мультиферментные комплексы» понимают комплексы ферментов, которые включают несколько ферментов в одной структурной единице. Чаще всего это ферменты, которые катализируют соседние реакции в цепи метаболических превращений. Примером может служить дыхательная цепь ферментов в мембране митохондрий или синтеза жирных кислот в цитозоле; рибосомы, являясь структурными элементами клеток, включают набор ферментов для трансляции. С помощью химической модификации можно регулировать функции мультиферментных комплексов.

Ферменты, регулируемые с помощью *обратимой химической модификации*, зачастую находятся в важнейших местах функционирования обмена веществ (например, фруктоза-1-6-фосфатаза как центральный фермент глюконеогенеза или пируватдегидрогеназа как переключатель между ана- и аэробными путями использования глюкозы.). Такие ферменты обычно подвержены гормональному контролю (гормональный сигнал мобилизует эффектор).

Белки-переносчики, встроенные в мембраны, могут регулировать поток субстратов и продуктов через клетку. Многие биологически важные субстраты поступают в клетку с помощью активного транспорта. В этом процессе участвуют специальные белки-переносчики, имеющие, как правило, четвертичную структуру. Работа таких белков во многом напоминает работу ферментов, поэтому регуляция поступления субстра-

тов в клетку основывается на тех же принципах, что и регуляция активности фермента. Для многих переносчиков известны аллостерические ингибиторы, некоторые из них могут быть химически модифицированы подобно ферментам. Для таких переносчиков синтезированы изостерические ингибиторы, сходные по структуре с веществом, которое они переносят.

Подбор условий должен предшествовать практическому применению анализа ферментативной активности. Определению активности ферментов в диагностике придается большое значение. Поэтому важно на основе знания кинетики ферментативных реакций усвоить правила для определения активности ферментов. Речь идет прежде всего о возможности оценить количества фермента по его активности и разработке оптимальных условий проведения ферментативной реакции. К последним относятся:

- установление рН-оптимума путем использования соответствующего буферного раствора с гарантией поддержания рН на постоянном уровне во время реакции;
- удаление из зоны реакции ингибирующих веществ;
- поддержание постоянной температуры во время проведения реакции;
- добавление в достаточном количестве коферментов;
- обеспечение избытка субстрата.

Избыток субстрата гарантирует измерение максимальной скорости и устраняет падение активности из-за потребления субстрата во время реакции. Условия проведения исследования должны строго соблюдаться, так как результаты определения активности ферментов должны быть репрезентативны и сопоставимы (необходимость сравнения данных, полученных у пациентов, с нормальными значениями; сопоставление данных, полученных в разных лабораториях). Эти стандартные условия устанавливаются с учетом кинетических параметров фермента. Они охватывают, как правило, буферные вещества, значение рН, температуру, время реакции, количество субстрата, кофермента и добавляемой жидкости. В предварительном исследовании устанавливают, изменение каких участников реакции в единицу времени следует измерять.

У каждого фермента может быть несколько названий. В самом общем плане название фермента образуется так, чтобы из названия можно было бы сделать заключение, какую реакцию он катализирует. При этом обязательно окончание «-аза». Название «лактатдегидрогеназа» означает, что этот

фермент катализирует дегидрирование лактата. Многие ферменты имеют *тривиальные названия*, которые не содержат указания на тип превращений.

Увеличение числа открываемых ферментов и значительная путаница с названиями заставило Международный биохимический союз разработать единые требования к названиям ферментов и *единую классификацию*. Все ферменты разделили на шесть классов:

1-й – оксидоредуктазы – катализируют окислительно-восстановительные реакции (дегидрогеназы, оксигеназы, оксидазы);

2-й – трансферазы – катализируют перенос групп между субстратами. (аминотрансферазы, ацилтрансферазы, фосфотрансферазы);

3-й – гидролазы – катализируют реакции расщепления при участии воды (пепсин, трипсин и т.д.);

4-й – лиазы – катализируют реакции отщепления групп с образованием двойных связей или присоединения по месту двойных связей;

5-й – изомеразы – катализируют реакции внутримолекулярной перестройки;

6-й – лигазы, или синтетазы, – образование ковалентных связей между субстратами с участием богатых энергией соединений типа АТФ.

В каждом классе имеются подклассы. В свою очередь подклассы разделили на подподклассы. Каждый подподкласс представлен списком названий ферментов, за каждым из них закреплен свой порядковый номер. Это позволило зашифровать каждый фермент. **Шифр фермента** – это четыре цифры, указывающие его место в классификации. Так, например, алкогольдегидрогеназа имеет шифр КФ.1.1.1.1. Это означает, что этот фермент принадлежит 1-му классу ферментов (первая цифра) и занимает первое место в списке ферментов (четвертая цифра) 1-го подподкласса (третья цифра), 1-го подкласса (вторая цифра) этого класса. Гексокиназа имеет шифр КФ.2.7.1.1, что означает ее отношение ко 2-му классу ферментов (трансферазы). Она занимает первое место (четвертая цифра) в списке ферментов 1-го подподкласса (третья цифра), катализирующих перенос остатка фосфорной кислоты (7-й подкласс).

Название фермента составляется по названиям субстрата, кофермента и типа реакции. Так как название при соблюдении

этих требований очень громоздко, такая точная номенклатура до сих пор не нашла распространения. Для давно известных ферментов употребляются старые названия, а вновь открытые ферменты называют в соответствии с рекомендуемыми требованиями. Чтобы избежать ошибок, Международный союз биохимиков опубликовал **Каталог ферментов**, в котором отдельные ферменты расположены по классам и подклассам с указанием шифра. При добавлении новых ферментов внутри какого-нибудь подкласса список ферментов продолжают. Шифр фермента, как правило, приводят вместе с названием ферментов. В сомнительных случаях для того чтобы выяснить, о каком ферменте идет речь, пользуются каталогом. Например, лактатдегидрогеназа – старое название, а L-лактат : НАД-оксидоредуктаза (ЕС.11.1.27) – новое название. В настоящее время с той же целью можно воспользоваться открытыми для всеобщего пользования базами данных в интернете.

Ферменты неравномерно распределены внутри клеток. Несмотря на то что для высокоразвитых организмов типичными являются ткани со специальными функциями, которые состоят из специализированных клеток, для всех клеток существует общая морфологическая и функционально-ферментативная организация. Основные субклеточные структуры и энзиматический статус тесно связаны с особыми функциями клеток, такими как способность к получению энергии и синтезу белков.

Специализированные структурные единицы клетки называют **органеллами**. Они, в известном смысле, могут сравниться с органами организма, потому что имеют свои задачи. В связи с этим ферменты *распределены неравномерно* по клетке. Они связаны с определенными структурами и местами в клетке, которые выполняют определенную роль в обмене веществ. Подобные отношения можно сравнить с большим заводом, в котором отдельные цехи выполняют специальные задания, однако каждый из них в своей деятельности зависит от другого.

Многие ферменты тесно связаны со структурными белками в данном отсеке клетки. В некоторых случаях едва ли возможно различить белок фермента и структурный белок. Такая жесткая фиксация ферментов к структурным образованиям клетки характерна не для одного, а для целой группы ферментов, которые катализируют цепь метаболических превраще-

ний. Вмешательство в такую структуру приводит к потере участников цепи или полной утрате функции органелл. Главные структуры клеток и органеллы представлены схематически на рис. 2.9.

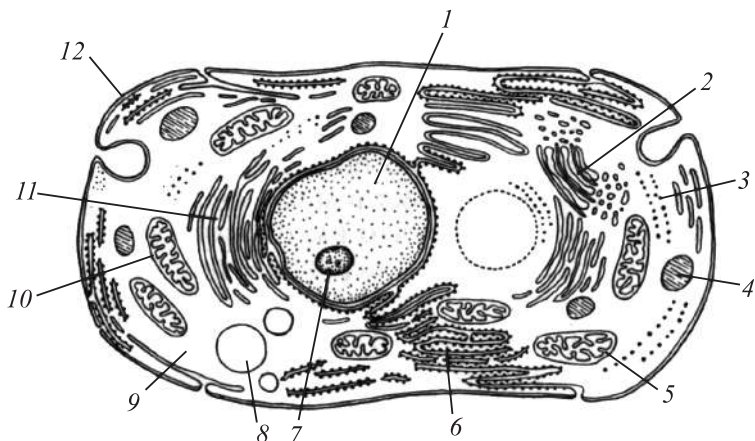


Рис. 2.9. Схема строения клетки:

1 – ядро; 2 – аппарат Гольджи; 3 – рибосомы; 4 – лизосома; 5 – митохондрия; 6 – эндоплазматическая сеть шероховатая; 7 – ядрышко; 8 – вакуоль; 9 – гиалоплазма; 10 – эндоплазматическая сеть гладкая; 11 – пиноцитозный пузырек; 12 – плазматическая мембрана

Плазматическая мембрана, являясь внешней мембраной клетки, ограничивает жидкое клеточное содержимое. Она отделяет внутриклеточную среду от внеклеточного пространства и регулирует транспорт веществ между внутренней и внешней средой. Без этого обмена клетки нежизнеспособны. В регуляции транспорта веществ принимают участие гормоны. Они изменяют проницаемость определенных мембранных участков и таким образом модифицируют транспорт отдельных метаболитов.

Имеются три возможных механизма проникновения веществ через клеточную мембрану. Это пассивная диффузия, посредством которой перемещается в первую очередь вода. Вторым механизмом служит так называемая облегченная диффузия, с помощью которой вещество также проходит через мембрану в направлении области с низкой его концентрацией. Однако в этом случае в процессе участвуют специфические мембранные компоненты, которые облегчают транспорт. Ответственная за транспорт мембранная система

называется *переносчиком*. Он может находиться под гормональным контролем. Такой переносчик доставляет глюкозу в клетки, причем этот процесс контролируется гормоном инсулином. Активный транспорт идет против градиента концентрации, т.е. в направлении зоны, где имеется большая концентрация транспортируемого вещества. Примером могут служить ионные насосы клеточных мембран.

Особой формой поступления веществ и относительно больших частиц является пиноцитоз. Поступающее вещество захватывается складкой мембраны (пиноцитозный пузырек) в своеобразный карман. Внешняя часть мембраны закрывается так, что вещество оказывается полностью поглощенным клеткой. Возникающий карман, или пузырек, называют *фагосомой*, которая соединяется с лизосомой, образуя *фаголизосому*. С помощью лизосомальных ферментов вещество разрушается. По пути, обратному пиноцитозу, клетки могут выделять наружу вещества, заключенные в вакуоль. Подобным образом, например, синтезируемые в клетках кишечника или печени липопротеины (хиломикроны, липопротеины очень низкой плотности и т.д.) попадают в кровь и лимфу. Поступление веществ путем пиноцитоза очень часто начинается со связывания его специальным рецептором. Такими рецепторами для многих веществ являются специфические белки мембраны. Влияние гормонов также регулируется прежде всего через контакт гормона с рецепторами. Присутствие рецепторов на поверхности мембраны придает последней способность отвечать на сигналы и поглощать разные вещества.

Клеточное ядро отличается среди других органелл своими размерами. Оно окружено мембраной с многочисленными порами. Ядро содержит (иногда даже несколько) небольших размеров образование – ядрышко. Практически вся ДНК находится в хромосомах и содержит генетический материал клетки. При делении клеток в ядре происходит репликация ДНК.

Митохондрии, которых в клетке насчитывается тысячи, обладают двойной мембраной. Поэтому в митохондриях различают наружную и внутреннюю мембраны. Внутренняя мембрана имеет кристы, что значительно увеличивает ее поверхность. Содержимое между кристами называют *матриксом*. В митохондриях тесно связаны ферменты и структурные белки. Во внутренней мембране локализованы функциональные единицы – комплексы ферментов дыхательной цепи и окислительного фосфорилирования. Они обеспечивают получение

и накопление энергии. Поэтому митохондрии называют силовыми станциями клетки. Комплексы реакций окисления жирных кислот и цикла Кребса протекают также в митохондриях. Таким образом, в митохондриях сосредоточен целый ряд мультиферментных комплексов. Тесный контакт ферментов и субстратов в мультиферментных комплексах благоприятствует быстрому протеканию реакций.

Лизосомы, или точнее – первичные лизосомы, – это пузырьковые образования, содержимое которых состоит из ферментов, катализирующих распад клеточных составных частей. Неконтролируемое действие этих ферментов после разрушения первичных лизосом может привести к растворению клетки. Поэтому в англоязычной литературе эти органеллы получили название *suicide bags* (пакеты-самоубийцы). В нормальных условиях действие лизосомных ферментов контролируется. Лизосомы используются для растворения веществ, поступающих в клетки путем пиноцитоза. При повреждении клеток и после их гибели ферменты выходят из первичных лизосом и вызывают растворение клетки (аутоцитоз).

Эндоплазматическая сеть представляет собой сеть внутренних клеточных мембран, разделяющих клетку в форме лабиринта цистерн и пузырьков. Этот лабиринт тесно связан с внешней мембраной. Большая часть цистерн обладает хорошо различимыми под электронным микроскопом частичками, которые называются *рибосомами*. Каждая клетка содержит их более одного миллиона. Рибосомы представляют собой рибонуклеопротеины, они являются местом синтеза белков. Мембраны эндоплазматической сети содержат ферменты для синтеза триацилглицеролов и сложных липидов. В печеночных клетках эндоплазматическая сеть служит дополнительно местом обезвреживания чужеродных веществ.

Цитозоль, или *гиалоплазма*, – это неструктурированное жидкое содержимое клеток, которое омывает все органеллы и заключено в мембрану. Там происходят синтез и распад углеводов, синтез жирных кислот и ряд подготовительных реакций (дегидрирование) для получения энергии в митохондриях.

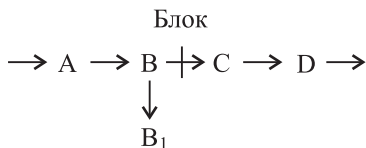
Пространственное разделение различных реакций обмена внутри клетки обуславливает необходимость транспорта промежуточных метаболитов. Так, например, окислительный распад углеводов до CO_2 и H_2O идет частично в цитозоле, частично в митохондриях. Наоборот, строительный материал

для синтеза жирных кислот должен доставляться из митохондрий в цитозоль. Неконтролируемый переход веществ через мембрану митохондрий невозможен. Для таких целей существуют многочисленные транспортные механизмы, в которых важную роль выполняют переносчики. **Переносчиком** называется вещество, которое, являясь частью мембраны или, будучи не связанным с ней, обеспечивает управление проницаемостью мембран для определенных субстратов. Примером такого переноса является поставка в митохондрию жирных кислот с участием карнитина. Многие из таких механизмов еще слабо изучены.

Следует еще раз подчеркнуть, что фракции отдельных клеточных органоидов тесно связаны друг с другом. Специфические функции подчинены выполнению общей функции клетки и существуют во времени только в связи друг с другом.

Как уже ранее упоминалось, в обмене веществ все метаболические пути в каких-либо пунктах соприкасаются или перекрещиваются. Примером такой взаимосвязи между различными отделами клеток могут служить процессы синтеза белков.

Нарушение функции фермента вызывает болезнь. Энзимопатии – заболевания, которые возникают при отсутствии или нарушении активности ферментов. Если фермент полностью отсутствует, то цепь реакции в таком месте разрывается:



Следствием этого является накопление продуктов А и В, их концентрация в крови повышается. В результате через почки они попадают в мочу. Существует вероятность, что избыточно накопленный субстрат может перейти на побочный путь метаболизма с образованием необычного вещества В₁, которое также может попадать в мочу. Если выделение невозможно, то эти продукты накапливаются в органах и тканях (*болезни накопления*). Такой исход еще более вероятен, если процесс распада блокируется, а синтез не нарушен. Клинические симптомы появляются в случаях, если избыточно накапливаемые вещества становятся токсичны в высоких концентрациях, если накапливаемые вещества препятствуют нор-

мальному проявлению функции или если продукты С, D чрезвычайно необходимы для дальнейшего использования.

Частым следствием ферментных дефектов являются тяжелые нарушения центральной нервной системы с ограничением умственных способностей. При диагностике подобных дефектов в клинической лаборатории доказательством является обнаружение необычно высоких концентраций веществ, возникающих при блоке (А, В) в крови и (или) моче, или ненормальных продуктов метаболического процесса (B_1). Более веским доказательством служит обнаружение отсутствия самой ферментативной активности. Получить его значительно сложнее. Для этого используют доступные для получения клетки (кожа, кровь) пациентов.

Энзимопатии основаны на ошибках в синтезе белков. Эти ошибки связаны с изменением участков ДНК, кодирующих структуру ферментов. Такие изменения называются *мутациями*. Так как дефект при репликации ДНК сохраняется, в дальнейшем он становится врожденным.

Различают первичные и вторичные энзимопатии. Первичные энзимопатии связаны с генетически обусловленной недостаточностью одного или нескольких ферментов. При этом дефектные ферменты наследуются в основном по аутосомно-рецессивному типу. Гетерозиготы, как правило, не имеют фенотипических отклонений. Первичные энзимопатии относят к метаболическим болезням, так как нарушаются определенные метаболические пути. При этом развитие заболевания может протекать по одному из трех нижеперечисленных вариантов.

1. *Нарушение образования конечных продуктов.* Недостаток конечного продукта определенного метаболического пути (при отсутствии других альтернативных путей синтеза) может приводить к развитию клинических симптомов, характерных для данного заболевания. В качестве примера можно рассмотреть альбинизм. При альбинизме нарушен синтез в меланоцитах пигментов-меланинов. Меланин содержится в коже, волосах, радужке, пигментном эпителии сетчатки глаза и определяет их окраску. При альбинизме наблюдается слабая пигментация кожи, волос, красноватый цвет радужки глаза из-за просвечивающихся капилляров. Возникновение альбинизма связано с недостаточностью фермента тирозиназы (тирозингидроксилазы) – одного из ферментов, участвующих в синтезе меланинов.

2. *Накопление субстратов-предшественников.* При недостаточности определенного фермента (Ех) будут накапливаться метаболиты, а также во многих случаях и предшествующие соединения, которые в цепи метаболических превращений образуются до уровня расположения поврежденного энзима Ех. Увеличение концентрации субстратов-предшественников дефектного фермента является ведущим звеном развития данных заболеваний. В качестве примера можно привести алкаптонирию. При этом заболевании нарушено окисление в тканях гомогентизиновой кислоты – промежуточного метаболита катаболизма тирозина. У таких больных наблюдается недостаточность фермента диоксигеназы гомогентизиновой кислоты. В результате этого увеличивается концентрация гомогентизиновой кислоты и ее выведение с мочой. В присутствии кислорода гомогентизиновая кислота превращается в соединение черного цвета – алкаптон. Поэтому моча таких больных на воздухе окрашивается в черный цвет. Алкаптон образуется также в биологических жидкостях, накапливаясь в тканях, коже, сухожилиях, суставах. При значительных отложениях алкаптона в суставах нарушается их подвижность.

3. *Нарушение образования конечных продуктов и накопление субстратов-предшественников.* Отмечают заболевания, когда одновременно недостаток продукта и накопление исходного субстрата формируют клиническую картину. Их примером является болезнь Гирке (гликогеноз I типа), при которой наблюдается гипогликемия в перерывах между приемами пищи. Это связано с нарушением распада гликогена в печени и выходом из нее глюкозы вследствие дефекта фермента глюкозо-6-фосфатазы. Одновременно у таких пациентов увеличиваются размеры печени (гепатомегалия) вследствие накопления в ней гликогена.

Вторичные энзимопатии являются следствием тех или иных патологических процессов, сопровождающихся нарушением активности ферментов. Они наблюдаются при многих заболеваниях. Так, например, причиной развития вторичной лактазной недостаточности могут являться: кишечные инфекции вирусной и бактериальной этиологии, паразитарные заболевания (лямблиоз и др.), синдром короткой кишки (пострезекционный), целиакия, токсическое и лекарственное поражения кишечника (на фоне лучевой и химиотерапии, антибиотикотерапии).

Одним из вариантов вторичных энзимопатий являются **алиментарные энзимопатии** – патологические состояния,

обусловленные стойкими нарушениями активности ферментов в связи с характером питания. Алиментарные энзимопатии могут быть обусловлены длительным дефицитом белка в питании (например, при квашиоркоре), нарушением биосинтеза коферментов при витаминной недостаточности, угнетением синтеза металлоферментов при низком содержании в рационе соответствующих минеральных веществ. Кроме того, они могут возникать при несбалансированном питании в целом. К развитию алиментарных энзимопатий может приводить также нарушение поступления пищевых веществ из желудочно-кишечного тракта в кровь при длительных поносах, атрофии или поражении слизистой оболочки кишечника и др. К алиментарным энзимопатиям относят и так называемые *токсические энзимопатии*, связанные с угнетением активности или биосинтеза отдельных ферментов различными естественными компонентами пищевых продуктов (ингибиторы протеолитических ферментов, антивитамины и др.) или чужеродными веществами (например, пестицидами), содержащимися в них.

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

Энзимопатии – довольно редкие заболевания. Важно их диагностировать как можно раньше. Поскольку на современном этапе восстановление повреждения ДНК невозможно, врачебная тактика сводится к устранению последствий. К примеру, можно устранить нарушение умственного развития при фенилкетонурии, если в первые месяцы жизни из питания ребенка исключить аминокислоту фенилаланин. Если упустить этот период времени, в дальнейшем лечение становится неэффективным.

Исследование активности ферментов помогает врачу в диагностике болезней. Наступающие изменения активности ферментов в сыворотке крови, клеточном соке или моче могут служить доказательством в постановке диагноза целого ряда заболеваний. Энзимодиагностика может быть эффективной в двух основных группах заболеваний:

- заболевания, которые связаны с нарушением или гибелью клеток;
- заболевания, при которых повреждаются пути выделения ферментов.

В случае если заболевание ведет к повреждению клеток, начиная с ограничения функций мембран до тяжелых повреждений органелл или всей клетки (некроз), то из клеток и поврежденных органелл специфические ферменты поступают через капилляры и лимфу в кровоток. Тогда их активность можно определять в крови.

Если при заболевании заблокированы пути выведения ферментов, то такие ферменты накапливаются сначала в органах, где они синтезируются, а затем могут проникать в кровь. В норме активность этих ферментов в крови незначительна. Поэтому всякое повышение ее наводит на мысль о повреждении. Все вышесказанное позволяет выделить две группы ферментов, важных с точки зрения диагностики заболеваний:

- секретлируемые ферменты;
- клеточные ферменты.

Под *секретлируемыми ферментами* понимают такие ферменты, которые образуются в определенных органах и затем выделяются из этих органов в кровь, желчь или в кишечник, где они выполняют свои функции. Типичным примером являются ферменты, принимающие участие в переваривании пищи (липаза, амилаза), которые образуются поджелудочной железой и выделяются в просвет кишечника. Аналогично ферменты, катализирующие процессы свертывания крови, образуются в печени и выделяются в плазму крови.

Острое воспаление поджелудочной железы может привести к тому, что ферменты, катализирующие в норме переваривание компонентов пищи, через поврежденные воспалением капилляры могут попасть в кровь. С другой стороны, перекрытие в силу различных причин, просвета ходов, связывающих поджелудочную железу с кишечником, может сопровождаться возвратом ферментов в железу и уменьшением их поступления в кишечник.

Хронические заболевания различных органов зачастую сопровождаются нарушением в них биосинтетических процессов. Вследствие этого снижается активность секреторных ферментов в местах их действия. Учитывая органную специфичность секретлируемых ферментов, определение их активности в ряде случаев помогает в диагностике органной локализации заболеваний.

В случае определения активности *клеточных ферментов* сложно интерпретировать полученные результаты. Это вызвано низкой специфичностью ферментов, поскольку эти фер-

менты есть в каждом органе. Данный недостаток может быть устранен при определении изоферментов, которые обладают органоспецифичностью. В качестве примера можно привести определение активности изоферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Повышение активности ЛДГ₁ и ЛДГ₂ в крови указывает на поражение сердечной мышцы, а увеличение ЛДГ₅ без существенного повышения ЛДГ₁ свидетельствует о поражении клеток печени.

Повысить диагностическую ценность помогает также параллельное определение активности нескольких клеточных ферментов с последующим подсчетом их соотношения. Дело в том, что спектр активности клеточных ферментов в крови зависит от рода и места заболевания. Измерение активности ферментов имеет значение не только для постановки диагноза и ранней диагностики (к примеру, при инфекционном гепатите оно проявляется уже в день появления клинических симптомов). Повторное исследование активности в процессе болезни позволяет следить за ходом патологического процесса и прогнозировать исход заболевания. При инфаркте миокарда вероятность возникновения рецидивов можно установить не только по ЭКГ, но и с помощью энзимодиагностики. При гепатитах, используя энзимодиагностические тесты, удастся предсказать как превращение острых проявлений заболеваний в хронические, так и появление клинически бессимптомных рецидивов.

При определении активности ферментов в сыворотке крови исключительное значение имеет время исследования, так как повышение активности в сыворотке происходит только в тот период развития заболевания, когда фермент появляется в крови. Обычно происходит быстрое повышение активности и медленное возвращение ее к норме. Естественно, в данной главе невозможно перечислить все возможности и особенности энзимной диагностики. Здесь упомянуты лишь принципиальные положения этого метода. При последующем обсуждении процессов обмена веществ, представления об энзимодиагностике будут расширены. В диагностике заболеваний имеют значение отдельные ферменты. Мы остановимся лишь на двух ферментах, значение которых с точки зрения энзимодиагностики представляется нам важным. Это фосфатаза и γ -глутамилтранспептидаза.

Фосфатаза – фермент, который не имеет выраженной субстратной специфичности к органическим эфирам фосфор-

ной кислоты. По рН-оптимумам различают *кислую* и *щелочную* фосфатазы. Кислой фосфатазы особенно много в предстательной железе. При раке простаты активность ее увеличивается в сыворотке крови. Щелочная фосфатаза находится во многих органах, особенно в костной ткани и печени. Подобно ЛДГ, существуют ее органоспецифические изоферменты.

Печеночная фосфатаза, хотя и является клеточным ферментом (лизосомы), в небольших количествах выделяется с желчью в кишечник. Поэтому при нарушении оттока желчи (желчный камень, опухоль) происходит обратный ток желчи (холестаза), возвращение фосфатазы в печень и попадание в кровь. Этот эффект может иметь место при повреждении печеночных клеток. Повреждение печени и внеклеточное нарушение тока желчи могут вести к возникновению желтух. Энзимодиагностическое исследование щелочной фосфатазы используется для дифференциальной диагностики желтух. Такая диагностика имеет чрезвычайное значение для пациентов. Дело в том, что разные типы желтух требуют принципиально разного лечения: хирургического – в случае закупорки желчного протока, консервативного – при паренхиматозном повреждении печени. Активность щелочной фосфатазы повышается при патологических процессах в костной ткани (метастазы в кость или распад костей). Различить изоферменты фосфатазы из печени и костей можно на основании их различной чувствительности к мочевины. После добавления определенного количества мочевины остаточная активность связана с печеночной фосфатазой, ибо она не ингибируется мочевиной.

γ-Глутамилтранспептидаза является печеночным ферментом и имеет значение для диагностики нарушений функций печени. При паренхиматозных заболеваниях печени, расстройстве функции желчевыделительной системы часто намного раньше других клеточных ферментов в сыворотке крови повышается активность этого фермента (ранняя диагностика).

Ферменты можно использовать как лекарственные препараты и для анализа. Помимо определения активности ферментов с диагностической целью имеет значение и определение содержания субстратов с помощью *изолированных ферментов*. Для этого к определенному образцу добавляют

избыток фермента в оптимальных для реакции условиях. Затем полученный продукт определяют специальными методами. Преимущество такого подхода заключается в том, что в образовании конечного продукта исключено неспецифическое участие других веществ.

В качестве примера можно привести определение концентрации глюкозы. Учитывая большую схожесть всех моносахаридов (гексоз) при определении концентрации глюкозы обычными ферментативными методами, разные гексозы дают одинаковые конечные продукты. Естественно, это ухудшает достоверность конечных результатов. Использование фермента в реакциях превращения глюкозы основано на свойстве субстратной специфичности и исключает участие в химической реакции других сахаров. В этом случае определяется концентрация только глюкозы.

Кроме высокой специфичности ферментативные методы исследования просты и удобны для проведения. Среди субстратов, концентрацию которых определяют с помощью ферментов, можно назвать глюкозу, фруктозу, триацилглицеролы, лактат, пируват, мочевины, этанол, уксусный альдегид, АТФ и холестерол.

Ферменты все больше завоевывают признание как лекарственные препараты в лечении многих заболеваний. Их используют прежде всего при нарушении синтеза ферментов в организме (заместительная терапия), для растворения сгустков крови при тромбозах, при лечении воспалительных процессов и т.д. Не меньшей популярностью пользуются *ингибиторы ферментов*. Например, при лечении панкреатитов используют ингибиторы протеолитических ферментов.

Большой интерес представляет использование в лечебной практике *иммобилизованных ферментов* (от лат. *Immobilis* – неподвижный). Фермент связывают с не растворимым в воде носителем (ковалентно или путем адсорбции), инкапсулируют в полупроницаемые мембраны или гели. Такие ферменты можно использовать и в лабораторной практике как реагенты **для анализа**. При этом в отличие от растворимых форм данные ферменты можно использовать многократно. Формы этих ферментов удобны в лечении поражений кожи (марлевые повязки с иммобилизованными ферментами при лечении ожогов, кожных болезней).

Краткое содержание главы

Окислительно-восстановительные процессы стали ведущими в механизмах обеспечения энергией жизни на Земле. Для постепенного высвобождения энергии в механизме окислительно-восстановительных реакций между окисляемым субстратом и конечным акцептором участвуют промежуточные переносчики электронов. Известны четыре основных механизма биологического окисления. Основным является дегидрирование субстратов, которое осуществляется двумя способами: отщеплением двух атомов водорода и отщеплением гидрид-иона с высвобождением свободных протонов. Кроме того, окисление может происходить путем присоединения кислорода к субстрату и путем отщепления только электронов.

Ферменты переноса протонов и электронов относятся к классу оксидоредуктаз. В зависимости от механизма окисления различают дегидрогеназы (никотинамид- и флавинзависимые), оксигеназы (катализируют присоединение кислорода к субстрату) и оксидазы (передают электроны непосредственно на кислород).

Ферментные комплексы дыхательной цепи – это структурно и функционально организованные объединения молекул, обеспечивающих не только сам процесс окисления, но и механизмы трансформации высвобождающейся энергии в удобные для дальнейшего использования макроэргические соединения. Внутренняя мембрана митохондрий – структурная форма организации дыхательной цепи, построенной из четырех полиферментных комплексов.

Коэнзим Q и цитохром с – молекулы, которые обеспечивают перенос электронов между прочно связанными с мембраной полиферментными комплексами: коэнзим Q – между комплексами I, II и комплексом III, а цитохром с – между комплексами III и IV.

Окислительное фосфорилирование – механизм образования АТФ за счет энергии градиента электрохимического потенциала (сумма градиента протонов и градиента заряда, возникающего по обе стороны мембраны), образующегося в результате работы комплексов дыхательной цепи митохондрий. Внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для протонов. Комплексы дыхательной цепи используют энергию переноса электронов для перекачивания протонов из матрикса в межмембранное пространство (на каждые два переносимых электрона комплексы I, III и IV переносят 10 протонов).

АТФ-синтаза – комплекс V внутренней мембраны митохондрий использует энергию градиента электрохимического потенциала для синтеза АТФ. Образование одной молекулы АТФ сопровождается переносом в матрикс трех протонов и еще один протон из межмембранного пространства переносится при транспорте АТФ из матрикса в цитозоль. Таким образом, синтез одной молекулы АТФ сопровождается переносом в матрикс четырех протонов.

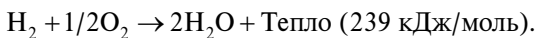
Разобщение окислительного фосфорилирования. Сопряжение между синтезом АТФ и дыханием (перенос электронов на кислород) обеспечивается градиентом электрохимического потенциала. Любое воздействие, ведущее к снижению градиента, вызывает разобщение этих двух процессов. Разобщающим эффектом обладают молекулы, способные связывать протоны и хорошо растворяться в липидах. Такие молекулы способствуют переносу протонов через мембрану и снижают градиент электрохимического потенциала.

Клинико-лабораторное значение. Образование энергии в организме осуществляется в результате расщепления веществ – энергетических субстратов. При этом возникают энергетически бедные конечные продукты, сами же субстраты характеризуются высоким содержанием химической энергии. Они образуются при распаде углеводов (глюкоза), липидов (жирные кислоты и глицерин), белков (аминокислоты). Нуклеиновые кислоты как источники энергии не имеют значения. Конечными продуктами полного окисления углеводов, липидов и белков (как поступивших с пищей, так и эндогенных) являются углекислый газ и вода. Они образуются разными путями: углекислый газ – в реакциях декарбоксилирования

аминокислот, пирувата, кислот цикла Кребса (см. ниже), а вода – в процессе окисления водорода, принадлежащего субстратам тканевого дыхания. В лабораторной диагностике показатели, характеризующие энергетический обмен, практически не используются, однако этот раздел имеет большое теоретическое значение для понимания механизмов внутриклеточного метаболизма и жизнедеятельности организма в целом.

Тканевое дыхание – это последовательность окислительно-восстановительных реакций. Процессы тканевого дыхания катализируются оксидоредуктазами и протекают при участии внутренней мембраны митохондрий. По сути, **окисление** – это отдача электронов, **восстановление**, напротив, – присоединение электронов.

В митохондриях поток электронов устремляется от субстрата, содержащего водород, к молекулярному кислороду. Реакция соединения водорода с кислородом сопровождается выделением большого количества тепла:



В этой реакции водород отдает свой электрон (окисляется), а атом кислорода присоединяет два электрона (восстанавливается). Понятно, что в клетке в таком виде реакция протекать не может. Отличием биологического окисления от реакции *in vitro* является, во-первых, постепенное, поэтапное выделение энергии, во-вторых, окисляется не молекулярный водород, а водород в составе субстратов (SH_2), в-третьих, энергия высвобождается не только в виде тепла, но и аккумулируется в виде электрохимического потенциала (см. ниже) и АТФ.

Реакция образования воды в митохондриях протекает не одномоментно, она состоит из большого числа связанных друг с другом шагов реакций, составляющий *реакционную цепь*. Эта цепь начинается с отрыва водорода субстрата и заканчивается переходом электронов на кислород, поступающий с вдыхаемым воздухом. Переносчиками электронов и протонов водорода являются ферменты дыхательной цепи – оксидоредуктазы.

Направление переноса протонов и электронов определяет окислительно-восстановительный потенциал (редокс-потенциал). Он выражается значением электродвижущей силы (в

вольтах), которая возникает между растворами восстановителя и окислителя, взятых в концентрации 1 М, при стандартных условиях. Так, при физиологическом значении рН редокс-потенциал пары $\text{H}_2/2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ равен $-0,42$ В. Знак «минус» указывает на выраженные восстановительные свойства: чем более отрицателен редокс-потенциал, тем более ярко выражены его восстановительные свойства. Напротив, чем более положителен окислительно-восстановительный потенциал, тем в большей степени выражена способность данной редокс-пары принимать электроны. Например, редокс-потенциал пары $1/2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O} = +0,82$ В, следовательно, кислород обладает наивысшей способностью принимать электроны.

Компоненты дыхательной цепи в митохондриях пространственно организованы. Дыхательная цепь имеет определенную структурную организацию, компоненты которой встроены во внутреннюю мембрану митохондрий и объединены в **дыхательные комплексы** (рис. 3.1).

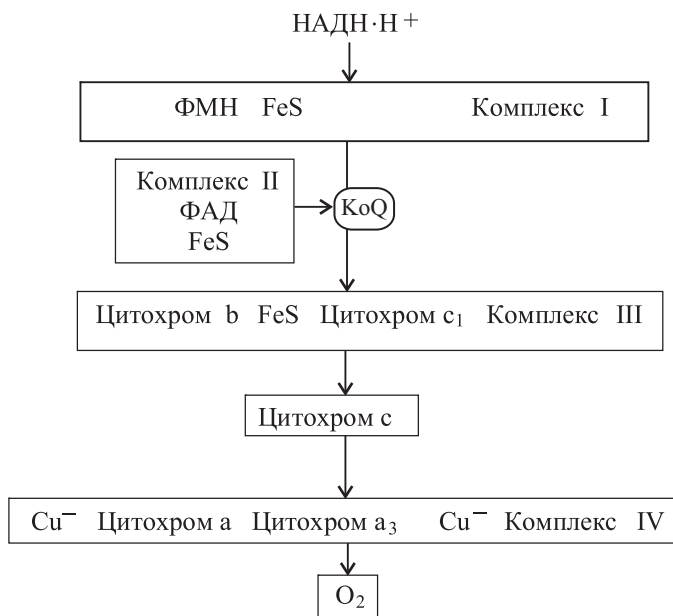
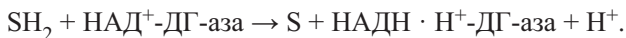


Рис. 3.1. Схема ферментных комплексов дыхательной цепи:
для каждого комплекса указаны кофакторы

Порядок расположения комплексов зависит от величины их редокс-потенциала. Для пары НАДН · Н⁺/НАД⁺ он равен –0,32 В; следовательно, электроны будут легко отщепляться и переноситься на комплексы, имеющие меньшую отрицательную и большую положительную величину. Название дыхательного комплекса, переносящего протоны и электроны, складывается из названия донора протонов и электронов и названия акцептора. Таким образом, комплекс I будет называться НАДН · Н⁺-убихинон-оксидоредуктаза, II – сукцинат-убихинон-оксидоредуктаза, III – убихинол-цитохром C-оксидоредуктаза, IV – цитохром C-оксидаза.

Субстраты (SH₂) проникают в матрикс митохондрии и подвергаются воздействию НАД⁺-зависимых дегидрогеназ:



Символом SH₂ обозначаются такие субстраты, как пировиноградная кислота, субстраты цикла Кребса (изоцитрат, α-кетоглутарат, малат), оксипроизводные жирных кислот, глутаминовая и некоторые другие аминокислоты.

НАД⁺-дегидрогеназы – это ферменты, способные «отнимать» протоны и электроны у субстратов, образовавшихся в матриксе, и передавать их комплексу I дыхательной цепи. Такие дегидрогеназы называют также **пиридиновыми дегидрогеназами**, так как в состав кофермента НАД⁺ входит витамин РР (производное пиридина). НАД⁺ (никотинамидадениндинуклеотид) – это динуклеотид, в котором никотинамидный монопнуклеотид связан с адениловым монопнуклеотидом через остаток фосфорной кислоты (см. рис. 2.2). В окисленной форме никотинамид находится в форме *пиридиниевого катиона*. Сокращенно окисленную форму обозначают НАД⁺. Пиридиениевый катион способен обратимо присоединять к себе гидридион (Н⁻), переходя в восстановленную форму – НАДН · Н⁺.

Таким образом, от субстрата на НАД⁺ переносится два электрона и один протон. Второй протон водорода субстрата остается в окружающей среде. Выполнив свою задачу по восстановлению НАД⁺, пиридиновые дегидрогеназы уже от восстановленного кофермента переносят два электрона и один протон (а второй протон они забирают из матрикса) на комплекс дыхательной цепи I (рис. 3.2).

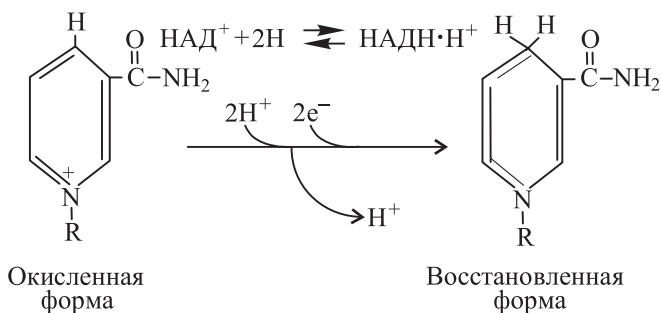
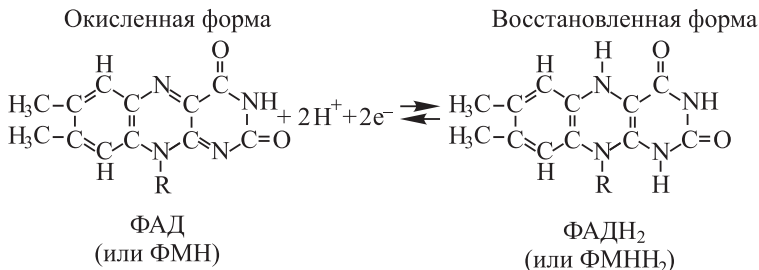


Рис. 3.2. Восстановление никотинамида

Комплекс дыхательной цепи I – (НАДН · Н⁺-убихинон-оксидоредуктаза). Это сложный *полиферментный комплекс*, обладающий большой молекулярной массой (700–900 кДа). Он состоит из 44 белковых субъединиц. Кофермент ФМН – флавинмонокнуклеотид (см. рис. 2.2). ФМН способен восстанавливаться, присоединяя два атома водорода (т.е. два протона и два электрона), отдаваемых НАДН · Н⁺ в составе пиридиновых дегидрогеназ:



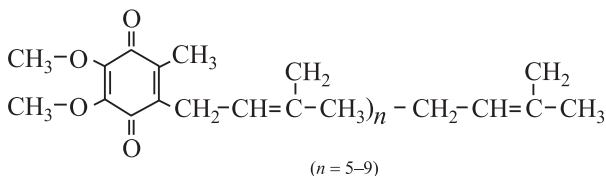
Кроме ФМН в состав комплекса I входят 8–9 *железосерных кластеров* (содержат 20 атомов негеминового железа и 20 атомов серы). Железосерные кластеры осуществляют разделение потока протонов и электронов. При этом электроны от ФМНН₂ переносятся к внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрий (обращенной к матриксу), а протоны – к внешней поверхности внутренней мембраны и далее, в межмембранное пространство. Комплекс I на каждые два переносимых электрона «закачивает» в межмембранное пространство четыре протона.

Разность редокс-потенциала комплекса I (между пиридиновыми дегидрогеназами и убихиноном) составляет 0,38 В, этого вполне достаточно для синтеза двух молекул АТФ (для синтеза одной молекулы эта разница должна быть около 0,2 В). Однако в этом комплексе, так же как и в названных других, непосредственно АТФ не образуется, а высвобождающаяся в результате падения редокс-потенциала энергия аккумулируется (см. генерирование электрохимического потенциала) или рассеивается в виде тепла.

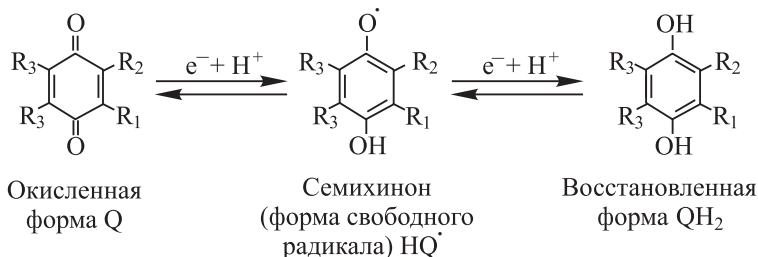
Комплекс дыхательной цепи II – сукцинат-убихинон-оксидоредуктаза. Этот комплекс отличается меньшей молекулярной массой, он также содержит железосерные белки. С этим комплексом взаимодействует *сукцинат*, поступающий из матрикса митохондрий, а также находящиеся в матриксе *жирные кислоты*. Коферментом комплекса является ФАД – флавинадениндинуклеотид (см. рис. 2.2).

В результате включения водорода субстратов через ФАД-зависимые дегидрогеназы (комплекс II) энергия в основном рассеивается в виде тепла, так как падение редокс-потенциала на этом участке дыхательной цепи незначительно (около 0,05 В) и этой энергии недостаточно для синтеза молекулы АТФ.

Убихинон (коэнзим Q):



Убихинон (кофермент Q)



Это небольшая молекула (производное бензохинона) с длинной боковой цепью, способная свободно перемещаться как вдоль, так и поперек мембраны. Перемещаясь, молекулы убихинона захватывают протоны и электроны от комплексов I и II дыхательной цепи, а также протоны из матрикса. При этом убихинон восстанавливается (убихинол, CoQH_2). Восстановленная форма в свою очередь передает два электрона комплексу III дыхательной цепи (возможно, с участием какого-то индивидуального переносчика), а протоны при этом высвобождаются в межмембранное пространство.

Комплекс дыхательной цепи III – убихинол-цитохром С-оксидоредуктаза.

Комплекс дыхательной цепи IV – цитохром с-оксидаза. В состав III и IV комплексов входят сложные белки – **цитохромы**. Их простетическая группа, близкая по химическому строению гему в составе гемоглобина, также содержит железо. Поэтому цитохромы являются хромопротеинами (chroma – краска). В противоположность гемоглобину, в котором железо должно быть в двухвалентной форме, железо в цитохромах переходит от двух- к трехвалентному состоянию (и обратно). Цитохромы представлены 5 основными группами: b, c_1 , c, a , a_3 , которые различаются не только особенностями строения своих простетических групп, но и белковой частью. Порядок расположения цитохромов в дыхательной цепи определяется величиной их редокс-потенциала: самый высокий он у цитохрома b (+0,07 В), самый низкий – у цитохрома a_3 (+0,55 В).

Цитохромы b и c_1 объединены в комплекс, который получил название «комплекс дыхательной цепи III»; цитохромы a и a_3 образуют дыхательный комплекс IV. Входящие в состав комплексов цитохромы ориентированы в мембране строго определенным образом: цитохром c_1 расположен в липидном слое ближе к наружной поверхности внутренней мембраны, а активный центр цитохрома a_3 обращен в матрикс. Такое расположение цитохромов позволяет направить поток электронов от наружной поверхности внутренней мембраны митохондрий к ее внутренней поверхности.

Работа комплекса III заключается в транспорте электронов от убихинола на цитохром c. Этот процесс осуществляется следующим образом: от восстановленной формы цитохрома b электроны поступают на окисленную форму цитохрома c. Однако работа комплекса III на этом не заканчивается. Ферменты комплекса III способны захватывать из матрикса прото-

ны и переносить их в межмембранное пространство. Подобно комплексу I, на каждые два переносимых электрона в межмембранное пространство попадают четыре протона. При этом существенно падает окислительно-восстановительный потенциал (от +0,07 В у цитохрома b до +0,25 В у цитохрома c), а высвободившейся энергии достаточно для синтеза одной молекулы АТФ.

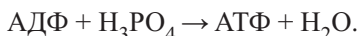
От комплекса III электроны переносятся на комплекс IV с помощью очень подвижного фермента – *цитохрома c*. Эта небольшая молекула (содержит в своем составе 104 аминокислоты и одну гемоподобную структуру) способна активно перемещаться, совершая челночные движения вдоль внешней поверхности мембраны от комплекса III к комплексу IV. Цитохром c при этом переносит только электроны, попеременно восстанавливаясь и окисляясь (как и другие цитохромы). Комплекс дыхательной цепи IV называется *оксидазой*, т.е. ферментом, способным непосредственно реагировать с кислородом. В отличие от других цитохромов, цитохромы a и a₃ помимо железа содержат медь. Медь способна, как и железо, переходить в окисленное или восстановленное состояние. При этом электроны от цитохрома c последовательно переносятся на цитохром a, а затем на цитохром a₃. Конечным акцептором электронов является молекулярный кислород воздуха. Восстановление кислорода происходит на цитохроме a₃, обращенном к матриксу:



Ионы H⁺ для образования молекул воды берутся из матрикса митохондрий. Редокс-потенциал комплекса IV велик (+0,57 В), его хватит на образование по меньшей мере двух молекул АТФ. Важнейшей функцией комплекса IV является также активный транспорт протонов (два протона на каждые два переносимых электрона). Протоны транспортируются в межмембранное пространство митохондрий.

Таким образом, работа дыхательной цепи сводится к транспорту электронов от субстрата тканевого дыхания к кислороду. Энергия, высвобождаемая при окислении (переносе электронов), используется для транспорта протонов. Перенос двух электронов сопровождается высвобождением в межмембранное пространство 10 протонов.

Окислительное фосфорилирование – основной механизм синтеза АТФ в клетке. В 30-х гг. прошлого столетия академик В.А. Энгельгард обнаружил, что при тканевом дыхании митохондрий наряду с кислородом используется неорганический фосфат. При этом на один атом поглощенного кислорода расходуется три молекулы фосфата, т.е. отношение $P/O = 3$. Этот показатель позднее В.А. Белицером и Е.Т. Цыбаковой был назван **коэффициентом фосфорилирования**. Таким образом, в дыхательной цепи должны быть три пункта сопряжения дыхания (транспорта электронов и протонов) с фосфорилированием (присоединением неорганического фосфата к АДФ). Реакция протекает по уравнению



Механизм синтеза АТФ, сопряженный с тканевым дыханием, получил название **окислительное фосфорилирование**. Падение величины редокс-потенциала в каждой из реакций, катализируемых комплексами I, III и IV дыхательной цепи (рис. 3.3), составляет более 0,2 В. Эта величина соответствует высвобождению 42 аДж/моль энергии. Такого количества энергии достаточно для образования одной макроэргической связи АТФ. В связи с этим при окислении НАДН · H^+ , когда в переносе электронов участвуют комплексы I, III и IV дыхатель-

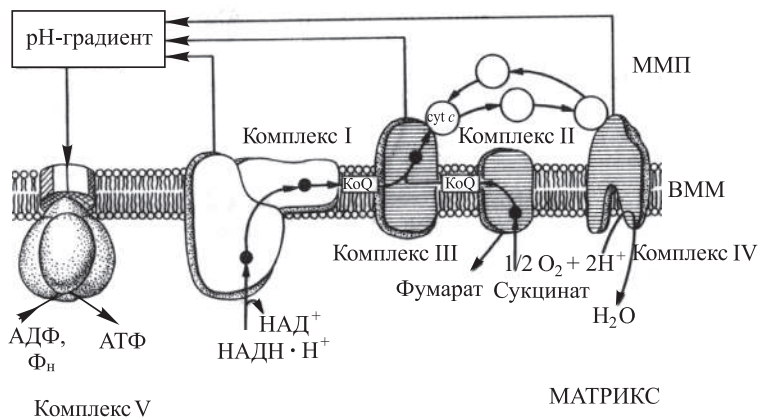


Рис. 3.3. Расположение комплексов дыхательной цепи в мембране митохондрий: ММП – межмембранное пространство; CoQ – убинон; ВММ – внутренняя мембрана митохондрий

ной цепи, высвобождаемой энергии достаточно для образования трех молекул АТФ, а при окислении ФАД-зависимых субстратов (в переносе участвуют комплексы III и IV) – только двух молекул АТФ. Однако синтез АТФ непосредственно этими комплексами не осуществляется.

Для фосфорилирования АДФ существует специальный комплекс V митохондриальной мембраны, получивший название *АТФ-синтаза*. Внешне фермент похож на гриб, состоящий из «шляпки», где располагается его активный центр, и полый «ножки», пронизывающей толщу внутренней мембраны насквозь. «Ножка» получила название фактора О – F_0 (от слова «олигомицин»). Это антибиотик, под действием которого прекращается синтез АТФ), а шаровидная головка, обращенная в пространство матрикса, – фактора 1 – F_1 . В активном центре F_1 грибовидного выроста внутренней мембраны и происходит синтез АТФ из АДФ и фосфата (рис. 3.4).

Английский биохимик П. Митчел предложил теорию, названную *хемиосмотической*, объясняющую биохимический механизм, с помощью которого происходит превращение энергии переноса электронов по дыхательной цепи в энергию АТФ.

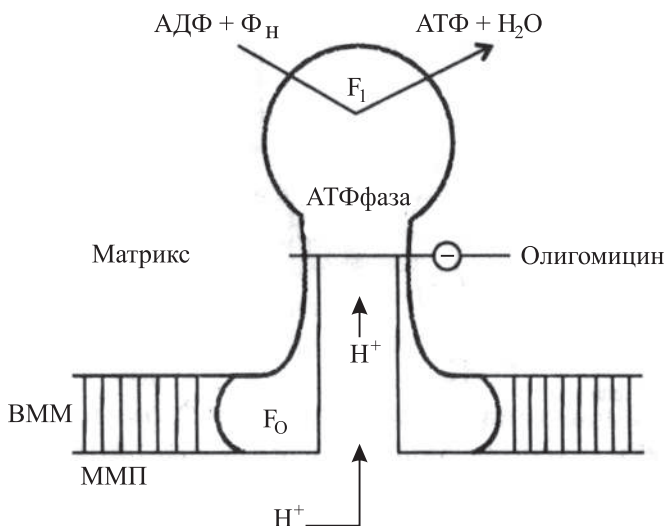


Рис. 3.4. Строение комплекса V внутренней мембраны митохондрий: ММП – межмембранное пространство; ВММ – внутренняя мембрана митохондрий; F_0 – протонный канал; F_1 – головка; олигомицин – ингибитор

До сих пор еще ведется дискуссия о том, как участвует дыхательная цепь в процессе фосфорилирования. Наибольшее признание получила хемиосмотическая теория английского биохимика Митчела.

АТФ синтезируется за счет энергии градиента электрохимического потенциала. Внутреннюю мембрану митохондрий можно рассматривать как конденсатор, который со стороны матрикса заряжается отрицательно (благодаря направленному работой дыхательной цепи току электронов), а со стороны межмембранного пространства – положительно. Последнее обусловлено тем, что комплексы дыхательной цепи, используя энергию, высвобождаемую при переносе электронов, «перекачивают» протоны из матрикса во внешнюю сторону внутренней мембраны. Поскольку мембрана непроницаема для протонов, дыхание совершает *осмотическую работу* (концентрирует протоны в межмембранном пространстве) и *электрическую* (создает разность электрических потенциалов). Сумма градиента концентрации протонов и электрического потенциала на мембране формирует мембранный градиент электрохимического потенциала (протонный потенциал).

Протонный потенциал – это электрохимический градиент ионов H^+ :

$$(\Delta\mu_H) = \underbrace{\Delta p_H}_{\text{Градиент концентрации } H} + \underbrace{(\Delta\psi)}_{\text{Электрический потенциал}}$$

Внутренняя мембрана не может заряжаться бесконечно. Если проводить аналогию с конденсатором, это приведет к его «пробою», т.е. разрядке. Роль разряжающего устройства в дыхательной цепи играет АТФ-синтаза. Фермент активно «откачивает» из межмембранного пространства поставляемые дыхательными комплексами протоны и использует их в реакции синтеза АТФ. Показано, что при синтезе одной молекулы АТФ в матрикс переносятся три протона. Роль протонов сводится к подавлению диссоциации фосфата, образованию активной формы фосфорной кислоты, которая реагирует с АДФ, смещая, таким образом, равновесие реакции вправо, т.е. в сторону образования АТФ. Часть протонов расходуется на транспорт синтезированной АТФ из матрикса через митохондриальные мембраны в цитоплазму клетки, а АДФ – в обратном направлении. Обычно такой антипорт (транспорт молекул

в противоположных направлениях) сопровождается переносом одного протона из межмембранного пространства в матрикс. Кроме синтеза АТФ энергия протонного потенциала митохондриями используется для транспорта необходимых субстратов и ионов (в первую очередь кальция).

Таким образом, простой подсчет показывает, что если перенос двух электронов на атом кислорода с участием всех комплексов дыхательной цепи сопровождается «выкачиванием» 10 протонов в межмембранное пространство, то этого достаточно для синтеза 2,5 молекул АТФ ($10 : 4 = 2,5$). Молекула кислорода может принять четыре электрона. Это означает, что использование одного моля кислорода тканями сопровождается образованием двух молей воды и синтезом 5 молей АТФ. Если, например, за сутки в процессе тканевого дыхания образуется 400 мл воды (22 моля), то это соответствует образованию 55 молей АТФ. Учитывая, что молекулярная масса АТФ равна 507, получаем $507 \cdot 55 = 28$ кг АТФ ! Такое количество АТФ образуется и расходуется за сутки.

Перенос электронов и синтез АТФ – сопряженные процессы. В митохондриях дыхание не всегда сопряжено с фосфорилированием. Такой свободный от синтеза АТФ путь окисления субстратов тканевого дыхания называется нефосфорилирующим (*свободным*) **окислением**. При свободном окислении энергия транспорта протонов и электронов превращается в теплоту. Это необходимо в тех ситуациях, когда организм нуждается в производстве тепла больше, чем в синтетических процессах, использующих АТФ; например, это происходит в мышцах при охлаждении организма. Разобщение синтеза АТФ и работы дыхательной цепи в этом случае выполняют свободные жирные кислоты, которые повышают проницаемость митохондриальных мембран для протонов и вызывают снижение протонного потенциала. Кроме жирных кислот роль разобщителей могут выполнять и другие *липофильные вещества*. Такое явление получило название **разобщение окислительного фосфорилирования**, а вещества, его вызывающие, – **разобщителями**. Ими могут быть любые соединения, которые растворяются в липидах и способны связывать и переносить протоны через мембраны.

Классическим разобщителем является ДНФ (динитрофенол), использовавшийся с целью снижения массы тела. ДНФ резко увеличивает протонную проницаемость митохондриаль-

ных мембран, приводит к выраженному разобщению окислительного фосфорилирования и развитию тяжелых дистрофических процессов вследствие недостаточной выработки клеткой АТФ.

Частичное разобщение окисления с фосфорилированием наблюдается при многих заболеваниях, так как митохондрии являются наиболее чувствительными клеточными органеллами к действию неблагоприятных факторов внешней среды. Типичной «митохондриальной патологией» считается гипертиреоз. При гиперпродукции гормонов щитовидной железы отмечается набухание митохондрий, их фрагментация и распад – все это приводит к нарушению образования протонного потенциала вследствие «провала» протонов в матрикс и является причиной снижения продукции АТФ.

Уменьшение уровня АТФ приводит к относительному избытку АДФ. Количество адениловых нуклеотидов как сумма АТФ, АДФ и АМФ в митохондриях, да и в клетке в целом, является постоянной величиной, а изменяется только их соотношение. Как показали прямые исследования с суспензией митохондрий, помещенных в полярографическую ячейку, добавление АДФ вызывает резкую стимуляцию дыхания митохондрий и усиленное потребление ими субстратов. Подобная реакция отмечается и в митохондриях при изменении соотношения адениловых нуклеотидов в пользу АТФ. Это имеет место при усиленном расходовании АТФ, например во время выполнения клеткой какой-либо работы. Накопление АДФ – регуляторный сигнал, вызывающий усиленное окисление субстратов. Такое усиление окислительных процессов при нормальной работе митохондрий длится ровно столько, сколько необходимо для восстановления утраченного соотношения нуклеотидов.

Отмеченные выше нарушения функции митохондрий при гипертиреозе, которые продолжают длительное время, вызывают столь же длительное усиление окислительных процессов в клетке. Отсюда становятся понятными и клинические симптомы гипертиреоза: истощение (результат усиленного расходования продуктов питания, при распаде которых и образуются дыхательные субстраты), субфебрильная температура (большая, чем в норме, выработка тепла разобщенными митохондриями), учащенное сердцебиение (слабость миокарда из-за недостатка АТФ), увеличение основного обмена (увеличение потребления кислорода и выделения углекислоты) и др.

ГЛАВА 4

ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ. ЦЕНТРАЛЬНЫЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПУТИ

Краткое содержание главы

Метаболизм – совокупность двух разнонаправленных процессов анаболизма и катаболизма. В процессе катаболизма происходит распад сложных органических молекул до конечных продуктов и высвобождение энергии, а результатом анаболизма является образование сложных полимеров.

Линейные, циклические, разветвленные метаболические пути составляют основу метаболизма.

Окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата катализируется полиферментным комплексом, состоящим из трех ферментов. Три кофермента, ковалентно связанные с ферментами (ТПФ, липоевая кислота и ФАД), и два свободных кофермента (КоА-SH и НАД⁺) принимают участие в превращении α -кетоглутарата в сукцинил-КоА.

Субстратное фосфорилирование – один из трех механизмов образования АТФ в клетке. В этом процессе образование АТФ происходит за счет энергии субстратов-макроэргов, возникающих в метаболических путях. Таким субстратом-макроэргом в цикле Кребса является сукцинил-КоА.

Функции цикла Кребса – центрального метаболического пути клетки – многообразны. Это заключительный этап катаболизма основных субстратов, первый этап анаболических превращений, основной донор водородов для митохондриальной дыхательной цепи, источник энергии. Он выполняет интегративную роль в метаболизме липидов, углеводов и аминокислот.

Регенерация оксалоацетата – обязательный и незаменимый процесс, обеспечивающий цикл Кребса необходимым количеством оксалоацетата, катализируется пируват-карбоксилазой. Нарушение этого процесса сопровождается избыточным накоплением ацетил-КоА.

Регуляция ЦТК осуществляется с помощью ряда локальных внутриклеточных параметров метаболизма. В первую очередь это молярное соотношение АТФ/АДФ (дыхательный контроль), соотношение $\text{НАД}^+/\text{НАДН} \cdot \text{H}^+$ и концентрацией субстратов.

Клинико-лабораторное значение. Знание закономерностей и особенностей метаболизма необходимо для дальнейшего изучения обмена углеводов, липидов и белков на уровне клетки и организма, для понимания механизмов регуляции их метаболизма и возможной коррекции нарушений обмена веществ. Усвоив значение центральных метаболических путей для энергообеспечения клеток, можно понять причины гипоксических состояний и их связь с клеточной энергетикой. Поскольку нарушения энергетического обмена лежат в основе патогенеза многих заболеваний, знание механизма функционирования цикла Кребса позволит врачу провести правильную коррекцию метаболических нарушений (кокарбоксилаза, компоненты адениловой системы, сукцинат и др.).

Измерение активности некоторых ферментов цикла Кребса нашло применение в диагностике заболеваний. Среди них дегидрогеназы изоцитрата и малата. Повышение их активности в крови свидетельствует о степени повреждения тканей. Малатдегидрогеназа нашла применение также как фермент, используемый для определения активности аминотрансфераз, в комбинированном наборе реактивов.

Что такое метаболизм, метаболические пути и какие они бывают? Совокупность химических реакций, протекающих в клетках организма с момента поступления пищевых веществ в организм до образования конечных продуктов обмена является **метаболизмом**. Исходя из этого определения неудивительно, что метаболизм складывается из двух составляющих: катаболизма – процесса расщепления сложных молекул до более простых, при этом энергия выделяется, и анаболизма – процесса синтеза сложных веществ из более простых, при этом энергия затрачивается.

Функциями метаболизма являются снабжение клеток химической энергией; превращение молекул пищи в строительные блоки для образования компонентов клетки (белков, липидов, нуклеиновых кислот); синтез и разрушение специализированных биологических молекул, таких как гем, холин.

Метаболизм состоит из различных метаболических путей. **Метаболический путь** – последовательность химиче-

ских превращений вещества. Метаболические пути многоэтапны, взаимосвязаны, регулируемы, скоординированы в пространстве. Они бывают линейными (распад и синтез гликогена, гликолиз и др.) и циклическими (цикл трикарбоновых кислот, орнитиновый цикл) (рис. 4.1). На рисунке в линейном пути (слева) S – исходный субстрат; P – конечный продукт; A, B, C, D – метаболиты (промежуточные продукты). В циклическом пути (справа) вещество F начинает цикл и образуется в конце цикла; S – исходный субстрат.

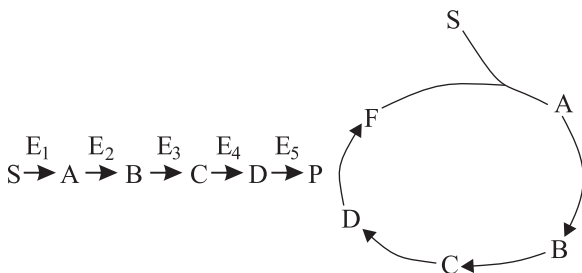


Рис. 4.1. Линейный и циклический метаболитические пути

Среди ферментов, катализирующих реакции того или иного метаболитического пути, есть такие, которые определяют скорость всего процесса в целом. Они называются **ключевыми**. Реакции, которые они катализируют, имеют самую низкую скорость и являются необратимыми, т.е. протекают только в одном направлении. Ключевые ферменты, как правило, имеют четвертичную структуру и легко регулируются.

В некоторых линейных и циклических метаболитических путях в превращение до конечных продуктов вовлекаются общие промежуточные продукты обмена жиров, белков и углеводов. Такие пути называются **общими** или **центральными**.

Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты – центральный метаболитический путь. В результате катаболизма белков, липидов и углеводов в клетках образуется промежуточный продукт – пировиноградная кислота (рис. 4.2). В матриксе митохондрий, прикрепившись к ее внутренней мембране, находится сложный пируватдегидрогеназный полиферментный комплекс, который катализирует декарбоксилирование пировиноградной кислоты наряду с ее дегидрированием. Условно весь комплекс, состоящий из 60 поли-

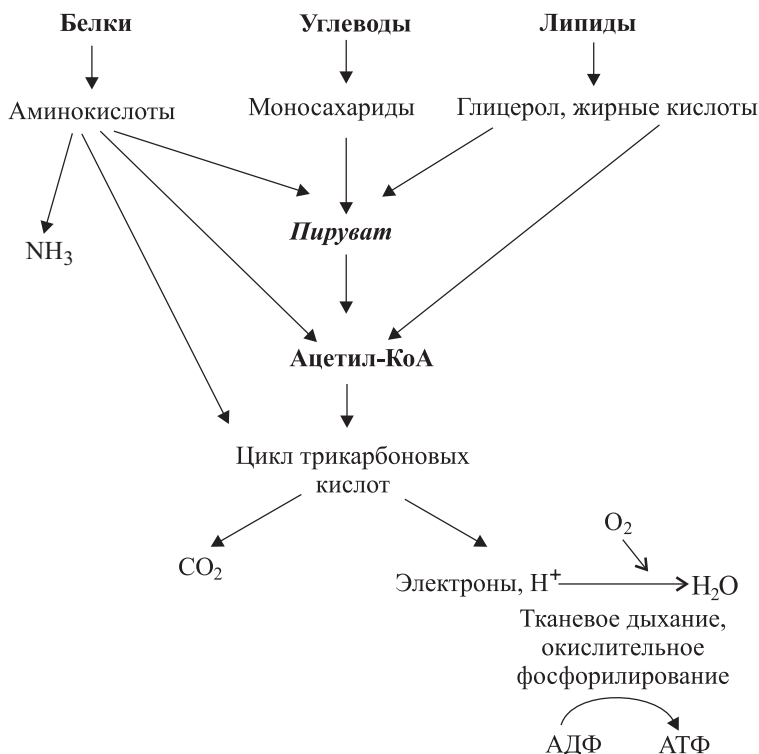


Рис. 4.2. Катаболизм углеводов, липидов и белков

пептидных цепей, можно разделить на три основных фермента: собственно пируватдегидрогеназу (24 полипептидные цепи), дигидролипоилацетилтрансферазу (24 полипептидные цепи) и дигидролипоилдегидрогеназу (12 полипептидных цепей).

Собственно пируватдегидрогеназа катализирует декарбоксилирование пировиноградной кислоты с участием кофермента – тиаминпирофосфата (ТПФ). ТПФ является коферментной формой витамина В₁ – тиамина. Образовавшийся продукт реакции (гидроксиэтильное производное ТПФ) под действием дигидролипоилацетилтрансферазы реагирует с окисленной липоевой кислотой, при этом образуется ацетиллипоевая кислота. Липоевая кислота – кофермент второго основного фермента. Она прочно с ним соединена амидной связью через остаток лизина белковой цепи этого фермента.

Сама липоевая кислота – это низкомолекулярное азотсодержащее соединение, имеющее в своем составе дисульфидную группу, способную восстанавливаться.

Образовавшаяся ацетиллипоевая кислота (рис. 4.3) далее реагирует с коэнзимом А (это внешний, не связанный непосредственно с комплексом кофермент¹), при этом образуются восстановленная форма липоевой кислоты и ацетил-КоА.

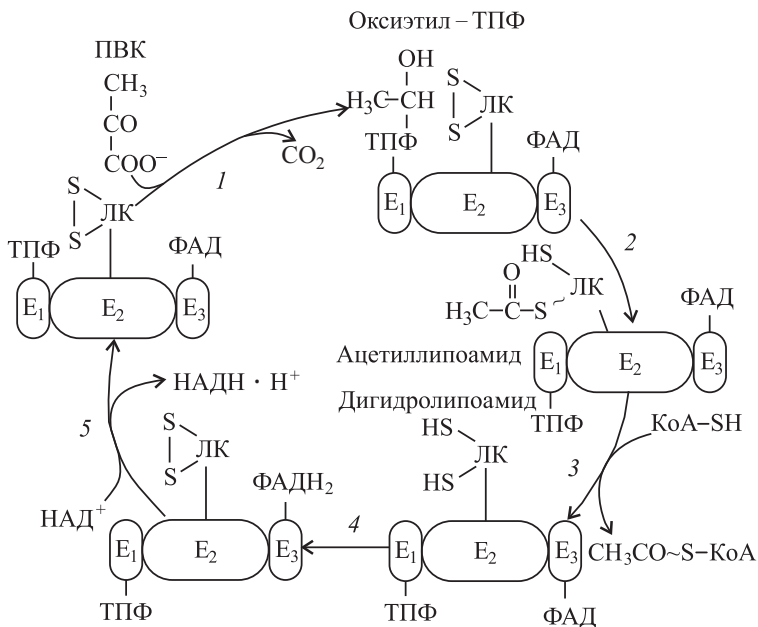


Рис. 4.3. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты: ТПФ – тиаминпирозофосфат; ЛК – липоевая кислота; Е₁, Е₂, Е₃ – ферменты пируватдегидрогеназного комплекса; ПВК – пировиноградная кислота; 1, 2, 3, 4, 5 – стадии процесса

Следующий этап катализируется дигидролипоилдегидрогеназой. Коферментом этого основного фермента является ФАД. С участием ФАД дигидролипоевая кислота окисляется, а ФАД переходит в восстановленную форму. ФАД является собственным коферментом дигидролипоилдегидрогеназы, которая реагирует с приходящим также «извне» НАД^+ . Два ато-

¹ Кофермент А, или коэнзим А, включает в свою структуру пантотеновую кислоту.

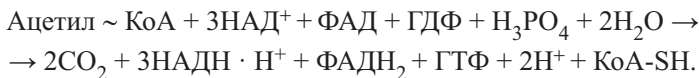
ма водорода с ФАДН₂ переносятся на НАД⁺ – последний при этом восстанавливается.

Таким образом, в окислительном декарбоксилировании пирувата участвует пять коферментов и три фермента. Образующийся ацетил-КоА затем окисляется в цитратном цикле, а водород с НАДН · Н⁺ поступает в дыхательную цепь митохондрий. Нужно отметить, что пируватдегидрогеназа характеризуется большим отрицательным редокс-потенциалом, который обеспечивает наряду с восстановлением НАД⁺ образование высокоэнергетической тиоэфирной связи в ацетил-КоА.

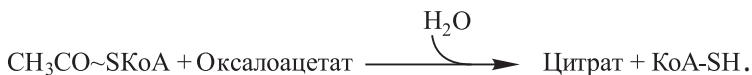
При недостаточном содержании в диете витамина В₁ активность пируватдегидрогеназы снижается. Это способствует накоплению пирувата и лактата и возникновению лактатацидоза. При выраженном недостатке тиамина (у алкоголиков) лактатацидоз может привести к летальному исходу.

Цикл Кребса – тоже центральный путь обмена веществ. В цикле лимонной кислоты (цикл Кребса, цитратный цикл, цикл ди- и трикарбоновых кислот) улавливается большая часть свободной энергии, освобождающейся при окислении белков, липидов и углеводов. Эти вещества сначала посредством катаболических путей превращаются в ацетил-КоА. Далее в цикле лимонной кислоты окисляется ацетильный остаток ацетил-КоА, в результате чего образуются субстраты – доноры водорода (рис. 4.4). Водороды этих субстратов при участии дегидрогеназ поступают в дыхательную цепь, где в результате процесса окислительного фосфорилирования и образуется АТФ.

Суммарное уравнение выглядит следующим образом:



Первая реакция – образование лимонной кислоты. Цикл Кребса начинается с конденсации ацетильного остатка ацетил-КоА с оксалацетатом (щавелево-уксусная кислота – ЩУК). Реакция катализируется цитратсинтазой с участием воды. Поскольку при этом распадается богатая энергией тиоэфирная связь ацетил-КоА, реакция становится практически необратимой:



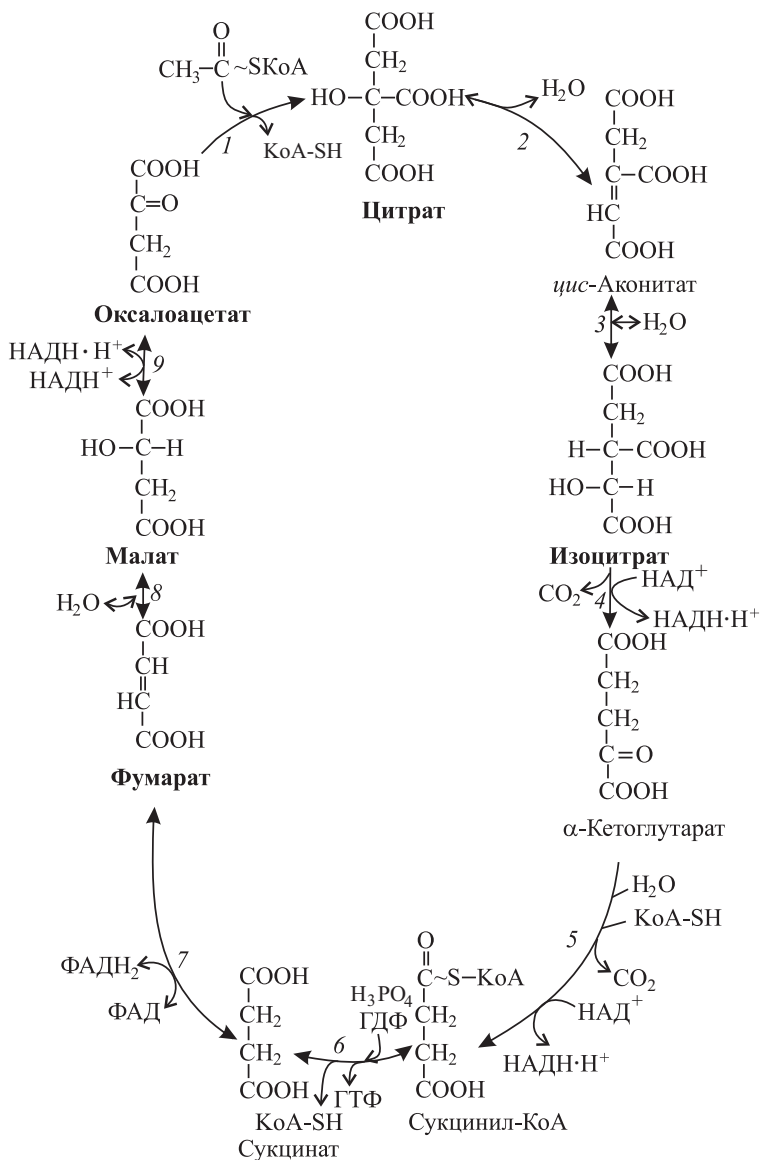
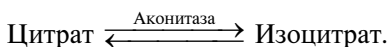


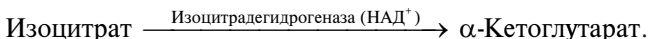
Рис. 4.4. Схема реакций цикла Кребса

Вторая реакция – образование изоцитрата ферментом аконитазой, содержащей железо (через стадию образования цис-аконитовой кислоты):



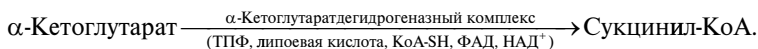
Это реакция изомеризации, она обратима, однако в физиологических условиях ее равновесие смещено в сторону образования изоцитрата, поскольку он расходуется в последующих реакциях.

Третья реакция – дегидрирование и декарбоксилирование изоцитрата при участии изоцитратдегидрогеназы. Существуют НАД⁺- и НАДФ⁺-зависимые дегидрогеназы; истинный фермент цикла Кребса – НАД⁺-зависимый, а НАДФ⁺-зависимая изоцитратдегидрогеназа находится преимущественно в цитоплазме клетки и катализирует реакции синтеза. Важную роль в изоцитратдегидрогеназной необратимой реакции играют ионы Mn²⁺ (или Mg²⁺):



Четвертая реакция – окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата. Процесс катализируется α -кетоглутаратдегидрогеназным комплексом, который по структуре и механизму действия очень похож на пируватдегидрогеназный комплекс (он функционирует с теми же коферментами: ТПФ, липоевой кислотой, КоА-SH, ФАД и НАД⁺).

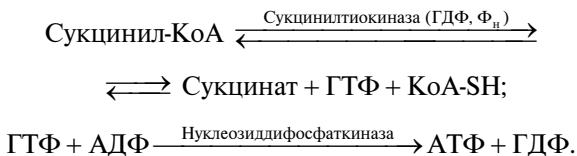
В результате реакции образуется аналог ацетил-КоА – сукцинил-КоА. Этот субстрат цикла Кребса содержит макроэргическую связь:



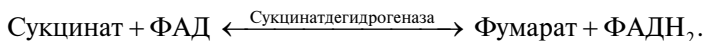
Равновесие реакции сильно сдвинуто в сторону образования сукцинил-КоА, т.е. ее можно считать необратимой.

Пятая реакция – субстратное фосфорилирование: перенос богатой энергией связи сукцинил-КоА в макроэргическую фосфатную связь. При этом перенос энергии осуществляется на ГДФ, а образовавшийся ГТФ вступает в реакцию перефосфорилирования с АДФ – при этом образуется АТФ.

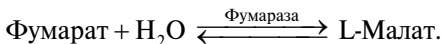
Процесс субстратного фосфорилирования катализируется сукцинилтиокиназой или сукцинил-КоА синтетазой:



Шестая реакция – дегидрирование сукцината с помощью ФАД-зависимого фермента – сукцинатдегидрогеназы. В этой реакции осуществляется прямой перенос водорода с субстрата (сукцината) на комплекс дыхательной цепи II митохондрий. В результате дегидрирования образуется фумарат:

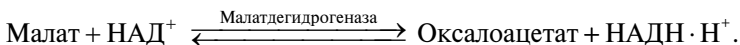


Седьмая реакция – образование яблочной кислоты:



Фумараза катализирует присоединение молекулы воды по месту нахождения двойной связи фумарата.

Восьмая реакция – образование оксалоацетата. Это завершающая стадия цикла Кребса, в которой происходит регенерация оксалоацетата (ЩУК) путем окисления малата. Реакция катализируется НАД⁺-зависимым ферментом – **малатдегидрогеназой**:



Последние три реакции обратимы, однако поскольку НАДН · Н⁺ захватывается дыхательной цепью, равновесие реакции сдвигается вправо, т.е. в сторону образования ЩУК.

На рис. 4.4 приведена суммарная схема реакций цикла трикарбоновых кислот, которая поможет представить весь метаболический путь.

Функции цитратного цикла многообразны. К ним относятся следующие:

- интегративная. Цикл Кребса является центральным путем обмена веществ, в котором воедино сливаются многие процессы ана- и катаболизма белков, липидов и углеводов;
- анаболическая. Эта функция заключается в том, что субстраты цикла Кребса используются на синтез других веществ.

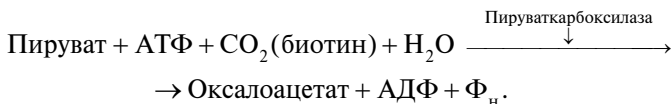
Так, оксалацетат используется для синтеза аспарагиновой кислоты и глюкозы; α -кетоглутатрат – для синтеза глутаминовой кислоты; сукцинил-КоА – для синтеза гема; ацетил-КоА – для синтеза жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов, кетоновых тел и т.д.;

- катоболическая. В этом цикле происходит распад ацетильного остатка, который образуется при распаде пирувата (а последний в свою очередь образуется при распаде глюкозы или из аланина), жирных кислот, кетогенных аминокислот. В α -кетоглутаровую и щавелевоуксусную кислоты (субстраты цикла Кребса) превращаются соответственно глутаминовая и аспарагиновая кислоты и т.д.;

- собственно энергетическая. В цитратном цикле имеется реакция субстратного фосфорилирования (распад макроэргического субстрата сукцинил-КоА), в ходе которой образуется ГТФ;

- водорододонорная. В цитратном цикле в результате окисления НАД⁺-зависимых (изоцитрата, α -кетоглутарата и мала-та) и ФАД-зависимого (сукцината) субстратов образуется три молекулы НАДН · Н⁺ и одна молекула ФАДН₂, которые являются основными донорами водорода для дыхательной цепи. Энергия переноса водорода, как указывалось в главе 7, используется для синтеза АТФ. При этом за счет окисления трех молекул НАДН · Н⁺ способно синтезироваться 2,5 АТФ · 3 = 7,5 АТФ, за счет окисления одной молекулы ФАДН₂ – 1,5 молекулы АТФ. Итого водорододонорная функция цикла Кребса обеспечивает синтез девяти молекул АТФ, а с учетом собственно энергетической функции – 9 АТФ + 1 АТФ = 10 АТФ.

Как указывалось, цикл Кребса начинается с реакции конденсации ацетил-КоА с оксалоацетатом. Следует отметить, что клетка не страдает от недостатка ацетил-КоА, так как он образуется в реакциях распада и глюкозы, и жирных кислот, и аминокислот; а вот количество оксалоацетата в клетке ограничено. Поэтому важную роль приобретает анаплеротический (обходной) путь синтеза оксалоацетата из пирувата при участии биотинзависимого фермента – пируваткарбоксилазы:



Регуляция цикла Кребса. Скорость реакций цитратного цикла зависит от того, как быстро расходуется АТФ (или увеличивается концентрация АДФ).

Определяющим фактором регуляции активности цикла Кребса является дыхательный контроль, т.е. отношение АТФ/АДФ. Чем меньше это отношение, тем интенсивнее идет дыхание, обеспечивающее выработку АТФ. При увеличении концентрации АДФ увеличивается скорость дыхания. Интенсивнее потребляются субстраты цикла Кребса, и скорость протекания реакций этого цикла увеличивается.

Активность цитратного цикла зависит также от соотношения $\text{НАД}^+/\text{НАДН} \cdot \text{H}^+$, что в свою очередь зависит от скорости потребления АТФ. Так, при недостатке НАД^+ активность дегидрогеназ цикла будет снижаться, поскольку именно окисленная форма кофермента является акцептором водорода субстратов цикла Кребса.

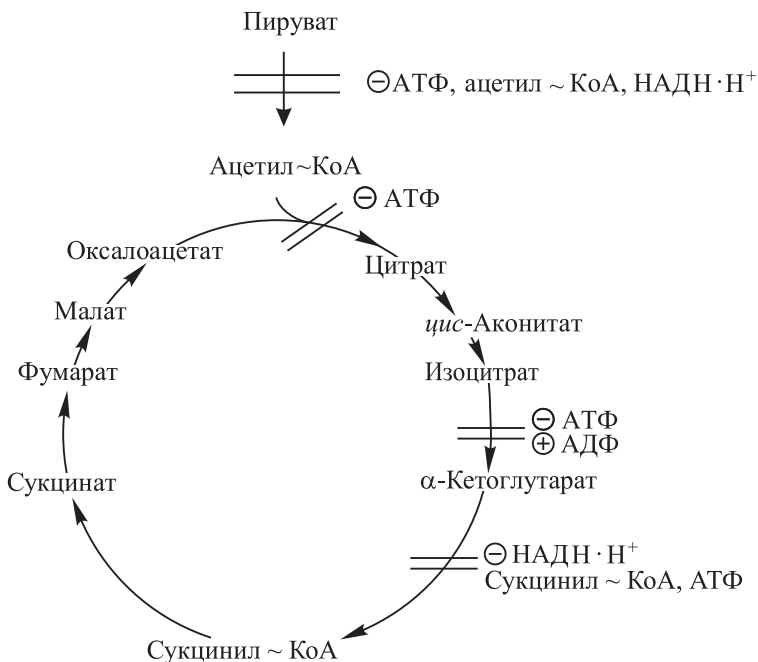


Рис. 4.5. Механизмы регуляции цикла трикарбоновых кислот:

«+» – активаторы; «-» – ингибиторы; перечеркнутые стрелки – ключевые реакции ЦТК

Кроме такой общей регуляции, зависящей от функционирования дыхательной цепи, имеется регуляция на уровне самого цикла (рис. 4.5). Так, АТФ может ингибировать цитратсинтазу по аллостерическому механизму. Основным регуляторным ферментом является изоцитратдегидрогеназа. Она аллостерически ингибируется АТФ и НАДН · Н⁺, а активируется АДФ. Сукцинатдегидрогеназа ингибируется избытком оксалоацетата.

ГЛАВА 5

БИОХИМИЯ И ОБМЕН УГЛЕВОДОВ

Краткое содержание главы

Углеводы – гетерофункциональные соединения, содержащие гидроксильные, кето- или альдегидную группы.

Моносахариды – простейшие представители углеводов. Они разделяются на ряд групп по числу углеродных атомов: триозы, тетрозы, пентозы, гексозы, гептозы, октозы и нозы. Асимметричные углеродные атомы в моносахаридах придают им особые оптические свойства. Существуют оптические изомеры углеводов. Моносахариды могут иметь циклические и незамкнутые формы.

Методы определения глюкозы. Химические свойства моносахаридов используются для их качественного и количественного определения. Альдегидные или кетогруппы моносахаридов придают им редуцирующие свойства. Для количественного определения отдельных моносахаридов применяют ферментативные методы исследования.

Производные моносахаридов широко распространены в организме. К ним относятся аминосахара (глюкозамин, галактозамин, манозамин), фосфорные эфиры моносахаридов, продукты окисления – уроновые кислоты (глюкуроновая, идуриновая).

Гликозидная связь. Моносахариды могут соединяться друг с другом с выделением воды и образованием олиго- или полисахаридов. Основной тип химической связи при этом – гликозидная связь. Различают два типа такой связи: α - и β -гликозидные связи.

Строение гликогена. Гликоген – пример полисахарида, состоящего из одинаковых мономеров (гомополисахарид). Таким мономером является глюкоза. Молекулы глюкозы связаны α -гликозидными связями, образуя большую разветвленную молекулу (1,4- и 1,6- α -гликозидные связи).

Гликозаминогликаны (мукополисахариды) – пример гетерополисахаридов. Они построены из нескольких мономеров. Такими мономерами чаще всего являются производ-

ные гексоз – аминсахара и уроновые кислоты, связанные между собой гликозидными связями.

Среди углеводов пищи наибольшей биологической ценностью обладают полисахариды и, частично, дисахариды. Моносахариды в продуктах питания присутствуют в небольших количествах.

Среди **функций углеводов** прежде всего следует назвать энергетическую. Глюкоза – основной энергетический субстрат клеток. Кроме того, углеводы выполняют структурную функцию. Молекулы углеводов – главная составляющая межклеточного матрикса, входят в состав глико- и мукопротеинов.

Переваривание углеводов катализируется эндо- и экзо-гликозидазами (амилазы слюнных желез и поджелудочной железы, дисахаридазы мембран щеточной каймы кишечника и др.). Конечным продуктом их действия являются моносахариды.

Распад и синтез гликогена – важные функции клеток, позволяющие депонировать углеводы и использовать их затем по мере необходимости. Практически все клетки способны синтезировать и использовать гликоген, но количественно эти процессы более ярко выражены в клетках печени и мышечной ткани.

Гликолиз и спиртовое брожение – основные процессы окисления глюкозы в анаэробных условиях. Они состоят из двух частей: неокислительной, в которой глюкоза разделяется на две триозы; и окислительной, при которой происходит окисление триоз, сопровождающееся высвобождением энергии и синтезом АТФ. Образование АТФ при этом происходит субстратным фосфорилированием. Процессы различаются конечным акцептором водорода: при гликолизе роль конечного акцептора играет ПВК, а при спиртовом брожении акцептором является продукт декарбоксилирования ПВК – уксусный альдегид.

Окислительное декарбоксилирование пирувата катализируется полиферментным комплексом, состоящим из трех ферментов. Три кофермента, ковалентно связанные с ферментами (ТПФ, липоевая кислота и ФАД) и два свободных кофермента (КоА-SH и НАД⁺) принимают участие в превращении ПВК в ацетил-КоА. Эта реакция занимает ключевую позицию на пути катаболизма углеводов и аминокислот.

Глюконеогенез – это процесс синтеза глюкозы из углеводовных продуктов. В нем участвует большая часть ферментов гликолиза, катализирующих обратимые реакции. Три необратимые реакции гликолиза («ключевые» ферменты гликолиза) обходятся в процессе глюконеогенеза с помощью специальных «ключевых» ферментов глюконеогенеза: пируваткарбоксилазы, фосфоенолпируваткарбоксикиназы, фосфатаз фруктозо-1,6-дифосфата и глюкозо-6-фосфата. Регуляция этих ферментов происходит в клетке координировано: чаще всего активатор одного процесса одновременно ингибирует другой. Глюконеогенез подключается как дополнительный источник глюкозы при недостаточном поступлении глюкозы в клетку.

Пентозофосфатный путь окисления глюкозы – это путь прямого окисления глюкозы, обеспечивающий клетку восстановительными эквивалентами ($\text{НАДФН} \cdot \text{H}^+$) и пентозами. Две дегидрогеназы (глюкозо-6-фосфата и 6-фосфоглюконовой кислоты) катализируют окислительную часть пути. Неокислительная часть этого пути обеспечивает взаимопревращения моносахаридов и катализируется двумя основными ферментами – транскетолазой и трансальдолазой.

Глюкуроновый путь обмена глюкозы важен как источник активной формы глюкуроновой кислоты, используемой в синтезе главных молекул межклеточного матрикса (гликозаминогликанов) и для повышения растворимости в воде гидрофобных молекул, оказывающих токсическое воздействие на клетку (обезвреживание ксенобиотиков).

Обмен фруктозы и галактозы – важная составляющая метаболизма углеводов, потому что эти моносахариды входят в состав широко используемых в питании дисахаридов: сахарозы и лактозы. Галактоза и фруктоза превращаются в глюкозу. Врожденные нарушения этого превращения вызывают тяжелые заболевания у детей.

Гормональная регуляция затрагивает все этапы **обмена углеводов**. Практическая медицина чаще всего сталкивается с нарушениями гормональной регуляции уровня глюкозы в клетке. Этот уровень – своеобразный показатель функционального состояния многих эндокринных желез.

Толерантность к глюкозе – тест, отражающий состояние систем регуляции уровня сахара в крови. Наблюдение за изменениями уровня сахара после однократной «сахарной» нагрузки позволяет рано диагностировать нарушения данных систем.

Сахарный диабет – одно из широко распространенных заболеваний среди людей. Представляет нарушение регуляторной функции инсулина. Различают два типа диабета: инсулинзависимый и инсулиннезависимый. Нарушение регуляторной функции инсулина сопровождается гипергликемией (нарушено поступление и использование глюкозы тканями), глюкозурией (почки не справляются с реабсорбцией глюкозы) и кетонемией (избыточное образование при недостатке глюкозы ацетил-КоА приводит к синтезу кетонových тел). Высокий уровень глюкозы сопровождается избыточным неферментативным гликозилированием белков, нарушающим их функции, активированием сорбитольного пути расходования глюкозы.

Клинико-лабораторное значение. В клинических лабораториях для диагностики нарушений функции поджелудочной железы определяют содержания глюкозы в крови и моче. Сахароза и крахмал – наиболее популярные углеводы в питании человека. Врожденные нарушения обмена гликозаминогликанов вызывают тяжелые осложнения, чаще всего не совместимые с жизнью. Определение активности ферментов, участвующих в их обмене, и продуктов обмена гликозаминогликанов используются для диагностики заболеваний соединительной ткани.

Свойства и классификация углеводов. Углеводы – это многоатомные спирты, которые содержат в своем составе кроме спиртовых альдегидную или кетогруппу. В зависимости от типа группы в составе молекулы различают альдозы и кетозы. Термин «углеводы» сложился исторически на основании первых представлений об их строении. Углеводы составляют большую часть органических веществ на Земле. Это обусловлено тем обстоятельством, что свыше 50% органического материала растений составляет целлюлоза. К углеводам принадлежит глюкоза, из которой построены такие высокомолекулярные вещества, как уже упомянутая целлюлоза и крахмал.

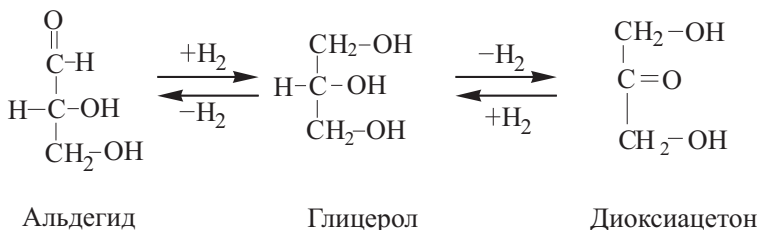
Среди других компонентов организма высших животных и человека доля углеводов составляет только 0,5% массы тела. Однако они имеют большое значение для организма. Эти вещества вместе с белками в форме протеогликанов составляют основу соединительной ткани. Углеводсодержащие белки

(гликопротеины и мукопротеины) – составная часть слизи организма (защитная, обволакивающая функции), транспортных белков плазмы и иммунологически активных соединений (группоспецифические вещества крови). Часть углеводов выполняет функцию «запасного топлива» для получения энергии. Для человека углеводы – главный источник энергии (покрывают 60% потребности организма).

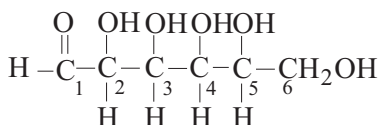
Углеводы можно разделить на три группы. Простейшими представителями углеводов являются так называемые простые сахара или моносахариды. При соединении их друг с другом возникают очень большие молекулы – полисахариды. К ним, в частности, относятся крахмал и целлюлоза. По величине молекул углеводы можно разделить на три группы:

- моносахариды;
- олигосахариды (2–10 моносахаридов);
- полисахариды (больше 10 моносахаридов).

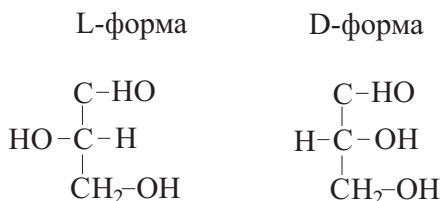
Моносахариды – структурные компоненты сложных углеводов. Моносахариды представляют собой многоатомные алифатические спирты, которые дополнительно содержат в своем составе альдегидную группу (альдозы) или кетогруппу (кетозы). Кетозы – реже встречающиеся соединения. Тип моносахарида зависит от длины углеводородной цепи. Так, моносахариды с тремя углеродными атомами относятся к триозам, с пятью углеродными атомами – к пентозам, с шестью – к гексозам. Нетрудно заметить, что в основе каждого названия лежит греческое название числа. Простейшими углеводами являются триозы (глицериновый альдегид – альдоза или дигидроксиацетон – кетоза). Обе триозы можно получить из спирта – глицерола путем его дегидрирования:



Путем последовательного удлинения углеродной цепи на группу Н-С-ОН возникают пентозы и гексозы. Нумерация С-атомов начинается от альдегидной группы:



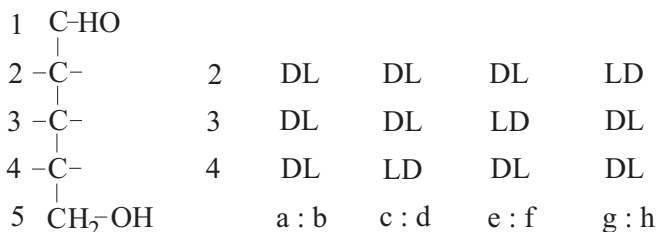
Моносахариды – оптически активные соединения. Тот факт, что существует несколько пентоз или гексоз, которые могут быть описаны общей формулой, указывает на *стереоизомерию* углеводов. *Асимметричным* углеродным атомом обладает уже самая простейшая альдоза – глицериновый альдегид. Асимметричным углеродным атомом называется углеродный атом, у которого все четыре валентности замещены на четыре различных атома или группы атомов. В случае глицеринового альдегида этими группами атомов являются –Н, –СН₂ОН, –ОН и –СНО. Возможны два пространственных варианта глицеральдегида, которые «зеркальны» друг другу. Обе формы нельзя совместить при вращении:



Их называют пространственными изомерами или стереоизомерами, а само явление – пространственной изомерией или стереоизомерией. Стереои́зомеры, в проекционной формуле которых ОН-группы расположены справа, называются ***D-формами*** (dexter – правый); если они слева, то это ***L-форма*** (laevus – левый). Химические свойства у D- и L-форм абсолютно одинаковы, в то время как оптические свойства различаются. В частности, все соединения с асимметричным атомом углерода вращают на определенный угол плоскость поляризованного света при прохождении через их раствор. Это явление называют оптической активностью. D- и L-фор-

мы соединений вращают плоскость поляризованного света на одну величину, но в противоположном направлении, поэтому эти формы одного и того же соединения называют оптическими антиподами. Какая из двух форм является правовращающей, а какая левовращающей, можно выявить только экспериментально. Установлено, что для глицеринового альдегида правовращающей является D-форма. Вращение направо обозначают «+», а налево – «-». Полное обозначение обеих форм глицеринового альдегида будет выглядеть следующим образом: (+)-D-глицеральдегид или же (-)-L-глицеральдегид.

При удлинении углеродной цепи в моносахаридах число асимметричных углеродных атомов увеличивается. Их заместители (лиганды) могут также находиться в L- и D-формах. Поэтому при n количестве асимметричных углеродных атомов число стереоизомеров составляет 2^n . К примеру, у пентоз имеется три асимметричных углеродных атома (2-й, 3-й и 4-й), следовательно, $2^3 = 8$ пространственных изомеров. Среди этих восьми вариантов имеется четыре пары, в каждой из которых стереоизомеры являются зеркальными отражениями друг друга и химически идентичны (a/b, c/d, e/f, g/h):

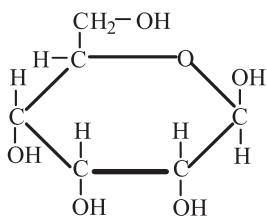


Это означает, что имеется только четыре химически отличных соединения, каждое из которых существует со своим оптическим антиподом. У гексоз с четырьмя асимметричными углеродными атомами имеется 16 стереоизомеров и восемь различных химически отличающихся соединений. В природе углеводы существуют в таких стереоизомерных формах, у которых последний асимметричный атом углерода (у пентоз – 4-й, у гексоз – 5-й) имеет D-форму. Поэтому их называют D-моносахаридами. Для приведенных выше

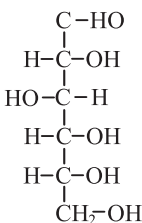
комбинаций к таким относятся варианты а, d, е, g. Среди этих сахаров а и е, а и g, е и d отличаются конфигурацией только одного асимметричного углеродного атома. Такие моносахариды называют **эпимерами**. В организме они могут превращаться друг в друга.

При *химическом синтезе* моносахаридов в лабораторных условиях D- и L-формы находятся в соотношении 1 : 1, так как вероятность образования каждой из них одинакова. Синтез моносахаридов в организме происходит при участии ферментов, которые строго различают D- и L-формы. Поскольку синтезу и распаду в организме подвергаются D-сахара, в эволюции постепенно исчезли L-стереоизомеры. Оптическая активность сахаров дает возможность определять их количество в биологических жидкостях. Величина угла вращения поляризованного света при прохождении через раствор зависит от содержания сахара. Приборы для измерения угла вращения поляризованного света называют **поляриметрами**. Из измеряемого угла вращения с помощью простого уравнения рассчитывают концентрацию вещества. Однако этот метод нельзя применять в присутствии других оптически активных соединений.

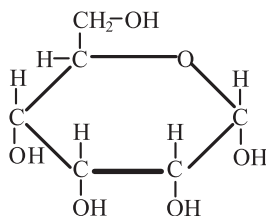
Моносахариды могут иметь циклические и незамкнутые формы. Приведенные ранее незамкнутые формы пентоз и гексоз находятся в равновесии с циклическими формами:



α -Форма



Открытая цепь



β -Форма

Последние образуются за счет того, что Н атом из ОН группы у 5-го углеродного атома в случае гексоз или у 4-го в случае пентоз переносится на кислород альдегидной группы. При этом у первого углеродного атома возникает группа —ОН, а между свободной валентностью первого углеродного атома и кислородом прежней ОН группы у 5-го углеродного

атома (у 4-го в случае пентоз) замыкается связь. Таким образом, у пентоз возникает пятичленное (фуранозное), а у гексоз – шестичленное (пиранозное) кольцо.

Кислород прежней ОН группы входит в состав кольца. Образование кольца приводит к появлению асимметрии первого углеродного атома. D- и L-формы этого атома (ОН группа направлена вверх или вниз по отношению к кольцу) обозначаемые как α - или β -формы, находятся в равновесии с формой открытой цепи.

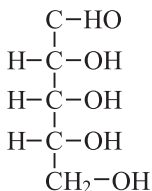
Важнейшими гексозами и пентозами для человека являются:

- (+)-D-глюкоза – глюкоза, тривиальное название «виноградный сахар». Это важнейший углевод, который служит источником получения энергии в организме. С током крови он поставляется в органы и ткани. Основным потребителем глюкозы является мозг;

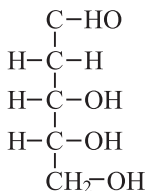
- (+)-D-галактоза – составная часть молочного сахара. Кроме того, это составная часть некоторых липидов, которыми особенно богаты ткани центральной нервной системы;

- (–)-D-фруктоза, фруктоза или фруктовый сахар, – составная часть тростникового или свекловичного сахара – сахарозы. Фосфорный эфир фруктозы является в организме важнейшим промежуточным продуктом расщепления глюкозы для получения энергии и синтеза глюкозы из неуглеводных продуктов. Относительно высоко содержание фруктозы в семенной жидкости. В отличие от других важнейших гексоз фруктоза является кетозой. Глюкоза и галактоза – эписмеры по 4-му углеродному атому.

Среди веществ, относящихся к пентозам, наибольшего внимания заслуживают два представителя, которые являются составными частями нуклеиновых кислот. Это (–)-D-рибоза и (–)-D-дезоксирибоза:



(–)-D-Рибоза

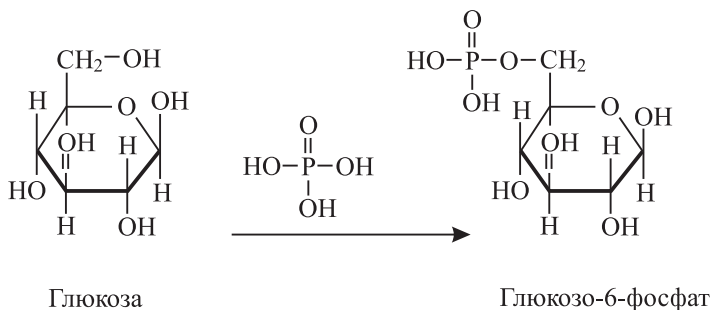


(–)-D-Дезоксирибоза

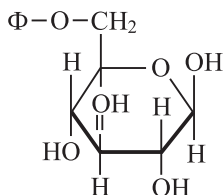
Химические свойства моносахаридов используются для их анализа. Химические свойства моносахаридов вследствие схожести их строения весьма однотипны. Их можно различить, используя определенные ферменты. *Восстановительные* свойства моносахаридов обуславливают существование ряда качественных реакций и создают возможность их количественного определения. Эти восстановительные свойства в свою очередь объясняются наличием альдегидной или кетогруппы в составе молекулы моносахаридов.

Глюкозу в присутствии других моносахаридов можно выявить лишь с помощью ферментов: гексокиназы или глюкозооксидазы. Под влиянием глюкозооксидазы глюкоза окисляется в глюконолактон с одновременным образованием H_2O_2 . Затем во второй реакции образовавшийся пероксид водорода окисляется при участии пероксидазы. При этом добавленный, легко окисляемый ортодианизидин переходит в соединение, имеющее красный цвет. Интенсивность окраски пропорциональна количеству глюкозы. На этом же принципе основан быстрый тест качественного определения глюкозы в моче с помощью полосок (методы «сухой» химии). Ферменты фиксируются на полоске фильтровальной бумаги, пропитанной красящим веществом, меняющим свою окраску, если в моче присутствует глюкоза. Под влиянием гексокиназы глюкоза превращается в глюкозо-6-фосфат, который затем окисляется дегидрогеназой, а восстановление кофермента дегидрогеназы фиксируется спектрофотометром.

Моносахариды образуют эфиры и могут иметь аминогруппу. ОН группа молекулы моносахарида как всякая спиртовая группа может взаимодействовать с кислотой. В *промежуточном обмене* эфиры сахаров имеют большое значение. Чтобы включиться в обмен веществ, сахар должен стать фосфорным эфиром. При этом фосфорилируются концевые углеродные атомы. У гексоз – это C_1 и C_6 , у пентоз – C_1 и C_5 и т.д. Больше двух ОН групп фосфорилированию не подвергается. Поэтому основную роль играют моно- и дифосфаты сахаров. В названии фосфорного эфира обычно указывают позицию эфирной связи:



Химическую группу, соответствующую остатку фосфорной кислоты, обозначают в сокращенном виде буквой «Ф» или «Р». Формула глюкозы-6-фосфата в этом случае будет выглядеть следующим образом:



В случае дифосфорного эфира обозначение будет «ФФ» (фруктозо-1,6-дифосфат-фруктозо-1,6-ФФ).

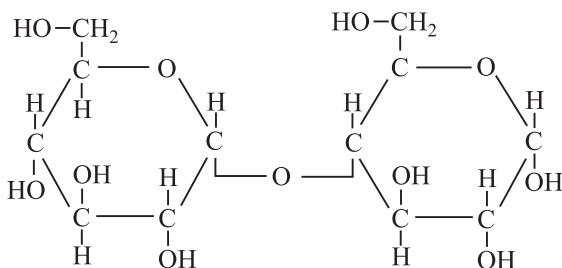
Аминосахарами называются моносахариды, которые на месте ОН группы несут аминогруппу ($-\text{NH}_2$). Типичный представитель – глюкозамин (2-аминоглюкоза). Аминосахара являются важнейшей составной частью гликозаминогликанов и гликопротеинов.

Несколько моносахаридов образуют олигосахариды. Среди олигосахаридов особого внимания заслуживают дисахариды. Это соединения, которые состоят из двух моносахаридов. Соединение образуется через ОН группы одного и другого моносахаридов с высвобождением молекулы воды.

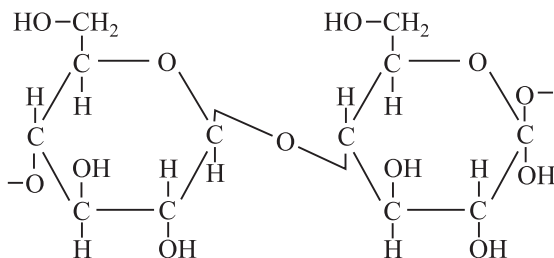
Возникающая связь называется гликозидной. Местом связывания чаще всего является ОН группа у первого углеродного атома одного моносахарида и ОН группа у четвертого углеродного атома второго моносахарида. Гликозидную связь можно разрушить гидролитическим путем (присоединением молекулы воды). Кислота обычно ускоряет этот про-

цесс. Вследствие асимметрии первого углеродного атома в циклической форме моносахарида при образовании гликозидной связи могут возникать два различных типа *конфигурации* в зависимости от того, связывается α - или β -форма моносахаридов с другой молекулой сахара. Если обе OH группы, участвующие в реакции, находятся в одинаковой позиции в структуре кольца, то возникает так называемая α -гликозидная связь. Если обе группы находятся в различных позициях по отношению к кольцу, образуется β -гликозидная связь.

Ферменты четко различают α - и β -гликозидные связи. Это имеет существенное значение в питании человека. Как целлюлоза, так и крахмал являются растительными полисахаридами. Они состоят из остатков глюкозы. Единственное различие состоит в том, что в целлюлозе мономеры связаны β -гликозидной связью, а в крахмале – α -гликозидной связью:



α -Гликозидная связь (в мальтозе)



β -Гликозидная связь (в целлюлозе)

Так как в организме человека отсутствуют ферменты, гидролизующие β -гликозидные связи, избыток целлюлозы в питании не имеет значения для человека.

Важнейшими дисахаридами для человека являются:

- мальтоза, или солодовый сахар, – состоит из двух молекул α -глюкозы, связанных между собой 1,4-гликозидной связью. Она возникает как промежуточный продукт при расщеплении крахмала;

- лактоза, или молочный сахар, – состоит из α -глюкозы и α -галактозы, связанных между собой 1,4-гликозидной связью. Это важнейший углевод молока. При естественном вскармливании новорожденных он является основным источником углеводов;

- сахароза, или тростниковый (свекловичный) сахар, – состоит из фруктозы и глюкозы. Фруктоза в составе сахарозы представлена пятичленным (фуранозным) кольцом. Моносахариды связаны между собой 1,2-гликозидной связью, т.е. альдегидная группа глюкозы и кетогруппа фруктозы участвуют в образовании гликозидной связи. Необходимо отметить, что все дисахариды, которые обладают альдегидными группами, проявляют восстанавливающие свойства. Поскольку же альдегидная группа в составе сахарозы блокирована, этот дисахарид не обладает восстановительными свойствами.

Множество моносахаридов образуют гомо- или гетерополисахариды. Полисахариды – соединения большой молекулярной массы, которые состоят из большого числа моносахаридов. Полисахариды делятся на два основных типа: полисахариды, которые построены из одинаковых моносахаридов, – *гомополисахариды*; смешанные полисахариды, которые являются производными различных моносахаридов или их производных, – *гетерополисахариды*.

Важнейшими полисахаридами, построенными только из остатков глюкозы, являются целлюлоза, крахмал и гликоген.

Целлюлоза состоит из неразветвленных цепей β -глюкозы. В *крахмале*, главном углеводе пищи, имеются, напротив, как разветвленные, так и неразветвленные цепи α -глюкозы. При их ферментативном расщеплении образуется глюкоза. Этот процесс будет подробно обсуждаться позже.

В то время как целлюлоза и крахмал являются чисто растительными продуктами, *гликоген* – типичный полисахарид организма животных и человека («животный крахмал»). Гликоген состоит из сильно разветвленных цепей 1,4-связанных

молекул глюкозы, т.е. он родственен амилопектину (составной части крахмала – его разветвленной цепи) (рис. 5.1). Разветвление цепи осуществляется благодаря тому, что связывается гликозидной связью ОН-группа шестого углеродного атома глюкозы с первым углеродным атомом глюкозы, принадлежащей второй цепи. Молекулярный масса гликогена составляет 1 000 000–5 000 000.

Гликоген является запасной формой глюкозы в животном организме. В случае необходимости он может очень быстро превратиться в глюкозу, в то же время глюкоза может очень быстро вновь запасаться в виде гликогена. Запасы мышечного гликогена относительно стабильны и составляют приблизительно 300 г для нормального взрослого человека, т.е. около

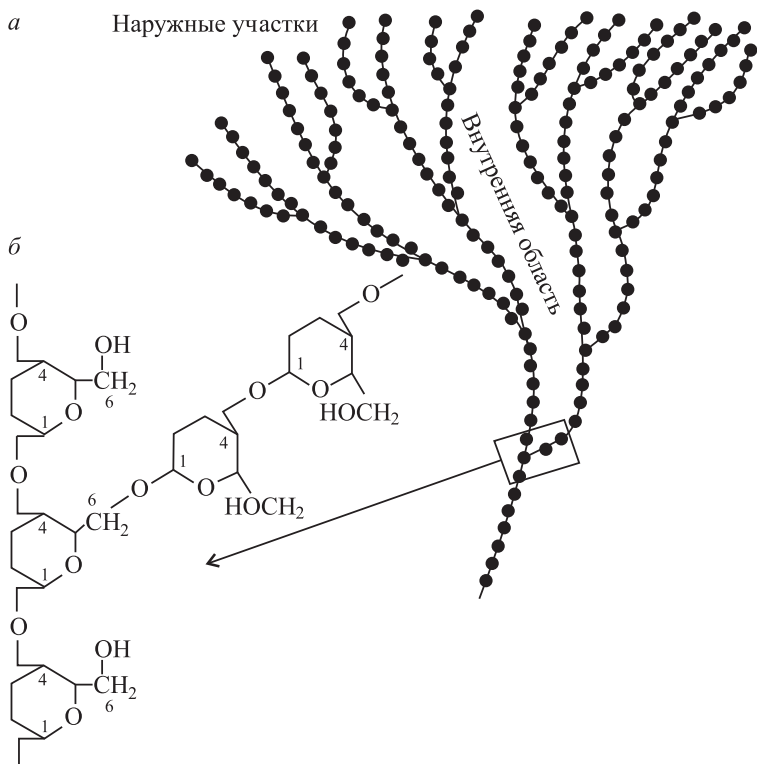


Рис. 5.1. Строение гликогена:

а – черные кружочки – мономеры глюкозы; *б* – участок ветвления молекулы гликогена; 1, 4, 6 – номера атомов углерода в молекуле глюкозы

1–2% мышечной массы. Запас гликогена в печени, напротив, очень мобилен и в значительной степени зависит от поступления глюкозы с пищей. У нормально питающегося человека в печени содержится около 100 г гликогена, что соответствует почти 5% массы печени. Этот запас может, однако, без затруднений вырасти вдвое. При голодании депо уменьшается и в конце концов истощается.

Агар-агар – сульфатсодержащий галактосахарид из морских водорослей; находит применение в качестве гелевого носителя для питательных культуральных сред в бактериологии и материалоносителя при электрофорезе, пищевой промышленности и т.д.

Инулин является чистым фруктозополисахаридом. Из-за своей способности фильтроваться клубочками, но не реабсорбироваться канальцевым эпителием нашел применение в клинике для изучения концентрационной функции почек.

Хитин – главный полисахарид хитиновых скелетов насекомых. Построен из молекул ацетилированного глюкозамина.

Гликозаминогликаны (мукополисахариды) – это группа гетерополисахаридов, содержащих аминосахара и уроновые кислоты. Более подробная информация о их строении приведена в гл. 16.

Углеводы в питании должны быть разнообразными. Биологическую ценность среди углеводов пищи имеют полисахариды – крахмал и гликоген, а также дисахариды – сахароза, лактоза, мальтоза. Моносахаридов (глюкозы, фруктозы, пентоз) в пище мало, но их содержание увеличивается после кулинарной обработки. Полисахариды, имеющие β -гликозидные связи (клетчатка), не перевариваются в кишечнике человека (за исключением его нижних отделов, где они в незначительном количестве расщепляются микроорганизмами). Это обусловлено тем, что амилаза по своей природе является α -гликозидазой, т.е. ферментом, способным гидролизовать только α -гликозидные связи, соединяющие остатки глюкозы в гликогене и крахмале. Тем не менее роль пищевых волокон, и прежде всего клетчатки, в питании человека велика. Целлюлоза (клетчатка) стимулирует перистальтику кишечника, выделение желчи; связывает холестерин пищи, тем самым препятствуя его всасыванию; адсорбирует желчные кислоты, что способствует уменьшению их контакта со слизистой оболочкой кишечника, и, следовательно, уменьшает их проканцерогенное действие; удерживает воду в кишечнике, увеличивая

объем каловых масс и облегчая опорожнение кишечника. Все вместе взятое играет большую роль не только в профилактике запоров, но и рака кишечника.

Гетерополисахарид – пектин, который также не переваривается, обладает важным свойством связывать тяжелые металлы, в том числе радионуклиды, тем самым препятствуя их всасыванию. Пектином богаты яблоки, бананы, красная и черная смородина, клюква.

Суточная потребность взрослого человека в углеводах составляет 400–500 г. Из них 80% приходится на крахмал, почти все остальное – на сахарозу и лактозу. Грудные дети при естественном вскармливании получают только лактозу, так как это единственный углевод молока.

Функции углеводов:

- энергетическая. Глюкоза, которая образуется при переваривании крахмала и гликогена – самый значительный поставщик энергии для организма. Все органы постоянно черпают ее из крови, а некоторые полностью зависят от глюкозы как основного поставщика энергии. К последним принадлежат мозг, корковое вещество почек, эритроциты;

- структурная (пластическая). Углеводы – основной компонент межклеточного вещества соединительной ткани, составляют основу гликокаликса плазматических мембран клеток, входят в состав сложных белков – гликопротеинов и гликолипидов; моносахариды, рибоза и дезоксирибоза являются структурным компонентом нуклеиновых кислот;

- анаболическая. Углеводы – основной источник синтеза жирных кислот; продукты распада глюкозы (ПВК) используются для синтеза гликогенных аминокислот. В организме многих животных из углеводов может синтезироваться витамин С;

- обезвреживающая. Активное производное глюкозы – УДФ-глюкуроновая кислота – способна в печени связывать токсические соединения, в частности билирубин. Образующийся при этом диглюкуронид билирубина является достаточно гидрофильным соединением, которое способно легко выводиться с желчью из организма.

Переваривание углеводов начинается в ротовой полости. Процесс переваривания углеводов начинается в ротовой полости, так как в состав слюны входят фермент *амилаза*, способная расщеплять крахмал и гликоген гидролитическим путем, а также *мальтаза*, расщепляющая дисахарид мальтозу на два остатка глюкозы. Однако основное место переварива-

ния углеводов – двенадцатиперстная кишка (в желудке из-за его кислого содержимого переваривание углеводов прекращается, так как оптимум рН амилазы лежит в слабощелочной среде).

В двенадцатиперстную кишку поступает сок поджелудочной железы, содержащий α -амилазу. Эта гидролаза расщепляет $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -гликозидные связи с образованием *декстринов* (продуктов неполного расщепления крахмала) и в дальнейшем – мальтозы. Амило-1,6-гликозидные связи (места ветвления молекулы крахмала) гидролизуют ферменты амило-1,6-гликозидазы. Дисахаридазы локализованы в щеточной каемке клеток слизистой тонкого кишечника и участвуют в расщеплении дисахаридов на моносахариды, что является необходимым условием их резорбции. Дисахаридазы подразделяются на α -гликозидазы (изомальтаза, сахараза, мальтаза) и β -гликозидазы (лактаза, β -галактозидаза).

Образующаяся мальтоза быстро расщепляется кишечной мальтазой на две молекулы глюкозы. Сахараза превращает сахарозу, поступающую с пищей, в глюкозу и фруктозу, а лактаза воздействует на лактозу, которая распадается на глюкозу и галактозу. Лактоза – молочный сахар, важнейший дисахарид молока млекопитающих. В коровьем молоке содержится до 5% лактозы, в женском молоке – до 8%.

Продукты полного переваривания углеводов – глюкоза, галактоза и фруктоза – всасываются в клетку кишечника при участии Na^+ -зависимых переносчиков. Градиент ионов натрия между просветом кишечника и клеткой при этом поддерживается Na^+ - K^+ -АТФазой, расположенной на базолатеральной стороне эпителиоцита. Пентозы всасываются путем простой диффузии.

Энзимопатии переваривания углеводов. *Недостаточность дисахаридаз.* К первой группе нарушений относится отсутствие сахаразы и изомальтазы (всегда сочетанный дефект). Дисахариды не расщепляются и не могут быть утилизированы. Они осмотическим путем связывают воду и вызывают поносы, появляющиеся, главным образом, после пероральной нагрузки дисахаридами. Кроме того, после такой нагрузки в крови не удается обнаружить повышение гликемии в интервале 30–90 мин, что отмечается у здоровых людей. Непереносимость лактозы обусловлена дефектом лактазы и проявляется так же, как и вышеперечисленные состояния.

Непереносимость лактозы. Активность лактазы колеблется в зависимости от возраста. Так, у плода она особенно повышена в поздние сроки беременности и сохраняется на высоком уровне до 5–7-летнего возраста. Затем активность фермента снижается, составляя у взрослых 10% от уровня активности, характерного для детей. В результате отсутствия лактазы в кишечнике некоторые люди не могут «переносить» молоко и не кислые молочные продукты: при их употреблении возникают боли в животе, метеоризм (вздутие) и понос. У грудных детей, как правило, лактаза имеется, но ко времени прекращения грудного вскармливания примерно у 15% европейцев и 80% жителей стран Востока, Азии, Африки активность фермента резко снижается. Эта генетическая особенность связана с повреждением гена лактазы. Однако чаще непереносимость молока имеет приобретенный, временный характер. Она возникает при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, а также при некоторых инфекционных и других болезнях. Кроме того, временный дефицит лактазы может быть следствием операций на ЖКТ.

После выздоровления явления непереносимости проходят, и молоко вновь следует употреблять в пищу. Поскольку прекращение кормления младенца молоком может вызвать тяжелые нарушения питания с развитием дистрофии, в случае непереносимости можно рекомендовать кисломолочные продукты (в них под действием лактазы микроорганизмов лактоза расщепляется).

В клетки разных органов глюкоза проникает разными механизмами. Путь проникновения глюкозы в клетку сложен. Ее переносит белок, погруженный в мембрану. Выделено пять молекулярных форм белка – *переносчика глюкозы*, каждая приспособлена к нуждам своей ткани. Так, эритроцитарный белок-переносчик представляет собой одну полипептидную цепь, содержащую около 500 аминокислот. Эта спиральная цепь изгибается зигзагом в мембране, пересекая ее 12 раз; при этом образуются сегменты – «ворота», которые, попеременно закрываясь и открываясь, пропускают глюкозу. В присутствии инсулина скорость переноса увеличивается на порядок.

Действие инсулина на этот процесс отличается в мышцах и печени (рис. 5.2). В миоцитах белок-переносчик глюкозы (ГЛЮТ 4) встраивается в плазматическую мембрану под действием инсулина, таким образом увеличивая количество поступающей в клетку глюкозы. В гепатоцитах инсулин индуци-

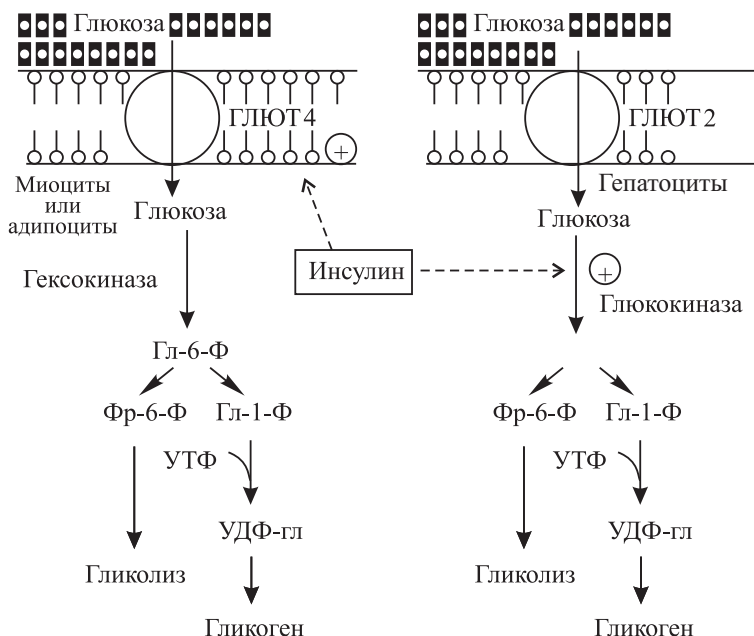


Рис. 5.2. Проникновение глюкозы в клетку:

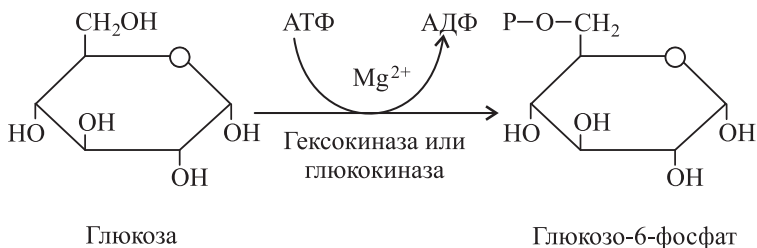
Гл-6-Ф – глюкозо-6-фосфат; «+» – активация; «ГЛЮТ2» и «ГЛЮТ4» – переносчики глюкозы

рует синтез глюкокиназы, обеспечивая утилизацию глюкозы в клетке.

В клетках всегда поддерживается резерв белков-переносчиков глюкозы, однако точное его местонахождение в цитоплазме пока не установлено. Под влиянием инсулина они перемещаются к плазматической мембране и встраиваются в нее. Затем, когда содержание глюкозы в крови падает и секреция инсулина ослабляется, эти молекулы возвращаются к месту исходной локализации.

Хотя поступление глюкозы в клетки различных органов зависит от инсулина (см. рис. 5.2), скорость ее поступления в мозг и печень определяется уровнем *гликемии*. В норме в крови содержится 2,8–6,6 мМоль/л (3,65–6,11) глюкозы. Концентрация свыше 6,6 мМоль/л называется *гипергликемией*, ниже 2,8 мМоль/л – *гипогликемией*. Тяжелая гипогликемия в результате нарушений в функционировании нервной системы приводит к потере сознания и смерти.

Обмен глюкозы в клетке начинается с ее фосфорилирования. Первой химической реакцией, которой подвергается глюкоза в клетке, является ее фосфорилирование:



Реакция катализируется ферментами гексокиназой или глюкокиназой. Хотя глюкокиназа, по сути, является изоферментом гексокиназы (имеются гексокиназы 1, 2, 3, 4, причем 4-й изофермент – это и есть глюкокиназа), оба фермента обладают существенными особенностями:

- гексокиназа способна фосфорилировать не только глюкозу, но и другие гексозы (фруктозу, галактозу), в то время как глюкокиназа активирует только глюкозу;
- гексокиназа обнаружена во всех органах, а глюкокиназа – только в печени;
- гексокиназа обладает сильным сродством к глюкозе: ее K_m 0,1 ммоль/л; напротив, глюкокиназа имеет высокую K_m (около 10 ммоль/л), т.е. ее сродство к глюкозе мало. Это значит, что глюкокиназа активирует глюкозу только при ее высокой концентрации в печени. Такая большая концентрация создается после приема пищи, поэтому на высоте пищеварения функционирование глюкокиназы препятствует резкому увеличению поступления глюкозы в общий кровоток; в перерывах между приемами пищи для фосфорилирования глюкозы в печени вполне достаточно гексокиназной активности.

При диабете этот механизм не срабатывает из-за низкой активности глюкокиназы (синтез и активность данного фермента находятся в строгой зависимости от инсулина), поэтому глюкоза не задерживается в печени и поступает в больших количествах в периферическую кровь, вызывая состояние гипергликемии.

В отличие от свободной глюкозы, глюкозо-6-фосфат не может проходить через клеточные мембраны. Таким образом, в результате фосфорилирования глюкоза «запирается» в клет-

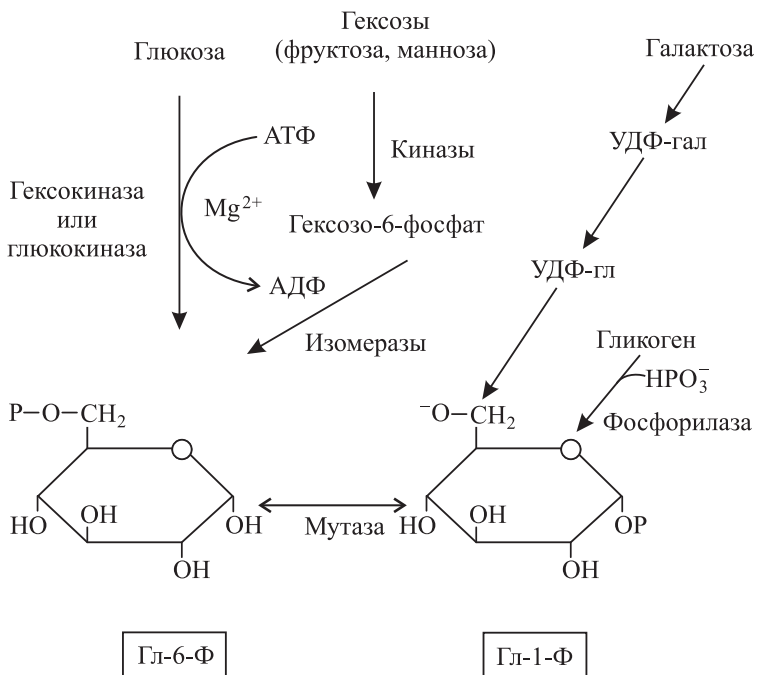


Рис. 5.3. Образование глюкозо-6-фосфата из других гексоз

ке. Глюкозо-6-фосфат может образоваться из других гексоз (рис. 5.3).

Глюкоза запасается в клетках в форме гликогена. Гликоген используется в качестве источника глюкозы для собственных нужд клеток различных органов, однако гликоген печени необходим для поддержания физиологической концентрации глюкозы в крови, прежде всего при голодании.

Синтез гликогена (рис. 5.4), как и все пути утилизации глюкозы, начинается с образования глюкозо-6-фосфата. Далее глюкозо-6-фосфат под действием фосфоглюкомутазы превращается в глюкозо-1-фосфат. Глюкозо-1-фосфат реагирует с УТФ, в результате чего образуется еще одна активная форма глюкозы – УДФ-глюкоза. Эта реакция катализируется ферментом УДФ-глюкопирофосфорилазой. Под действием гликогенсинтазы УДФ-глюкоза присоединяется к остатку гликогена – «затравочному гликогену», т.е. молекулам гликогена, которые присутствуют в клетке даже при длительном голодании орга-

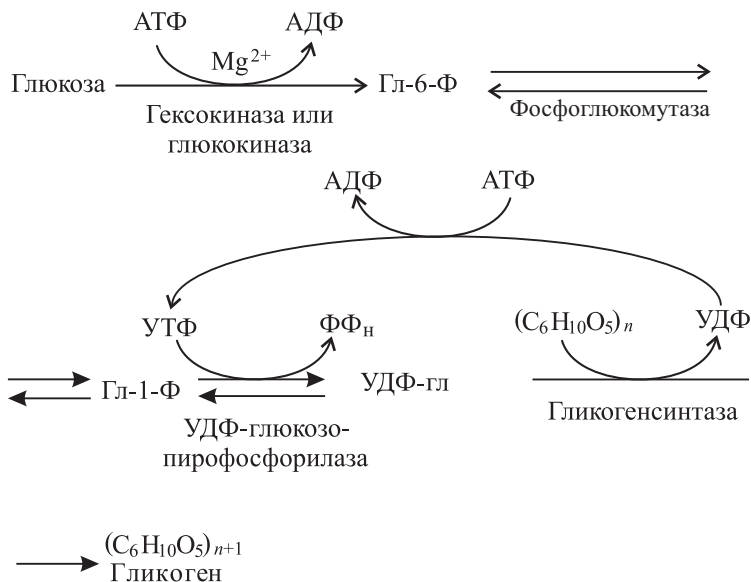


Рис. 5.4. Механизм образования гликогена:

Гл-6-Ф – глюкозо-6-фосфат; Гл-1-Ф – глюкозо-1-Ф; УДФ-гл – УДФ-глюкоза; ФФ_н – пирофосфат

низма, и таким образом линейная цепь гликогена наращивается. Под действием гликогенсинтазы образуется (1 → 4)-гликозидные связи; точки ветвления в молекуле гликогена – (1 → 6)-гликозидные связи – образует ветвящий фермент амило-(1 → 4) → (1 → 6)-гликозилтрансфераза.

Синтез гликогена тщательно регулируется. Ключевую роль в регуляции синтеза гликогена играет гликогенсинтаза. Этот фермент находится в клетке в неактивном, фосфорилированном состоянии (гликогенсинтаза D, от англ. dependent – зависимый). Активирование фермента, т.е. превращение его в активную форму – гликогенсинтазу I (от англ. independent – независимый) осуществляет фермент протеинфосфатаза.

В свою очередь фосфатаза может быть активной только в присутствии инсулина, а также глюкозо-6-фосфата, который является аллостерическим активатором гликогенсинтазы D (рис. 5.5).

Гликогенолиз – процесс распада гликогена. Голодание в течение суток приводит практически к полному исчезновению запасов гликогена в печени, а при интенсивной физической

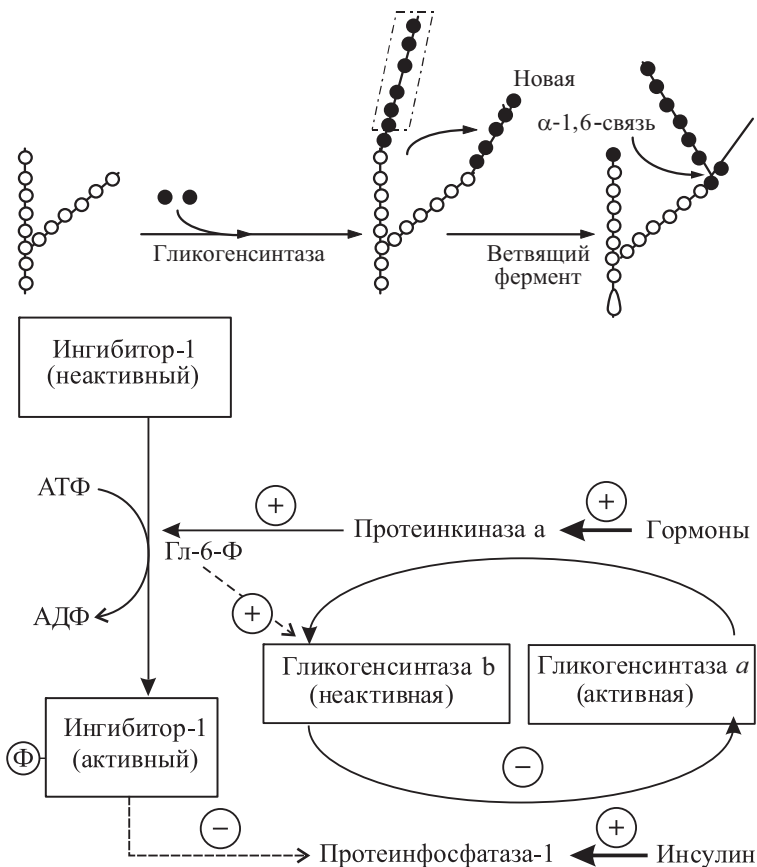


Рис. 5.5. Реакция, катализируемая гликогенсинтазой, и регуляция активности гликогенсинтазы:

Гл-6-Ф – глюкозо-6-фосфат; «+» – активация; «-» – ингибирование; Ф – фосфат

ской нагрузке гликоген исчезает значительно быстрее. Основной путь распада гликогена в клетках – фосфоролитический. Гликогенфосфорилаза катализирует отщепление глюкозного остатка в форме глюкозо-1-фосфата (распадается 1,4-гликозидная связь). Гидролитическое расщепление (1,6)-связей осуществляет деветвящий фермент – амило-(1,6)-глюкозидаза.

Из глюкозо-1-фосфата благодаря **фосфоглюкомутазе** образуется глюкозо-6-фосфат. В отличие от мышц, в печени и почках (рис. 5.6) имеется фермент, который способен отщеплять остаток фосфорной кислоты от глюкозо-6-фосфата – глюкозо-6-фосфатаза.

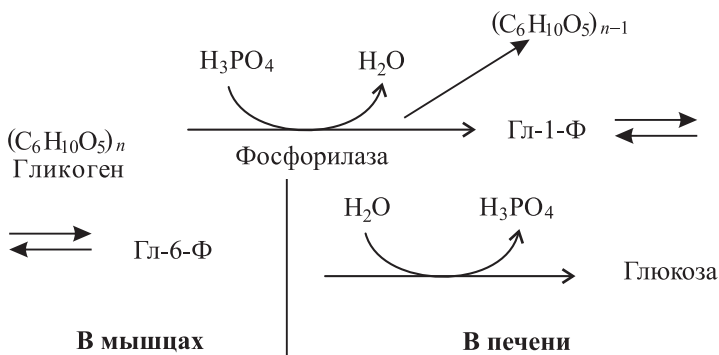


Рис. 5.6. Мобилизации гликогена в печени и мышцах:

Гл-1-Ф – глюкозо-1-фосфат; Гл-6-Ф – глюкозо-6-фосфат

Таким образом, печень является органом, который поддерживает нормогликемию благодаря способности гепатоцитов образовывать свободную глюкозу, которая, в отличие от глюкозо-6-фосфата, может проникать в кровь через мембрану гепатоцита.

Мышцы такой способностью не обладают. Глюкозо-6-фосфат, образовавшийся при распаде гликогена, используется мышцами для их собственных нужд.

Главным регуляторным ферментом гликогенолиза является фосфорилаза. Она может находиться в двух формах: фосфорилазы а (активная, фосфорилированная) и фосфорилазы б (неактивная, дефосфорилированная). Мышечная фосфорилаза а представляет собой димер, каждый мономер которого содержит одну молекулу пиридоксальфосфата. Превращение фосфорилазы б в активную форму катализируется киназой фосфорилазы б. Этот последний фермент (киназа) в свою очередь должен активироваться зависимой от цАМФ протеинкиназой (рис. 5.7).

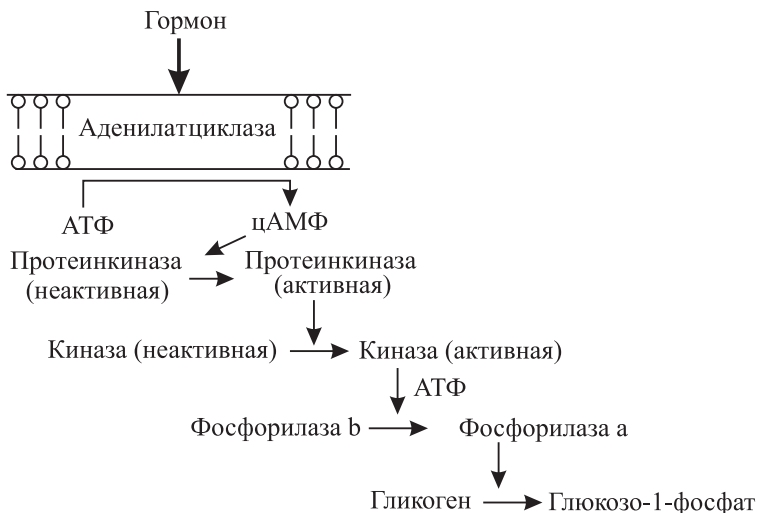


Рис. 5.7. Каскадный механизм активации фосфорилазы и распада гликогена

При действии довольно большого числа гормонов белково-пептидной природы цАМФ является внутриклеточным посредником. Он образуется из АТФ под действием фермента аденилатциклазы, находящегося на внутренней поверхности цитоплазматической мембраны клетки. Разрушается цАМФ фосфодиэстеразой до АМФ.

Аденилатциклаза печени активируется гормоном поджелудочной железы глюкагоном, а аденилатциклаза мышц – адреналином. Адреналин оказывает влияние и на печень, однако стимуляция гликогенолиза в печени под влиянием адреналина осуществляется цАМФ-независимым путем (за счет вызываемой катехоламинами мобилизации ионов Ca^{2+}).

Таким образом, процессы синтеза и распада гликогена регулируются гормонами, включающими механизм фосфорилирования ключевых ферментов: гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы.

Активация аденилатциклазы адреналином и глюкагоном приводит к образованию цАМФ, запускающего «каскадный» механизм фосфорилирования этих ферментов, в результате образуется фосфорилированная, т.е. неактивная, гликогенсинтаза D, и фосфорилированная, т.е. активная, фосфорилаза а – в этих условиях будет осуществляться распад гликогена. Напротив, под действием инсулина, включающего

механизм дефосфорилирования ключевых ферментов, появятся гликогенсинтаза I (активная) и гликогенфосфоорилаза b (неактивная), следовательно, будет происходить синтез гликогена.

Гликогенозы и агликогеноз. Гликогенозы – заболевания, обусловленные дефектом ферментов, участвующих в распаде гликогена. Они проявляются или необычной структурой гликогена, или его избыточным накоплением в печени, сердечной или скелетных мышцах, почках и других органах. Термин «гликогеноз» был предложен супругами Кори, они же предложили систему нумераций этих болезней. Однако в настоящее время преобладает деление гликогенозов на две группы: печеночные и мышечные.

Печеночные формы гликогенозов ведут к нарушению использования гликогена для поддержания уровня глюкозы в крови. Общий симптом для этих форм – гипогликемия в пост-абсорбтивный период. К этой группе заболеваний относятся гликогенозы I, III, IV, VI, IX типов.

Болезнь Гирке (гликогеноз I типа) среди всех гликогенозов встречается чаще всего. Описание основных симптомов этого типа гликогеноза может служить основанием для понимания симптомов всех остальных типов. Причина гликогеноза I типа – наследственный дефект глюкозо-6-фосфатазы, фермента, обеспечивающего выход глюкозы в кровоток после высвобождения из гликогена клеток печени. Болезнь Гирке проявляется гипогликемией, гипертриглицеролемией, гиперурикемией. Гипогликемия является следствием нарушения образования свободной глюкозы из глюкозо-6-фосфата. В крови повышается количество лактата, поэтому возможен ацидоз. В тяжелых случаях результатом гипогликемии могут быть судороги. Гипертриглицеролемия возникает вследствие снижения активности липопротеинлипазы жировой ткани, которая обеспечивает усвоение триглицеролов адипоцитами. Гиперурикемия является следствием ряда факторов – избыточного синтеза, а следовательно, и катаболизма пуриновых нуклеотидов, конечным продуктом которого является мочевая кислота; снижения выведения мочевой кислоты с мочой. При диагностике данной патологии определяют активность глюкозо-6-фосфатазы в биоптатах печени. Кроме того, используют тест со стимуляцией глюкагоном или адреналином, который в случае болезни дает отрицательный результат, т.е. после инъекции гормона уровень гликемии изменяется незначительно. Ле-

чение состоит в ограничении употребления продуктов, содержащих глюкозу. Рекомендуются исключить из диеты продукты, содержащие сахарозу и лактозу, так как образующиеся из них галактоза и фруктоза после превращения в глюкозо-6-фосфат ведут к дальнейшему накоплению гликогена. Для предотвращения гипогликемии используют частое кормление.

Мышечные формы гликогенозов характеризуются доминированием нарушений в энергоснабжении скелетной мускулатуры, которые чаще всего выявляются при физической нагрузке такими симптомами, как боли в мышцах, мышечная слабость, судороги, ферментемия мышечными энзимами. К ним относят гликогенозы V и VII типов, а также нумерованный по классификации Кори: дефицит мышечной фосфоглицеромутазы и дефект М-субъединицы лактатдегидрогеназы.

Несколько особняком в группе гликогенозов стоит гликогеноз II типа (болезнь Помпе). Это генерализованный гликогеноз, поражающий все гликогенсодержащие клетки. Фактически это лизосомальная болезнь, так как наблюдается дефект лизосомальной α -1,4-глюкозидазы. Заболевание встречается нередко и составляет почти 10% от всех гликогенозов. Среди гликогенозов эта форма наиболее злокачественна, не имеет эффективного лечения, и больные умирают в грудном возрасте.

Агликогеноз (гликогеноз O по классификации) – заболевание, возникающее в результате дефекта гликогенсинтазы. В печени и других тканях больных наблюдают очень низкое содержание гликогена. Это проявляется резко выраженной гипогликемией в постабсорбтивном периоде. Характерный симптом – судороги, проявляющиеся особенно по утрам. Болезнь совместима с жизнью, но такие дети нуждаются в частом кормлении.

Окисление глюкозо-6-фосфата в клетке происходит в нескольких метаболических путях. Фосфорилированная глюкоза может окисляться в клетке по трем основным направлениям, различающимся по способу изменения углеродного скелета молекулы:

- расщепление C–C связи между 3-м и 4-м углеродными атомами с образованием двух триоз (дихотомический путь) и последующее окисление триоз;
- окисление и отщепление 1-го углеродного атома – апотомический (*арех*-верхушка) или пентозофосфатный путь;
- окисление и последующее отщепление 6-го углеродного атома – глюкуроновый путь.

Главным путем распада глюкозы, ведущим к освобождению энергии, является *дихотомический путь*. В реакциях дихотомического пути получить энергию из глюкозы можно двумя путями:

- путем кислороднезависимого (анаэробного) распада глюкозы до молочной кислоты. Этот процесс называется гликолизом. Многоступенчатые реакции этого пути можно выразить суммарным уравнением



Часть этой энергии расходуется на образование двух молекул АТФ, остальная рассеивается в виде тепла;

- путем кислородзависимого (аэробного) распада глюкозы до конечных продуктов – CO_2 и H_2O . Формальное уравнение реакции будет следующим:



При этом 60% образующейся энергии депонируется в биологически доступной форме – в виде АТФ. Аэробный путь имеет несомненное экономическое превосходство над гликолизом: при равных количествах используемой глюкозы в первом случае образуется почти в 20 раз больше АТФ.

Аэробный распад глюкозы осуществляется большинством тканей нашего организма. Исключением являются эритроциты – их жизнедеятельность поддерживается исключительно путем гликолиза. Для злокачественных клеток основной путь получения энергии – также гликолиз. Мышцы используют гликолиз в случаях, когда потребление кислорода мышечными фибриллами при сильных нагрузках превышает его поступление. При этом расход глюкозы увеличивается и в мышцах накапливается молочная кислота. Много лактата образуется в злокачественной опухоли, которая является своеобразной «ловушкой» глюкозы. Объясняется это тем, что находящиеся в условиях крайне низкого снабжения кислородом злокачественные клетки вынуждены усиленно потреблять глюкозу, чтобы выработать необходимое для их бурной жизнедеятельности количество энергии.

Анаэробная дихотомия – это гликолиз. В цепи реакций гликолиза (рис. 5.8) можно выделить два звена. В первом глюкоза распадается на две триозы (подготовительная

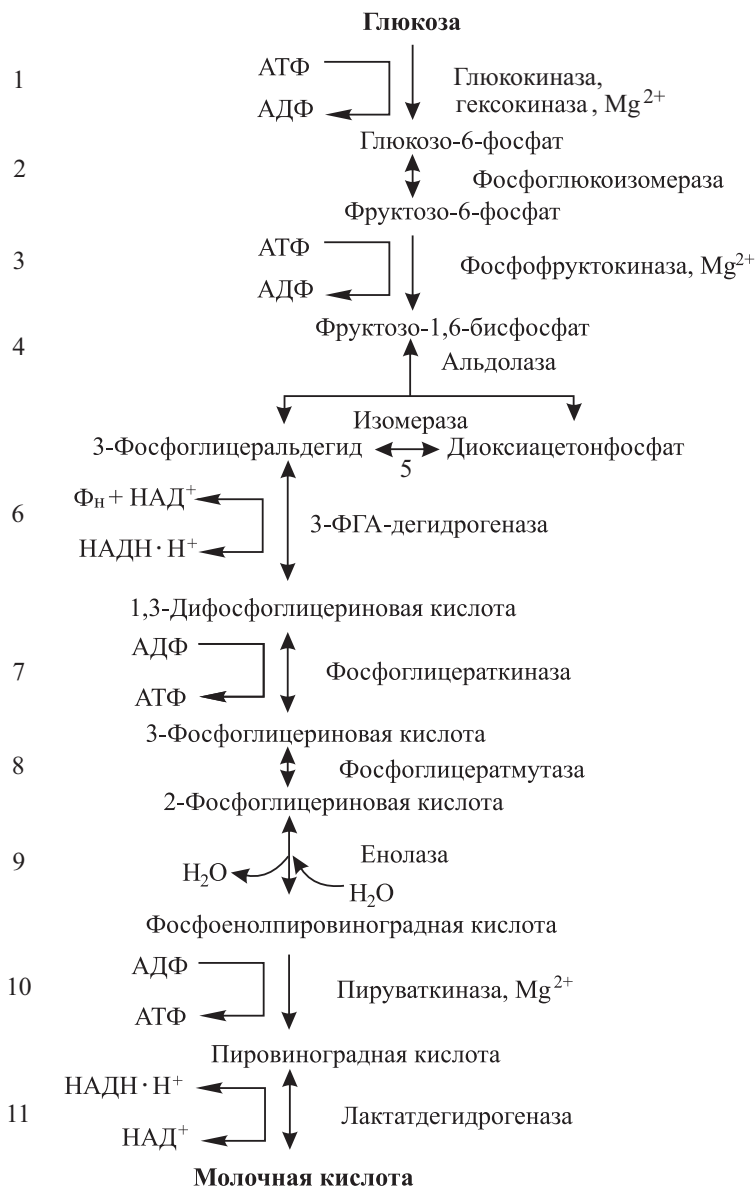


Рис. 5.8. Схема анаэробного гликолиза:
1–11 – порядковые номера реакций

стадия). В этом отрезке цепи еще нет поставки энергии, напротив, имеется отрицательный энергетический баланс в результате расходования энергии АТФ на реакции фосфорилирования. Во втором звене гликолиза, получившим название гликолитической оксидоредукции, осуществляется окисление трехуглеродных молекул в пируват, который вслед за этим будет восстанавливаться в лактат.

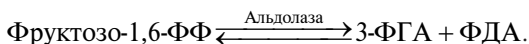
Реакция 1 – образование глюкозо-6-фосфата. Эта реакция необратима (см. рис. 5.8).

Реакция 2 – изомеризация глюкозо-6-фосфата с образованием фруктозо-6-фосфата. Эта реакция обратима и катализируется изомеразой.

Реакция 3 – фосфорилирование фруктозо-6-фосфата с образованием фруктозо-1,6-бифосфата. В этой реакции происходит значительное падение свободной энергии, поэтому она необратима.

Фосфофруктокиназа – аллостерический фермент, имеет сложную четвертичную структуру. Его аллостерическими активаторами являются АМФ, АДФ, фруктозо-6-фосфат. Угнетают фермент повышенные концентрации АТФ и цитрат. Интересно, что АТФ вначале используется как субстрат этой реакции, а затем, связываясь с аллостерическим центром фермента, прекращает реакцию. В последние годы было установлено, что важным аллостерическим регулятором фосфофруктокиназы является фруктозо-2,6-бифосфат (фруктозо-2,6-дифосфат).

Реакция 4 – распад фруктозо-1,6-бифосфата на две триозы:



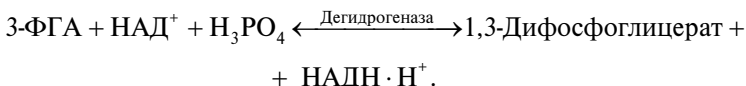
Эта реакция обратима. Фермент называется альдолазой, так как образующийся фосфодиоксиацетон (ФДА) и 3-фосфоглицериновый альдегид (3-ФГА), обратимо связываясь, образуют альдол, т.е. фруктозо-1,6-бифосфат.

Определение активности альдолазы используют в энзимной диагностике при заболеваниях, которые связаны с повреждением или гибелью клеток. Так, при остром гепатите активность этого фермента может увеличиваться в 5–20 раз, при инфаркте миокарда – в 3–10 раз, при прогрессирующей миодистрофии – в 4–10 раз. Поскольку образующийся под действием альдолазы 3-ФГА расходуется в дальнейших реакциях

гликолиза, равновесие реакции смещается в сторону распада фруктозо-1,6-бифосфата.

Реакция 5 – превращение фосфодиоксиацетона в 3-ФГА осуществляет фермент триозофосфатизомераза.

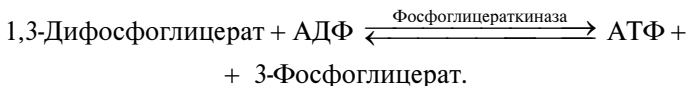
Реакция 6 – образование 1,3-дифосфоглицерата. В этой реакции при окислении 3-ФГА водород альдегидной группы будет переноситься на НАД⁺. Выделяющейся при этом энергии достаточно для того, чтобы образующийся продукт окисления (1,3-дифосфоглицерат) мог заключить в себе макроэргическую связь. Реакция катализируется дегидрогеназой 3-фосфоглицеринового альдегида по суммарному уравнению



Фермент состоит из четырех одинаковых субъединиц, ко- ферментом его является НАД⁺. Реакция обратима.

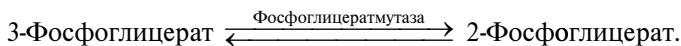
С этого момента количество последующих продуктов нужно удвоить, так как в предыдущей реакции образовалось две молекулы триозы.

Реакция 7 – образование АТФ в результате субстратного фосфорилирования:

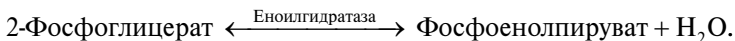


Эта реакция экзергоническая – она сопровождается выделением значительного количества свободной энергии, поэтому равновесие ее сдвинуто вправо. Данная реакция может быть обратимой при избытке 3-фосфоглицерата, в ней происходит фосфорилирование АДФ за счет энергии макроэргического субстрата – 1,3-дифосфоглицериновой кислоты.

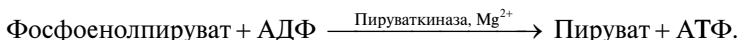
Реакция 8 – изомеризация 3-фосфоглицерата в 2-фосфоглицерат:



Реакция 9 – образование фосфоенолпирувата. На этой стадии, катализируемой енолазой, происходит отщепление молекулы воды и перераспределение энергии внутри молекулы, при этом фосфат во втором положении переходит в макроэргическое состояние:

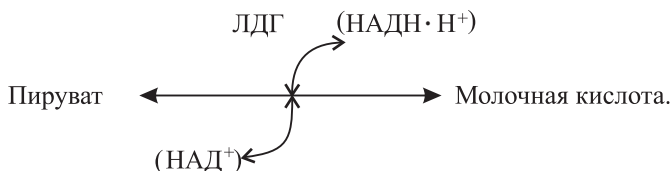


Реакция 10 – образование АТФ в результате субстратного фосфорилирования:



Это вторая реакция субстратного фосфорилирования в гликолизе. Здесь фосфоенолпируват используется для образования АТФ. Реакция необратима, так как протекает с большим падением свободной энергии.

Реакция 11 – образование лактата. Это реакция, катализируемая лактатдегидрогеназой (ЛДГ), она обратима:

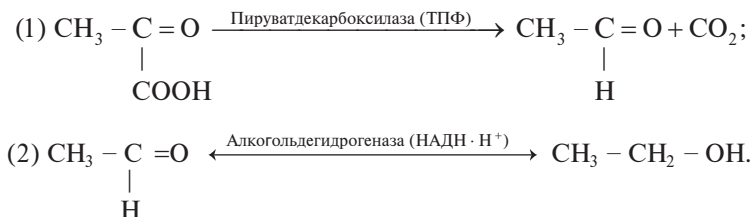


Итак, гликолиз завершается образованием лактата. В мышцах молочная кислота не используется – она поступает с током крови в печень, где вновь превращается (путем обратимости ЛДГ-азной реакции) в пируват. Полезный энергетический выход гликолиза – две молекулы АТФ.

Гликолиз протекает в цитозоле клетки, он не нуждается в митохондриальной дыхательной цепи. АТФ образуется в двух реакциях субстратного фосфорилирования: в расчете на 1 моль глюкозы образуется четыре моля АТФ, однако два моля АТФ нужно вычесть, так как они потребляются в подготовительной стадии гликолиза. Таким образом, остается два моля АТФ, образующихся в гликолизе при окислении одного моля глюкозы.

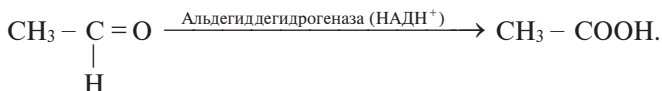
В анаэробных условиях глюкоза может превращаться и в этиловый спирт. Этот процесс характерен для дрожжей. Он протекает в анаэробных условиях до стадии пирувата точно так же, как и гликолиз. Однако пировиноградная кислота в реакциях спиртового брожения сначала декарбоксилируется (1) с образованием ацетальдегида (фермент – пиру-

ватдекарбоксилаза), а затем под действием алкогольдегидрогеназы образуется этанол (2):



Как установлено в недавнее время, в тканях млекопитающих эти реакции также протекают. Полагают, что тяга к алкоголю обуславливается недостаточной мощностью собственных систем синтеза этанола. Экзогенное поступление этилового спирта, согласно механизму обратной связи, нарушает выработку эндогенного этанола – необходимого метаболита клеток. Зависимость от этанола развивается быстрее у лиц, родители которых были алкоголиками. Врожденная зависимость встречается много реже, чем приобретенная.

Обезвреживается этанол с помощью той же алкогольдегидрогеназы (кофермент – НАД⁺), при этом образуется ацетальдегид, который окисляется **альдегиддегидрогеназой** в уксусную кислоту:



Уксусная кислота активируется с образованием ацетилкоэнзима А, который включается в цикл Кребса. Почти 90% поступившего в организм этанола обезвреживается печенью с участием этих двух ферментов. Остальное количество окисляется в микросомах печени. Хроническое потребление алкоголя приводит к циррозу печени и увеличивает риск развития рака, особенно на фоне действия малых доз радиации.

Глюкоза может окисляться по дихотомическому пути и в аэробных условиях. Цепь реакций аэробного распада глюкозы можно расчленить на несколько основных звеньев:

- дихотомический распад глюкозы до стадии пирувата, полностью совпадающий с реакциями гликолиза;
- окислительное декарбоксилирование пирувата, завершающееся образованием ацетил-КоА (реакции этого метаболического пути приведены в гл. 4);

- «сгорание» ацетил-КоА в цитратном цикле, тесно связанном с дыхательной цепью митохондрий (см. гл. 4).

Распад глюкозы в аэробных условиях (рис. 5.9) условно делят на три стадии: распад глюкозы на две молекулы пирувата, окислительное декарбоксилирование пирувата до ацетил-КоА, окисление ацетил-КоА и передача протонов субстратов цикла Кребса в дыхательную цепь.

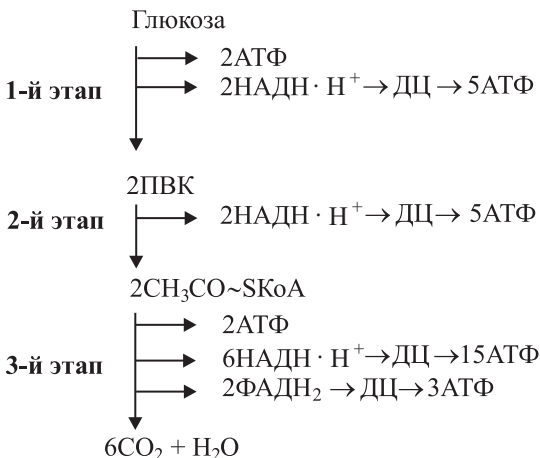


Рис. 5.9. Этапы аэробного распада глюкозы:
ПВК – пирувиноградная кислота; ДЦ – дыхательная цепь

На первом этапе, как указывалось выше, синтезируется две молекулы АТФ в расчете на одну молекулу глюкозы. Если гликолиз завершается образованием двух молекул лактата (восстанавливается две молекулы пирувата с помощью лактатдегидрогеназы и двух молекул НАДН · Н⁺), то в аэробных условиях пируват не восстанавливается, а подвергается декарбоксилированию, т.е. две молекулы НАДН · Н⁺ «экономятся». Не следует забывать, что реакции гликолиза протекают в цитозоле клетки, и образовавшийся здесь НАДН · Н⁺ не может передавать водород непосредственно в дыхательную цепь, поскольку митохондриальная мембрана для этого кофермента непроницаема.

Перенос водорода с цитозольного НАДН · Н⁺ внутрь митохондрии осуществляется специальными механизмами, они называются *челночными*. Один из наиболее значимых – *малат-*

аспартатный. Суть его работы заключается в том, что НАДН · Н⁺ в цитозоле клетки восстанавливает оксалоацетат, который при этом превращается в малат, затем малат проникает внутрь митохондрии, где отдает восстановленный кофермент в дыхательную цепь.

Таким образом, за счет двух молекул НАДН · Н⁺, образовавшихся в цитоплазме клетки на стадии гликолитической оксидоредукции, дополнительно синтезируется $2,5 \cdot 2 = 5$ молекул АТФ. Учитывая две молекулы АТФ, синтезированные в реакциях субстратного фосфорилирования до стадии образования пирувата на первом этапе, получаем $2\text{АТФ} + 5\text{АТФ} = 7\text{АТФ}$.

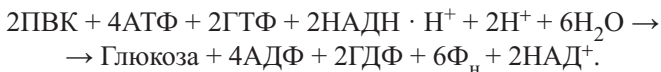
На втором этапе при окислительном декарбоксилировании двух молекул пирувата (процесс осуществляется в митохондриях) получаем пять молекул АТФ за счет двух молекул НАДН · Н⁺, образующихся под действием пируватдегидрогеназы.

На третьем этапе при окислении двух молекул ацетил-КоА за счет водорододonorной и собственно энергетической функции цикла Кребса получаем $10 \cdot 2 = 20\text{АТФ}$.

В сумме на всех трех этапах аэробного окисления одного моля глюкозы получаем 32 моля АТФ. Как видно, в энергетическом отношении этот процесс много выгоднее гликолиза.

Глюконеогенез. Глюконеогенез – это синтез глюкозы из неуглеводных продуктов, в первую очередь из аминокислот, лактата и пирувата, субстратов цикла Кребса и глицерола. Жирные кислоты не могут служить источником глюкозы.

Суммарное уравнение выглядит следующим образом:



Глюконеогенез обеспечивает потребность организма в глюкозе в тех случаях, когда тенденция к гипогликемии не компенсируется гликогеном печени, например при относительно длительном голодании или резком ограничении углеводов в питании. Постоянное поступление глюкозы в качестве источника энергии абсолютно необходимо нервной ткани и эритроцитам. В анаэробных условиях мышца для энергетических нужд также использует только глюкозу; глюкоза необходима и жировой ткани для синтеза глицерола – составной части липидов.

Рассмотрим образование глюкозы в первую очередь из пирувата, так как в него легко превращается основная гликогенная аминокислота – аланин, а также молочная кислота, которая, поступая в значительных количествах в кровь из мышц после физической нагрузки, в печени под действием лактатдегидрогеназы окисляется в пируват. Кроме того, в процессе катаболизма субстратов цикла Кребса образуется оксалоацетат, который включается в реакции глюконеогенеза.

Основные стадии глюконеогенеза совпадают с реакциями гликолиза, только протекают они в обратном направлении (рис. 5.10). Однако имеется очень важная особенность, об-

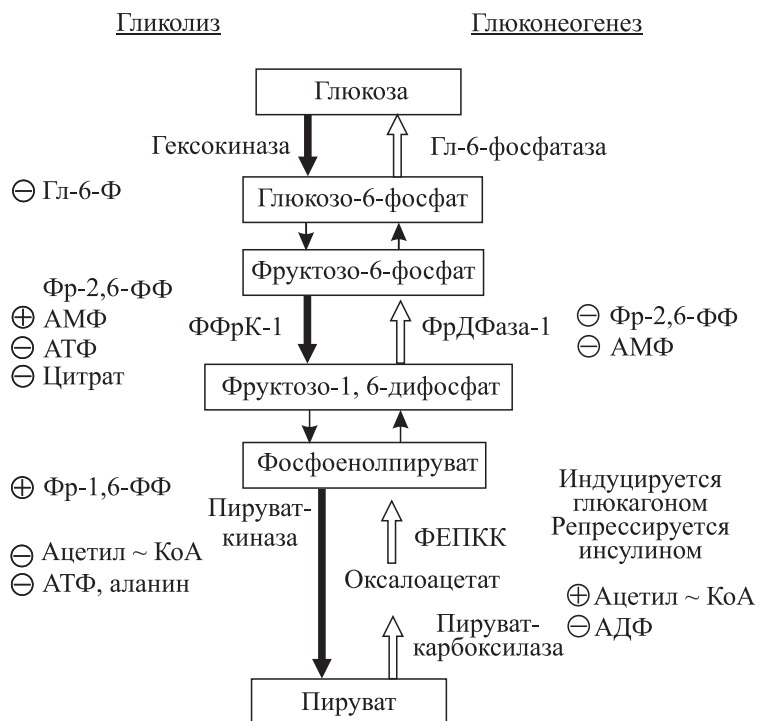
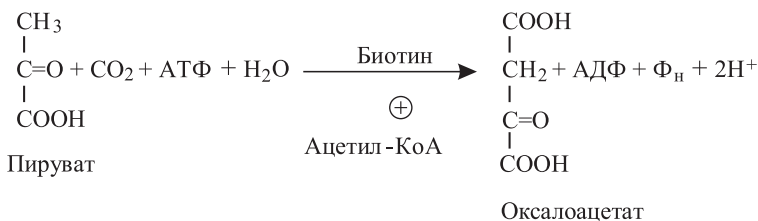


Рис. 5.10. Гликолиз и глюконеогенез. Механизмы регуляции:

Гл-6-Ф – глюкозо-6-фосфат; Фр-2,6-ФФ – фруктозо-2,6-бисфосфат; Фр-1,6-ФФ – фруктозо-1,6-бисфосфат; ФФрК-1 – фосфофруктокиназа-1; ФрДФаза-1 – фруктозобисфосфатаза-1; ФЕПКК- фосфоенолпируваткарбоксикиназа; «+» – активирование; «-» – ингибирование; толстые стрелки – лимитирующие стадии процессов с соответствующими аллостерическими эффекторами

условленная тем, что три реакции в гликолизе, катализируемые киназами – гексокиназой, фосфофруктокиназой и пируваткиназой, – необратимы. Эти барьеры обходятся в глюконеогенезе с помощью специальных реакций.

- Обход пируваткиназной реакции – катализируется двумя ферментами: пируваткарбоксилазой и фосфоенолпируваткарбоксикиназой. Первый фермент – пируваткарбоксилаза – локализуется в митохондриях. Он является биотин-зависимым (напомним, что реакции карбоксилирования в клетках протекают с участием витамина Н) и активируется ацетил-КоА по аллостерическому механизму:



Оксалоацетат не способен проникать через митохондриальную мембрану в цитозоль, где должны протекать последующие реакции. Поэтому вначале под действием митохондриальной НАД⁺-зависимой малатдегидрогеназы оксалоацетат превращается в малат (рис. 5.11). Последний легко выходит из митохондрий в цитоплазму клетки, где вновь превращается в ЩУК под действием цитоплазматической малатдегидрогеназы.

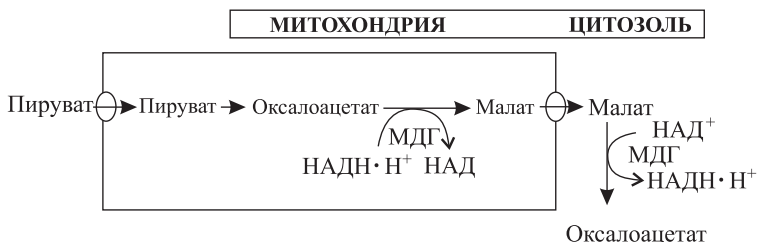
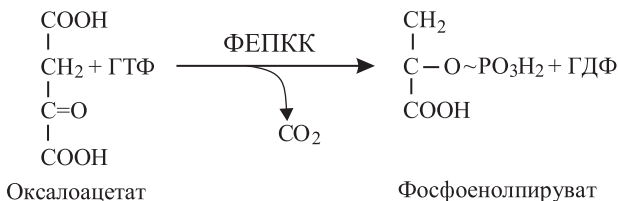


Рис. 5.11. Включение пировиноградной кислоты в процессы глюконеогенеза:
МДГ – малатдегидрогеназа

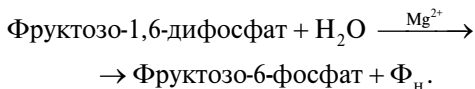
Затем в реакцию вступает второй собственный фермент глюконеогенеза – фосфоенолпируваткарбоксикиназа (ФЕПКК):



В этой реакции образование макроэргической связи фосфоенолпирувата осуществляется за счет энергии ГТФ, одновременно происходит декарбоксилирование оксалоацетата.

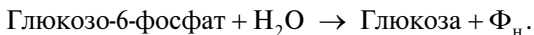
Далее следуют реакции гликолиза в обратном направлении до стадии образования фруктозо-1,6-дифосфата.

- Обход фосфофруктокиназной реакции – осуществляется фруктозо-1,6-бифосфатазой:



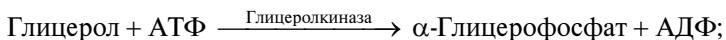
Затем вновь идет обратимая реакция гликолиза – она катализируется фосфогексоизомеразой с образованием глюкозо-6-фосфата.

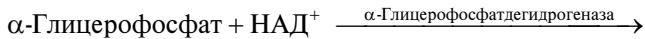
- Обход гексокиназной реакции – происходит с участием фосфатазы глюкозо-6-фосфата:



Свободная глюкоза, образующаяся в ходе этой реакции, поступает из печени в кровь и утилизируется тканями.

При голодании, когда усиленно потребляются в качестве источников энергии жирные кислоты, в большом количестве образуется глицерол. Он, активируясь с помощью АТФ, под действием глицеролкиназы превращается в α-глицерофосфат, который затем окисляется α-глицерофосфатдегидрогеназой в фосфодиоксиацетон – субстрат гликолиза:





Далее фосфодиоксиацетон используется на синтез глюкозы.

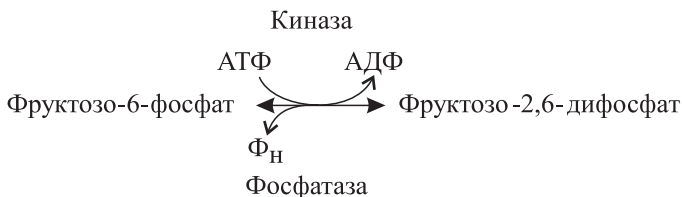
Регуляция глюконеогенеза. Важнейшими регуляторами глюконеогенеза являются глюкокортикоиды. Они, с одной стороны, оказывают катаболическое действие на мышечную ткань, что приводит к увеличению поступления аминокислот в кровотока; с другой стороны, они индуцируют биосинтез ферментов глюконеогенеза в печени (анаболический эффект гормонов), благодаря чему поступившие в печень аминокислоты могут использоваться для синтеза глюкозы.

Непосредственное, но взаимопротивоположное влияние на регуляцию глюконеогенеза оказывают гормоны поджелудочной железы – глюкагон и инсулин. Глюкагон ингибирует гликолиз и активирует процесс глюконеогенеза в печени путем увеличения концентрации цАМФ. Активируя протеинкиназу, цАМФ вызывает тем самым фосфорилирование пируваткиназы – фермента гликолиза. Поскольку фосфорилированная пируваткиназа неактивна, гликолиз прекращается; соответственно активируются ферменты глюконеогенеза.

Необходимо отметить, что все ключевые ферменты гликолиза и глюконеогенеза регулируются координированно. Так, инсулин является индуктором синтеза глюкокиназы, фосфофруктокиназы и пируваткиназы (ключевых ферментов гликолиза) и одновременно – репрессором пируваткарбоксилазы, фосфоенолпируваткарбоксикиназы, фруктозо-1,6-бисфосфатазы и глюкозо-6-фосфатазы (ключевых ферментов глюконеогенеза). Напротив, глюкагон является индуктором синтеза ферментов глюконеогенеза и одновременно ингибитором ключевых ферментов гликолиза.

Ферменты, катализирующие главные реакции гликолиза и глюконеогенеза, являются *аллостерическими белками*, и их регуляция происходит по принципу «обратной связи» под влиянием аллостерических эффекторов. Аллостерические регуляторы изменяют скорость протекания реакции быстро. Так, аллостерическим активатором пируваткарбоксилазы (фермент глюконеогенеза) является ацетил-КоА. Одновременно он ингибирует пируватдегидрогеназу. Значит, накопление ацетил-КоА в клетке замедляет окисление глюкозы и стимулирует ее синтез, т.е. глюконеогенез.

Однако самым главным аллостерическим регулятором гликолиза и глюконеогенеза является фруктозо-2,6-бифосфат (фруктозо-2,6-бисфосфат, фруктозо-2,6-дифосфат), который синтезируется из фруктозо-6-фосфата с затратой энергии АТФ, а распадается он на фруктозо-6-фосфат и фосфорную кислоту:



Синтез фруктозо-2,6-бифосфата (киназная реакция) и его распад катализируются одним и тем же ферментом, называемым **бифункциональным**. Этот бифункциональный фермент в свою очередь регулируется (рис. 5.12) путем фосфорилирования. Фосфорилирование приводит к увеличению фосфатаз-

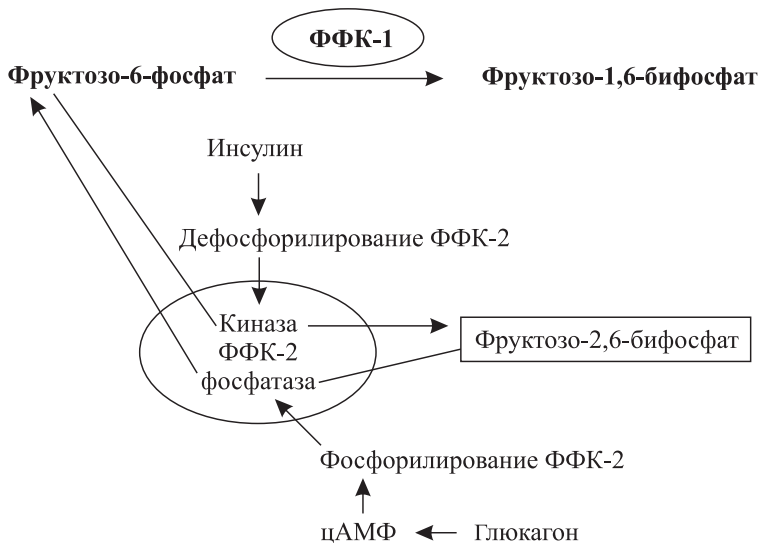


Рис. 5.12. Регуляция бифункционального фермента:

ФФК-1 – фосфофруктокиназа-1; ФФК-2 – фосфофруктокиназа-2. Фосфорилированная форма бифункционального фермента проявляет фосфатазную активность, а дефосфорилированная – киназную

ной активности и снижению киназной; иными словами, фосфорилирование приводит к снижению содержания фруктозо-2,6-бифосфата. Поскольку фруктозо-2,6-бифосфат является аллостерическим активатором ключевого фермента гликолиза – фосфофруктокиназы, снижение его содержания приводит к замедлению реакций гликолиза. С другой стороны, увеличение киназной активности способствует образованию фруктозо-2,6-бифосфата, следовательно, гликолиз будет усиливаться.

Фосфорилирование бифункционального фермента является цАМФ-зависимой реакцией. Следовательно, гормоны, увеличивающие образование цАМФ (в первую очередь, глюкагон), будут стимулировать фосфорилирование бифункционального фермента, т.е. способствовать снижению содержания фруктозо-2,6-бифосфата в печени и тем самым ускорять глюконеогенез. Инсулин будет оказывать противоположное действие.

Пентозофосфатный (апотомический) путь окисления глюкозы. В этом пути окисления глюкозы, как видно из названия, образуются пентозофосфаты, наиболее важными из которых является рибозо-5-фосфат. Рибоза необходима клетке для синтеза мононуклеотидов (в частности, АМФ, АДФ и др.), динуклеотидов (НАД⁺, ФАД и др.) и полинуклеотидов (ДНК). Другой очень важной функцией пентозофосфатного пути является образование НАДФН · Н⁺. В отличие от НАДН · Н⁺, используемого клеткой для энергетических нужд, НАДФН · Н⁺ выполняет пластическую роль: этот кофермент необходим для синтеза жирных кислот, холестерина и стероидных гормонов, кетонных тел и других соединений.

Последовательность реакций пентозофосфатного пути можно разделить на две части: окислительную и неокислительную.

Окислительная часть. В этой части пути протекают две реакции дегидрирования, катализируемые дегидрогеназой глюкозо-6-фосфата и дегидрогеназой 6-фосфоглюконата. Коферментом этих дегидрогеназ является НАДФ⁺ (рис. 5.13). При втором дегидрировании одновременно происходит декарбоксилирование первого атома глюкозы, поэтому путь называется также апотомическим (от англ. *apex* – верхушка). В результате образуется фосфорилированная пентоза – рибулозо-5-фосфат.

Неокислительная часть. Этот отрезок пентозофосфатного пути сложнее (см. рис. 5.13). В отличие от предыдущей, окислительной, части, все реакции второй части обра-

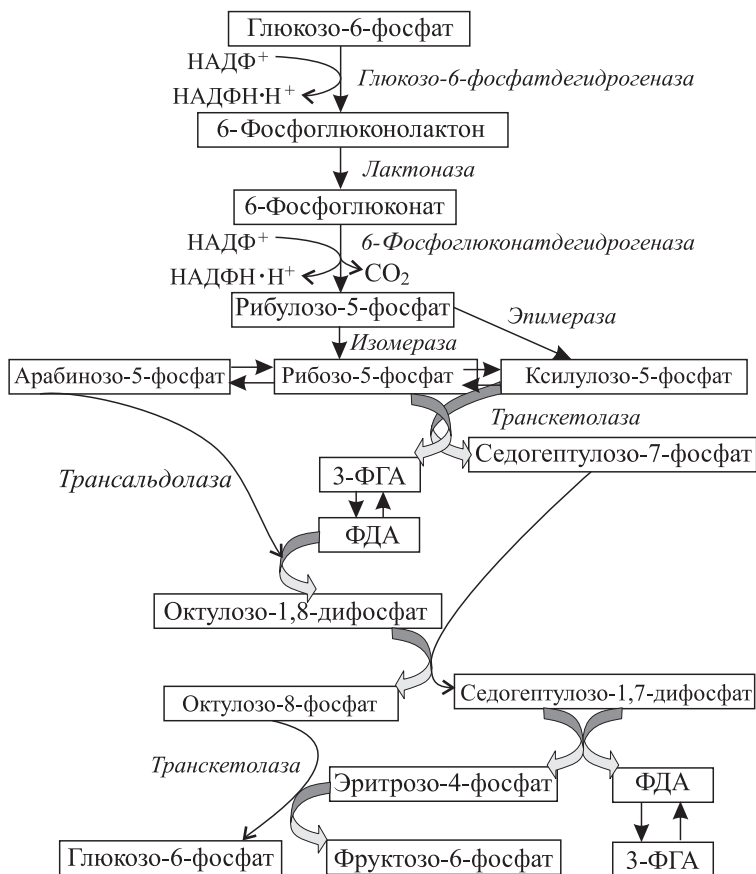
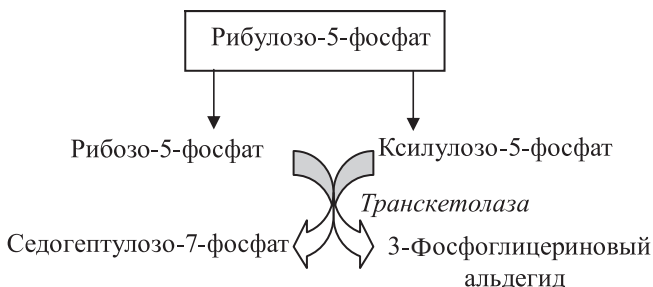


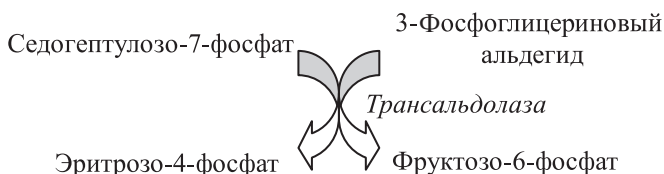
Рис. 5.13. Схема реакций пентозофосфатного пути превращения глюкозы:
ФДА – диоксиацетонфосфат; 3-ФГА – 3-фосфоглицеральдегид

тимы. Поэтому пентозы, образующиеся в процессе распада нуклеотидов, могут служить для синтеза глюкозы. Неокислительная часть пути включает два типа реакций: транскетолазную и трансальдолазную. Установлено, что коферментом транскетолазы является тиаминпирофосфат. Транскетолаза переносит двухуглеродный фрагмент, трансальдолаза – трехуглеродный фрагмент.

В реакцию вначале вступают рибозо-5-фосфат и ксилулозо-5-фосфат, которые образуются из рибулозо-5-фосфата под действием особых эпимераз:



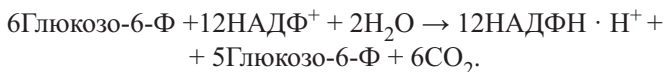
В этой реакции к рибозо-5-фосфату присоединяются два атома углерода, переносимые транскетолазой, от ксилулозо-5-фосфата; в результате образуются седогептулозо-7-фосфат и 3-фосфоглицериновый альдегид. Далее эти два образовавшихся соединения реагируют друг с другом в т р а н с а л ь д о л а з н о й р е а к ц и и; при этом в результате переноса C_3 -фрагмента от седогептулозо-7-фосфата на 3-фосфоглицериновый альдегид образуются эритрозо-4-фосфат и фруктозо-6-фосфат:



Следующая реакция вновь катализируется транскетолазой:



Окислительный и неокислительный этапы пентозофосфатного пути вместе можно рассматривать как циклический процесс, в результате которого распадается одна молекула глюкозы. *Суммарное уравнение* такого процесса выглядит следующим образом:



У млекопитающих активность пентозофосфатного пути высока в печени, жировой ткани, надпочечниках, молочной железе во время лактации. Это связано с синтезом соединений, для которых донором водорода является НАДФН · Н⁺ (жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов). Этот кофермент необходим также для жизнедеятельности эритроцитов.

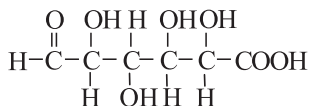
Пентозофосфатный путь тесно связан с гликолизом. У обоих путей превращения глюкозы имеются общие метаболиты: фруктозо-6-фосфат и 3-фосфоглицериновый альдегид. Фруктозо-6-фосфат с помощью фосфогексоизомеразы может превращаться в глюкозо-6-фосфат, а 3-фосфоглицериновый альдегид может участвовать не только в гликолизе, но и аэробном пути окисления глюкозы.

От гликолиза пентозофосфатный путь существенно отличается тем, что в нем (1) в качестве кофермента участвует не НАД⁺, а НАДФ⁺; в апотомическом пути (2) образуется СО₂ (чего нет в гликолизе), и (3) обычно не используется как источник энергии.

Регуляция. Ключевыми ферментами пентозофосфатного пути являются обе дегидрогеназы окислительной части. Индуктором их биосинтеза является инсулин. Эти дегидрогеназы считаются адаптивными ферментами, так как их активность зависит от питания — при достаточном поступлении углеводов они активируются. При диабете и голодании, напротив, ингибируются.

Глюкуроновый путь окисления глюкозы. Этот метаболический путь является незначительным в количественном отношении, но весьма важным для функции обезвреживания: конечные продукты метаболизма и чужеродные вещества (ксенобиотики), связываясь с активной формой глюкуроновой кислоты (УДФ-глюкуроновая кислота) при участии УДФ-глюкуронилтрансферазы превращаются в глюкурониды, которые легко экскретируются (рис. 5.14).

Важным продуктом окисления глюкозы в организме является *глюкуроновая кислота*:



Глюкуроновая кислота соединяется в организме с веществами, плохо растворимыми в воде. В результате связывае-

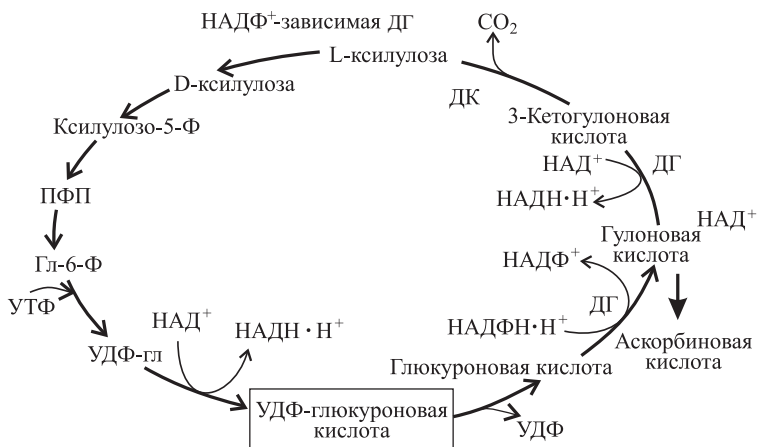


Рис. 5.14. Глюкуроновый путь окисления глюкозы:

Гл-6-Ф – глюкозо-6-фосфат; ДГ – дегидрогеназа; ДК – декарбоксилаза; УДФ-гл – УДФ-глюкоза

мое вещество становится водорастворимым и выводится с мочой или желчью. Такой путь выведения особенно важен для водонерастворимых стероидных гормонов, продуктов их распада, а также для выделения продуктов распада лекарственных веществ. Без взаимодействия с глюкуроновой кислотой нарушается дальнейший распад и выделение из организма желчных пигментов.

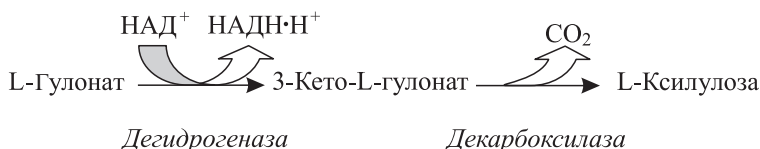
Сама глюкуроновая кислота является необходимой составной частью гликозаминогликанов, таких как гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты, гепарин. У млекопитающих (за исключением человека, приматов и морских свинок) в результате превращения глюкозы по этому пути синтезируется аскорбиновая кислота.

Превращение глюкозы в УДФ-глюкозу происходит аналогично реакциям синтеза гликогена. Затем УДФ-глюкоза окисляется по шестому атому углерода с образованием глюкуроновой кислоты. Процесс протекает в две стадии: вначале образуется УДФ-глюкуроновая кислота при участии дегидрогеназы, затем от УДФ-глюкуроновой кислоты отщепляется УДФ и образуется глюкуроновая кислота.

В результате следующей реакции глюкуроновая кислота восстанавливается НАДФН · Н⁺-зависимой дегидрогеназой

до L-гулоновой кислоты, которая и является непосредственным предшественником аскорбиновой кислоты у животных.

Гулоновая кислота далее окисляется до 3-кето-L-гулоната, последний декарбоксилируется с образованием L-ксилулозы:



Ксилулоза может включаться в пентозофосфатный путь, однако не в виде L-изомера, который образуется в глюкуроновом пути, а в виде D-изомера. Процесс превращения L-изомера в D-ксилулозу катализируется НАДФ⁺-зависимыми дегидрогеназами через стадию образования ксилитола. При редком наследственном заболевании, обусловленном отсутствием указанных ферментов, в моче появляется большое количество L-ксилулозы (и диопатическая пентозурия).

Обмен фруктозы. Источником фруктозы в крови является фруктоза, содержащаяся в свободном виде во фруктах, и фруктоза, образующаяся при распаде сахарозы. Поступая с током крови в мышцы, жировую ткань и почки, она подвергается фосфорилированию гексокиназой (рис. 5.15).

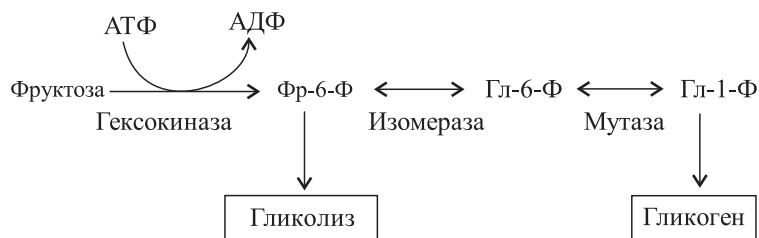


Рис. 5.15. Превращение фруктозы в глюкозу в клетках мышц, жировой ткани и почек

В печени вначале фруктоза фосфорилируется (рис. 5.16) под влиянием специфического фермента фруктокиназы. Далее под действием альдолазы идет распад фруктозо-1-фосфата, а образовавшийся D-альдегид фосфорилируется в 3-фосфоглицериновый альдегид. Роль образовавшихся соединений в метаболизме глюкозы также рассматривалась выше.

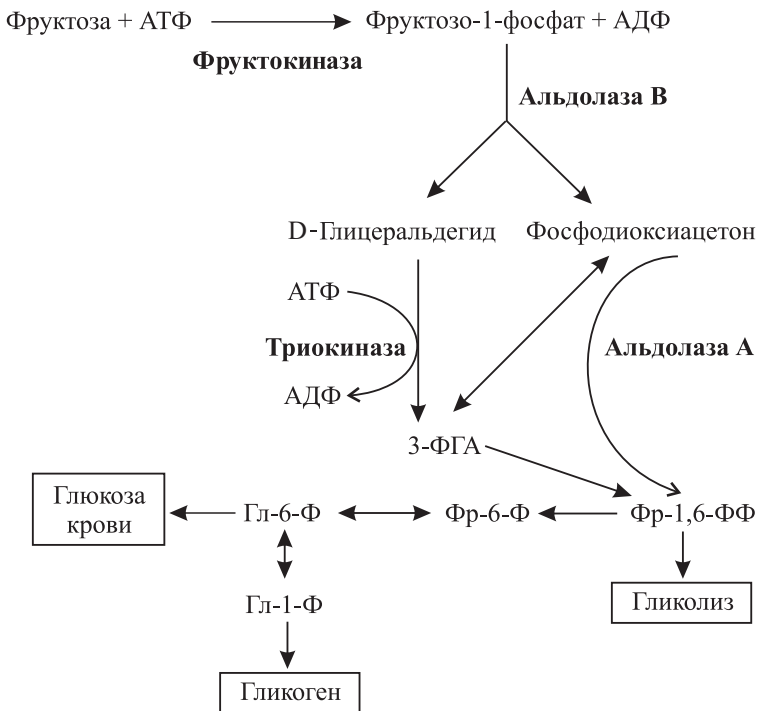


Рис. 5.16. Пути обмена фруктозы в клетке:

Гл-6-Ф – глюкозо-6-фосфат; Гл-1-Ф – глюкозо-1-фосфат; Фр-6-Ф – фруктозо-6-фосфат; Фр-1,6-ФФ – фруктозо-1,6-бифосфат; 3-ФГА – 3-фосфоглицериновый альдегид

Нарушения метаболизма фруктозы. Данные нарушения могут проявляться в двух клинических формах. *Эссенциальная фруктозурия* – врожденная аномалия, обусловлена недостаточностью активности фруктокиназы, катализирующей превращение фруктозы в фруктозо-1-фосфат, что исключает ее включение в метаболизм. Фруктоза накапливается в крови и уже при небольшом превышении ее концентрации (почечный порог для фруктозы низок) выделяется с мочой, где ее можно обнаружить лабораторными методами. Клинические проявления отсутствуют. Важно не перепутать эту безвредную аномалию с сахарным диабетом. Эссенциальная фруктозурия встречается с частотой 1 : 130 000.

Наследственная непереносимость фруктозы возникает при генетически обусловленном дефекте фруктозо-1-фосфат-

альдозазы (альдозаза В). Не проявляется, пока ребенок питается грудным молоком, т.е. пока пища не содержит фруктозы. Симптомы возникают, когда в рацион вводят фрукты, соки, сахарозу. Рвота, боли в животе, диарея, гипогликемия и даже кома и судороги возникают через 30 мин после приема пищи, содержащей фруктозу. У детей, продолжающих принимать фруктозу, развиваются хронические нарушения функций печени и почек.

Дефект альдозазы фруктозо-1-фосфата сопровождается накоплением фруктозо-1-фосфата, который ингибирует активность фосфоглюкомутазы, превращающей глюкозо-1-фосфат в глюкозо-6-фосфат. Происходит торможение распада гликогена на стадии образования глюкозо-1-фосфата, в результате чего развивается гипогликемия. Следовательно, в тканях будет нарушаться аэробный и анаэробный распад глюкозы, а также ее синтез (альдозазная реакция в гликолизе обратима и поэтому одновременно служит реакцией глюконеогенеза). Как следствие, ускорятся мобилизация липидов из депо, окисление жирных кислот и синтез кетонowych тел. Результатом торможения гликогенолиза и гликолиза является снижение синтеза АТФ. Накопление фосфорилированной фруктозы ведет к нарушению обмена неорганического фосфата и гипофосфатемии. Для пополнения уровня внутриклеточного фосфата ускорятся распад адениловых нуклеотидов с образованием мочевой кислоты. Повышение количества мочевой кислоты и снижение экскреции уратов в условиях метаболического ацидоза проявляются в виде гиперурикемии. Следствием гиперурикемии может быть подагра даже в молодом возрасте.

Обмен галактозы и его нарушение. Галактоза – составная часть лактозы молока, в печени фосфорилируется с участием галактокиназы (рис. 5.17). Следующей реакцией является образование УДФ-галактозы из галактозо-1-фосфата, которую катализирует уридилтрансфераза.

Путь глюкозо-1-фосфата уже известен из вышеизложенного, а УДФ-галактоза подвергается эпимеризации, превращаясь под действием фермента эпимеразы в УДФ-глюкозу. Последняя с участием пирофосфата расщепляется (рис. 5.18).

Галактоземия возникает при нарушении обмена галактозы, обусловленном наследственным дефектом одного из трех ферментов, включающих галактозу в метаболизм глюкозы. Галактоземия, вызванная недостаточностью галактозо-1-фос-

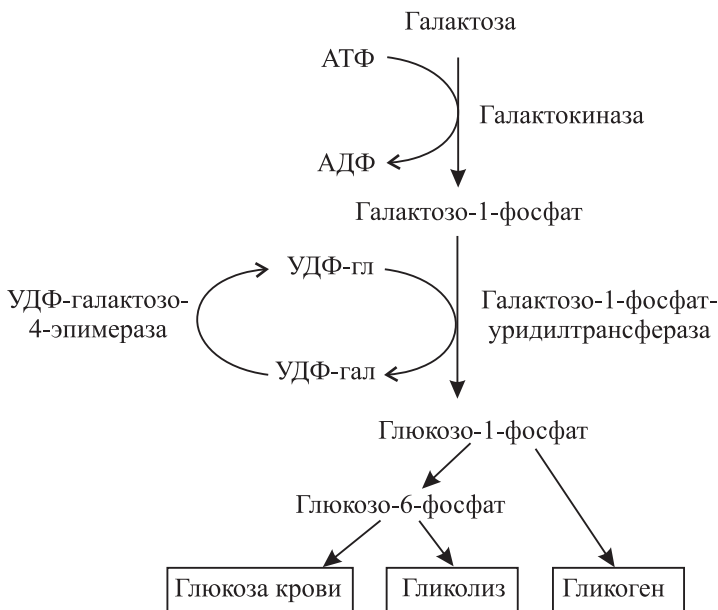


Рис. 5.17. Пути обмена галактозы в клетке:
УДФ-гл – УДФ-глюкоза; УДФ-гал – УДФ-галактоза

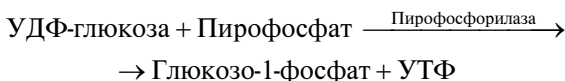


Рис. 5.18. Промежуточная реакция обмена галактозы – расщепление УДФ-глюкозы с участием пирофосфорилазы

фатуридилтрансферазы (ГАЛТ), наиболее хорошо изучена. Это заболевание проявляется очень рано и особенно опасно для детей, так как основным источником углеводов для них служит материнское молоко, содержащее лактозу. Ранние симптомы дефекта ГАЛТ: рвота, диарея, дегидратация, уменьшение массы тела, желтуха, гепатомегалия, катаракта, задержка психического развития. Лабораторные исследования при этом выявляют галактоземию (до 11–16 ммоль/л), галактозурию, галактозо-1-фосфатемию, тенденцию к гипогликемии.

При дефекте фермента галактокиназы у пациентов отмечается галактоземия, галактозурия, катаракта. Гораздо реже при-

чиной возникновения галактоземии является дефект уридилфосфат-4-эпимеразы, при котором не отмечается тяжелых клинических проявлений.

При диагностике галактоземии исследуют мочу на содержание галактозы, собранную после нескольких кормлений молоком. При обнаружении у ребенка катаракты его обследуют на недостаточность галактокиназы и ГАЛТ. При переходе на рацион, не содержащий галактозы, симптомы заболевания не проявляются, однако помутнение хрусталика уже не исчезает.

Регуляция углеводного обмена осуществляется на всех его этапах при участии нервной системы и гормонов. Кроме того, активность ферментов метаболизма углеводов регулируется по принципу обратной связи с помощью аллостерических эффекторов, к которым можно отнести конечные продукты реакции, субстраты, некоторые метаболиты, адениловые мононуклеотиды. Большую роль в направленности метаболических путей играет соотношение окисленных и восстановленных форм коферментов ($\text{НАД}^+/\text{НАДН} \cdot \text{H}^+$). Все эти регулирующие воздействия рассматривались при описании соответствующих путей метаболизма глюкозы.

Регуляция концентрации глюкозы в крови. Концентрация глюкозы в крови – основной биохимический показатель состояния углеводного обмена. В норме она составляет (3,65–6,11) 3,33–5,55 ммоль/л у взрослого человека. Глюкоза равномерно распределена между плазмой и клетками крови, поэтому ее количество можно определять в цельной крови и сыворотке. Поддержание содержания глюкозы в крови на определенном уровне является примером одного из самых совершенных механизмов гомеостаза, в функционировании которого участвуют печень, внепеченочные ткани и некоторые гормоны. Снижение концентрации глюкозы ниже 3,33 ммоль/л называют гипогликемией, а ниже 2,7 ммоль/л вызывает опасное состояние – гипогликемическую кому. При повышении профиля гликемии до 10 ммоль/л глюкоза появляется в моче – глюкозурия¹, а при

¹ При нормальном уровне гликемии фильтруемая почечными клубочками глюкоза полностью возвращается в кровоток. Однако если содержание глюкозы в крови превышает 9–10 ммоль/л, то глюкоза не может быть полностью реабсорбирована и выделяется с мочой (глюкозурия). Такая предельная концентрация глюкозы в крови, при которой глюкоза попадает в мочу, называется почечным порогом. Однако глюкозурия может наблюдаться и при относительно нормальном содержании глюкозы в крови, если нарушена функция почек.

увеличении концентрации до 22 ммоль/л и более развивается гипергликемическая кома.

Основные источники глюкозы в крови: (1) углеводы пищи; (2) гликоген печени; (3) предшественники глюкозы, участвующие в глюконеогенезе. Поддержание постоянства гликемии – важнейшее условие нормальной жизнедеятельности организма. Печень является единственным органом, который способен депонировать глюкозу (в виде гликогена) для нужд всего организма, так как гепатоциты содержат весьма активную фосфатазу глюкозо-6-фосфата. Образующаяся под действием этого фермента свободная глюкоза легко проникает через мембрану гепатоцита в кровь. При увеличении концентрации глюкозы в крови ее выход из печени прекращается.

Центральную роль в регуляции содержания глюкозы в крови играет *инсулин*. Его концентрация в крови изменяется параллельно концентрации глюкозы. Секрецию инсулина стимулируют аминокислоты, жирные кислоты, кетоновые тела, гормоны – глюкагон и секретин; адреналин и норадреналин, напротив, его секрецию угнетают.

Под действием инсулина глюкоза быстро поглощается мышечной и жировой тканью за счет ускорения ее транспорта. Это происходит в результате активирования белка-переносчика глюкозы и встраивания его в цитоплазматическую мембрану тканей. В печень глюкоза способна поступать и при выраженной недостаточности инсулина.

Инсулин, связываясь со своими специальными рецепторами, действует на внутриклеточные процессы или путем эндоцитоза попадает внутрь клетки, где разрушается. Как указывалось выше, инсулин активирует пути утилизации глюкозы клеткой и ингибирует ее образование (гликогенолиз и глюконеогенез). В результате ускорения поступления глюкозы в клетки и усиления ее использования содержание глюкозы в крови падает.

Все остальные гормоны вызывают, в основном, увеличение содержания глюкозы в крови. Глюкагон, подобно адреналину, активирует фосфорилазу и вызывает гликогенолиз в печени, однако, в отличие от адреналина, глюкагон не влияет на фосфорилазу мышц. Важнейшей функцией глюкагона является также стимуляция глюконеогенеза в печени. Все эти эффекты приводят к гипергликемии.

Глюкокортикоиды усиливают глюконеогенез за счет ускорения катаболизма белков в тканях, при этом увеличивается

поступление аминокислот в кровь и потребление их печенью. Одновременно активируются аминотрансферазы, катализирующие превращение аминокислот в субстраты для глюконеогенеза, и увеличивается активность специальных ферментов глюконеогенеза. Кроме того, глюкокортикоиды препятствуют утилизации глюкозы во внепеченочных тканях. В итоге все эти воздействия приводят к возрастанию гликемии.

Гормон роста способствует увеличению уровня глюкозы в крови опосредованно: стимулируя распад жиров и тем самым приводя к увеличению концентрации свободных жирных кислот, уменьшает потребление глюкозы клетками (жирные кислоты являются ингибиторами использования глюкозы клетками).

Избыточная продукция гормонов щитовидной железы при гипертиреозе также приводит к гипергликемии.

Гипергликемия. Может рассматриваться как физиологическое состояние, связанное с одномоментным приемом в пищу больших количеств легкоусвояемых углеводов (алиментарная гипергликемия), или как нейрогенная (стрессорная) – при усиленном выбросе в кровь большого количества катехоламинов, стимулирующих фосфоролитический распад гликогена. Физиологическая гипергликемия отличается быстро преходящим характером.

Патологические типы гипергликемий обусловлены нейроэндокринными расстройствами: нарушением оптимального отношения между секрецией гормонов гипо- и гипергликемического действия. Наиболее распространенная форма патологической гипергликемии – сахарный диабет, связанный с недостаточной продукцией единственного гипогликемического гормона – инсулина или с толерантностью тканей к этому гормону. Гипергликемия может наблюдаться при заболеваниях гипофиза, которые сопровождаются повышенной секрецией соматотропного гормона и АКТГ (опухоли гипофиза, болезнь Иценко – Кушинга, акромегалия), опухолях мозгового слоя надпочечников с усиленной продукцией катехоламинов или коркового слоя (усиливается продукция глюкокортикоидов). То же может наблюдаться при поражениях диэнцефальной области мозга, гиперфункции щитовидной железы, а также при нарушении депонирования глюкозы в виде гликогена в печени.

Гипогликемия. В качестве физиологической может развиваться вслед за алиментарной гипергликемией в связи с компенсаторным выбросом инсулина после тяжелой и длитель-

ной мышечной работы, иногда возникает у женщин в период лактации.

Патологическая гипогликемия может быть следствием гиперинсулинизма при следующих явлениях:

- передозировке инсулина или гипогликемических препаратов при сахарном диабете;
- аденоме или карциноме островковых клеток поджелудочной железы (гиперинсулинизм с высоким уровнем проинсулина);
- семейной лейцинчувствительной гипогликемии;
- ульцерогенной аденоме поджелудочной железы, развивающейся из α -клеток, секретирующих глюкагон и гастрин.

Возможно развитие гипогликемии без гиперинсулинизма – при заболевании почек со снижением почечного порога для глюкозы, что ведет к усиленной ее потере с мочой; нарушении всасывания углеводов в ЖКТ; заболеваниях печени с торможением синтеза гликогена и глюконеогенеза; недостаточности надпочечников (дефицит глюкокортикоидов); галактоземии и гликогенозах.

Выделяют еще паранеопластические инсулинзависимые гипогликемии, сопровождающие первичный рак печени, мезенхимальную опухоль, тератому. К числу патологических гипогликемий может быть отнесена и алиментарная – при длительном голодании или недостаточном поступлении углеводов с пищей.

Концентрация глюкозы в крови у детей отличается значительной вариабельностью. Спустя несколько часов после рождения и в последующие несколько дней развивается физиологическая гипогликемия новорожденных. Нижний уровень гликемии при этом достигает значений 1, –2,0 ммоль/л. Новорожденный переносит этот низкий уровень глюкозы без внешних признаков гипогликемии, наблюдаемых у взрослых, – рвота, судороги, кома. Такая относительная устойчивость ребенка к гипогликемии обусловлена тем, что головной мозг новорожденного имеет довольно низкий уровень потребления энергии, вследствие чего лучше переносит гипоксию и гипогликемию. Тем не менее концентрация глюкозы в крови ниже 1,1 ммоль/л может привести к стойкому повреждению ЦНС.

Главными причинами гипогликемии у новорожденных являются: быстрое истощение депо углеводов в печени (гликогена), незрелость регуляторных механизмов, несвоевременное кормление, интенсивное поглощение глюкозы тканями, осо-

бенно в условиях гипоксии. Для поддержания нормального уровня глюкозы в крови необходимо регулярное поступление ее из ЖКТ, что требует частого кормления ребенка. В то же время у детей при гипогликемии компенсаторно активируются эндогенные механизмы регуляции метаболизма углеводов. Снижение профиля гликемии сопровождается увеличением секреции глюкагона. Этот гормон стимулирует процесс глюконеогенеза, который обеспечивает наработку определенного количества глюкозы из аминокислот, пировиноградной и молочной кислот. Глюконеогенез является важной адаптационной реакцией организма новорожденного, так как позволяет постепенно повысить уровень гликемии к 6–10-му дню жизни до 3,3–4,0 ммоль/л. В пределах таких величин концентрация глюкозы в крови держится на протяжении нескольких месяцев.

У детей раннего и дошкольного возраста (до 6–7 лет) отмечается склонность к гипогликемии при недостаточном поступлении углеводов с пищей. Такая гипогликемическая реакция организма ребенка обусловлена несовершенством механизмов регуляции, истощением маломощных депо гликогена и повышенной утилизацией глюкозы тканями – у детей дошкольного возраста потребление глюкозы более чем в 2 раза превышает утилизацию ее у взрослых. Только к 7–14 годам указанные механизмы, влияющие на уровень гликемии, приходят к типу взрослого организма, регуляция концентрации глюкозы в крови стабилизируется и гликемия у детей достигает величин взрослого человека.

Сахарный диабет. Сахарный диабет (СД) – заболевание, характеризующееся абсолютным или относительным дефицитом инсулина. Это самая распространенная эндокринная патология на земном шаре. По данным медицинской статистики больные сахарным диабетом составляют около 5% населения во многих странах. Риск развития заболевания удваивается на каждые 20% избыточного веса, а среди пожилых людей (старше 65 лет) болен почти каждый пятый. В основе лежит нарушение регуляторной функции инсулина. Сахарный диабет разделяют, с учетом различия генетических факторов и клинического течения, на две основные формы: диабет I типа – инсулинзависимый (когда нарушен синтез инсулина, в результате чего его концентрация в крови снижена) и диабет II типа – инсулиннезависимый (содержание инсулина в крови может находиться в пределах нормы или даже быть повышен-

ным). Тем не менее все симптомы заболевания свидетельствуют о недостаточности инсулина. Причины этого многочисленны, важнейшая из них – уменьшение сродства гормона к инсулиновому рецептору.

Инсулинзависимый сахарный диабет (ИЗСД) вызван разрушением β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы. Деструкция β -клеток часто является следствием аутоиммунных реакций, в которых принимают участие лимфоциты и макрофаги. Эти клетки продуцируют цитокины, которые либо непосредственно повреждают β -клетки, либо опосредуют клеточные реакции против них. Провоцировать возникновение заболевания может вирусная инфекция, вызывающая деструкцию β -клеток. К таким вирусам, называемым β -цитотропными, относятся вирусы оспы, краснухи, кори, эпидемического паротита, цитомегаловирус, аденовирус. Некоторые токсические вещества, например производные нитрозомочевины и другие нитро- и аминокислотосодержащие соединения, избирательно поражают β -клетки и индуцируют аутоиммунную реакцию. Кроме того, инсулинзависимый сахарный диабет может быть результатом генетически обусловленного дефекта системы иммунологического надзора и сочетаться с другими аутоиммунными заболеваниями.

На долю инсулинзависимого сахарного диабета приходится примерно 25–30% всех случаев сахарного диабета. Когда погибает 80–95% β -клеток, возникает абсолютный дефицит инсулина, и развиваются тяжелые метаболические нарушения. Заболевание поражает в большинстве случаев детей, подростков и молодых людей, но может проявиться в любом возрасте.

Инсулиннезависимый сахарный диабет (ИНСД) – общее название нескольких заболеваний, развивающихся в результате относительного дефицита инсулина, который может возникать вследствие нарушения его секреции, нарушения превращения проинсулина в инсулин, повышения скорости катаболизма инсулина, а также повреждения механизмов передачи инсулинового сигнала на клетки-мишени (дефект рецептора инсулина, повреждение внутриклеточных посредников инсулинового сигнала и др.). Заболевание поражает людей, как правило, старше 40 лет и характеризуется высокой частотой семейных форм. Риск его развития у ближайших родственников больного достигает 50%, тогда как при инсулинзависимом сахарном диабете он не превышает 10%.

Возможными причинами инсулиннезависимого сахарного диабета могут быть образование антител к рецепторам инсулина, генетический дефект пострецепторного этапа проведения сигнала в инсулинзависимых тканях, нарушение регуляции секреции инсулина. К факторам, определяющим развитие и клиническое течение болезни, относятся ожирение, неправильный режим питания, малоподвижный образ жизни, стресс. Мутации генов, контролирующих секрецию инсулина, энергетический обмен в β -клетках и обмен глюкозы в клетках – мишенях инсулина приводят к возникновению нескольких форм инсулиннезависимого сахарного диабета с аутосомно – доминантным типом наследования. Основным провоцирующим фактором развития заболевания является ожирение. Этот тип диабета часто сочетается с гиперинсулинемией, что способствует ожирению. Таким образом, ожирение, с одной стороны, важнейший фактор риска, а с другой – одно из ранних проявлений сахарного диабета.

Нарушения метаболизма при сахарном диабете. Основными симптомами сахарного диабета являются гипергликемия и глюкозурия, кетонемия и кетонурия, азотемия и азотурия, полиурия и полидипсия.

Для всех форм СД характерно повышение концентрации глюкозы в крови. Снижение толерантности к глюкозе наблюдается и в случаях скрытой (латентной) формы СД. Гипергликемия обусловлена снижением скорости использования глюкозы тканями вследствие недостатка инсулина или снижения биологического действия инсулина в тканях-мишенях. Концентрация адреналина и глюкагона – антагонистов инсулина при диабете, как правило, не снижается, а глюкокортикоидов – часто даже значительно увеличивается (*стероидный диабет*), что приводит к еще более выраженной гипергликемии.

При дефиците инсулина уменьшается количество белков – переносчиков глюкозы (ГЛЮТ4) на мембранах инсулинзависимых клеток (жировой ткани и мышц). В гепатоцитах, миоцитах и адипоцитах снижается активность гексокиназы (глюкокиназы), что ведет к уменьшению образования глюкозо-6-фосфата. Это в свою очередь сопровождается угнетением гликолиза и пентозофосфатного пути. Вследствие активации фосфорилазы и ингибирования гликогенсинтетазы усиливается скорость гликогенолиза и замедляется процесс синтеза гликогена. Активируются ферменты глюконеогенеза и гепатоциты усиленно нарабатывают глюкозу *de novo*. Нарушается пол-

ноценное функционирование цикла трикарбоновых кислот и, как следствие, возникает снижение окислительного фосфорилирования и дефицит АТФ.

Организм больных СД удовлетворяет свои энергетические потребности прежде всего за счет окисления липидов. Это обуславливает глубокую перестройку липидного обмена. При СД резко увеличены скорость липолиза и содержание свободных жирных кислот в крови. Липиды активно ресинтезируются в печени, и поэтому обе формы СД приводят к стеатозу печени. При ИЗСД накопление липидов в печени наблюдается, несмотря на общее исхудание, и липиды могут составлять до 30% массы печени. СД часто сопровождается гиперлипопротеемией IV типа с накоплением в крови липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП). Из-за снижения активности липопротеинлипазы при ИЗСД формируется гиперлипопротеемия I типа (персистирование хиломикронов). Пищевые жиры не депонируются в жировой ткани вследствие ослабления процессов расщепления триацилглицеролов под влиянием липопротеинлипазы, а поступают в печень, где частично превращаются в триацилглицеролы, которые транспортируются из печени в составе ЛПОНП.

К характерным признакам СД относят также повышение в крови концентрации кетоновых тел – кетонемия (см. гл. 6).

При недостаточности инсулина усиливается катаболизм белков и снижается их синтез, так как транспорт аминокислот в клетки является инсулинзависимым процессом. Это вызывает повышение концентрации аминокислот в крови. Усиление распада белков и соответственно аминокислот приводит к азотемии. Аминокислоты поступают в печень и дезаминируются. Безазотистые остатки гликогенных аминокислот включаются в глюконеогенез, что еще больше усиливает гипергликемию. Образующийся при этом аммиак вступает в орнитиновый цикл, что приводит к увеличению концентрации мочевины в крови и соответственно в моче. Усиление распада белков при СД особенно характерно для мышц. Этот процесс сопровождается выходом калия и других внутриклеточных ионов в кровь с последующей экскрецией их с мочой, в условиях полиурии. Гипокалиемия и потеря мышечных белков обуславливают симптом мышечной слабости при СД. Повышение концентрации мочевины в крови приводит к увеличению выведения азота с мочой.

Усиленная жажда при диабете обусловлена повышением осмотического давления плазмы крови, так как глюкоза является осмотически активным веществом. Учитывая ограничение концентрационной способности почек, больные нуждаются в большем количестве воды (полидипсия), которая, естественно, сопровождается полиурией. Диурез у больных СД возрастает в несколько раз и может достигать 8–9 л в сутки, но чаще составляет 3–4 л. В тяжелых случаях наступает обезвоживание организма, так как в результате выделения большого количества мочи уменьшается объем крови. Уменьшение объема крови приводит к дегидратации клеток. Внешними признаками дегидратации тканей являются: сухость слизистых оболочек, дряблость кожи, запавшие глаза. Кровяное давление падает, поэтому нарушается доставка кислорода тканям и развивается тканевая гипоксия.

Нарушения обмена углеводов, липидов и белков при СД могут приводить к развитию коматозных состояний (острые осложнения). Диабетическая кома проявляется в резком нарушении всех функций организма с потерей сознания. Основные предшественники диабетической комы – ацидоз и дегидратация тканей. Коматозные состояния при СД могут проявляться в трех основных формах: кетоацидотической, гиперосмолярной и лактоацидотической.

Поздние осложнения сахарного диабета. Главная причина поздних осложнений СД – гипергликемия. Она приводит к повреждению кровеносных сосудов, нарушению функций различных тканей и органов.

Некоторые белки в норме содержат углеводные компоненты (гликопротеины), и их образование протекает ферментативно. При диабете увеличивается содержание гликозилированных соединений, образующихся ферментативным путем, прежде всего гликолипидов, гликопротеинов и протеогликанов. Эти сложные липиды и белки входят в состав клеточных мембран; их избыточное количество нарушает функции мембран (их проницаемость, жидкостнокристаллические свойства, способность к рецепции гормонов, нейромедиаторов и пр.). Однако в организме человека может происходить и неферментативное взаимодействие глюкозы со свободными аминокетогруппами белков – неферментативное гликозилирование белков (присоединение остатков глюкозы неферментативным путем к свободным аминокетогруппам белков). В тканях здоровых людей эта реакция протекает медленно, а при гипер-

гликемии она ускоряется. Особую роль играет ускорение процесса неферментативного гликозилирования при постоянно повышенном уровне глюкозы в крови. Гликозилированные белки в норме обновляются с определенной скоростью, при диабете такие белки накапливаются. Например, у здоровых людей гликозилировано не более 10% гемоглобина (норма 5,8–7,2%), у больных диабетом – в 2–3 раза больше. Такой гемоглобин обладает меньшим сродством к кислороду. Гликозилирование белков приводит к изменению их конформации и функций. Степень гликозилирования белков зависит от скорости их обновления. В медленно обменивающихся белках накапливается больше изменений. Примером медленно обменивающихся белков служат кристаллины – белки хрусталика. При гликозилировании кристаллины образуют многомолекулярные агрегаты, прозрачность хрусталика уменьшается, возникает его помутнение или катаракта. К медленно обменивающимся белкам относятся белки межклеточного матрикса, базальных мембран. Утолщение базальных мембран, одно из характерных осложнений СД, приводит к развитию диабетических ангиопатий.

Другим важным метаболическим нарушением является избыточное образование в некоторых специализированных клетках шестиатомного спирта сорбитола. Сорбитол образуется при восстановлении глюкозы с участием сорбитолдегидрогеназы, коферментом является НАДФН · Н⁺. При диабете этот путь интенсифицируется потому, что пути окисления глюкозы, начинающиеся с образования глюкозо-6-фосфата, из-за недостатка инсулина затормаживаются. В связи с этим избыток глюкозы подвергается превращениям, не зависящим от инсулина, т.е. восстановлению в сорбитол. Сорбитол не используется в других метаболических путях, и скорость его диффузии из клеток невелика. Плохо проникая через клеточные мембраны, накапливаясь в клетках клубочков почек, шванновских клетках, в эндотелии артериальных стенок, эритроцитах, сетчатке и хрусталике глаза, семенниках, сорбитол приводит к осмотическому набуханию клеток, следствием чего является их гипоксия. С целью смягчения указанных нарушений при диабете необходимо систематическое и непрерывное лечение, включающее рациональное питание и заместительную терапию инсулином или препаратами, снижающими содержание глюкозы в крови.

Диагностика сахарного диабета. Обычно диагноз СД можно поставить на основе классических его симптомов – гипергликемии, полиурии, полидипсии, полифагии, ощущения сухости во рту. Важнейшими являются четыре биохимических признака ИЗСД.

1. Тест толерантности к глюкозе. Толерантность к глюкозе, или, иными словами, проверка способности организма регулировать содержание сахара в крови, служит для контроля регуляции гликемии, прежде всего системы инсулина¹.

Под толерантностью к глюкозе понимают способность организма снижать экстремальные колебания концентрации глюкозы в крови после нагрузки глюкозой. Для оценки служит изменение концентрации глюкозы в крови, которое вызывается однократным оральным приемом 50 г глюкозы в пределах двухчасового интервала (рис. 5.19). Если регуляторные системы организма не повреждены, то быстро наступающее увеличение содержания глюкозы в крови приводит к срочному выбросу инсулина, который, увеличивая потребление глюкозы тканями, снижает ее повышенную концентрацию в крови до нормогликемии.

В клинической лаборатории для определения глюкозотолерантного теста измеряют концентрацию глюкозы в крови натощак после приема 50 г глюкозы через каждые 30 мин в течение 2 ч. Через 1 ч средние значения не должны превышать 10,9 ммоль/л, через 2 ч – 7,6 ммоль/л.

2. Определение гликозилированного гемоглобина. При СД его уровень увеличивается в 2–3 раза (норма – 5,8–7,2% от суммарного содержания гемоглобина).

3. Отсутствие или низкий уровень инсулина и С-пептида в крови и моче. В норме инсулин и С-пептид секретируются в эквивалентных концентрациях. Поскольку печенью задерживается примерно 2/3 инсулина, соотношение инсулин/С-пептид в воротной вене и периферических сосудах в норме составляет 1/3. Величина уровня С-пептида в сыворотке крови или моче позволяет достаточно точно оценить функциональное состояние β -клеток поджелудочной железы.

¹ Методом сахарной нагрузки, в частности, можно выявить «скрытый диабет». Так в клинической практике называется состояние, при котором ненормальная гипергликемия вследствие снижения толерантности к глюкозе появляется лишь после приема богатой углеводами пищи.

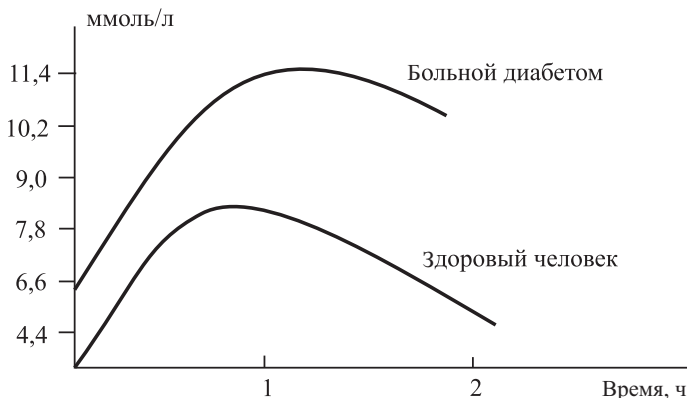


Рис. 5.19. Изменение концентрации глюкозы после однократной нагрузки глюкозой (глюкозотолерантный тест)

4. Альбуминурия. При СД суточное выведение альбумина составляет примерно 30–300 мг – микроальбуминурия (в норме около 8 мг).

Поскольку ИНСД развивается значительно медленнее, его классические симптомы – гипергликемия и дефицит инсулина диагностируют позднее, часто в сочетании с симптомами поздних осложнений СД.

ГЛАВА 6

ХИМИЯ И ОБМЕН ЛИПИДОВ

Краткое содержание главы

Жирные кислоты – алифатические карбоновые кислоты, могут быть насыщенными и ненасыщенными, короткими и длинноцепочечными.

Простагландины – биологически активные производные жирных кислот с 20 углеродными атомами. Образуются практически всеми клетками и являются регуляторами ряда биохимических процессов.

Нейтральные жиры относятся к омыляемым липидам. Являются эфирами глицерола и жирных кислот.

Природные воски – сложные эфиры одно- и двухатомных спиртов.

Сложные липиды построены из С, Н, О и N, Р или S. Различают фосфолипиды, гликолипиды, сульфоллипиды. Отличаются дифильными свойствами.

Высшие спирты относятся к неомыляемым липидам. Наиболее распространенные представители в организме – холестерол и жирорастворимые витамины.

Терпены – неомыляемые липиды, построенные из изопреновых единиц.

Переваривание и всасывание липидов включает несколько этапов: эмульгирование при участии кишечной перистальтики и дифильных веществ, гидролиз при участии липаз, мицеллярное растворение продуктов переваривания и всасывание. В энтероцитах происходит **ресинтез** триацилглицеролов, фосфолипидов и эфиров холестерола.

Липопротеины плазмы крови выполняют функцию транспорта липидов. Липиды, поступающие с пищей, транспортируются в составе хиломикронов, а образующиеся в клетках переносятся липопротеинами очень низкой (ЛПОНП), низкой (ЛПНП) и высокой плотности (ЛПВП). При транспорте по крови они подвергаются ферментативным и неферментативным модификациям.

Атеросклероз – заболевание, связанное с нарушением транспорта липидов. Причиной является дисбаланс между поступлением холестерина в клетку и его обратным транспортом.

Липопротеинемии представлены двумя формами нарушений: гипер- и гиполипопротеинемии. Их причинами являются нарушения синтеза, транспорта и использования липопротеинов. Наиболее распространены среди людей гиперлипидопропротеинемии. Различают пять типов данных нарушений.

Окисление жирных кислот в клетке может проходить по трем разным механизмам: α -, β - и ω -окисление. Основной механизм – β -окисление. Оно протекает в митохондриях и пероксисомах и является ведущим способом получения энергии из липидов.

Биосинтез жирных кислот протекает в цитозоле из малонил-КоА с помощью специального полиферментного комплекса, включающего семь ферментов. Синтез малонил-КоА катализируется отдельным ферментом ацетил-КоА-карбоксилазой, структурно не связанным с ацил-КоА-синтазой.

Синтез триацилглицеролов позволяет депонировать в печени и жировой ткани углеводы, аминокислоты, жирные кислоты.

Синтез фосфолипидов обеспечивает клетку необходимыми для ее мембран молекулами. В синтезе фосфолипидов принимают участие липотропные факторы (холин, метионин, витамины B_9 и B_{12} и т.д.).

Кетоновые тела – группа органических соединений, образующихся из ацетил-КоА. Это ацетоуксусная, β -гидроксимасляная кислоты и ацетон. Эти соединения – хорошие источники энергии, но при их избыточном образовании могут происходить нарушения кислотно-основного состояния. Это наблюдается при интенсивном окислении жирных кислот на фоне недостаточности углеводов.

Биосинтез холестерина протекает практически во всех клетках, но главным его источником в организме является печень. Продукт конденсации трех молекул ацетил-КоА, 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА восстанавливается с образованием мевалоновой кислоты, необходимой для синтеза холестерина.

Инсулин, адреналин и кортикостероиды осуществляют **гормональную регуляцию** мобилизации липидов, обеспечивают клетки необходимым количеством жирных кислот, используемых ими как источник энергии и субстрат для синтеза липидов.

Клинико-лабораторное значение. Целый ряд заболеваний обусловлен нарушением липидного обмена. Важнейшие из них – атеросклероз и ожирение. Заболевания сердечно-сосудистой системы как следствие атеросклероза занимают первое место в структуре смертности. Понимание роли липидов в рациональном питании важно для поддержания здоровья.

Липиды разделяют на простые и сложные. Липиды – органические вещества, которые плохо растворимы или не растворимы в воде, но растворяются в органических растворителях; они являются настоящими или потенциальными эфирами жирных кислот; усваиваются и используются живыми организмами (рис. 6.1).

Жирные кислоты – это алифатические карбоновые кислоты. Жирные кислоты служат своеобразными строительными



Рис. 6.1. Классификация липидов

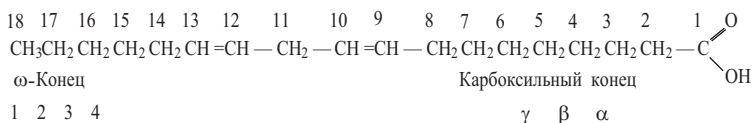


Рис. 6.2. Общепринятые обозначения, используемые для названий карбоновых кислот на примере линолевой кислоты:
 1–18 – номера атомов углерода; α, β, γ – нумерация атомов углерода после основной функциональной группы

ми блоками для большинства липидов. Они являются алифатическими карбоновыми кислотами (рис. 6.2). В настоящее время из живых организмов выделено свыше 70 жирных кислот. Их можно разделить на две большие группы: насыщенные жирные кислоты и ненасыщенные жирные кислоты. Смесь жирных кислот, получаемая при гидролизе липидов из различных природных источников, обычно содержит как насыщенные, так и ненасыщенные жирные кислоты.

Для названия ненасыщенных жирных кислот наиболее удобна ω-номенклатура, в соответствии с которой структура любой ненасыщенной жирной кислоты может быть выражена тремя цифрами: длиной цепи, количеством двойных связей и количеством углеродных атомов между двойной связью и метильной группой (ω-углеродом). Наличие двойной связи может быть также обозначено цифрой, указывающей начало двойной связи, считая с карбоксильного конца молекулы (см. рис. 6.2).

В липидах животного происхождения преобладающей насыщенной жирной кислотой является пальмитиновая (C₁₆), второе место занимает стеариновая кислота (C₁₈) (табл. 6.1). Короткоцепочечные жирные кислоты, имеющие в своем составе менее 14 углеродных атомов, также как и длинноцепочечные (C₂₆–C₂₈), встречаются в организме лишь в небольших количествах. Жирные кислоты, содержащие 10 и меньше атомов углерода, вообще редко встречаются в составе липидов животных.

Таблица 6.1. Некоторые природные жирные кислоты, преобладающие в животных жирах

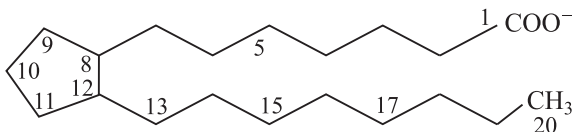
Тривиальное название	Название по женеvской номенклатуре	Структурная формула
1	2	3
Насыщенные жирные кислоты		
Пальмитиновая	н-Гексадекановая	CH ₃ –(CH ₂) ₁₄ COOH

1	2	3
Стеариновая	н-Октадекановая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
Ненасыщенные жирные кислоты		
Пальмитоолеиновая	9-Гексадеценовая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
Олеиновая	Цис-9-Октадеценовая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
Линолевая	Цис,цис-9,12-октадекадиеновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
Линоленовая	9,12,15-Октадекатриеновая	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
Арахидоновая	5,8,11,14-Эйкозатетраеновая	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_3-\text{COOH}$

Двумя преобладающими мононенасыщенными жирными кислотами животных липидов являются олеиновая и пальмитоолеиновая. Олеиновая кислота наиболее широко распространена в природе и преобладает в количественном отношении. Среди полиненасыщенных жирных кислот тканей млекопитающих наиболее часто встречаются линолевая кислота (см. табл. 6.1), имеющая две двойные связи, линоленовая – с тремя двойными связями и арахидоновая – с четырьмя двойными связями.

Ненасыщенность жирных кислот существенно влияет на их свойства. С увеличением числа двойных связей снижается температура плавления жирных кислот, возрастает их растворимость в неполярных растворителях. Все ненасыщенные жирные кислоты, встречающиеся в природе, при комнатной температуре – жидкости.

Простагландины – продукты окисления жирных кислот. Простагландины – это производные жирных кислот с 20 углеродными атомами, имеющие в своем составе циклопентановое кольцо (рис. 6.3). Простагландины встречаются во всех тканях млекопитающих и обладают многочисленным и разнообразным биологическим действием. Хотя открыты они были еще в 30-е гг. XX в., в чистом виде их смогли получить только в 1954 г. В настоящее время известно несколько



Простановая кислота

Рис. 6.3. Гипотетическая простановая кислота – предшественник простаглан-динов

групп простагландинов: А, В, Е, F, I, D, H, G. Среди них в организме преобладают простагландины E_2 и $F_{2\alpha}$, предшественником которых является арахидоновая кислота. У человека все клетки и ткани, за исключением эритроцитов, синтезируют простагландины.

Механизм действия простагландинов на клетки до конца не выяснен. Можно назвать следующие известные виды биологического действия простагландинов в организме:

- влияние на сердечно-сосудистую систему. Оно заключается в увеличении кровотока путем общего расширения сосудов с уменьшением периферического сопротивления. Кроме того, простагландины регулируют агрегацию тромбоцитов (простагландины группы Е – ускоряют, а группы I – ингибируют);

- влияние на водно-электролитный обмен. Все простагландины усиливают ионный поток через мембраны эпителиальных клеток. Местное образование простагландина E_2 в почках, наоборот, подавляет выведение Na^+ и рассматривается в качестве возможного фактора этиологии и патогенеза почечной гипертонии;

- влияние на нервную систему. Простагландины оказывают седативное и транквилизирующее действие, являются антагонистами противосудорожных препаратов;

- влияние на желудочно-кишечный тракт. Простагландины тормозят секрецию желудка и поджелудочной железы, усиливают моторику кишечника;

- влияние на репродуктивную систему. Простагландины, особенно $F_{2\alpha}$, стимулируют активность матки в период беременности. Это находит практическое применение при искусственном прерывании беременности. Небольшие дозы простагландинов на любом сроке беременности вызывают обычные роды и в полном объеме. Ингибиторами образования простагландинов являются аспирин и другие салицилаты.

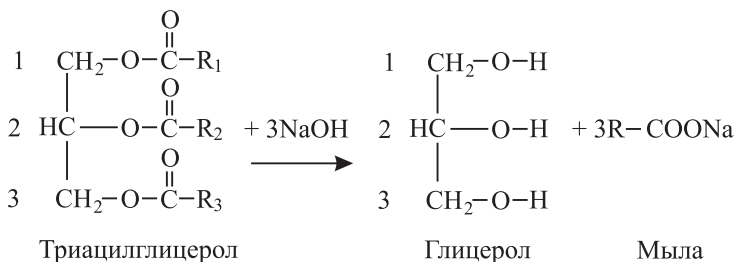
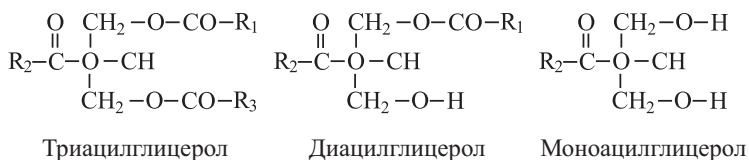


Рис. 6.4. Омыление триацилглицерола

Некоторые липиды могут гидролизоваться щелочью.

Все липиды делятся на две группы: омыляемые и неомыляемые. *Омылением* называется процесс образования солей жирных кислот путем щелочного гидролиза жира (рис. 6.4). *Мыла* – это натриевые или калиевые соли жирных кислот. Натриевые соли являются твердыми мылами, а калиевые – жидкими. Различают два класса омыляемых липидов: простые липиды и сложные липиды.

Простые омыляемые липиды получили свое название вследствие того, что они состоят только из атомов С, Н и О. К ним относятся две группы соединений: нейтральные жиры и воски. Нейтральные жиры включают сложные эфиры глицерола и жирных кислот. Поскольку глицерол – это трехатомный спирт, жирные кислоты могут образовывать сложноэфирные связи в трех местах. Соответственно в тканях организма встречаются моноацилглицеролы, диацилглицеролы и триацилглицеролы. Атомы углерода в молекуле глицерола пронумерованы в соответствии с предложенной стереохимической номенклатурой:



Существует много различных типов триацилглицеролов, которые отличаются природой трех остатков жирных кислот, присоединенных к глицеролу сложноэфирной связью. Если во всех трех положениях находятся остатки одной и той же жирной кислоты, то такие триацилглицеролы называются

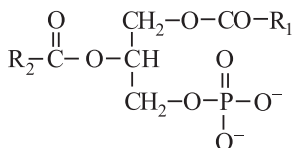
простыми. В этом случае названия их определяются названием соответствующей жирной кислоты. Примерами простых триацилглицеролов могут служить тристеароилглицерол (три остатка стеариновой кислоты в составе), трипальмитоилглицерол. Триацилглицеролы, в составе которых содержатся остатки двух или трех разных жирных кислот, называются **смешанными.** Примерами смешанных триацилглицеролов могут служить 1-пальмитоилдистеароилглицерол, 2-стеароилдипальмитоилглицерол.

Температура плавления нейтральных жиров зависит от жирнокислотного состава. Она повышается с увеличением числа и длины жирнокислотных компонентов. К примеру, при 20 °С тристеароилглицерол и трипальмитоилглицерол являются твердыми веществами, а триолеил- и трилинолеилглицерол – жидкостью. Надо отметить, что триацилглицеролы полностью не растворимы в воде, так как в их составе отсутствуют полярные группы. Что касается диацил- и моноацилглицеролов, то они обладают полярностью вследствие наличия свободных гидроксильных групп. Поэтому они частично взаимодействуют с водой. Ацилглицеролы растворимы в диэтиловом эфире, бензоле, хлороформе. Большинство нейтральных жиров в организме животных содержит в своем составе преимущественно остатки пальмитиновой, стеариновой, олеиновой и линолевой жирных кислот. При этом состав нейтрального жира из различных тканей одного и того же организма может существенно различаться. Так, подкожный жир человека более богат насыщенными жирными кислотами, чем жир печени, содержащий больше ненасыщенных жирных кислот. Жиры масла и молока содержат наибольшее количество короткоцепочечных жирных кислот.

Воски – это сложные эфиры жирных кислот и высших одноатомных или двухатомных спиртов. Число углеродных атомов у таких спиртов составляет от 16 до 22. Сюда относятся так называемые природные воски, т.е. те, которые синтезируются живыми организмами (пчелиный воск; ланолин – воск, входящий в состав жира, покрывающего шерсть; воск, покрывающий листья растений). В состав природных восков кроме упомянутых сложных эфиров обычно входит небольшое количество углеводов с числом углеродных атомов 21–35, свободных жирных кислот и спиртов.

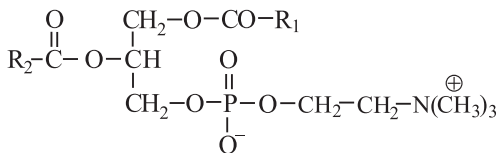
Сложные липиды. В класс сложных липидов входят три группы соединений: *фосфолипиды, гликолипиды и сульфолипи-*

ды. Фосфолипиды – это сложные липиды, содержащие фосфор. Различают глицерофосфолипиды и сфингофосфолипиды. Корень «фосфо-» в этих названиях указывает на то, что в состав сложных липидов входит остаток фосфорной кислоты. Общая структурная формула глицерофосфолипидов включает остаток спирта – глицерола, гидроксильные группы которого у первого и второго углеродных атомов образуют сложные эфирные связи с жирными кислотами. Гидроксильная группа у третьего углеродного атома образует сложноэфирную связь с остатками фосфорной кислоты. Обычно к остатку фосфорной кислоты присоединено какое-то азотсодержащее соединение. Общая формула глицерофосфолипидов выглядит следующим образом:

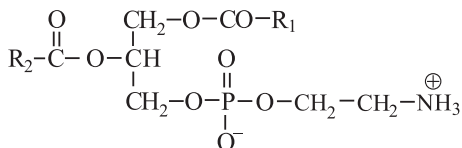


Фосфатидная кислота

Простейшим глицерофосфолипидом является *фосфатидная кислота*. В тканях организма она содержится в незначительных количествах, однако является важным промежуточным соединением в синтезе триацилглицеролов и фосфолипидов. Наиболее широко представлены в клетках различных тканей фосфатидилхолин (лецитин) и фосфатидилэтаноламин (кефалин):

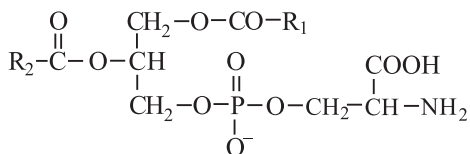


Фосфатидилхолин

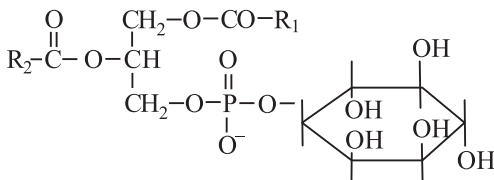


Фосфатидилэтаноламин

У лецитина и кефалина к остатку фосфорной кислоты присоединены аминокиспирты – холин и этаноламин. Эти два глицерофосфолипиды метаболически тесно связаны друг с другом. Они являются главными липидными компонентами большинства биологических мембран. В тканях находятся также другие глицерофосфолипиды. В фосфатидилсерине фосфорная кислота этерифицирована гидроксильной группой серина, а в фосфатидилинозите – шестиатомным спиртом – инозитом (рис. 6.5).



Фосфатидилсерин



Фосфатидилинозитол

Рис. 6.5. Важнейшие глицерофосфолипиды человека

Производное фосфатидилинозита – фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат – является важным компонентом биологических мембран. При действии ряда гормонов он расщепляется. Продукты его расщепления (диацилглицерол и инозитолтрифосфат) служат в качестве *внутриклеточных посредников* действия гормонов.

С глицерофосфолипидами метаболически очень тесно связаны лизофосфолипиды. В их составе содержится только один остаток жирной кислоты. Примером может служить лизофосфатидилхолин, который играет важную роль в метаболизме фосфолипидов:

молекула фосфатидилсерина имеет две отрицательно и одну положительно заряженных группы и несет суммарный отрицательный заряд. В то же время радикалы жирных кислот в составе фосфолипидов не имеют электрического заряда в водной среде и таким образом являются гидрофобной частью молекулы фосфолипида. Наличие полярности за счет заряда полярных групп обуславливают *гидрофильность*. Поэтому на поверхности раздела фаз масло – вода фосфолипиды располагаются таким образом, чтобы полярные группы находились в водной фазе, а неполярные группы – в масляной. За счет этого в водной среде они образуют бимолекулярный слой, а при достижении некоторой критической концентрации – мицеллы.

На этом основано участие фосфолипидов в построении биологических мембран. Обработка находящегося в водной среде дифильного липида ультразвуком приводит к образованию липосом. Липосома представляет собой замкнутый липидный бислой, внутри которого оказывается часть водной среды. Липосомы находят применение в клинике, косметологии в качестве своеобразных контейнеров для переноса лекарств, питательных веществ к определенным органам и для комбинированного действия на кожу.

Гликолипиды широко представлены в тканях. Особенно богаты ими миелиновые оболочки нервов. В состав гликолипидов также входит спирт – сфингозин. Гликолипиды не содержат фосфорной кислоты. Молекулы их имеют полярные, гидрофильные углеводные группы, чаще всего D-галактозу. Различают две группы гликолипидов – *цереброзиды* и *ганглиозиды*. В состав молекулы цереброзида (рис. 6.6) входит сфингозин, связанный сложноэфирной связью с остатком жирной кислоты (этот комплекс называется *церамид*).

В составе цереброзидов $R - H$; в составе сульфоллипидов $R - SO_3^-$.

Обнаруженные в цереброзидах жирные кислоты необычны в том отношении, что они содержат 24 атома углерода. Чаще встречаются *нервоновая*, *цереброновая* и *лигноцериновая кислоты*. Углеводная часть цереброзида представлена D-галактозой, которая присоединена к сфингозину. В состав цереброзидов других тканей (не нервной) вместо галактозы может входить глюкоза. Ганглиозиды имеют более сложное строение (рис. 6.7). В состав молекулы ганглиозидов помимо сфингозина входит олигосахарид, содержащий остатки глюкозы и



Рис. 6.6. Структура цереброзида

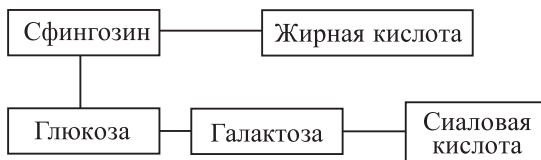


Рис. 6.7. Схема строения ганглиозидов

галактозы, а также одну или несколько молекул сиаловых кислот.

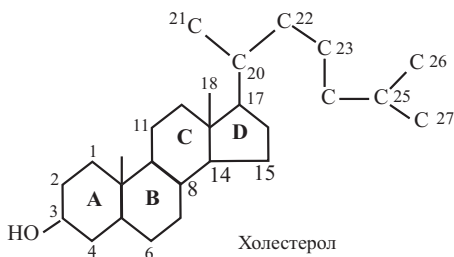
Сиаловые кислоты – это производные аминосахаров. Доминирующими в составе ганглиозидов являются N-ацетилглюкозамин и N-ацетилнейраминовая кислота.

Ганглиозиды обнаруживаются обычно на внешней поверхности клеточных мембран, особенно в нервных клетках. Предположительно они выполняют там рецепторные и другие возможные функции. Отмечается перераспределение содержания цереброзидов и ганглиозидов в ткани мозга. Если в составе белого вещества преобладают цереброзиды, то в составе серого вещества – ганглиозиды.

Сульфолипиды, или сульфатиды, имеют структуру, аналогичную цереброзидам, с той лишь разницей, что у третьего углеродного атома галактозы вместо гидроксильной группы присоединен остаток серной кислоты. Сульфатиды в больших количествах содержатся в миелине.

Неомыляемые липиды не гидролизуются щелочью. Неомыляемые липиды так названы потому, что они не гидролизуются с освобождением жирных кислот. Известны два основных типа неомыляемых липидов – *высшие спирты* и *высшие углеводороды*.

К высшим спиртам относятся жирорастворимые витамины – А, D, Е, К и холестерол:



Холестерол является производным циклопентанпергидрофенантрена, содержащим три конденсированных циклогексановых кольца, с которыми соединено цикlopentanовое кольцо. Холестерол находится во всех клетках организма. В кристаллическом виде он представляет собой белое, оптически активное вещество, которое плавится при 150 °С. Он не растворим в воде, но легко экстрагируется из клеток хлороформом, эфиром, бензолом или горячим спиртом.

Холестерол – один из главных компонентов плазматической мембраны и липопротеинов плазмы крови, часто находится в организме в этерифицированной форме (в виде эфиров жирных кислот) и служит исходным соединением для синтеза всех стероидов, функционирующих в организме (гормоны коры надпочечников, половые гормоны, витамин D₃). В растениях холестерол не обнаружен.

К числу липидных компонентов, которые встречаются в клетках в сравнительно небольшом количестве, относятся *изопrenoиды*. Их молекулы построены путем объединения нескольких молекул пятиуглеродного углеводорода – *изопрена*. Терпены, содержащие в своем составе две изопреновые группировки, называются *монотерпенами*, а содержащие три такие группировки – *секвитерпенами*.

В растениях обнаружено большое количество моно- и секвитерпенов. Многие из них придают растениям свойственный им аромат и служат главными компонентами душистых ма-

сел, получаемых из таких растений. К группе высших терпенов принадлежат каротиноиды (предшественники витамина А). Природный каучук является политерпеном.

Функции липидов в организме. Липиды выполняют разные функции. Среди них:

- энергетическая. По праву липиды наряду с углеводами являются основным энергетическим топливом клетки. При этом они имеют преимущества перед углеводами. Они заключаются, во-первых, в большей теплотворной способности (при сжигании 1 г липидов выделяется 38,9 кДж, а 1 г углеводов – 16,7 кДж). Во-вторых, в силу своей гидрофобности жир откладывается про запас в безводной среде. Следовательно, он занимает меньший объем. В результате запасов липидов хватает на месяц жизни без пищи, а углеводов – только на сутки. Отсюда вытекает значение липидов как формы запаса энергии организмом;

- структурная. Она заключается в том, что фосфолипиды, гликолипиды вместе с белками входят в состав биологических мембран. От структуры липидного бислоя, от его агрегатного состояния зависит активность мембраносвязанных ферментов;

- защитная. В данном случае имеется в виду прежде всего функция механической защиты, которую выполняет подкожная жировая клетчатка;

- терморегуляторная. Реализация ее осуществляется благодаря двум аспектам: а) жир плохо проводит тепло, поэтому является теплоизолятором; б) при охлаждении организма на генерирование тепла за счет выделения энергии расходуются все те же липиды;

- источник эндогенной воды. При окислении 100 г липидов образуется 107 г воды. Углеводы и белки, окисляясь, дают воды значительно меньше;

- регуляторная. Она заключается в том, что ряд гормонов (половые, гормоны коры надпочечников) являются производными липидов. Кроме того, из арахидоновой кислоты образуются простагландины;

- функция естественных растворителей. В частности, липиды обеспечивают всасывание в кишечнике незаменимых жирных кислот и жирорастворимых витаминов. К примеру, всасывание каротина, предшественника витамина А, в отсутствие жира происходит только на 10%.

Переваривание и всасывание липидов. Основная масса липидов пищи представлена *триацилглицеролами*. У взросло-

го человека основным местом переваривания липидов является тонкий кишечник. В желудке имеется фермент – липаза, способный катализировать расщепление триацилглицеролов. Однако оптимальной средой для ее действия является среда, близкая к нейтральной. Поэтому липаза в желудке у взрослых людей практически неактивна из-за низких значений рН, желудочного сока.

В двенадцатиперстной кишке пища подвергается воздействию желчи и сока поджелудочной железы. На первом этапе там происходит эмульгирование жира. Эмульсия представляет собой взвесь в водной среде частиц неполярных липидов (рис. 6.8). По сути дела, эмульгирование заключается в дроблении крупных липидных частиц на более мелкие. Происходит этот процесс благодаря трем факторам: 1) перистальтике кишечника, которая способствует перемешиванию и дроблению жировых капель; 2) диоксиду углерода (углекислому газу), который образуется в результате реакции нейтрализации гидрокарбонатов кишечного сока кислым содержимым желудка, поступающим туда с пищей; 3) желчными кислотам.

Желчные кислоты образуются в печени из эфиров холестерина. Поэтому в основе структуры их молекул лежит цикло-

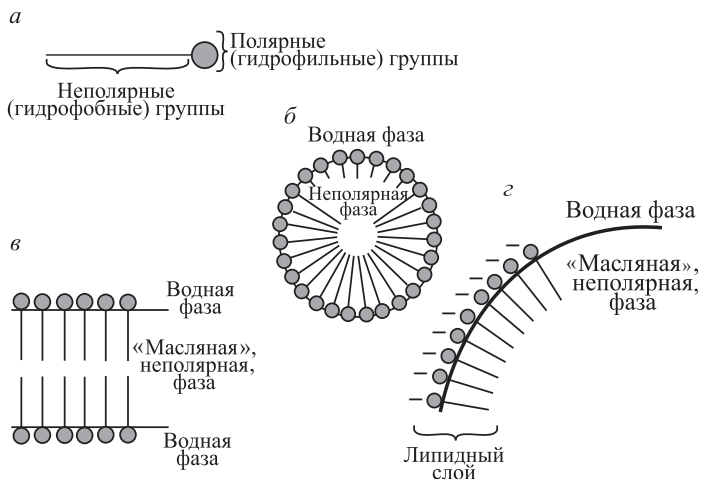


Рис. 6.8. Схематическое изображение эмульсионной частицы в просвете тонкого кишечника:

а – строение липидной частицы; б – мицелла; в – липидный бислой; г – водно-масляная эмульсия; «-» – заряд поверхностного слоя эмульсионной частицы

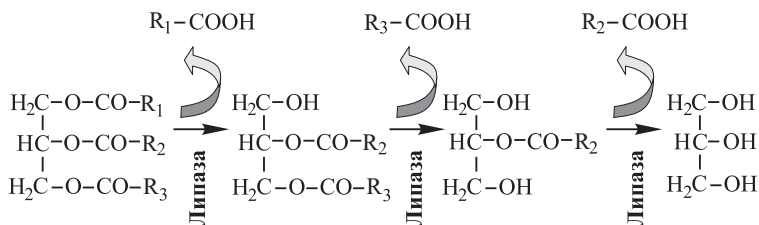
пентанапергидрофенантрен. Желчные кислоты поступают из печени в двенадцатиперстную кишку с желчью. В нейтральной или слабощелочной среде просвета кишечника желчные кислоты, в основном таурохолевая и гликохолевая, являются амфифильными и служат в качестве не только эмульгирующих агентов, но и стабилизаторов образующейся эмульсии.

Взаимодействуя гидрофобными частями своих молекул с жиром, а гидрофильной, полярной частью с водным содержимым кишечника, желчные кислоты, снижая поверхностное натяжение жировой капельки, способствуют дроблению жира на мелкие частицы, т.е. эмульгированию. Стабилизирующее влияние жирных кислот на образующиеся эмульсионные частицы обусловлено тем, что они препятствуют конгломерации (слипанию) эмульсионных частиц. Желчные кислоты покрывают поверхность эмульсионной частицы в виде монослоя. При этом наружу, к водному содержимому, направлены полярные части молекул желчных кислот. В результате поверхность частицы приобретает суммарный электрический заряд, который будет одноименным у всех других эмульсионных частиц. В силу электростатического взаимодействия между отдельными частицами возникает отталкивание.

Переваривание липидов катализирует липаза. Так как липиды, в основном, не растворимы в воде, то они подвергаются действию *гидролитических ферментов* только на границе раздела между липидами и водной фазой. Скорость реакции помимо других факторов зависит от площади этой границы раздела. Поэтому чем выше степень эмульгирования и чем меньше отдельные липидные капли, тем больше величина общей доступной поверхности.

В соке поджелудочной железы присутствует белок колипаза, который активируясь путем ограниченного протеолиза, способствует связыванию панкреатической липазы с эмульсионной частицей и активированию гидролиза триацилглицеролов. Липаза катализирует гидролиз эфирных связей в 1-м и 3-м положениях с образованием 2-моноацилглицеролов и жирных кислот. Меньшая часть (40%) моноацилглицеролов подвергается гидролизу до глицерола и жирных кислот (рис. 6.9).

В соке поджелудочной железы присутствуют и другие ферменты, способные расщеплять липиды. В частности, эстеразы катализируют преимущественно гидролиз эфиров жирных



Триацилглицерол Диацилглицерол Моноацилглицерол Глицерол

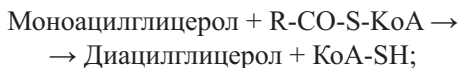
Рис. 6.9. Ферментативный гидролиз триацилглицеролов в кишечнике

кислот с короткой цепью. В поджелудочной железе синтезируется профосфолипазы A_1 , A_2 , C и D, которые, активируясь трипсином, катализируют расщепление молекул глицерофосфолипидов.

Продукты ферментативного гидролиза жира взаимодействуют с водной средой, объединяются в мельчайшие частицы – мицеллы. По размеру они гораздо меньше, чем эмульсионные. Снаружи мицеллы, подобно эмульсионным частицам, покрыты слоем желчных кислот. Основная часть мицелл целиком или после предварительного (пристеночного) разрушения всасываются через стенку тонкого кишечника. Желчные кислоты проходят через барьер слизистой оболочки в связанном с липидами состоянии. В дальнейшем по венам кишечника они поступают в порталный кровоток. Оттуда они извлекаются печенью и затем снова поступают с желчью в двенадцатиперстную кишку.

Основная часть всосавшихся в тонком кишечнике липидов принимает участие в ресинтезе триацилглицеролов. Всосавшиеся продукты расщепления липидов в клетках слизистой оболочки кишечника подвергаются процессам ресинтеза, протекающим с участием ферментных систем, которые могут превращать свободные жирные кислоты, моно- и диацилглицеролы в триацилглицеролы¹, в фосфолипиды и эфиры холестерина. Для этого в эндоплазматическом ретикулуме энтероцитов работают специальные ферменты. Независимо от метаболического пути ресинтез триацилглицеролов сводится к следующим этапам:

¹ Ресинтез триацилглицеролов в энтероцитах происходит с участием ферментов двух метаболических путей: 2-моноацилглицерольного и глицерофосфатного.



Ресинтез глицерофосфолипидов происходит из диацилглицеролов и активной формы холина (в случае образования фосфатидилхолина), активной формы этаноламина (в случае ресинтеза фосфатидилэтанолamina). Ресинтез эфиров холестерина происходит из свободного (неэстерифицированного) холестерина и активной формы жирной кислоты. Реакцию катализирует фермент – ацил-КоА-холестерол ацилтрансфераза (АХАТ).

Нарушение переваривания и всасывания липидов. Поступающие с пищей жиры, если они принимаются в умеренном количестве (не более 100–150 г), усваиваются почти полностью, и при нормальном пищеварении кал содержит не более 5% жиров. Остатки жирной пищи выделяются преимущественно в виде мыл. При нарушениях переваривания и всасывания липидов наблюдается избыток липидов в кале – стеаторея (жирный стул). Различают три типа стеатореи.

Панкреатогенная стеаторея возникает при дефиците панкреатической липазы. Причиной такого состояния могут быть хронический панкреатит, врожденная гипоплазия поджелудочной железы, врожденный или приобретенный дефицит панкреатической липазы, а также муковисцидоз, когда наряду с другими железами повреждается и поджелудочная. В этом случае в кале содержатся желчные пигменты, понижено содержание свободных жирных кислот и повышен уровень триацилглицеролов.

Гепатогенная стеаторея вызывается закупоркой желчных протоков. Это происходит при врожденной атрезии желчных путей, в результате сужения желчного протока желчными камнями, или сдавления его опухолью, развивающейся в окружающих тканях. Уменьшение количества желчи в просвете двенадцатиперстной кишки приводит к нарушению эмульгирования пищевых жиров и, следовательно, к ухудшению их переваривания. В кале отсутствуют желчные пигменты (ахоличный кал), высокое содержание триацилглицеролов и мыл.

Энтерогенная стеаторея отмечается при интестинальной липодистрофии, амилоидозе, обширной резекции тонкого кишечника, т.е. процессах, сопровождающихся снижением метаболической активности слизистой оболочки кишечника. Для этой патологии характерен сдвиг pH кала в кислую сторону, рост содержания в кале жирных кислот.

Всасывание жиров из кишечника происходит по лимфатическим путям при активной сократительной деятельности ворсинок, поэтому жирный стул может наблюдаться также при нарушении лимфооттока в случае паралича *tunicae muscularis mucosae*, а также при туберкулезе и опухолях мезентериальных лимфатических узлов, находящихся на пути оттока лимфы. Ускоренное продвижение пищевого химуса по тонкому кишечнику также может быть причиной нарушения всасывания жира.

При стеаторее нарушается всасывание жирорастворимых витаминов (А, D, Е, К) и незаменимых жирных кислот, поэтому при длительно текущей стеаторее развивается недостаточность этих незаменимых факторов питания с соответствующими клиническими симптомами. При нарушении переваривания жиров плохо перевариваются и вещества нелипидной природы, так как жир обволакивает частицы пищи и препятствует действию на них ферментов.

Лабораторный контроль переваривания и всасывания липидов включает определение следующих показателей:

- общее содержание липидов в кале (норма до 5 г/24 ч);
- концентрация жирных кислот в кале (норма 20 ммоль/24 ч);
- количество стеркобилина в кале как показатель, отражающий нормальное поступление желчи или ее нормальную продукцию. В норме этот показатель составляет 0,2–0,6 г/24 ч. Снижение или отсутствие – признак гепатогенной стеатореи. Избыток стеркобилина указывает на ускоренный гемолиз;
- альбумин в кале – для уточнения связи стеатореи с муковисцидозом.

Желчнокаменная болезнь. Желчнокаменная болезнь (ЖКБ) – патологический процесс, при котором в желчном пузыре образуются камни, основу которых составляет холестерол (ХС).

Выделение ХС в желчь должно сопровождаться пропорциональным выделением желчных кислот и фосфолипидов, удерживающих гидрофобные молекулы ХС в желчи в мицел-

лярном состоянии. Причинами, приводящими к изменению соотношения желчных кислот и ХС в желчи, являются: пища, богатая ХС, высококалорийное питание, застой желчи в желчном пузыре, нарушение энтерогепатической циркуляции, нарушения синтеза желчных кислот, инфекции желчного пузыря.

У больных ЖКБ биосинтез ХС увеличен, синтез желчных кислот из него замедлен, что приводит к диспропорции количества ХС и желчных кислот, секретируемых в желчь. В итоге ХС начинает осаждаться в желчном пузыре, образуя вначале вязкий осадок, который постепенно затвердевает. Иногда он пропитывается билирубином, белками и солями кальция. Камни, образующиеся в желчном пузыре, могут состоять только из ХС или из смеси ХС, билирубина, белков и кальция. Холестериновые камни обычно белого цвета, а смешанные камни – коричневые, разных оттенков. Если камни начинают перемещаться из желчного пузыря в желчные протоки, то они вызывают спазм желчного пузыря и протоков, что приводит к болевому синдрому. Если камень перекрывает проток, то нарушается поступление желчи в кишечник, желчные пигменты проходят через мембраны гепатоцитов в сторону синусоидов и попадают в кровь, что приводит к развитию обтурационной желтухи.

В начальной стадии образования камней можно применять в качестве лекарства хенодезоксихолевую кислоту. Попадая в желчный пузырь, эта желчная кислота постепенно растворяет холестериновые камни, однако это медленный процесс, длящийся несколько месяцев.

Липиды, поступившие из кишечника, транспортируются по крови в составе хиломикронов. Новосинтезированные триацилглицеролы, фосфолипиды и другие всосавшиеся липиды покидают клетки слизистой, попадая сначала в лимфу, а с током лимфы – в кровь. В связи с тем что большинство липидов, как уже отмечалось, не растворимо в водной среде, транспорт их в лимфе, а затем в плазме крови осуществляется не так, как транспорт водорастворимых молекул подобного размера. Практически все липиды транспортируются в составе специальных частиц – *липопротеинов*.

Если образец плазмы крови, полученной у человека вскоре после приема жирной пищи, оставить стоять в пробирке на ночь, то на поверхности ее появится сметанообразный

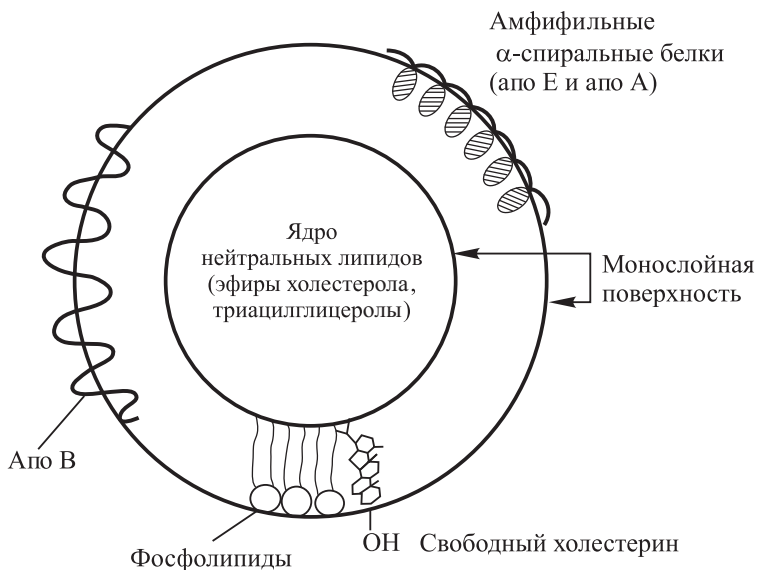


Рис. 6.10. Строение хиломикрона:
апо В, апо Е и апо А – апопротеины В, Е, А соответственно

слой. Этот слой состоит из хиломикронов – основного вида липопротеинов, секретируемых кишечником (рис. 6.10). Поскольку эти частицы содержат более 99% липидов, они имеют меньшую плотность, чем плазма крови, и всплывают на поверхность пробирки. Частицы хиломикронов имеют большие размеры (100–250 нм в диаметре). Поэтому при прохождении через них света возникает рефракция и плазма крови приобретает «молочный вид».

Электронная микроскопия выделенных видов липопротеиновых частиц показала, что они представляют собой сферические частицы, диаметр которых уменьшается с увеличением плотности (табл. 6.2). Липопротеины состоят из ядра, включающего гидрофобные липиды – триацилглицеролы, эфиры холестерина и др. (см. рис. 6.10), в то время как наружная часть, находящаяся в контакте с плазмой крови, содержит амфифильные липиды: фосфолипиды, свободный холестерин. Белковые компоненты (апопротеины) своими гидрофобными участками располагаются во внутренней части липопротеиновых частиц, а гидрофильными – преимущественно на поверхности.

Таблица 6.2. Липопротеины плазмы крови

Липопротеины	Источник	Диаметр, нм	Плотность	Процент белка	Процент липидов	Процент от общего количества липидов	
						ТАГ	ЭХ
Хиломикроны	Кишечник	90–1000	< 0,95	1–2	98–99	88	3
ЛПОНП	Печень	30–90	0,95–1,006	7–10	90–93	56	15
ЛППП	ЛПОНП	25–30	1,006–1,009	11	89	29	34
ЛПНП	ЛПОНП	20–25	1,019–1,063	21	79	13	48
ЛПВП ₂	Печень	10–20	1,063–1,125	33	67	16	31
ЛПВП ₃	?	7,5–10	1,125–1,210	57	43	13	29

Образовавшиеся хиломикроны вначале попадают в лимфатические капилляры. Затем по системе лимфатических сосудов с током лимфы – в кровь (рис. 6.11). В плазме крови апопротеиновый состав хиломикрон изменяется за счет обмена с другими видами липопротеиновых частиц (липопротеинов высокой плотности – ЛПВП). В частности, на хиломикроны

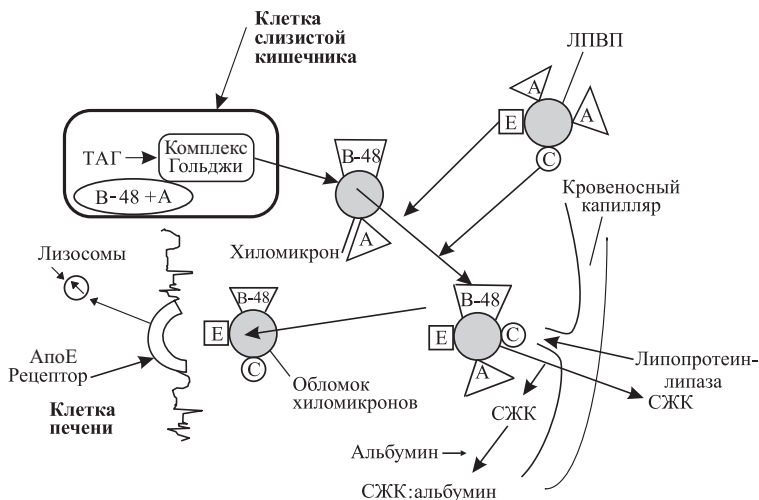


Рис. 6.11. Пути метаболизма хиломикронов:

А, В, С, Е – апопротеины А, В, С, Е; ТАГ – триацилглицеролы; СЖК – свободные жирные кислоты; ЛПВП – липопротеины высокой плотности

поступает апопротеин С, который в дальнейшем необходим для активации их липолиза.

Превращения хиломикронов в плазме крови определяются, главным образом, действием фермента – липопротеинлипазы (ЛПЛ). Этот фермент относится к семейству липаз. Он синтезируется в клетках мышечной и жировой тканей, но функционирует на наружной поверхности эндотелиальных клеток, выстилающих изнутри стенку сосудов. ЛПЛ катализирует реакцию гидролиза триацилглицеролов в составе хиломикронов с отщеплением жирных кислот в первом и третьем положениях, а также в первом положении у фосфолипидов. Образующиеся в случае расщепления триацилглицеролов 2-моноацилглицеролы впоследствии спонтанно изомеризуются, превращаясь в 1- или 3-моноацилглицеролы, и подвергаются дальнейшему расщеплению с участием все той же ЛПЛ до глицерола. Так происходит до тех пор, пока количество триацилглицеролов в составе липопротеиновых частиц не уменьшится до 20% от первоначального содержания.

Высвобождающиеся в процессе расщепления жирные кислоты связываются с альбумином плазмы крови и в таком комплексе транспортируются к клеткам органов и тканей. Клетки поглощают жирные кислоты и используют их в качестве энергетического топлива или строительного материала (синтез собственных липидов в клетках). Основными потребителями жирных кислот являются жировая и мышечная ткань.

В результате действия главным образом ЛПЛ хиломикроны разрушаются. Структуры, которые при этом образуются, называются остаточными хиломикронами (обломками). Остаточные хиломикроны при участии рецепторов к апо Е захватываются печенью, где они подвергаются окончательному разрушению. В печени расщепляется как белковый компонент хиломикронов (до аминокислот), так и нерасщепленные или частично расщепленные триацилглицеролы, другие липиды. В этом процессе принимают участие печеночная липаза и другие ферменты.

Липиды, синтезированные в печени, транспортируются в форме ЛПОНП и ЛПВП. Одновременно в печени интенсивно протекает синтез липидов из изначальных субстратов (уксусной кислоты, глицерола, жирных кислот и т.д.). Транспорт новосинтезированных липидов из печени в кровь, а оттуда – к органам и тканям осуществляют два других типа липопротеиновых частиц, формирующихся в печени, – липопроте-

ины очень низкой плотности (ЛПОНП) и липопротеины высокой плотности (ЛПВП). Принципы устройства этих частиц аналогичны таковым у хиломикронов. Разница состоит в том, что размеры ЛПОНП и ЛПВП меньше, чем у хиломикронов. Доля белкового компонента в их составе выше (10,4% и 48,8% от массы частицы соответственно), а содержание триацилглицеролов – ниже (31,4% и 1,8% от массы соответственно). Вследствие этого плотность ЛПОНП и ЛПВП выше, чем у хиломикронов¹.

Главным липидным компонентом ЛПОНП являются триацилглицеролы. Однако, в отличие от хиломикронов, эти триацилглицеролы синтезируются в клетках печени. Поэтому они называются эндогенными, в то время как в составе хиломикронов – экзогенными (поступившими с пищей). ЛПОНП секретируются из печени в кровь. Там липиды, находящиеся в их составе, подобно тому, как это было в случае хиломикронов, подвергаются расщеплению ЛПЛ. Высвобождающиеся жирные кислоты поступают в клетки органов и тканей.

Необходимо отметить, что уровень ЛПЛ в мышечной и жировой ткани колеблется таким образом, чтобы обеспечить максимальное поступление жирных кислот в клетки жировой ткани для их депонирования после приема пищи, а в период между приемами пищи – в клетки мышечной ткани для поддержания их функций. При этом в жировой ткани основным фактором, увеличивающим синтез каталитически активной ЛПЛ, является инсулин.

Следовательно, гиперинсулинемия, которая способствует периоду всасывания продуктов переваривания пищи, будет сопутствовать повышенному поступлению продуктов расще-

¹Применение специального метода высокоскоростного центрифугирования (ультрацентрифугирования) в градиенте плотности некоторых солей позволяет разделить основные виды липопротеинов. Вследствие различной плотности из-за разного их химического состава, липопротеиновые частицы в ходе ультрацентрифугирования распределяются по определенным зонам в пробирке. Различают следующие классы липопротеиновых частиц: 1) хиломикроны – $d < 1,00$ г/мл; 2) липопротеины очень низкой плотности – $d < 1,006$ г/мл; 3) липопротеины промежуточной плотности – $d = 1,006–1,020$ г/мл; 4) липопротеины низкой плотности – $d = 1,20–1,063$ г/мл; 5) липопротеины высокой плотности – $d = 1,063–1,210$ г/мл (см. табл. 6.2). В настоящее время употребляется также старая номенклатура липопротеинов, основанная на их электрофоретической миграции в агарозном геле. Согласно ей ЛПОНП называются пре- β -липопротеины, ЛПНП – β -липопротеины, а ЛПВП – α -липопротеины.

пления триацилглицеролов из хиломикронов и ЛПОНП в жировую ткань для депонирования.

Основной путь образования ЛПНП – липолиз ЛПОНП с помощью ЛПЛ. Он происходит непосредственно в кровотоке. В ходе этой реакции образуется целый ряд промежуточных продуктов или частиц, содержащих различные количества триацилглицеролов. Они получили суммарное название *липопротеины промежуточной плотности* (ЛППП). Дальнейшая судьба ЛППП может складываться двояким образом. Они или поступают в печень из кровотока, или подвергаются дальнейшим превращениям, преобразуясь в ЛПНП.

Главным липидным компонентом ядра ЛПНП являются эфиры холестерина. ЛПНП – основное средство доставки холестерина в клетки органов и тканей. Сначала частица ЛПНП взаимодействует с одним из 15 000 рецепторов, специфичных к этим липопротеинам, на поверхности клетки. На следующем этапе связанная с рецептором частица ЛПНП поступает в клетку путем рецепториндуцируемого эндоцитоза. Внутри образовавшихся эндосом липопротеины отщепляются от рецепторов.

В дальнейшем ЛПНП поступают в лизосомы, где они разрушаются. В лизосомах происходит гидролиз эфиров холестерина, находившихся в составе ЛПНП. В результате образуется свободный холестерол или окисленные его формы. Свободный холестерол используется для различных целей. Он служит структурным компонентом клеточных мембран, субстратом для синтеза стероидных гормонов и желчных кислот. Продукты же его окислительного превращения оказывают регуляторное воздействие на организм.

Контролирующие механизмы координируют использование внутри- и внеклеточных источников холестерина. При достаточном количестве ЛПНП клетки млекопитающих с помощью рецепторов используют их преимущественно в качестве источника холестерина. В это время внутриклеточная система синтеза холестерина находится как бы в резерве, не функционирует в полную силу.

Важная роль в прицельной доставке липопротеинов к центрам их метаболизма принадлежит апопротеинам. Они опосредуют взаимодействие липопротеинов с ферментами и рецепторами клеточной поверхности.

Обратный транспорт холестерина из периферических тканей к печени осуществляется посредством ЛПВП. Эти липо-

протеиновые частицы удаляют избыток свободного (неэстерифицированного) холестерина с поверхности клеток.

Липопротеины высокой плотности – это целый класс липопротеиновых частиц, которые существенно отличаются друг от друга по липидному и апопротеиновому составу, размерам и функциям. Образуются ЛПВП в печени. Оттуда они секретируются в кровоток в «незрелом» виде, т.е. имеют дисковидную форму. Такая форма обусловлена отсутствием у них ядра из нейтральных липидов. Основным их липидным компонентом являются фосфолипиды.

Переход свободного холестерина из клеток на ЛПВП обусловлен разницей его концентраций на поверхности клеточных мембран и липопротеиновых частиц. Следовательно, он продолжается до тех пор, пока не выровняется концентрация холестерина между донором (поверхность мембран) и акцептором (ЛПВП). Поддержание градиента концентрации обеспечивается постоянным превращением свободного холестерина, поступающего на ЛПВП, в эфиры холестерина. Эта реакция катализируется ферментом лецитин-холестеролацилтрансферазой (ЛХАТ). Образующиеся эфиры холестерина являются полностью гидрофобными соединениями (в отличие от свободного холестерина, у которого имеется гидроксильная группа, сообщающая ему гидрофильность). В силу своей гидрофобности эфиры холестерина теряют способность к диффузии и не могут вернуться обратно в клетку. Они формируют гидрофобное ядро внутри частиц, благодаря которому ЛПВП приобретают сферическую форму. В таком виде ЛПВП с током крови поступают в печень, где они подвергаются разрушению.

Высвобождающиеся эфиры холестерина служат исходным субстратом для образования желчных кислот.

Нарушения обмена липопротеинов плазмы крови. Дислипидопроотеинемии – это нарушения обмена липопротеинов (ЛП) крови и соответственно нарушения обмена липидов, транспортируемых ЛП. При дислипидопроотеинемиях содержание отдельных ЛП в плазме крови может быть повышено, снижено или они полностью отсутствуют. Причиной их являются нарушения синтеза, транспорта или расщепления липопротеинов. Дислипидопроотеинемии могут быть либо специфическим первичным проявлением нарушений в обмене липидов и ЛП, либо сопутствующим синдромом при некоторых заболеваниях внутренних органов (табл. 6.3). При успешном лечении основного заболевания последние обычно исчезают.

Таблица 6.3. Нарушения липидного обмена при заболеваниях, вызывающих развитие вторичных дислипопроteinемий

Патология	Изменение уровня липидов	Изменение уровня ЛП			
		ХМ	ЛПОНП	ЛПНП	ЛПВП
Сахарный диабет	↑ ТАГ	↑	↑		↓
Гипотериоз	↑ ХС			↑	N или ↓
Хроническая почечная недостаточность	↑ ТАГ		↑	↑	↓
Холестаз	↑ ХС			↑	↓
Алкоголизм	↑ ТГ		↑		N или ↑

Примечание. Условные обозначения: ТАГ – триацилглицеролы; ХС – холестерол.

К гиполипопроteinемиям относят следующие состояния:

- абеталипопротеинемия – возникает при редком наследственном заболевании, дефекте гена апопротеина В, когда нарушается синтез белков апо В-100 в печени и апо В-48 в кишечнике. В результате в клетках слизистой оболочки кишечника не формируются хиломикроны (ХМ), а в печени – липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), и в клетках этих органов накапливаются капельки жира;

- семейная гипобеталипопротеинемия – концентрация ЛП, содержащих апо В, составляет лишь 10–15% от нормального уровня, но организм способен образовывать ХМ;

- семейная недостаточность α -ЛП (болезнь Тангира) – в плазме крови практически не образуются липопротеины высокой плотности, а в тканях накапливается большое количество эфиров холестерина, у пациентов отсутствует апо С-II, являющийся активатором липопротеинлипазы (ЛПЛ), что ведет к характерному для данного состояния повышению концентрации триацилглицеролов в плазме крови.

Первой и весьма успешной попыткой систематизации гиперлипопроteinемий является классификация, разработанная Д. Фредриксоном, дополненная Ж. Бомоном и принятая Всемирной организацией здравоохранения. Согласно ей выделяют пять типов гиперлипопроteinемий (табл. 6.4).

Таблица 6.4. Классификация гиперлиппротеинемий (основана на электрофоретической классификации Фредриксона)

Тип	Вид сыворотки	Холестерол	Триацилглицеролы	Электрофорез	Аполипопротеины
I	Молочная	/	↑↑↑	Хиломикроны ↑	Апо A ₁ , A ₂
IIa (атерогенный)	Прозрачная	↑↑↑	Норма	β-Липопротеины ↑	Апо B ↑
IIb (атерогенный)	Прозрачная или мутная	↑↑↑	↑	β-Липопротеины ↑, пре-β-липопротеи- ны ↑	Апо B, C ₃ ↑
III (атерогенный)	Мутная	↑↑	↑↑	Широкая полоса преβ-ЛП и β-ЛП	Апо C, E (B) ?
IV	Мутная	/	↑	Преβ-ЛП ↑	
V	Молочная	↑	↑↑↑	Хиломикроны ↑, преβ-ЛП ↑	Апо C ₃ ↑ Апо C и E ↓

Примечание. Условные обозначения: ↑ – концентрация в крови незначительно повышена; ↑↑ – концентрация в крови повышена; ↑↑↑ – концентрация в крови значительно повышена; / – концентрация в крови нормальная или незначительно повышена.

Тип I — наследственная гиперхиломикронемия. Скорость удаления ХМ из кровотока зависит от активности ЛПЛ, присутствия ЛПВП, поставляющих апопротеины С-II и Е для ХМ, активности переноса апо С-II и апо Е на ХМ. Вследствие этого из кровотока очень медленно выводятся хиломикроны. Генетические дефекты любого из белков, участвующих в метаболизме ХМ, приводят к развитию семейной гиперхиломикронемии — накоплению ХМ в крови. Выше нормы отмечается и уровень ЛПОНП. Заболевание проявляется в раннем детском возрасте, характеризуется гепатоспленомегалией, панкреатитом, абдоминальными болями. Как вторичный признак наблюдается у больных сахарным диабетом, нефротическим синдромом, гипотиреозом, а также при злоупотреблении алкоголем. Лечение: диета с низким содержанием липидов (до 30 г/сутки) и высоким содержанием углеводов.

Тип II — семейная гиперхолестеролемиа. Этот тип делят на два подтипа: IIa — с высоким содержанием в крови липопротеинов низкой плотности и IIб — с повышенным уровнем как ЛПНП, так и ЛПОНП. Заболевание связано с нарушением рецепции и катаболизма ЛПНП — дефект клеточных рецепторов для ЛПНП или изменение их структуры сопровождается усилением биосинтеза холестерина, апо В и ЛПНП. Тип II гиперлиппротеинемий проявляется высокой, а в ряде случаев очень высокой гиперхолестеролемией с развитием атеросклероза и ишемической болезни сердца. Содержание триацилглицеролов в крови в пределах нормы (IIa тип) или умеренно повышенное (IIб тип). Это наиболее серьезная патология в обмене ЛП: степень риска развития ИБС у пациентов с этим видом нарушения возрастает в 10–20 раз по сравнению со здоровыми лицами. В случае гомозиготной формы оно заканчивается смертельным исходом в молодом возрасте от инфарктов миокарда, инсультов и других осложнений атеросклероза. Как вторичное явление гиперлиппротеинемия II типа может развиваться при гипотериозе, нефротическом синдроме. Лечение: диета с низким содержанием холестерина и насыщенных жиров.

Тип III — семейная дисбеталипопротеинемия. Обусловлена аномальным составом ЛПОНП. Они обогащены свободным холестерином и дефектным апо Е, тормозящим активность печеночный триглицероллипазы. Это ведет к нарушениям катаболизма ХМ и ЛПОНП. В крови появляются патологические флотирующие ЛПНП или ЛПОНП. В крови уве-

лично содержание холестерина и триацилглицеролов. Этот тип встречается достаточно редко. Заболевание проявляется в возрасте 30–50 лет. Состояние характеризуется высоким содержанием остатков ЛПОНП, гиперхолестеролемией и триацилглицеролемией, наблюдаются ксантомы, атеросклеротические поражения периферических и коронарных сосудов. Лечение: диетотерапия, направленная на снижение веса.

Тип IV – семейная гипертриацилглицеро-лемия. Повышение уровня ТАГ в плазме крови происходит за счет фракции ЛПОНП, аккумуляции ХМ при этом не наблюдается. Причиной таких отклонений является повышенное образование ЛПОНП в печени либо замедленный их катаболизм вследствие уменьшения активности ЛПЛ, либо то и другое вместе взятое. Встречается преимущественно у взрослых, характеризуется развитием атеросклероза сначала коронарных, затем периферических артерий. Заболевание часто сопровождается понижением толерантности к глюкозе. Как вторичное проявление может встречаться при панкреатите, алкоголизме. Лечение: диетотерапия, направленная на снижение веса.

Тип V – гиперпребеталипопротеинемия с гиперхиломикронемией. При этом типе патологии изменения фракций ЛП крови носят сложный характер: повышено содержание ХМ и ЛПОНП, уровень фракций ЛПНП и ЛПВП уменьшен. Содержание триацилглицеролов в крови повышено, в то время как концентрация холестерина в пределах нормы или умеренно повышена. Встречается у взрослых людей, но широкого распространения не имеет. Больные часто имеют избыточную массу тела, возможно развитие гепатоспленомегалии, панкреатита, атеросклероз развивается не во всех случаях. Как вторичное явление гиперлипопротеинемия типа V может наблюдаться при инсулинзависимом сахарном диабете, гипотериозе, панкреатите, алкоголизме, гликогенозе типа I. Лечение: диетотерапия, направленная на снижение веса, диета с низким содержанием углеводов и липидов.

Диагностика типа нарушений метаболизма при первичных и вторичных дислипопротеинемиях необходима для назначения адекватного лечения и прогнозирования исходов. Типирование гиперлипопротеинемий проводится на основании исследования уровня в крови различных классов липопротеинов методами электрофореза и препаративного ультрацентрифугирования.

Для большинства лабораторий приемлемым является определение концентрации в сыворотке крови холестерина и триацилглицеролов, отдельное определение содержания холестерина в ЛПВП и ЛПНП + ЛПОНП. В специализированных центрах проводится определение содержания отдельных апопротеинов в плазме крови, в случае необходимости определяется активность ферментов, участвующих в обмене липопротеинов. Обследование родственников обеспечивает генетическую диагностику и выявляет членов семьи, нуждающихся в лечении.

Роль липопротеинов плазмы крови в развитии атеросклероза. Атеросклероз – это хроническое, прогрессирующее заболевание, характеризующееся появлением атерогенных бляшек на внутренней поверхности сосудистой стенки.

Атеросклероз – одна из важнейших медицинских проблем современного общества. Во многих странах данное заболевание, его прямые последствия и осложнения являются одной из ведущих причин смертности населения. Чтобы подчеркнуть эпидемиологическое значение атеросклероза, следует указать основные нозологические единицы, которые являются его прямыми последствиями: ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, инсульт, ишемические заболевания конечностей.

Главными факторами риска атеросклероза, по данным многолетних эпидемиологических популяционных исследований, являются: дислипопротемии (первичные и вторичные), гипертензия, сахарный диабет, курение, принадлежность к мужскому полу. К другим, «мягким» факторам риска относят: ожирение, гиподинамию, хронический стресс, гиперурикемию.

Одна из основных причин развития атеросклероза – нарушение баланса между поступлением ХС с пищей, его синтезом и выведением из организма. У пациентов, страдающих атеросклерозом, повышены концентрации ЛПНП и ЛПОНП. Существует обратная зависимость между концентрацией ЛПВП и вероятностью развития атеросклероза. Это согласуется с представлениями о роли ЛПНП как переносчиков холестерина в ткани, а ЛПВП – из тканей.

Базовой метаболической предпосылкой развития атеросклероза является гиперхолестеролемия, которая может возникать в силу вышеперечисленных причин. Важную роль в механизмах развития атеросклероза играет модификация ли-

попротеинов. Изменение нормальной структуры белков и липидов в составе липопroteинов делает их чужеродными для собственного организма и поэтому более доступными для захвата фагоцитами.

Модифицированные липопroteины образуются в организме из нормально синтезированных и секретируемых в кровь липопroteинов. Причиной их модификации могут быть: выброс клетками свободных радикалов и продуктов перекисного окисления липидов, повышенная концентрация в крови и межклеточной жидкости некоторых метаболитов (например, глюкозы), а также ферментов различного спектра действия. Модификация липопroteинов может происходить по нескольким механизмам, что приводит к образованию гликозилированных липопroteинов, перекисно-модифицированных липопroteинов, аутоиммунных комплексов липопroteин – антитело, продуктов ограниченного протеолиза липопroteинов, комплексов липопroteинов с гликозаминогликанами, агрегированных липопroteинов.

Гликозилирование – весьма распространенный вид посттрансляционной модификации белков, в ходе которой происходит неферментативное ковалентное присоединение моносахаридов к ϵ -аминогруппе белка. Гликозилирование ЛП имеет место в норме, но особенно активно оно протекает у лиц с гипергликемией. Конечные продукты превращений гликозилированных ЛП сами по себе способствуют развитию атеросклероза: повышают проницаемость эндотелия, способствуют адгезии на нем клеток крови, активируют хемотаксис макрофагов в артериальную стенку, пролиферацию гладкомышечных клеток. Гликозилирование ЛП следует рассматривать как их атерогенную модификацию, поэтому у больных сахарным диабетом рано развивается атеросклероз, и около 80% диабетиков погибают от его осложнений.

Из всех классов ЛП перекисное окисление липидов (ПОЛ) затрагивает в первую очередь ЛПНП. ПОЛ в частицах ЛП – сложный и многоступенчатый процесс. Постоянно возникающие в организме свободные радикалы генерируют образование гидроперекисей ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав различных липидов. Особенно чувствительны к окислению глицерофосфолипиды. В результате их окисления образуются более полярные молекулы с укороченными ацильными боковыми группами. Перекисно-модифицированные ЛП слабо распознаются соответствующими рецепторами,

обогащены продуктами ПОЛ, содержат меньше ненасыщенных жирных кислот и антиоксидантов, обладают цитотоксичностью. Такая модификация делает ЛП (в первую очередь ЛПНП) более высокоатерогенными.

В крови больных с атеросклеротическими признаками часто обнаруживают иммунные комплексы, содержащие ЛП в качестве антигена: ЛПНП-IgG или ЛПОНП-IgG. Одной из причин образования антител к ЛП может являться их модификация и, как следствие этого, приобретение ими аутоантигенных свойств. Этому также способствуют такие особенности структуры и свойств ЛП, как вариабельность состава и конформации белковых компонентов, возможность комплексообразования с другими соединениями, частичная деградация в крови и тканях под действием ферментов процессов ПОЛ и большого числа других причин, которые возникают в норме и при патологии.

Развитие атеросклероза проходит несколько стадий. Цепь событий выглядит здесь следующим образом: повреждение эндотелия → адгезия тромбоцитов → секреция тромбоцитарного фактора роста → пролиферация гладкомышечных клеток → начало образования бляшки → фиброз и кальцификация зоны повреждения → сформированная атеросклеротическая бляшка. Процесс начинается с повреждения эндотелия сосудов, причем оно может иметь различные механизмы.

Важнейший механизм – повреждение эндотелия модифицированными ЛП, например, в результате активации ПОЛ. В ходе ПОЛ в ЛПНП изменяется не только структура липидных компонентов, но и апопротеинов. Модифицированные ЛПНП захватываются макрофагами. Этот процесс не регулируется количеством поглощенного ХС, как в случае его поступления в клетки через специфические рецепторы, поэтому макрофаги перегружаются ХС и превращаются в «пенистые клетки», которые проникают в субэндотелиальное пространство. Это приводит к образованию липидных пятен или полосок в стенке кровеносных сосудов. На этой стадии эндотелий сосудов может сохранять свою структуру.

В норме клетки эндотелия секретируют простагландин I_2 , который ингибирует агрегацию тромбоцитов. При увеличении количества «пенистых клеток» происходит повреждение эндотелия и активация тромбоцитов. Последние секретируют тромбоксан A_2 , который стимулирует агрегацию тромбоцитов, что может привести к образованию тромба в области ате-

росклеротической бляшки. Кроме того, тромбоциты начинают продуцировать тромбоцитарный фактор роста, стимулирующий пролиферацию гладкомышечных клеток. Они мигрируют из медиального во внутренний слой артериальной стенки, способствуя, таким образом, росту бляшки.

Далее происходит прорастание бляшки фиброзной тканью (коллагеном, эластином), клетки под фиброзной оболочкой некротизируются, а ХС откладывается в межклеточном пространстве. На данном этапе в центре бляшки могут образовываться холестериновые кристаллы. На последних стадиях развития бляшка пропитывается солями кальция и становится очень плотной. В области бляшки часто образуются тромбы, перекрывающие просвет сосуда, что сопровождается острым нарушением кровообращения в соответствующем участке ткани и развитием инфаркта. Чаще всего эти процессы развиваются в артериях миокарда, поэтому наиболее распространенное заболевание, сопутствующее атеросклерозу, – инфаркт миокарда.

В последнее время была установлена взаимосвязь атеросклероза с еще одним видом липопротеинов – липопротеином (а). Высокий уровень его в крови сопутствовал приступам стенокардии, инфарктам, сужению сосудов. Высокий уровень липопротеина (а) занимает одно из ведущих мест среди наследуемых факторов риска коронарной болезни сердца. Липопротеин (а) похож своей структурой на ЛПНП и, как предполагается, участвует в развитии атеросклероза.

Достаточно часто атеросклероз протекает на фоне других атерогенных нарушений, и такое сочетание получило название метаболический X-синдром. При метаболическом X-синдроме у пациентов отмечается: ожирение, гипертензия, сахарный диабет, гиперурикемия, гиперлипотеинемия и атеросклероз.

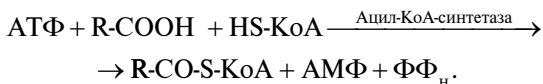
Биохимические основы лечения атеросклероза. Важным лечебным фактором, снижающим риск развития гиперхолестеремии и атеросклероза, является гипокалорийная и гипохолестериновая диета. Поступление ХС с пищей не должно превышать 300 мг/сут. ХС – стерол животного происхождения, он поступает в организм при употреблении животных жиров и жирного мяса. Растительная пища не содержит ХС, поэтому у людей среднего и старшего возраста она должна составлять основу рациона. К лечебным и профилактическим факторам относят обогащение пищи полиеновыми жирными

Таблица 6.5. Эффекты некоторых гиполипидемических препаратов

Препарат	Первичный эффект	Влияние на уровень липидов и ЛП крови				
		ХС	ТГ	ЛПОНП	ЛПНП	ЛПВП
Секвестранты желчных кислот (холестирамин, холестипол)	Активация катаболизма ЛПНП в печени	↓↓↓	↑	↑	↓↓	
Статины (ловастатин, провастатин, мевакор и др.)	Угнетение синтеза ХС в печени	↓↓↓	↓	↓	↓↓↓	↑
Фибраты (клофибрат, фенофибрат, безафибрат и др.)	Активация катаболизма ЛПОНП	↓	↓↓↓	↓↓↓	↓	↑
Никотиновая кислота и ее производные	Угнетение образования ЛПОНП	↓	↓↓	↓↓	↓	↑

Окисление жирных кислот. Как уже отмечалось, жирные кислоты играют очень существенную роль в качестве источника энергии в организме. В предыдущей главе был рассмотрен процесс высвобождения жирных кислот из триацилглицеролов под влиянием липопротеинлипазы. Такому расщеплению могут подвергаться внутриклеточные нейтральные липиды с помощью липаз, локализованных в клетках органов и тканей.

В клетке жирная кислота, прежде чем подвергнуться окислению, превращается в активное производное в результате реакции, протекающей с участием АТФ:



Реакция эта протекает, главным образом, в цитоплазме, в то время как процесс β -окисления жирных кислот происходит в митохондриях. **Ацил-KoA** не может проникнуть в митохондрию без помощи карнитина (рис. 6.12).

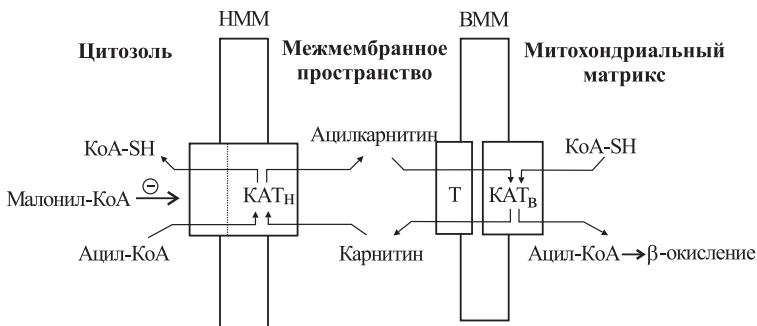


Рис. 6.12. Опосредованный карнитином перенос длинноцепочечного ацил-KoA в митохондриальный матрикс:

KAT_n катализирует образование ацилкарнитинового комплекса из ацил-KoA и карнитина на внутренней стороне наружной митохондриальной мембраны (НММ). Ацилкарнитиновый комплекс затем диффундирует через межмембранное пространство к внутренней митохондриальной мембране (ВММ). Там совместное действие карнитин : ацилкарнитин транслоказы (Т) и KAT_b обеспечивает поступление ацил-KoA в митохондриальный матрикс для последующего окисления. Активность KAT_n ингибируется малонил-KoA на наружной стороне наружной мембраны митохондрий. KAT_n – трансфераза переносчика карнитина наружной мембраны митохондрий (карнитинацилтрансфераза); KAT_b – трансфераза переносчика карнитина внутренней мембраны митохондрий; «—» – ингибирование

Карнитин является широко распространенным соединением, особенно много его в мышцах. Образуется он из аминокислот лизина и метионина в печени и почках. На наружной стороне внутренней мембраны митохондрий имеется фермент ацилкарнитинтрансфераза, который катализирует взаимодействие ацил-КоА с карнитином. Ацилкарнитин обладает способностью проходить через внутреннюю мембрану митохондрий. На внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрий ацилкарнитин взаимодействует с митохондриальным КоА. В результате в митохондриальном матриксе вновь образуется ацил-КоА, а карнитин высвобождается.

Далее митохондриальный ацил-КоА распадается в результате повторяющейся последовательности из четырех реакций окисления с участием ФАД, гидратации, окисления с участием НАД⁺ и тиолиза с участием КоА (рис. 6.13). Цепь жирной кислоты укорачивается при этом на два атома углерода. Одновременно происходит образование ФАДН₂, НАДН · Н⁺ и ацетил-КоА. Большой вклад в изучение этой последовательности реакций внесли Дэвид Грин, Северо Очоа и Феодор Линен. Они и назвали этот процесс β-окислением в соответствии

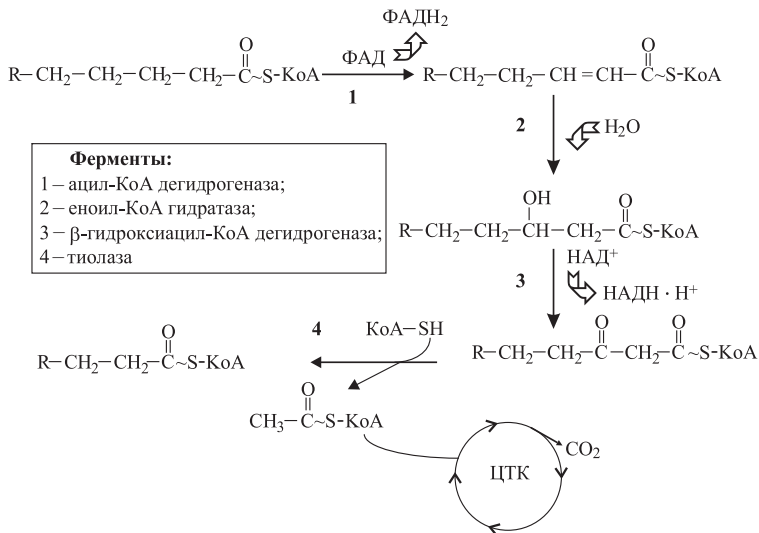


Рис. 6.13. Последовательность реакций при β-окислении жирных кислот:
 1 – окисление; 2 – гидратация; 3 – окисление; 4 – тиолиз

с тем, что окислению всегда подвергается β -углеродный атом остатка жирной кислоты (второй углеродный атом ацила).

Образующийся ацил-КоА вновь вступает в следующий цикл окисления, начиная с реакции, катализируемой ацил-КоА-дегидрогеназой.

Энергетический выход β -окисления жирных кислот зависит от длины углеводородной цепи. Можно подсчитать энергетический выход β -окисления жирных кислот. В каждом цикле реакций ацил-КоА укорачивается на два углерода и образуется по одной молекуле ФАДН₂, НАДН · Н⁺ и ацетил-КоА (рис. 6.14).

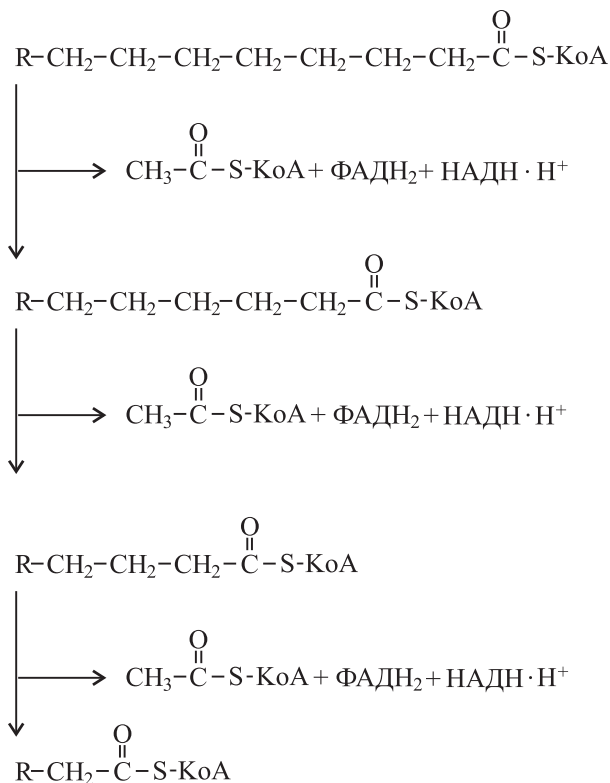
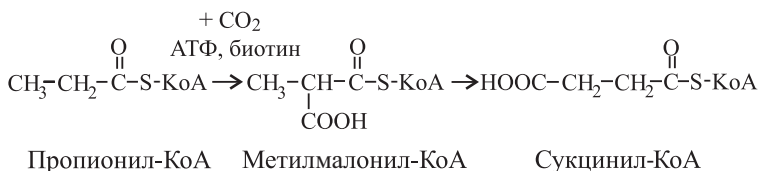


Рис. 6.14. Последовательные этапы укорочения радикала жирной кислоты при β -окислении:
двухуглеродные фрагменты последовательно удаляются с карбоксильного конца жирной кислоты

При окислении каждого из этих НАДН · Н⁺ через дыхательную цепь образуется 2,5 молекулы АТФ, тогда как при окислении каждого ФАДН₂ — 1,5АТФ, потому что в этом случае электроны поступают в цепь на уровне кофермента Q. Напомним, что окисление ацетил-КоА в цикле трикарбоновых кислот дает 10 молекул АТФ. Таким образом, энергетический выход одного цикла β-окисления составляет четыре молекулы АТФ плюс 10 молекул АТФ. Для подсчета энергетического выхода β-окисления конкретной жирной кислоты необходимо знать количество циклов β-окисления (оно составляет $n/2-1$, где n — число углеродных атомов в составе жирной кислоты) и молекул образующихся ацетил-КоА (оно составляет $n/2$). Из общей суммы АТФ необходимо вычесть две молекулы АТФ, которые были затрачены на активацию жирной кислоты в начале всего процесса.

β-Окисление ненасыщенных жирных кислот и жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов. β-Окисление ненасыщенных жирных кислот во многом подобно окислению насыщенных жирных кислот. В самом общем виде разница заключается в том, что когда процесс последовательного укорачивания на два углеродных атома доходит до стадии расположения двойной связи в ацил-КоА между С-3 и С-4, под действием фермента изомеразы эта двойная связь перемещается в положение С-2 и С-3 с образованием еноил-КоА, который является обычным субстратом β-окисления.

Жирные кислоты с нечетным числом углеродных атомов в организме животных весьма немногочисленны. Они окисляются таким же образом, как и жирные кислоты с четным числом атомов, с той лишь разницей, что на последнем этапе расщепления образуются одна молекула пропионил-КоА и одна молекула ацетил-КоА, а не две молекулы ацетил-КоА. Активированный трехуглеродный фрагмент пропионил-КоА включается в цикл трикарбоновых кислот после превращения в сукцинил-КоА:

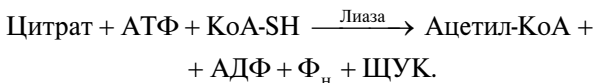
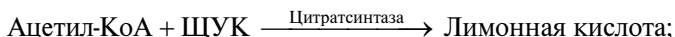


Биосинтез жирных кислот. Наряду с расщеплением жирных кислот в результате их окисления в клетках функционирует процесс синтеза жирных кислот. Путь синтеза жирных кислот не является обратным пути их расщепления. Он представляет собой новую последовательность реакций.

Основными особенностями пути биосинтеза жирных кислот являются следующие:

- синтез происходит в цитоплазме в отличие от распада, который протекает в матриксе митохондрий;
- промежуточные продукты синтеза жирных кислот ковалентно связаны с ацилпереносящим белком (АПБ), тогда как промежуточные продукты β -окисления жирных кислот связаны с коферментом А;
- большинство ферментов синтеза жирных кислот организованы в мультиферментный комплекс, называемый синтазой жирных кислот;
- удлинение цепи синтезируемой жирной кислоты происходит путем последовательного присоединения двухуглеродных фрагментов. Поставщиком этих двухуглеродных фрагментов служит малонил-АПБ;
- в качестве восстановителя при синтезе жирных кислот выступает НАДФН \cdot H^+ ;
- на этапе образования пальмитата (С-16) удлинение остатка жирных кислот с участием мультиферментного комплекса синтазы жирных кислот останавливается. Дальнейшее удлинение, как и введение двойных связей, происходит под влиянием других ферментных систем в митохондриях.

Исходным субстратом для синтеза жирных кислот является ацетил-КоА, который образуется из пирувата в митохондриях. Поскольку жирные кислоты синтезируются в цитоплазме, необходимо, чтобы ацетил-КоА был перенесен из митохондрий в цитозоль. Однако митохондрии непроницаемы для ацетил-КоА. Карнитин в данном случае в качестве переносчика не годится, поскольку он транспортирует в основном длинноцепочечные жирные кислоты. Этот барьер преодолевается с помощью цитрата, переносящего остатки уксусной кислоты через внутреннюю митохондриальную мембрану:



Метаболический механизм перехода ацетил-КоА из митохондрий в цитозоль представлен на рис. 6.15.

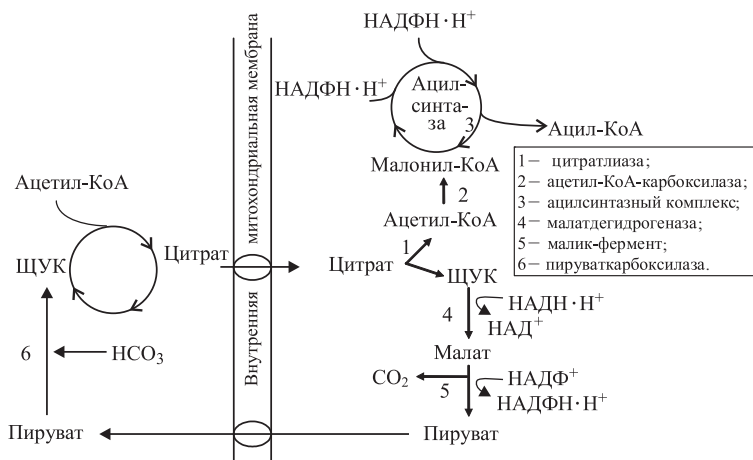


Рис. 6.15. Метаболический механизм перехода ацетил-КоА из митохондрий в цитозоль

Синтез жирных кислот начинается с карбоксилирования ацетил-КоА. Эта реакция катализируется **ацетил-КоА-карбоксилазой**, содержащей в качестве простетической группы биотин (витамин Н). Ее можно разделить на две стадии:

1) биотин-фермент + АТФ + $\text{CO}_2 \rightarrow \text{CO}_2$ -биотин-фермент + АДФ + P_H ;

2) CO_2 -биотин-фермент + Ацетил-КоА \rightarrow Малонил-КоА + Биотин-фермент.

Семь ферментов, участвующих в последующих реакциях биосинтеза жирных кислот, объединены в комплекс – синтазу жирных кислот. У эукариот синтаза состоит из двух одинаково построенных частей – субъединиц, что позволяет ей одновременно синтезировать две жирные кислоты. Суммарная молекулярная масса этого комплекса, находящегося в цитоплазме клеток, составляет около 400 кДа.

Центральное место в этой системе занимает ацилпереносящий белок, с которым ковалентно связываются промежуточные продукты биосинтеза жирных кислот (рис. 6.16). Роль простетической группы в АПБ играет фосфопантотеин, который также входит в состав кофермента А. Функция АПБ

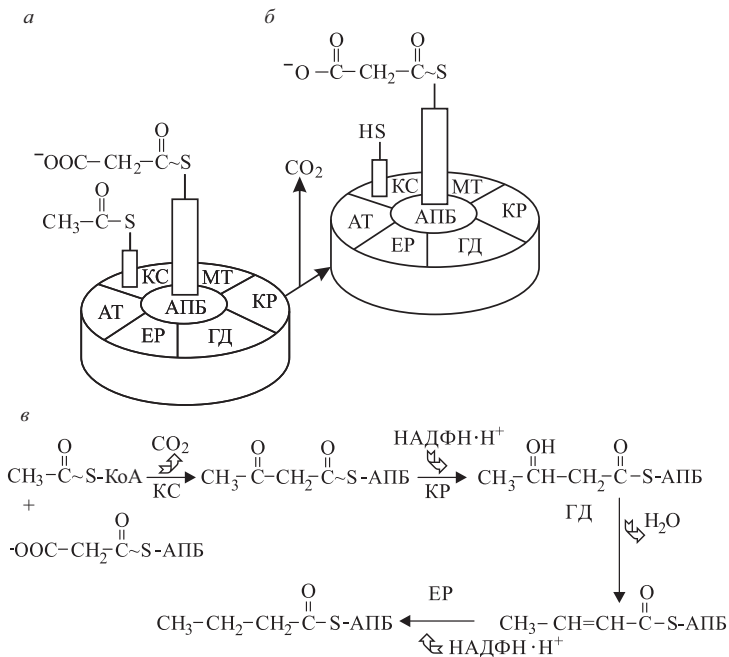


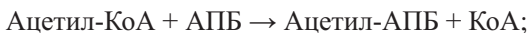
Рис. 6.16. Механизм синтеза жирной кислоты:

a – схематическое изображение ацилсинтазного комплекса, катализирующего образование жирных кислот и состоящего из ферментов: АПБ – ацилпереносающий белок; МТ – малонилтрансфераза; АТ – ацилтрансфераза; КС – 3-кетоацил-АПБ-синтаза; КР – 3-кетоацил-АПБ-редуктаза; ЕР – еноил-АПБ-редуктаза; ГД – 3-гидроксиацил-АПБ-дегидратаза; *б, в* – последовательность реакций в синтезе жирных кислот, осуществляемых синтазой жирных кислот (ацилсинтезирующий комплекс)

в биосинтезе жирных кислот аналогична функции кофермента А в окислении жирных кислот. В процессе построения цепи жирной кислоты промежуточные продукты образуют эфирные связи с АПБ. Предполагается, что фосфопантотеиновая группа АПБ выполняет функцию своеобразного рычага, который переносит в определенной последовательности ковалентно связанные остатки жирных кислот от активного центра одного фермента к другому.

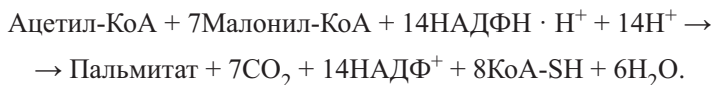
Вначале образуются комплексы ацетил-АПБ и малонил-КС¹:

¹Первичная структура кетоацилсинтазы (КС) содержит остаток аминокислоты – цистеина, к SH группе которого присоединяется малонильный остаток.



Затем ацетильный фрагмент переносится на малонильный с образованием ацетоацетильного фрагмента. Последний восстанавливается при участии НАДФН · Н⁺ и после отщепления воды превращается в еноильный остаток. Этот остаток вновь восстанавливается при участии НАДФН · Н⁺ в остаток масляной кислоты. Затем происходит дальнейшее удлинение нарастающей жирнокислотной цепи. Началом последующего цикла, который включает ту же последовательность реакций, является конденсация бутирил-АПБ со следующей молекулой малонил-АПБ.

Суммарная реакция синтеза пальмитиновой кислоты:



В различных клетках из двух различных источников поступает НАДФН · Н⁺, необходимый для восстановительных реакций, протекающих в ходе биосинтеза жирных кислот. В печени НАДФН · Н⁺ образуется, главным образом, в реакциях пентозофосфатного пути. В клетках жировой ткани НАДФН · Н⁺ образуется преимущественно за счет функционирования челночного механизма, обеспечивающего перенос остатка уксусной кислоты из митохондрий в цитоплазму. Дело в том, что образованный в результате этого процесса оксалоацетат (ЩУК) из цитоплазмы должен быть возвращен в митохондрии. На этапе возвращения образуется яблочная кислота (соли – малаты), которая впоследствии подвергается окислительному декарбоксилированию с участием маликфермента (см. рис. 6.15). При этом происходит восстановление НАДФ⁺.

Как уже отмечалось, при участии синтазы жирных кислот идет образование ацилов, содержащих максимально 16 углеродных атомов. Дальнейшее удлинение цепей жирных кислот происходит с помощью других ферментных систем путем присоединения ацетильных групп; этот процесс протекает в эндоплазматическом ретикулуме и митохондриях.

Скорость биосинтеза жирных кислот определяется, главным образом, скоростью ацетил-КоА-карбоксилазной реакции. Ацетил-КоА-карбоксилаза – это аллостерический фермент. Его активность стимулируется цитратом. Связываясь с аллостерическим участком ацетил-КоА-карбоксилазы, цитрат значительно ускоряет превращение ацетил-КоА в малонил-КоА. Избыток пальмитоил-КоА (остаток пальмитиновой кислоты, C_{16} , связанный с КоА) в клетке играет роль аллостерического ингибитора ацетил-КоА-карбоксилазы.

Синтез триацилглицеролов. Синтез триацилглицеролов происходит, главным образом, в печени и жировой ткани из КоА-производных жирных кислот через фосфатидную кислоту. Фосфатидная кислота является предшественником как триацилглицеролов, так и некоторых глицерофосфолипидов. Эта реакция протекает преимущественно с насыщенными и ненасыщенными КоА-производными C_{16} (пальмитиновой, пальмитоолеиновой) и C_{18} (стеариновой, линолевой)-жирных кислот.

Схема реакций глицеролфосфатного пути синтеза триацилглицеролов представлена на рис. 6.17.

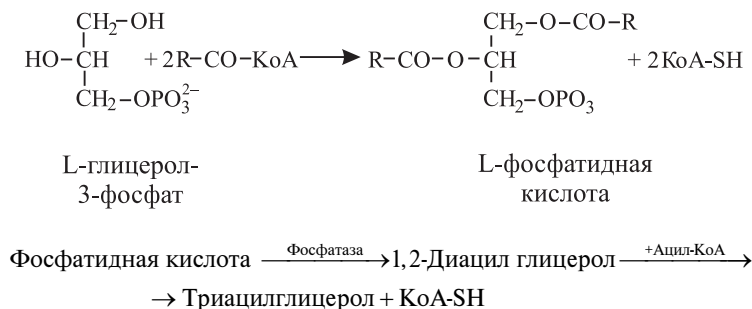
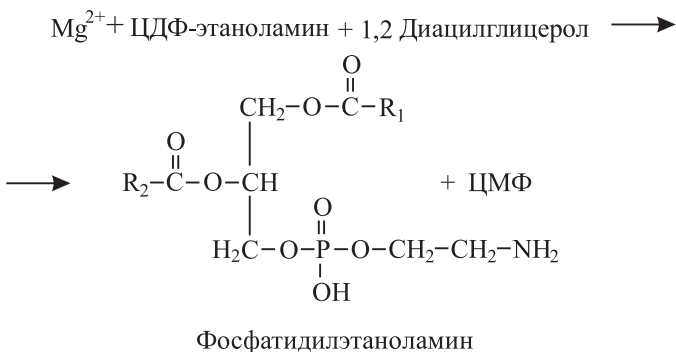
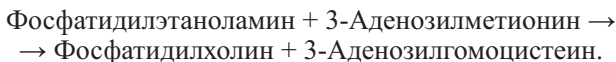


Рис. 6.17. Схематическое изображение реакций глицеролфосфатного пути синтеза триацилглицеролов

Происхождение глицерол-3-фосфата в печени и жировой ткани различное (рис. 6.18). В печени глицерол-3-фосфат образуется в результате фосфорилирования глицерола под влиянием фермента – глицеролкиназы. При этом остаток фосфорной кислоты отщепляется от молекулы АТФ. В адипоцитах глицерол-3-фосфат образуется путем восстановления



Образование фосфатидилхолина происходит путем последовательного переноса метильной группы от трех молекул аденозилметионина к фосфатидилэтаноламину:



Этот путь синтеза фосфатидилхолина является недостаточным для обеспечения всех потребностей организма млекопитающих.

Другой путь синтеза фосфатидилхолина предусматривает использование холина, поступающего с пищей. Он включает образование цитидиндифосфатхолина в качестве ключевого промежуточного вещества. Структура его подобна структуре ЦДФ-этаноламину и синтезируется он путем аналогичных реакций:



Гормональная регуляция мобилизации жиров и липогенеза. Скорость высвобождения жирных кислот из жировой ткани регулируется рядом гормонов, которые воздействуют либо на скорость липолиза, либо на скорость этерификации (образования ацилглицеролов) (рис. 6.19). Гормон инсулин, синтезирующийся в поджелудочной железе, тормозит выход жирных кислот из жировой ткани. Этот эффект достигается за счет того, что инсулин ингибирует активность жиромобилизующей липазы. Наряду с этим он усиливает процессы биосинтеза триацилглицеролов, активирует ряд ферментов, катализирующих синтез жирных кислот.

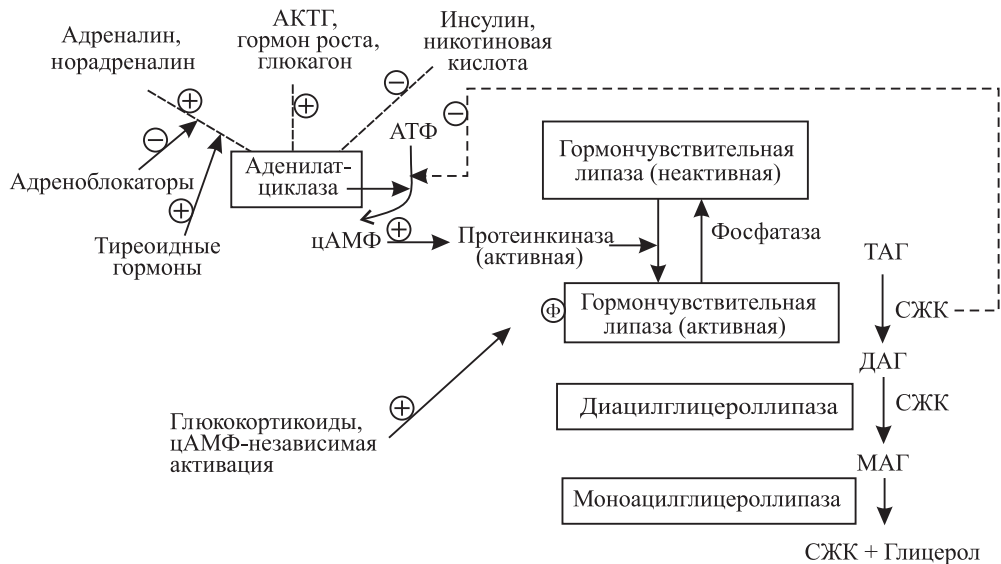
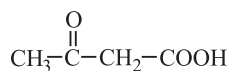


Рис. 6.19. Регуляция липолиза в жировой ткани:

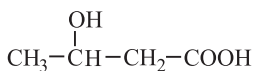
ТАГ – триацилглицерол; ДАГ – диацилглицерол; МАГ – моноацилглицерол; СЖК – свободная жирная кислота; Ф – фосфат; «+» – активация; «-» – ингибирование

Активирует мобилизацию (высвобождение) липидов из жировой ткани ряд других гормонов: адреналин, норадреналин, кортикостероиды, гормоны гипофиза – вазопрессин, тиреотропин, адренокортикотропин, лютеотропин, соматотропин, липотропины. Гормоны, которые быстро усиливают липолиз, например адреналин, оказывают свое действие через активацию фермента – аденилатциклазы и последующее образование циклического АМФ. Механизм действия в этом случае аналогичен механизму гормональной стимуляции гликогенолиза.

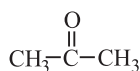
Образование кетонowych тел. В определенных метаболических условиях, когда происходит интенсивное окисление жирных кислот, в печени образуются значительные количества так называемых *кетонowych тел*: ацетоуксусной кислоты, β-гидроксимасляной кислоты и ацетона. Все эти продукты берут начало от ацетоацетил-КоА, который образуется при конденсации двух молекул ацетил-КоА по принципу «голова в хвост»:



Ацетоуксусная кислота

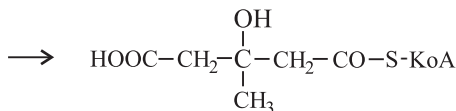
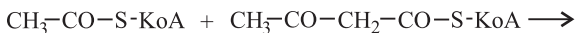


β-Гидроксимасляная
кислота



Ацетон

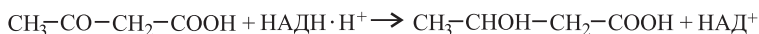
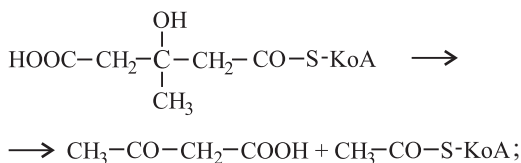
Реакция конденсации происходит в митохондриях. В печени ацетоацетил-КоА взаимодействует еще с одной молекулой ацетил-КоА и превращается в 3-гидрокси-3-метил-глутарил-КоА (ГОМГ-КоА) – важное промежуточное вещество в образовании холестерина и стероидов:



3-Гидрокси-3-метилглутарил-КоА

Расщепление 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА ферментом лиазой является основным путем образования ацетоук-

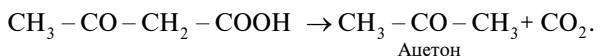
сусной кислоты в печени. В дальнейшем ацетоуксусная кислота восстанавливается под влиянием фермента β -гидроксибутиратдегидрогеназы. В результате образуется β -оксимасляная кислота:



Ацетоуксусная кислота

β -Оксимасляная кислота

Ацетон образуется из ацетоуксусной кислоты при декарбоксилировании:



Из печени поток кетоновых тел попадает во внепеченочные ткани. Дело в том, что в печени, где процессы образования кетоновых тел проходят очень активно, низка активность ферментов, участвующих в их утилизации. Противоположная ситуация имеет место во внепеченочных тканях. Кетоновые тела окисляются во внепеченочных тканях. При этом выделяется энергия. Таким образом, кетоновые тела можно рассматривать как *источник энергии*. Следует отметить, что там они подвергаются окислению предпочтительно по сравнению с глюкозой и жирными кислотами. Интенсивность окисления кетоновых тел во внепеченочных тканях пропорциональна их концентрации в крови. Общая концентрация кетоновых тел в крови обычно ниже 3 мг/100 мл, а средняя ежедневная экскреция с мочой составляет приблизительно от 1 до 20 мг.

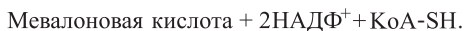
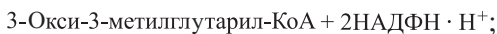
Состояние организма, при которых концентрация кетоновых тел в крови выше нормальной, называется **кетонемией**. Повышенное содержание кетоновых тел в моче называется **кетонурией**. В тех случаях, когда имеет место выраженная кетонемия и кетонурия, в выдыхаемом воздухе ощущается запах ацетона. Эти три симптома – кетонемия, кетонурия и запах ацетона при дыхании объединяются общим названием **кетоз**.

Кетоз возникает в результате недостатка доступных углеводов. Например, при голодании их мало поступает (или не поступает) с пищей, а при сахарном диабете вследствие недостатка гормона – инсулина они не могут эффективно окисляться в клетках органов и тканей. Это приводит к дисбалансу между этерификацией и липолизом в жировой ткани, в результате которого жирные кислоты поступают в кровоток, а затем в клетки. Жирные кислоты являются главным субстратом для образования кетоновых тел в печени. Поскольку в результате их β -окисления образуется ацетил-КоА, естественно, что при увеличении количества окисляемых жирных кислот возрастает доля синтезируемых кетоновых тел.

Биосинтез холестерина. Все клетки, содержащие в своем составе ядро, способны синтезировать холестерол. Основным местом синтеза холестерина в организме является печень. Биосинтез холестерина происходит в эндоплазматическом ретикулуле и цитоплазме клеток.

Источником всех атомов углерода, входящих в молекулу холестерина, является ацетил-КоА.

Первый этап синтеза холестерина начинается так же, как синтез кетоновых тел. Путем последовательной конденсации трех молекул ацетил-КоА образуется 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА. В печени митохондриальный фонд этого вещества служит, главным образом, предшественником кетоновых тел, в то время как цитоплазматический фонд идет на синтез холестерина. 3-Гидрокси-3-метилглутарил-КоА является непосредственным предшественником мевалоновой кислоты. Последняя образуется в реакции, которая катализируется ферментом – гидроксиметилглутарил-КоА редуктазой:



На втором этапе мевалонат подвергается фосфорилированию и декарбоксилированию.

В результате он превращается в изопентенилпирофосфат. Изопентенилпирофосфат используется для построения многих важных для организма веществ (рис. 6.20).

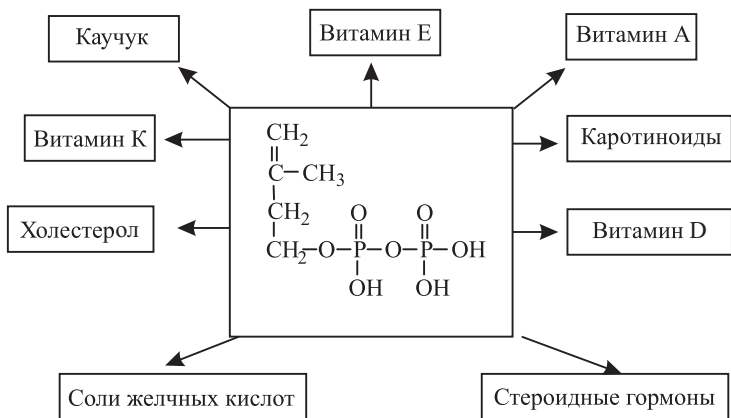
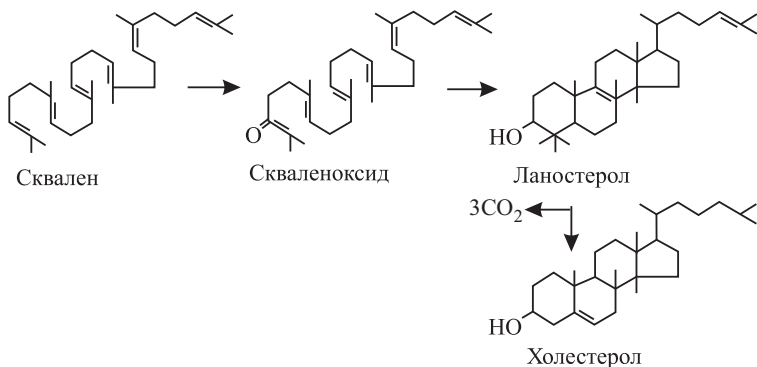


Рис. 6.20. Пути использования изопентилпирофосфата

Шесть изопентенильных групп затем объединяются, теряя свои пирофосфатные группы, и образуют углеводород – сквален, состоящий из 30 атомов углерода, 24 из которых соединены в цепь, а остальные 6 входят в состав метильных боковых групп:



На третьем этапе биосинтеза холестерина происходит серия сложных ферментативных реакций, в результате которых линейная молекула сквалена превращается в циклическое соединение – ланостерол, содержащее четыре типичных для стероидов конденсированных кольца.

В ходе четвертой заключительной серии реакций ланостерол превращается в холестерол.

Регуляция биосинтеза холестерина осуществляется на этапе превращения 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА в мевалоновую кислоту. Активность фермента редуктазы, катализирующего эту реакцию, ингибируется конечным продуктом – холестерином.

Биосинтез холестерина регулируется также концентрацией специфического белка – переносчика стеролов. Этот белок связывает нерастворимые в воде промежуточные продукты биосинтеза и таким образом делает их более доступными для последующих ферментативных реакций. Нарушение регуляции биосинтеза холестерина – это один из факторов, влияющих на развитие атеросклероза.

Гиперхолестеролемии. Холестерол (ХС) – важнейший представитель липидов, который входит в состав ЛП, клеточных мембран, является исходным материалом для синтеза стероидных гормонов, желчных кислот. Содержание общего ХС в крови взрослых людей в норме составляет 3,64–6,76 ммоль/л. Повышение уровня ХС в крови может являться следствием самых разных факторов.

Гиперхолестеролемия часто развивается при избыточном поступлении с пищей ХС, а также углеводов и липидов. Гиперкалорийное питание – один из распространенных факторов развития гиперхолестеролемии, так как для синтеза ХС необходимы ацетил-КоА, АТФ и НАДФН · Н⁺. Все эти метаболиты образуются при окислении глюкозы и жирных кислот, поэтому избыточное поступление данных компонентов пищи способствует развитию гиперхолестеролемии. В норме поступление ХС с пищей снижает синтез эндогенного ХС в печени, однако с возрастом эффективность этих регуляторных механизмов снижается. Правильное питание в течение всей жизни – важный фактор профилактики гиперхолестеролемии.

По происхождению гиперхолестеролемии подразделяются на первичные и вторичные.

Первичные (наследственные) гиперхолестеролемии:

- семейная гиперхолестеролемия (гиперлиппротеинемия II типа);
- семейная дисбеталипопротеинемия (гиперлиппротеинемия III типа);
- гиперхолестеролемия при семейной гипертриацилглицеролемии (гиперлиппротеинемии IV типа).

Вторичные (приобретенные) гиперхолестеролемии как сопутствующий синдром могут наблюдаться при механической желтухе, первичном билиарном циррозе печени, сахарном диабете, гипотиреозе, синдроме Кушинга, нефротическом синдроме, гепатоме, беременности, отравлении хлорорганическими соединениями.

Энзимопатии липидного обмена. Сфинголипиды являются компонентами плазматических мембран и в ходе клеточного цикла они поэтапно разрушаются. Катаболизм этих соединений протекает в лизосомах и нарушение одного из этапов делает невозможным протекание следующих. В результате в лизосомах накапливаются продукты неполного расщепления липидов. Заболевания, вызванные генетическими дефектами ферментов катаболизма сфинголипидов, получили названия *сфинголипидозов*.

К этой группе заболеваний относятся:

- *болезнь Тэй-Сакса* – причиной является недостаточность фермента гексозаминидазы А, что приводит к накоплению в клетках ЦНС ганглиозида G_{M2} . Клинически отмечается задержка умственного развития, слепота, смерть в возрасте до 3 лет;

- *болезнь Гоше* – причиной является недостаточность фермента β -глюкоцереброзидазы и накопление глюкоцереброзидов. Клиническими проявлениями являются увеличение печени и селезенки, эрозия длинных костей и костей таза;

- *болезнь Нимана – Пика* – возникает вследствие недостаточности фермента сфингомиелиназы и накопления сфингомиелина. У таких пациентов отмечается увеличение печени и селезенки, задержка умственного развития, наличие пенистых клеток в костном мозге;

- *генерализованный ганглиозидоз* – возникает при недостаточности фермента β -галактозидазы, что приводит к накоплению ганглиозида G_{M1} и протеогликанов. Клинически отмечается задержка умственного развития, гепатомегалия.

ГЛАВА 7

ОБМЕН БЕЛКОВ

Краткое содержание главы

Азотистый баланс представляет разность между количеством поступившего и выделенного азота. Может быть положительным или отрицательным. У взрослых здоровых людей наблюдается азотистое равновесие.

Источники аминокислотного фонда клетки — это аминокислотный фонд крови, пополняющийся аминокислотами пищи, продуктами распада белков в других тканях, а также путем синтеза и взаимопревращения аминокислот в каждой клетке.

Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте катализируется эндопептидазами (пепсин желудка, трипсин, химотрипсин, эластаза поджелудочной железы), экзопептидазами (амино- и карбоксипептидазы поджелудочной железы и кишечника) и дипептидазами.

Обезвреживание продуктов гниения белков происходит в печени, куда они поступают по воротной вене. В обезвреживании участвуют ферменты, способствующие повышению растворимости путем конъюгации с фосфоаденозинфосфосульфатом и УДФ-глюкуроновой кислотой.

Синтез креатина происходит при участии трех аминокислот: аргинина, глицина и метионина — и начинается в почках (образование гуанидинацетата), а завершается в печени (метилирование гуанидинацетата). Используется в качестве макроэргического производного (креатинфосфата) в мышцах.

Переаминирование и дезаминирование аминокислот — это основные реакции, с которых начинается катаболизм аминокислот. Трансаминирование позволяет частично «депонировать» аминокруппу для повторного использования, а дезаминирование обеспечивает подключение углеродородного скелета аминокислот к общим метаболическим путям. Обратимость реакций дает дополнительные возможности интегративным связям метаболических путей.

Декарбоксилирование аминокислот и биогенные амины. Отщепление карбоксильной группы у аминокислот приводит к образованию аминов: триптамина и серотонина из триптофана, гистамина из гистидина, ГАМК из глутаминовой кислоты. Эти соединения обладают высокой биологической активностью, за что их называли биогенными аминами.

Пути обезвреживания аммиака можно разделить на локальные, характерные для каждой клетки, и общие, позволяющие удалять его из организма. Среди локальных следует назвать восстановительное аминирование α -глутарата, синтез глутамина и карбамоилфосфата в цитозоле. Окончательное обезвреживание большей части аммиака завершается в печени, где образуется мочевины. Часть аммиака секретируется почками.

Регуляция обмена простых белков связана прежде всего с гормональным влиянием на аминокислотный фонд клеток. Уровень аминокислот определяет направленность обмена простых белков. Заболевания органов, связанные с нарушением механизмов обезвреживания аммиака, проявляются симптомами токсического действия аммиака или задержкой выделения мочевины. Описано большое число врожденных нарушений обмена отдельных аминокислот.

Клинико-лабораторное значение. Белки занимают особое место в процессах жизнедеятельности. Нарушение их обмена приводит к значительным изменениям функций клеток: роста, деления, секреции и т.д. Определение уровня продуктов метаболизма белков (мочевины, аминокислот, креатина и др.) широко используется для диагностики нарушений функций внутренних органов. Высокая специфичность белкового обмена в отдельных клетках позволяет использовать исследование активности ряда ферментов обмена белков в крови для диагностики локализации и глубины повреждения клеток.

Азотсодержащие вещества не депонируются в организме. Белки, подобно углеводам и липидам, постоянно обмениваются, однако в отличие от них избыток белков в организме человека не депонируется. Учитывая, что обязательным элементом белков является азот, содержание которого в среднем составляет 16%, можно проследить за состоянием белкового обмена по разнице между количеством азота, поступающим

с пищей, и количеством азота, выделяющимся почками. Эта разность получила название **азотистого баланса**. У здорового взрослого человека отмечается *азотистое равновесие*. Это означает, что количество поступившего с пищей азота равняется количеству выделившегося азота. В детском возрасте, а также у женщин во время беременности наблюдается *положительный азотистый баланс*. Некоторая часть азота при этом задерживается в организме и используется на рост и развитие органов и тканей.

Во время некоторых заболеваний при старении или неполноценном белковом питании отмечают *отрицательный азотистый баланс*. При этом количество выводимого азота превышает количество поступающего с пищей.

Каждый белок характеризуется так называемым *временем биологического полураспада*, т.е. временем, в течении которого количество этого белка заменяется наполовину. Быстрее этот процесс происходит с белками печени, плазмы крови, кишечника, медленнее – с белками соединительной ткани, мышц. За сутки у взрослого человека обменивается около 400 г белков, однако с пищей должно поступать 80–100 г, что указывает на возможность повторного использования аминокислот в биосинтезе белков тканей и органов.

Биологическая ценность белков определяется их аминокислотным составом. В синтезе белков и других азотсодержащих соединений принимают участие аминокислоты. В организме создается *фонд аминокислот*, который пополняется из нескольких источников: аминокислоты пищи, аминокислоты катаболизма белков в клетках и аминокислоты, синтезируемые в клетках. Возможности синтеза аминокислот значительно ограничены.

Выделяют группу аминокислот, которые не могут быть синтезированы в клетке из-за отсутствия источников синтеза. Такие аминокислоты получили название **незаменимых**. У взрослого человека их восемь: валин, лейцин, изолейцин, метионин, треонин, фенилаланин, триптофан, лизин. У детей к этому списку добавляются еще аргинин и гистидин. Полноценным белком в питании может быть тот, который содержит указанные аминокислоты в нужном количественном и качественном соотношении. Белки молока и яиц наиболее соответствуют требованиям полноценности и могут быть использованы в качестве своеобразных стандартов для оценки полноценности различных пищевых белков.

Нарушение белкового питания (полное или относительное голодание) приводит к усилению катаболизма тканевых белков, снижению количества белков плазмы крови, к дегенеративным изменениям печени, анемии, отекам и нарушениям психики. Особенно чувствительны к недостатку белков в питании дети.

Протеолиз в желудочно-кишечном тракте катализируется эндо- и экзопептидазами. Основным источником аминокислотного фонда – это белки, поступающие с пищей, и белки собственных тканей. Процесс высвобождения аминокислот из белков катализируется специальными ферментами, получившими название **пептидазы (протеазы)**. Эти ферменты синтезируются, как правило, в неактивной форме и активируются с помощью специальных ферментов или следовыми количествами самого фермента (а у т о к а т а л и з) в местах своего действия.

По действию на белковую молекулу пептидазы можно разделить на **эндопептидазы** (действуют на внутренние пептидные связи и разделяют белок на относительно большие пептиды) и **экзопептидазы** (катализируют гидролиз концевых аминокислот в пептидах). Следует отметить и довольно высокую специфичность пептидаз. Они избирательно действуют на пептидные связи, образованные определенными аминокислотами.

Пептидазы используются для модификации пространственной структуры белков, переводу белков в активные формы (ограниченный протеолиз), а также для полного гидролиза белка до аминокислот (тотальный протеолиз).

Цель протеолиза в желудочно-кишечном тракте (рис. 7.1) – разрушение белка до аминокислот. Протеолиз пищевых белков начинается в желудке, где действует фермент пепсин. Его действию способствует сильно кислая реакция желудочного сока, возникающая благодаря соляной кислоте, выделяемой клетками желудка. Соляная кислота создает мощный барьер для проникновения микроорганизмов (бактерицидное действие), активирует пепсиноген (предшественник пепсина), обеспечивает pH оптимум для работы пепсина (pH 1,5–2,0), регулирует работу пилорического отдела желудка, вызывает денатурацию белков пищи, способствуя тем самым лучшему их гидролизу. У детей первого года жизни в менее кислой среде (pH 3,5) работает другой фермент – гастриксин.

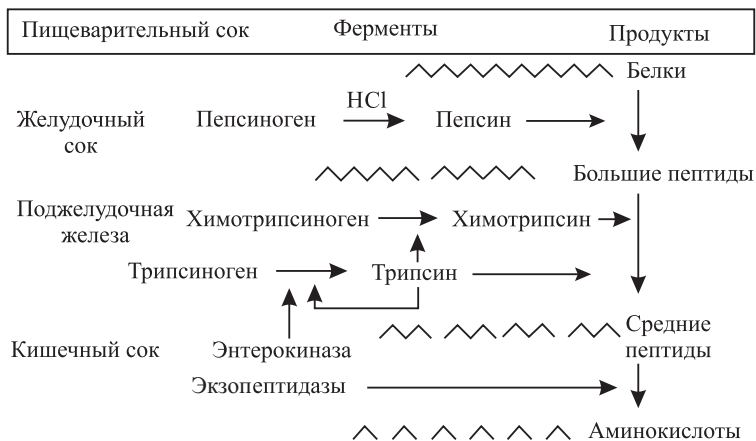


Рис. 7.1. Схема гидролиза белков в желудочно-кишечном тракте

В тонком кишечнике гидролиз белков катализируется ферментами поджелудочной железы (трипсин, химотрипсин и т.д.) Эти ферменты выделяются в форме неактивных предшественников и также активируются. В активировании трипсиногена участвует специальный фермент кишечника энтерокиназа, а химотрипсиноген и другие пептидазы кишечника активируются трипсином. Пепсин, трипсин, химотрипсин называют *эндопептидазами*, потому что гидролизуют белки на большие пептиды (табл. 7.1). В кишечном соке действуют и экзопептидазы, которые катализируют гидролиз концевых аминокислот (амино- и карбоксипептидазы). Белки в кишечнике гидролизуются до аминокислот, которые поступают в клетки кишечника с помощью специальных механизмов активного транспорта.

Кроме белков, поступающих с пищей, в кишечник попадает значительное количество белков в составе секретов слизистых оболочек. Эти белки также перевариваются. К таким белкам относятся альбумины, гликопротеины и мукопротеины. До 35 г белков поступает таким способом в кишечник. Некоторые из них выполняют защитные функции, функции других довольно специфичны. Например, в желудке синтезируется специальный белок, необходимый для всасывания витамина B_{12} . При прекращении секреции такого белка развивается недостаточность витамина.

Таблица 7.1. Специфичность протеиназ

Эндопептидазы	
Пепсин	Гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами дикарбоновых аминокислот, – асп и глут
Трипсин	Гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами основных аминокислот, – лиз и арг
Химотрипсин	Гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами ароматических аминокислот, – фен, тир, три
Эластаза	Гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами сравнительно небольших алифатических аминокислот, – гли, ала, сер
Экзопептидазы	
Карбоксипептидаза А	Отщепляет нейтральные аминокислоты от С-конца пептидов
Карбоксипептидаза В	Отщепляет основные аминокислоты от С-конца пептидов

Многие клетки желудочно-кишечного тракта синтезируют активные вещества, регулирующие процессы продвижения пищевых продуктов, всасывание продуктов переваривания, секрецию пищеварительных соков и т.д. *Гормоны желудочно-кишечного тракта* – это небольшие пептиды. Так, например, **гастрин** секретируется G-клетками желудка и двенадцатиперстной кишки. Он стимулирует секрецию пепсина и соляной кислоты клетками желудка. Секретин выделяется S-клетками двенадцатиперстной кишки, увеличивает секрецию поджелудочной железы, стимулирует желчеотделение, тормозит желудочную секрецию. Энтероглокагон подобен гастрину, но с менее выраженным эффектом. Вазоактивный кишечный пептид вырабатывается поджелудочной железой, стимулирует выделение желчи. Холецистокинин из двенадцатиперстной кишки активизирует работу желчного пузыря и выделение желчи. Соматостатин тормозит секрецию гормонов желудочно-кишечного тракта.

Некоторая часть белков и неусвоенных аминокислот в толстом кишечнике используется микрофлорой для своей жизнедеятельности. Этот процесс получил название **гниения белков**. Многие продукты обмена аминокислот микроорганизмами, т.е. продукты гниения, ядовиты для человека. К ним можно отнести сероводород, метан, аммиак, а также продукты

неполного разрушения радикалов ароматических аминокислот: фенол, индол, скатол, крезол и т.д. Часть этих продуктов попадает в кровь воротной вены и поступает в печень. Там они обезвреживаются путем присоединения глюкуроновой или серной кислоты, что повышает их растворимость в воде и способствует выведению из организма.

Аминокислотный фонд клетки – основной источник азота для синтеза азотсодержащих соединений клетки. Аминокислоты, поступающие из желудочно-кишечного тракта, являются важным источником пополнения аминокислотного фонда клеток и тканей. Проникновение в клетки аминокислот из кровотока осуществляется благодаря γ -глутамильному циклическому метаболическому пути. Главную роль в этой транспортной системе играет мембраносвязанный фермент γ -глутамилтрансфераза. Фермент катализирует перенос γ -глутамильной группы от глутатиона на транспортируемую аминокислоту. Затем комплекс γ -глутамил – аминокислота поступает в клетку. Далее с помощью еще пяти внутриклеточных ферментов происходит освобождение из дипептида свободной аминокислоты и ресинтез затраченной на транспорт молекулы глутатиона.

Ограниченное поступление даже одной из незаменимых аминокислот резко усиливает распад собственных белков тканей, который катализируется клеточными пептидазами – катепсинами. Они находятся, главным образом, в лизосомах.

Встречаются пептидазы и в других отделах клетки, где их активность сдерживается соответствующими ингибиторами.

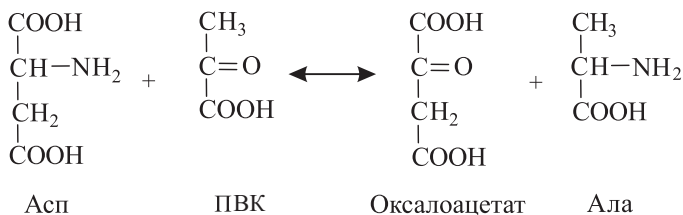
Клетки активно потребляют аминокислоты. Аминокислотный фонд используется для синтеза белков, пептидов, нуклеотидов, порфиринов и других биологически активных соединений. Часть аминокислот может включаться в общие метаболические пути и использоваться для синтеза углеводов, липидов, становиться источником энергии (табл. 7.2).

Примером специфического использования аминокислотного фонда может служить процесс образования креатина. Это соединение используется в фосфорилированном состоянии как важный резерв макроэргов в мышечных клетках, клетках центральной нервной системы, клетках крови. В синтезе креатина участвуют три аминокислоты. Это аргинин, глицин и метионин.

Таблица 7.2. Использование аминокислотного фонда

Аминокислота	Продукт	Значение продукта
Глицин	Пуриновые нуклеотиды Порфирины Креатин	Синтез нуклеиновых кислот Составная часть гемопroteинов (гемоглобин, цитохромы) Участие в образовании важного макроэрга в мышцах
Серин Метионин	Этаноламин Холин Ацетилхолин	Входит в состав сложных липидов Входит в состав сложных липидов Медиатор нейронов
Гистидин	Гистамин	Биогенный амин
Триптофан	Серотонин Никотинамид	Биогенный амин Витамин РР
Тирозин	Адреналин Норадреналин Тироксин Трииодтиронин Меланин	Гормоны надпочечников Гормоны щитовидной железы Пигмент кожи

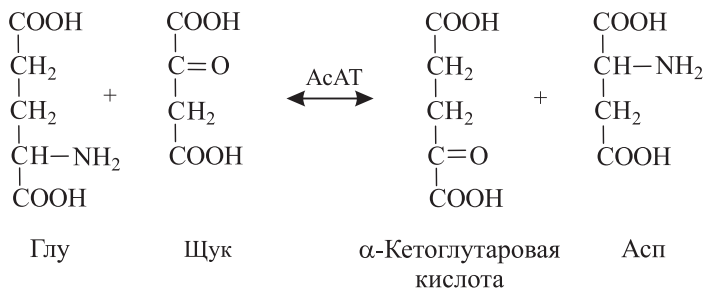
Общие пути обмена аминокислот. Среди общих путей обмена аминокислот наиболее важным является трансаминирование (переминирование):



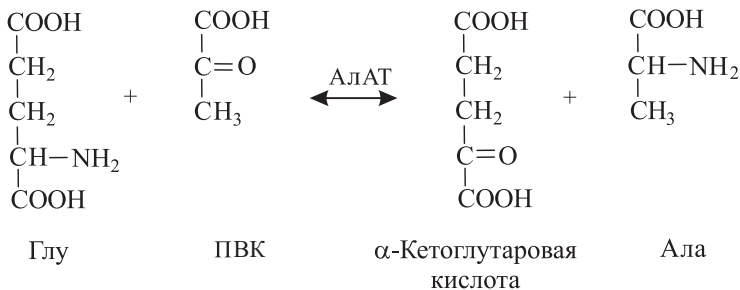
Переаминирование играет основную роль в процессах мочевинообразования, глюконеогенеза, путях образования новых аминокислот. Механизм реакции открыт в 1937 г. А.Е. Браунштейном и М.Г. Крицман. Это обратимый перенос аминогруппы с аминокислоты на кетокислоту без промежуточного образования аммиака. Ферменты, катализирующие процесс, назвали **аминотрансферазами**. Коферментом этих ферментов является пиридоксальфосфат (активная форма витамина В₆), который в ходе реакции превращается в пиридоксаминфосфат.

Аминотрансферазы участвуют в синтезе новых аминокислот из соответствующих α -кетокислот. В случае незаменимых аминокислот их синтез также возможен, если будут поступать с пищей кетокислоты: такие α -кетокислоты просто не образуются в процессе метаболизма в клетке. Аминотрансферазы участвуют в процессах превращения аминокислот в глюкозу. Продукты трансаминирования большинства аминокислот могут быть источником углеводородного скелета глюкозы, и только некоторые из аминокислот после переаминирования превращаются в кетоновые тела. **Переаминирование** — этап непрямого дезаминирования аминокислот в клетке.

В клинической практике широко используется определение активности двух аминотрансфераз. В диагностике инфаркта миокарда применяют определение активности аспартатаминотрансферазы (АсАТ):



Для диагностики и оценки эффективности лечения некоторых болезней печени используют определение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ):



Это связано с неравномерным распределением АсАТ и АлАТ в разных органах и тканях и даже в разных субклеточных фракциях (табл. 7.3).

Таблица 7.3. Относительное распределение активности ферментов АсАТ и АлАТ (в условных единицах)

Орган	АсАТ	АлАТ
Сердце	2870	163
Печень	3260	1910
Почки	580	112
Эритроциты	47	7
Плазма	58	16

Две трети всей активности АсАТ клетки приходится на митохондрии, а АлАТ – на цитоплазму. Поэтому при незначительных нарушениях функций клетки в кровь переходят цитозольные ферменты. При значительных повреждениях в кровь могут переходить митохондриальные ферменты.

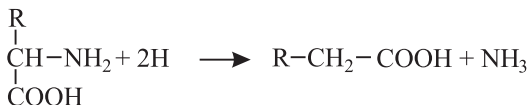
Ученые еще в 1954 г. обратили внимание на значение определения активности аминотрансфераз при инфаркте миокарда. Активность АсАТ повышалась через 2–6 ч после инфаркта, достигала максимума через 24–48 ч и затем в течении недели возвращалась к исходным значениям. Несомненно, ЭКГ – более эффективное средство диагностики, чем определение активности АсАТ, однако при диагностике повторных инфарктов, когда на ЭКГ видны изменения прежних инфарктов, определение активности АсАТ оказывает хорошую помощь в диагностике.

При остром поражении печени (вирусы, грибные яды, этанол) типичным является повышение активности АлАТ. При этом повышается активность и других ферментов (АсАТ, ЛДГ), однако коэффициент АсАТ/АлАТ будет меньше единицы. Активность АлАТ повышается к третьим суткам и при благоприятном прогнозе поддерживается на повышенном уровне в течение 30–40 дней. При поражении желчевыводительных путей активность АлАТ обычно повышается незначительно. При инфаркте миокарда активность АсАТ увеличивается более значительно и $\text{АсАТ/АлАТ} > 1$.

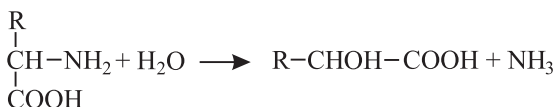
Образование аммиака – обязательный этап распада аминокислот. Вступление аминокислот в общие пути обмена

требует отщепления характерной для аминокислот аминогруппы. Реакции отщепления аминогруппы носят название **дезаминирования**. Существует несколько способов деаминарования.

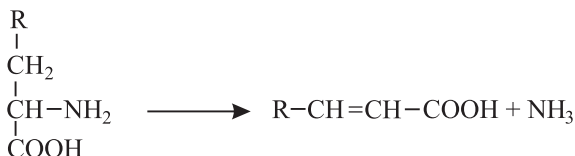
- Восстановительное деаминирование с образованием карбоновых кислот:



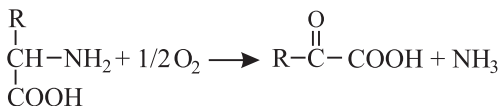
- Гидролитическое деаминирование с образованием гидроксикарбоновых кислот:



- Внутримолекулярное деаминирование с образованием ненасыщенных кислот:

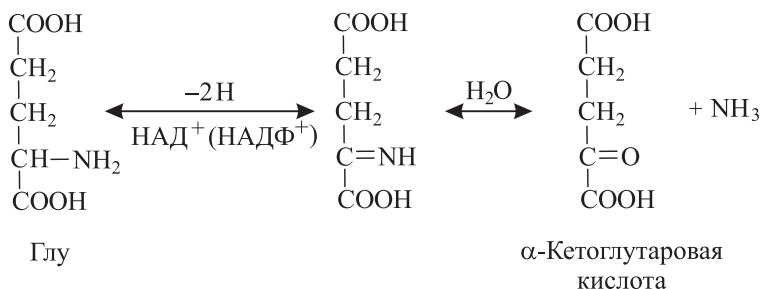


- Окислительное деаминирование с образованием кетокислот:



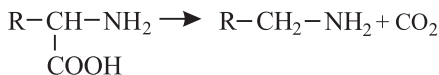
Такие реакции относят в группу реакций прямого деаминарования. Наиболее важную роль среди этой группы реакций у человека играет окислительное деаминирование. Ферменты, которые катализируют такие реакции, получили название **оксидазы** (коферменты ФМН и ФАД) или **дегидрогеназы** (коферменты НАД⁺ или НАДФ⁺).

Реакция окислительного дезаминирования протекает в два этапа. На первом этапе после потери атомов водорода аминокислота превращается в иминокислоту, а затем под влиянием воды идет образование аммиака, и иминокислота превращается в соответствующую кетокислоту:

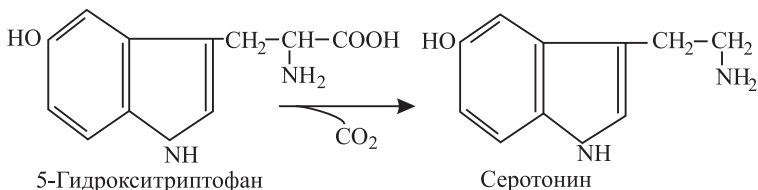


Реакции, катализируемые оксидазами в клетке, протекают медленно, а наибольшей активностью обладает фермент глутаматдегидрогеназа. Роль глутаматдегидрогеназы довольно велика в обмене аминокислот. Это связано, во-первых, с тем, что α -кетоглутаровая кислота как продукт реакции, катализируемой глутаматдегидрогеназой, является хорошим субстратом в реакциях трансаминирования, что позволяет ей отнимать аминогруппу от других аминокислот. Такое сочетание трансаминирования аминокислот с участием α -кетоглутаровой кислоты с последующим дезаминированием глутаминовой получило название **непрямого дезаминирования**. Во-вторых, глутаматдегидрогеназная реакция обратима и это позволяет использовать ее для синтеза новых аминокислот. Путь, обратный окислительному дезаминированию, называется **восстановительным аминированием**. В третьих, благодаря способности глутаматдегидрогеназы использовать НАД^+ и НАДФ^+ в окисленной и восстановленной формах этот фермент выполняет функцию переносчика восстановительных эквивалентов между системами НАД^+ - и НАДФ^+ -зависимых дегидрогеназ (трансдегидрогеназная реакция).

Декарбоксилирование аминокислот приводит к образованию биологически активных соединений. При декарбоксилировании аминокислоты превращаются в амины. Коферментом декарбоксилаз является активная форма витамина B_6 :

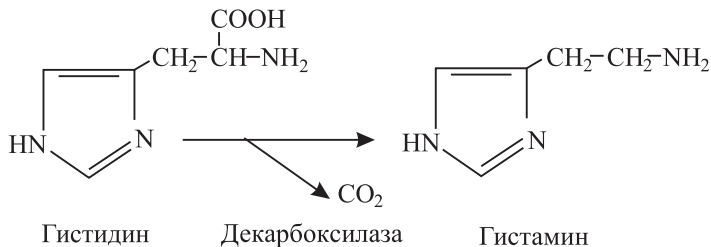


При декарбоксилировании триптофана образуется триптамин, а при декарбоксилировании 5-гидрокситриптофана – серотонин:



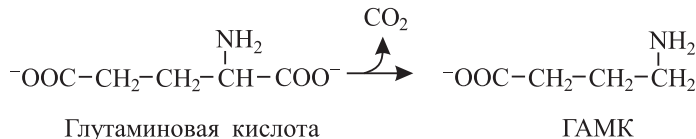
Триптамин обладает сосудосуживающими свойствами, а серотонин выполняет роль нейромедиатора – стимулирует сокращение гладкой мускулатуры, обладает радиопротекторным действием, влияет на поведение человека, активизирует выброс гормонов мозгового вещества надпочечников. В эпифизе после ацетилирования и метилирования серотонин может превращаться в мелатонин.

При декарбоксилировании гистидина образуется гистамин:



Гистамин выполняет роль нейромедиатора: повышает тонус органов с гладкой мускулатурой, стимулирует секрецию всех пищеварительных желез, обладает антидиуретическим действием, стимулируя секрецию вазопрессина и т.д.

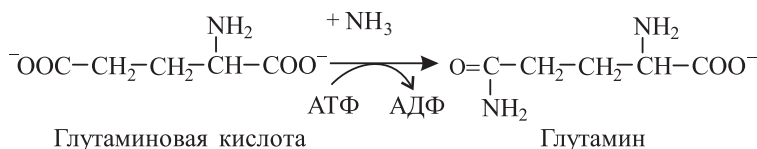
При декарбоксилировании глутаминовой кислоты образуется γ -аминомасляная кислота (ГАМК):



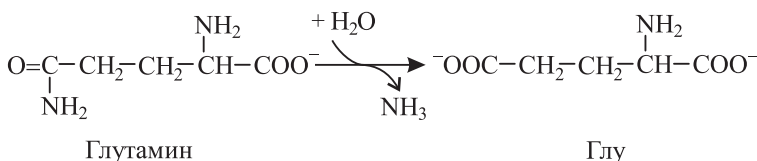
Основная роль ГАМК состоит в торможении проведения нервных импульсов (медиатор тормозных нейронов), влиянии на функциональное состояние мембран клеток.

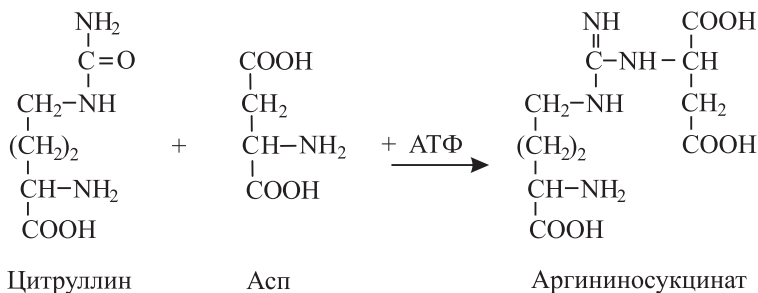
Разрушение аминов происходит путем их окислительного дезаминирования под влиянием моноаминоксидаз (МАО) и диаминоксидаз (ДАО). Изменение активности этих ферментов с помощью специфических ингибиторов широко применяется в медицинской практике при лечении аллергических заболеваний, расстройств психики и т.д.

Аммиак подлежит обезвреживанию в организме. Образующийся в процессе дезаминирования аммиак используется в небольших количествах в процессе внутриклеточного метаболизма. Основная масса аммиака должна быть выведена из организма, так как попадание аммиака в кровь оказывает токсическое действие. Особенно чувствительны к действию аммиака нервные клетки. Поэтому в каждой клетке, и особенно в нейронах, должны быть *защитные реакции* по обезвреживанию аммиака. Одной из таких реакций является восстановительное аминирование с участием α -кетоглутаровой кислоты, катализируемое глутаматдегидрогеназой. Вторая реакция локального обезвреживания аммиака – это синтез амидов глутаминовой кислоты (глутамина) и аспарагиновой кислоты (аспарагина):

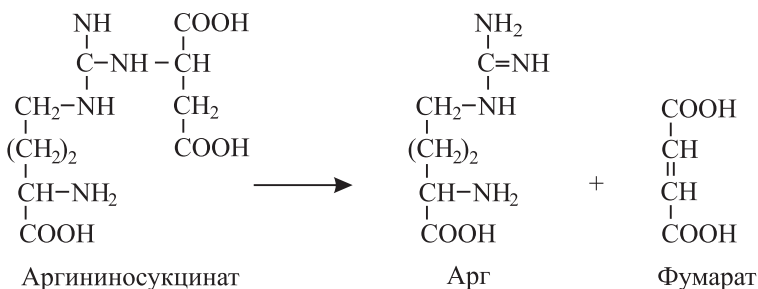


Глутамин в организме животных выполняет и роль транспортной формы аммиака. Попадая в печень или почки, глутамин распадается при участии глутаминазы, высвобождая аммиак, который в печени используется для синтеза мочевины, а в почках секретируется в виде ионов аммония (NH_4^+) при образовании мочи:

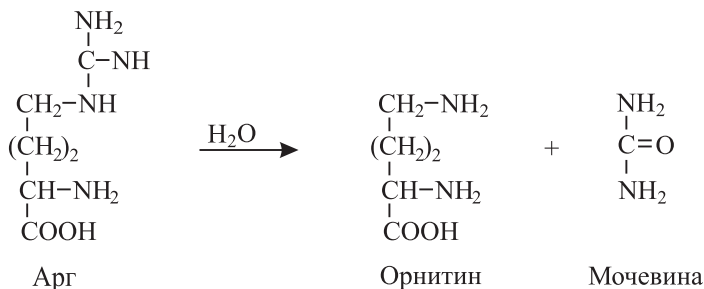




Аргининоянтарная кислота распадается на аргинин и янтарную кислоту при участии аргининосукцинатазы:



Аргинин становится источником мочевины, после отщепления которой с помощью аргиназы вновь возникает орнитин, замыкая циклический процесс образования мочевины:



В крови у здорового человека 2,5–8,3 ммоль/л мочевины, а с мочой выделяется до 25–30 г мочевины в сутки. Мочевина – составная часть остаточного азота крови. Так называют группу азотсодержащих продуктов, которые обнаруживаются

после осаждения белков крови. Кроме мочевины, составляющей 50% всего остаточного азота, к этой группе относятся аминокислоты (25%), креатин (5%), креатинин (2,5%), мочева кислота (4%) и т.д. Содержание остаточного азота возрастает за счет мочевины у больных почечной недостаточностью. При печеночной недостаточности содержание остаточного азота также возрастает, но уже за счет аминокислот и аммиака.

При повышении концентрации плохо растворимых в воде аминокислот (цистеин, тирозин) они могут кристаллизироваться в моче, и их можно обнаружить в осадках мочи по характерной форме кристаллов. С другой стороны, нарушения функции почек сопровождаются большими потерями белков (протеинурия) или снижением реабсорбции отдельных аминокислот (аминоацидурия).

Регуляция использования аминокислот клетками. Участие аминокислот в метаболизме регулируется нейро-гуморальным путем. Гормоны коры надпочечников, щитовидной железы, женские половые гормоны ускоряют распад мышечных белков и повышают поступление аминокислот в аминокислотный фонд клеток, что в свою очередь приводит к усилению мочевинообразования. Противоположный эффект на указанные процессы оказывают инсулин, гормон роста, мужские половые гормоны. Правда, такой эффект проявляется лишь при достаточном поступлении аминокислот с пищей. Увеличение мышечной массы наблюдается при применении структурных аналогов мужских половых гормонов, известных под названием **анаболических стероидов**.

Эндокринные нарушения могут приводить к изменению соотношения между ана- и катаболизмом белков. Особенно ярко это проявляется при сахарном диабете, нарушениях функций надпочечников или щитовидной железы.

Энзимопатии обмена аминокислот. Нарушения метаболизма аминокислот относятся к весьма распространенным видам врожденных дефектов метаболизма, хотя они и не всегда угрожают жизни больного. Сюда входят и ряд состояний, сопровождающихся нарушениями умственного развития — из приблизительно 40 описанных врожденных дефектов, имеющих такие клинические проявления, 24 относятся к дефектам метаболизма аминокислот. Большинство из этих состояний можно более или менее успешно купировать при своевременном проведении правильного комплекса лечебных мероприятий. Поэтому на практике очень большое внимание уделяют диагностике таких метаболических дефектов.

Фенилкетонурия. Основное количество фенилаланина расходуется по двум путям – включается в синтезирующиеся белки или превращается в тирозин (рис. 7.2). Превращение фен в тир прежде всего необходимо для удаления избытка фен, так как его высокие концентрации токсичны для клеток. Эта реакция катализируется фенилаланингидроксилазой, коферментом которой является тетрагидробиоптерин. Реакция необратима, и в ее процессе тетрагидробиоптерин окисляется в дигидробиоптерин. Регенерация последнего происходит при участии дигидробиоптеринредуктазы с использованием НАДФН · H⁺.

В печени здоровых людей небольшая часть фен (< 10%) превращается в фениллактат и фенилацетилглутамин (рис. 7.3). Этот путь катаболизма фен становится доминирующим при нарушении основного пути превращения в тир, катализируемого фенилаланингидроксилазой. Такое нарушение сопровождается гиперфенилаланинемией, повышением в крови и моче содержания метаболитов альтернативного пути: фенилпирувата, фенилацетата, фениллактата и фенилглутамина. Это заболевание получило название **фенилкетонурия**. Выделяют несколько форм фенилкетонурии:

- классическая фенилкетонурия (гиперфенилаланинемия I типа) – возникает в результате недостаточности фенилаланингидроксилазы;

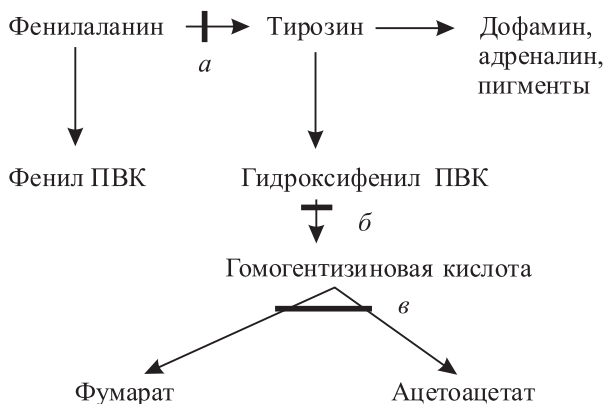


Рис. 7.2. Места несостоятельного катаболизма фенилаланина вследствие врожденных дефектов образования ферментов:

а – дефект фенилаланин гидроксилазы – причина фенилкетонурии; *б* – дефект п-гидроксифенилпируватдиоксигеназы – причина тирозинемии новорожденных; *в* – дефект диоксигеназы гомогентизиновой кислоты – причина алкаптонурии

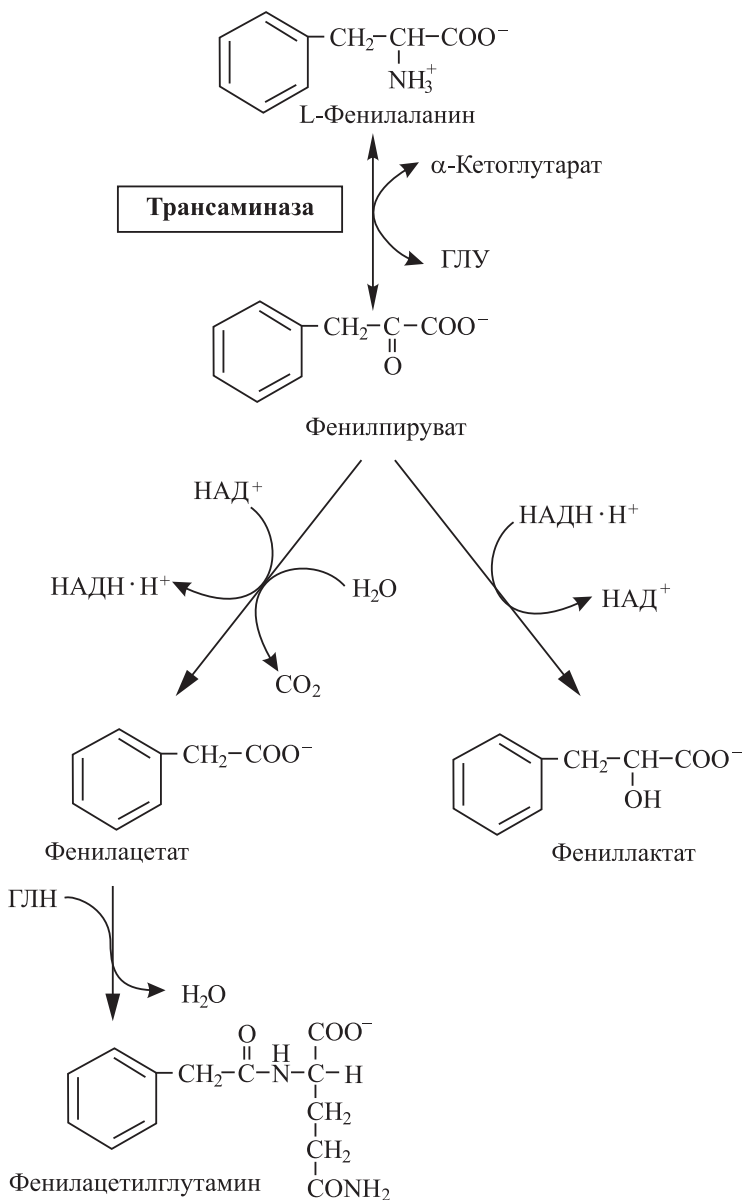


Рис. 7.3. Образование катаболитов альтернативного пути метаболизма фенилаланина

- гиперфенилаланинемия II и III типов – возникает в результате недостаточности дигидробиоптеринредуктазы;
- гиперфенилаланинемия IV и V типов – возникает в результате нарушения синтеза дигидробиоптерина.

В некоторых источниках вторую и третью формы еще называют вариантной фенилкетонурией.

Классическая фенилкетонурия – наследственное заболевание, обусловленное мутациями в гене фенилаланингидроксилазы, которые приводят к снижению активности или полной инактивации этого фермента. При этом концентрация фен в крови повышается в 20–30 раз (в норме 1–2 мг%), в моче – в 100–300 раз по сравнению с нормой (30 мг%). Содержание фенилпирувата и фениллактата в моче достигает 300–600 мг% при полном их отсутствии в норме. Ранние симптомы болезни – повышенная возбудимость, гиперреактивность, экземопоподобная сыпь. В последующем формируются нарушения умственного и физического развития, судорожный синдром. При отсутствии лечения больные не доживают до 30 лет. Частота заболевания – 1 : 10 000 новорожденных, оно наследуется по аутосомно-рецессивному типу.

Тяжелые симптомы ФКУ обусловлены токсическим действием на клетки головного мозга высоких концентраций фенилаланина, фенилпирувата, фениллактата. Большие концентрации фен лимитируют транспорт тир и трп через гематоэнцефалический барьер и тормозят синтез некоторых нейромедиаторов – дофамина, норадреналина, серотонина. Прогрессирующее нарушение умственного и физического развития у детей с ФКУ можно предотвратить диетой с очень низким содержанием или полным исключением фен. Если такое лечение начать сразу после рождения ребенка, то повреждение мозга предотвращается.

Считается, что ограничения в питании могут быть ослаблены после 10-летнего возраста, когда в основном заканчиваются процессы миелинизации. Однако в последнее время многие педиатры склоняются в сторону «пожизненной диеты» при ФКУ. *Вариантная фенилкетонурия* является следствием мутаций в генах, контролирующих метаболизм тетрагидробиоптерина. Последний необходим для реакций гидроксилирования не только фен, но также тир и триптофана, поэтому при недостатке этого кофермента нарушается метаболизм всех трех аминокислот, в том числе и синтез нейромедиаторов. Клинические проявления – близкие, но не полностью, совпадающие с классической фенилкетонурией. Заболе-

вание характеризуется тяжелыми неврологическими нарушениями и ранней смертью.

Для диагностики фенилкетонурии используют методы качественного и количественного анализа патологических метаболитов в моче, определение концентрации фен в крови и моче. Дефектный ген, ответственный за развитие фенилкетонурии, можно обнаружить у фенотипически нормальных гетерозиготных носителей с помощью теста толерантности к фен. Для этого обследуемому натошак дают 10 г фен в виде раствора и каждый час определяют содержание тир в крови. В норме концентрация тир в крови после фенилаланиновой нагрузки значительно выше, чем у гетерозиготных носителей гена фенилкетонурии. Данный тест используется в генетической консультации для определения риска рождения больного ребенка. Разработана схема скрининга для выявления новорожденных детей с фенилкетонурией. Чувствительность теста практически достигает 100%. В настоящее время диагностику мутантного гена, ответственного за развитие фенилкетонурии, проводят с помощью методов ДНК-диагностики: рестрикционного анализа и полимеразной цепной реакции.

Нарушение метаболизма тирозина. Обмен тир значительно многообразнее, чем обмен фен. Кроме использования в синтезе белков тир в разных тканях выступает предшественником таких соединений, как катехоламины, тироксин, меланины, и катаболизируется до CO_2 и H_2O . Нарушение этих путей метаболизма тир приводит к возникновению ряда заболеваний.

Тирозинемия I типа (тирозиноз). Причиной этого заболевания является, вероятно, дефект фермента фумарилацетатгидроксилазы, катализирующего расщепление фумарил-ацетоацетата на фумарат и ацетоацетат. Накапливающиеся метаболиты снижают активность некоторых ферментов и транспортных систем аминокислот. Известны острая и хроническая формы тирозиноза. Острая форма характерна для новорожденных, ее признаками являются понос, рвота, задержка в развитии. Если не проводить лечение, летальный исход наступает в возрасте 6–8 мес. из-за печеночной недостаточности. Хроническая тирозинемия характеризуется сходными, но менее выраженными симптомами. Летальный исход наступает в возрасте примерно 10 лет. Содержание тирозина в крови у больных в несколько раз превышает норму, повышено содержание и некоторых других аминокислот, особенно метионина. Для лечения используют диету с пониженным содержанием тир, фен, а в ряде случаев и метионина.

Тирозинемия II типа (синдром Рихнера – Ханхорта). Является следствием недостаточности тирозинтрансаминазы печени. Клинические проявления включают повышение содержания тирозина в крови, характерные поражения глаз и кожи, умеренную умственную отсталость. Отмечаются также случаи членовредительства, аутоагрессии, нарушения тонкой координации движений. В моче повышена концентрация тирозина.

Тирозинемия новорожденных. Заболевание возникает в результате снижения активности фермента п-гидроксифенилпируват атдиоксигеназы, превращающего п-гидроксифенилпируват в гомогентизиновую кислоту. В результате этого в крови повышено содержание тир, фен, п-гидроксифенилацетата, а в моче – тир, тирамина, п-гидроксифенилацетата и N-ацетилтирозина. При лечении назначают бедную белком диету и витамин С.

Алкаптонурия. Это наследственное метаболическое нарушение, описанное в медицинской литературе еще в XVI в. Болезнь представляет определенный исторический интерес, поскольку именно на основе ее изучения Гаррод выдвинул идею о наследственных метаболических нарушениях. Причиной болезни является дефект диоксигеназы гомогентизиновой кислоты. Для этого заболевания характерно выделение с мочой большого количества гомогентизиновой кислоты, которая, окисляясь кислородом воздуха, образует темные пигменты алкаптоны. Клиническими проявлениями болезни кроме потемнения мочи на воздухе, является пигментация соединительной ткани (охроноз) и артрит. Частота алкаптонурии – 2–5 случаев на 1 млн новорожденных. Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Диагностических методов выявления гетерозиготных носителей дефектного гена к настоящему времени не разработано.

Альбинизм. Понятие «альбинизм» охватывает целый спектр клинических синдромов, характеризующихся гипомеланозом, который возникает вследствие наследственных нарушений в пигментных клетках (меланоцитах) глаз и кожи. Причина метаболического нарушения – врожденный дефект тирозиназы. Этот фермент катализирует превращение тир в диоксифенилаланин в меланоцитах. В результате дефекта тирозиназы нарушается синтез пигментов меланинов. Клиническим симптомом, общим для всех 10 форм альбинизма глаз и кожи у человека, является пониженная пигментация глаз и кожи. Различия между формами устанавливаются на основе клинических, биохимических, ультраструктурных и генетических характеристик.

У пациентов с альбинизмом, отрицательным по тирозиназе, полностью отсутствует зрительный пигмент. Волосыные луко-

вицы этих людей не способны превращать тирозин в пигмент, а их меланоциты содержат непигментированные меланосомы. У пациентов с альбинизмом, положительным по тирозиназе, имеется небольшое количество зрительного пигмента. Волосы в этом случае могут принимать различные оттенки. Меланоциты волосяных луковиц содержат слабо пигментированные меланосомы, способные превращать Тир в пигмент. Альбинизм наследуется по аутосомно-рецессивному типу. У больных часто снижена острота зрения, возникает светобоязнь.

Некоторые примеры патологических состояний, вызванных дефектом ферментов, катализирующих метаболизм других аминокислот. Гистидинемия обусловлена дефектом гистидазы, катализирующей первую реакцию в цепи превращений гистидина в 5-форминотетрагидрофолиевую кислоту. Заболевание диагностируется к концу первого года жизни или позднее: дефект речи, связанный с нарушением слуховой памяти, в части случаев – снижение интеллекта. Для постановки диагноза необходимо выявить гистидинурию и количественно определить гистидин в крови: норма – 4–10 мг/л, у больных – от 20 до 270 мг/л.

Гомоцистинурия – связана с дефектом фермента цистатионин-β-синтетазы. Клинические симптомы проявляются после 3–10 лет жизни: остеопороз, искривление голени, в половине случаев наблюдается умственная отсталость, в 10–15% – судороги. Гомоцистеин – продукт, лежащий на перекрестке всех превращений метионина. В частности, он может соединяться с серином, образуя цистатионин, или подвергаться реметилированию с превращением в метионин. Дефект цистатионин-β-синтетазы блокирует синтез цистатионина и сопровождается усиленным превращением метионина в гомоцистин. Гомоцистин в избытке тормозит образование нормальных поперечных сшивок в коллагене, блокируя активные группы лизина и оксилизина, участвующие в образовании поперечных сшивок. Лабораторный признак заболевания – повышение уровня гомоцистина в крови и обнаружение его в моче.

Стойкая гиперлизинемия связана со значительным снижением активности лизин-α-кетоглутаратредуктазы, катализирующей соединение лизина с α-кетоглутаровой кислотой (образование сахаропина) и редукцию сахаропина (образование аминокислоты). В типичных случаях наблюдается: глубокая задержка умственного развития, аутизм, необычное лицо, сросшиеся брови, низкорослость, глухота, судороги. Основной биохимический признак – гиперлизинемия без гипераммониемии.

ГЛАВА 8

ХИМИЯ И ОБМЕН НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ, БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

Краткое содержание главы

Состав нуклеопротеинов. Нуклеопротеины относятся к сложным белкам. Небелковая группа в них представлена нуклеиновыми кислотами. Различают дезоксирибонуклеопротеины (ДНП) и рибонуклеопротеины (РНП).

Мононуклеотиды – структурный элемент нуклеиновых кислот, состоящий из азотистых оснований (пуриновых или пиримидиновых), пентозы (дезоксирибозы или рибозы) и остатка фосфорной кислоты.

Функции мононуклеотидов: а) элементарные единицы структуры нуклеиновых кислот; б) субстраты для синтеза нуклеиновых кислот; в) активаторы и переносчики мономеров в синтезе углеводов и липидов; г) посредники в механизмах передачи сигналов внутри клеток (циклические мононуклеотиды).

Пространственная структура нуклеиновых кислот представлена несколькими уровнями организации: первичная (последовательность нуклеотидов); вторичная (образование спиральных структур по правилам комплементарности); третичная (формирование структур с участием белков – нуклеосомы, рибосомы, информосомы).

Метод рекомбинантных ДНК позволяет получать «гибридные» молекулы ДНК, состоящие из комплементарных участков цепей ДНК, выделенных из разных источников.

Рибосомы – субклеточная частица, представляющая собой рибонуклеопротеин. Построена из двух субъединиц, каждая из которых в свою очередь состоит из набора белковых молекул и рибосомных РНК разных типов. Рибосомы прокариотов и эукариотов различаются по строению. Участвуют в механизмах трансляции.

Ферменты в исследовании структуры нуклеиновых кислот нашли широкое применение. Особое место в этих исследованиях занимают рестриктазы и ДНК полимеразы.

Распад и синтез нуклеиновых кислот происходит во всех клетках. РНП и ДНП (пищи и клеток) распадаются при участии нуклеаз и протеаз. Образующиеся мононуклеотиды превращаются в соединения, которые или могут повторно использоваться (нуклеозиды, азотистые основания), или удаляются из организма в виде мочевой кислоты (пурины) или аминокислот и мочевины (пиримидины). Синтез новых мононуклеотидов происходит из аминокислот, рибозы, одноуглеродных фрагментов.

Этапы процессинга мРНК. мРНК – полная комплементарная копия гена подвергается модификациям, приводящим к образованию активной мРНК. С этой целью удаляются копии интронов (некодирующих участков ДНК), достраиваются 5'-конец (присоединение 7-метилгуанозина), 3'-конец (присоединение полиаденилового нуклеотида), метилируются отдельные азотистые основания.

Свойства генетического кода: триплетность, вырожденность, специфичность, непрерывность и неперекрываемость, отсутствие знаков препинания.

Синтез белковой молекулы включает активирование аминокислоты и собственно синтез (трансляция). В активировании участвуют тРНК, аминоацил-тРНК-синтетаза и АТФ. Результат их взаимодействия – аминоацил-тРНК. В трансляции выделяют инициацию (образование транслирующего комплекса, состоящего из рибосомы, мРНК, факторов инициации, иницирующей аминоацил-тРНК), элонгацию (образование пептидной цепи путем перемещения рибосомы по иРНК) и терминацию (завершение образования полипептидной цепи).

Клинико-лабораторное значение. Знание строения нуклеиновых кислот позволяет понять механизмы передачи и реализации генетической информации в клетке, овладеть основами понимания причин наследственных заболеваний. Знание механизмов распада и синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, регуляции этих процессов позволило разработать и применить лекарственные препараты, влияющие на процессы деления клеток (например, антифолатов в химиотерапии опухолей), и способствует пониманию механизмов действия препаратов, используемых в коррекции гипознергетических состояний органов (ИМФ (рибоксин), оротат калия и др.).

Функция и строение нуклеиновых кислот. Через 70 лет со времени открытия Ф. Мишером (1868) вещества из ядер кле-

ток, которое он назвал *нуклеином*, стала понятной роль этого вещества как носителя наследственных свойств живых организмов. С конца 50-х гг. XX в. представления о строении и роли нуклеопротеинов выросли настолько, что было создано несколько направлений биологической науки: молекулярная биология, биотехнология, молекулярная генетика и т.д. Стали понятны причины многих болезней, сделаны первые шаги в исправлении генетических дефектов, изучаются механизмы деления клеток, ведется поиск средств лечения опухолей.

Как полисахариды и белки нуклеиновые кислоты состоят из мономеров. Их мономерами являются моонуклеотиды, которые, соединяясь друг с другом, формируют цепи олиго- и полинуклеотидов. К полинуклеотидам относятся и нуклеиновые кислоты.

Большая часть нуклеиновых кислот связана с белками и образует нуклеопротеины, которые расположены в разных частях клетки (рис. 8.1).

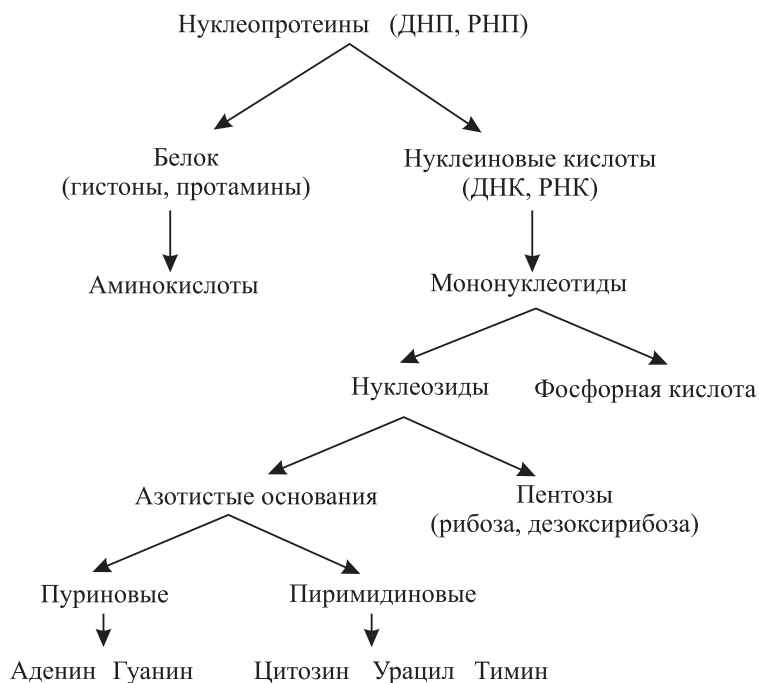
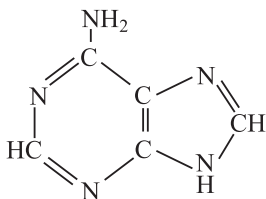


Рис. 8.1. Иерархическая схема строения нуклеопротеинов

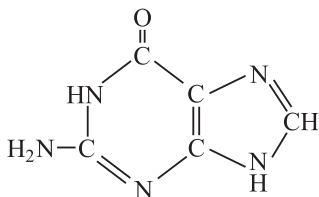
Дезоксирибонуклеопротеины (ДНП) сосредоточены главным образом в ядре клетки и в очень небольших количествах встречаются в цитозоле и митохондриях, а рибонуклеопротеины (РНП) выполняют свои функции главным образом в цитозоле. Динуклеотиды (НАД⁺, ФАД) участвуют в реакциях переноса водорода в системах ферментов тканевого дыхания. Мононуклеотиды кроме участия в образовании нуклеиновых кислот являются участниками обмена энергии в клетке, посредниками в действии гормонов на клетки.

Мономер нуклеиновых кислот – *мононуклеотид*. Мононуклеотид состоит из молекулы азотистого основания, пентозы и остатка фосфорной кислоты. Пентозами мононуклеотидов служат рибоза и дезоксирибоза, поэтому различают рибонуклеотиды и дезоксирибонуклеотиды.

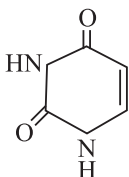
Азотистые основания – это гетероциклические соединения с основными свойствами. В состав нуклеиновых кислот входят основания пуринового (аденин и гуанин) и пиримидинового (урацил, цитозин, тимин) ряда (рис. 8.2). Соединение основания и пентозы носит название *нуклеозид*.



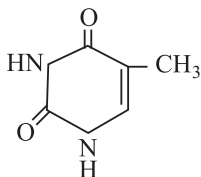
Аденин (А)
6-Аминопурин



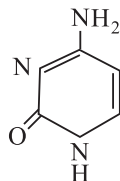
Гуанин (Г)
2-Амино-6-оксо-пурин



Урацил (У)
2,4-Диоксопиримидин



Тимин (Т)
5-Метилурацил



Цитозин (Ц)
2-Оксо-4-аминопиримидин

Рис. 8.2. Главные азотистые основания

Остаток фосфорной кислоты присоединяется в моонуклеотиде к гидроксильным группам пентозы. Углеродные атомы пентозы обозначаются цифрами со штрихом в отличие от обозначений атомов основания. К одному атому пентозы может присоединяться от одного до трех остатков фосфорной кислоты.

Название *моонуклеотида* состоит из названия нуклеозида, указания места присоединения и количества остатков фосфорной кислоты.

Название *рибонуклеозидов* пуринового ряда имеет характерное окончание «-озин», а пиримидинового ряда «-идин».

В названии *моонуклеотидов, содержащих дезоксирибозу*, используется дополнительная приставка «дезокси-».

Например, нуклеозид, состоящий из аденина и рибозы, называют *аденозином*. Если к этому нуклеозиду присоединить остаток фосфорной кислоты в положении 5', то такой моонуклеотид будет называться аденозин-5'-монофосфорная кислота или аденозин-5'-монофосфат (АМФ). Если к тому же атому пентозы присоединить еще один остаток фосфорной кислоты, то образуется аденозин-5'-дифосфорная кислота, или аденозиндифосфат (АДФ), и, наконец, добавление третьего остатка приведет к образованию аденозин-5'-трифосфорной кислоты, или аденозинтрифосфата (АТФ) (рис. 8.3).

Остатки фосфорной кислоты обозначаются соответственно α , β и γ . Введение β -остатка и γ -остатка повышает свободную энергию реакции гидролиза таких соединений до 50 кДж/моль. Это количество энергии сохраняется в нуклеозидтрифосфатах и может быть использовано для проведения **с о п р я ж е н н ы х** **х и м и ч е с к и х** **р е а к ц и й**, потребляющих энергию в клетке. Соединения, в которых изменения свободной энергии реакции гидролиза превышают значения 40 кДж/моль, получили название *макроэргов*. Макроэргические связи в таких соединениях обозначаются значком «~».

Моонуклеотиды выполняют специфические функции:

- субстраты для синтеза нуклеиновых кислот и нуклеотидных коферментов;
- участвуют в реакциях запасаения и использования энергии (АТФ, ГТФ, УТФ и т.д.);
- используются для образования активных форм углеводов (УДФ-глюкозы, ГДФ-маннозы), азотистых оснований (ЦДФ-холина), сульфата (ФАФС) и метионина (SAM).

Циклические моонуклеотиды. При образовании еще одной фосфоэфирной связи между гидроксильной группой 3'

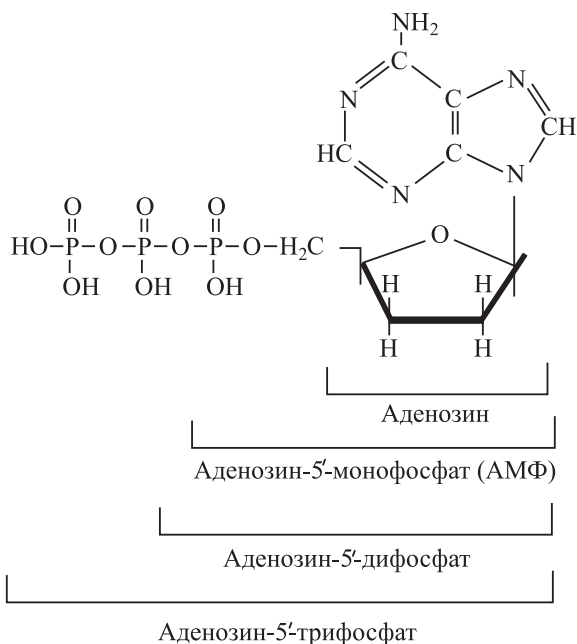


Рис. 8.3. Структура нуклеозида (аденозина) и нуклеотида (аденозин-5'-трифосфата)

углеродного атома рибозы и ОН группой фосфорной кислоты обычного аденозинмонофосфата образуется циклический моонуклеотид. Циклическим его называют потому, что остаток фосфата замыкает кольцо между 3'- и 5'-атомами углерода одной и той же пентозы. Такие моонуклеотиды обозначают буквой «ц» (цАМФ, цГМФ). Циклические моонуклеотиды образуются с помощью специальных ферментов нуклеотидциклаз из соответствующих нуклеозидтрифосфатов. Эти нуклеотиды выполняют роль внутриклеточных посредников в действии гормонов на клетку.

Дидезоксинуклеотиды нашли широкое использование в исследовании первичной структуры ДНК. В состав таких моонуклеотидов вместо обычной дезоксирибозы (2-дезоксирибозы) входит 2,3-дидезоксирибоза. При использовании дидезоксирибонуклеозидтрифосфатов в искусственной системе синтеза ДНК они останавливают ее синтез.

Кофермент А (коэнзим А) (рис. 8.4). Коэнзим А – это своеобразный тиаминоспирт, образующий эфиры с карбоновыми

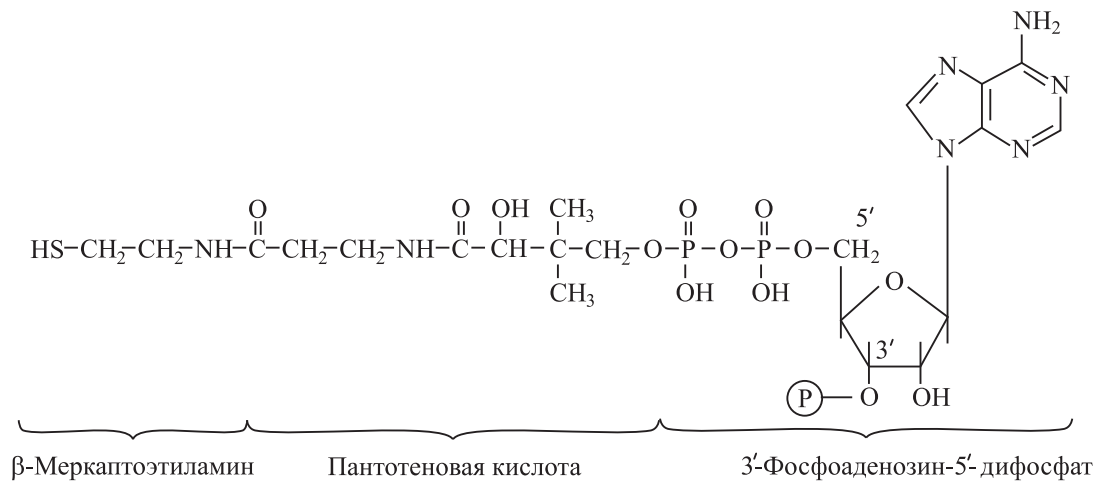


Рис. 8.4. Структура кофермента А

кислотами. Образование таких эфиров – один из важнейших типов реакций метаболизма. Его можно рассматривать как производное АМФ, в котором фосфат присоединен в 3'-положении.

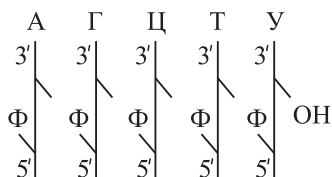
Никотинамидсодержащие и флавиновые нуклеотиды. В процессах окисления в клетке особое место принадлежит переносчикам атомов водорода. Эту роль успешно выполняют нуклеотиды, в состав которых входят азотистые основания: производные пиридина (никотинамид) и изоаллоксазина (флавин): НАД⁺, НАДФ⁺, ФМН, ФАД. Все указанные соединения являются коферментами и выполняют роль промежуточных переносчиков водорода в цепях переноса протонов и электронов клеток.

Нуклеиновые кислоты – это полинуклеотиды. При соединении мононуклеотидов с помощью фосфодиэфирной связи между 3'-углеродным атомом пентозы одного нуклеотида и 5'-углеродным атомом пентозы другого образуются полинуклеотиды. Их молекулярная масса может достигать десятков миллионов.

Молекулы полинуклеотидов имеют нитевидную структуру. В основе этих нитей лежит однообразно повторяющаяся последовательность из пентозы и остатка фосфорной кислоты, а основания, подобно радикалам аминокислот в полипептиде, находятся на внешней части цепей, где и выполняют основные свои функции. Как и у белков, последовательность чередования мононуклеотидов в молекуле называют **первичной структурой полинуклеотида** (нуклеиновой кислоты) (рис. 8.5).

В зависимости от вида пентозы и типа пиримидиновых оснований различают два типа нуклеиновых кислот: рибонуклеиновая кислота и дезоксирибонуклеиновая кислота (табл. 8.1). Кроме главных азотистых оснований (см. рис. 8.2) в составе ДНК обнаружены так называемые минорные азотистые основания. Это метилированные производные главных азотистых оснований, например 5-метилцитозин, 6-метиладенин. и т.д. Метилированные основания выполняют защитную функцию, предохраняя молекулы нуклеиновых кислот от разрушения ферментами.

Пространственная структура дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Общие представления о пространственной организации молекул полинуклеотидных цепей в молекуле ДНК (вторичная структура) были разработаны к 1953 г. Дж. Уотсоном и Ф. Криком. Они предложили модель вторичной



5'-конец

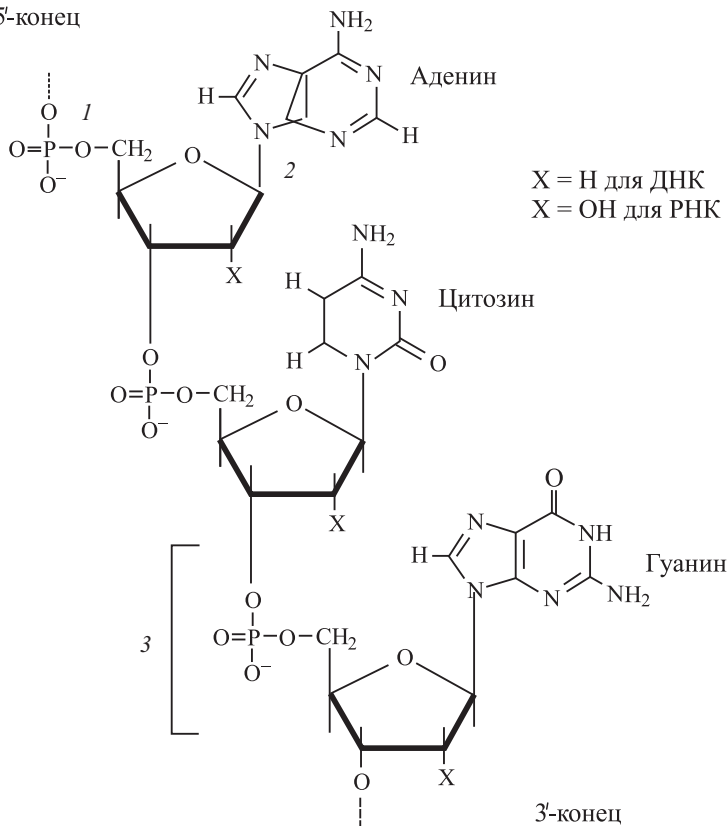


Рис. 8.5. Первичная структура участка молекулы нуклеиновых кислот: 1 – 5'-фосфоэфирная; 2 – N-гликозидная; 3 – 3', 5'-фосфодиэфирная

структуры ДНК, образно названную двойной спиралью. На уровне вторичной структуры молекула ДНК представляет

двухнитевую спираль, образованную полинуклеотидными цепями, расположенными антипараллельно. Это означает, что на каждом конце молекулы ДНК всегда будут находиться 5'-конец одной цепи и 3'-конец второй нити

Таблица 8.1. Особенности нуклеиновых кислот

Признак	ДНК	РНК
Месторасположение в клетке	Ядро, небольшое количество в цитозоле	Цитоплазма, небольшое количество в ядре
Сахар	Дезоксирибоза	Рибоза
Главные основания	Аденин, гуанин, цитозин, тимин	Аденин, гуанин, цитозин, урацил
Молекулярная масса	$> 10^9$	$2(10^5-10^9)$
Функция	Хранение и передача генетической информации	Синтез белков
Форма вторичной структуры молекулы	Двойная спираль	Одноцепочечная молекула

Эти две полинуклеотидные цепи соединяются между собой с помощью водородных связей, образующихся между азотистыми основаниями расположенных рядом цепей. Цепи не идентичны. Основания расположены таким образом, что они пространственно дополняют друг друга (принцип комплементарности). Порядок чередования нуклеотидов одной цепи определяет порядок чередования другой. Количество адениловых нуклеотидов равно количеству тимидиловых нуклеотидов, а количество гуаниловых равно количеству цитидиловых нуклеотидов. Соотношение $(A + T) / (G + C)$ – величина постоянная и является видоспецифической характеристикой организма (правила Чаргаффа). При таком расположении достигается важное условие стабильности макромолекулы – максимум водородных связей.

Азотистые основания обращены внутрь молекулы и лежат в одной плоскости, перпендикулярной к оси молекулы, и между основаниями возникают силы гидрофобного взаимодействия, которые вносят дополнительный вклад в стабилизацию молекулы ДНК.

Подобно белковой молекуле, ДНК можно денатурировать. Денатурация вызывается нагреванием, действием факторов, нарушающих водородные связи, и другими способами. Каждая молекула ДНК может распадаться на составные цепи при

нагревании ее раствора до определенной для нее температуры. Это зависит от количественного соотношения А – Т и Г – Ц пар. ДНК, содержащие больше Г – Ц пар, денатурируют при более высокой температуре, так как эта пара образует больше водородных связей (три связи), чем пара А – Т (две связи). При медленном охлаждении две цепи вновь вступают во взаимодействие, формируя двойную спираль. Скорость объединения зависит от степени схожести друг с другом объединяемых цепей. Этот метод, метод рекомбинантных ДНК, позволяет сопоставлять «родственность» цепей ДНК, принадлежащих разным видам живого.

Огромные размеры молекул ДНК требуют тщательной упаковки в клеточных структурах. Каждая молекула ДНК упаковывается в отдельную хромосому, в формировании которой принимают участие белки. Хромосомы формируются в период деления клетки, а в период покоя комплексы ДНК с белками равномерно распределены по ядру в форме хроматина. В составе хроматина можно выделить гистоновые и негистоновые белки.

Основную роль в формировании пространственной структуры ДНК играют белки – **гистоны** с молекулярной массой от 11 до 22 кД. Они богаты основными аминокислотами (лиз и арг). Различают несколько типов гистонов: Н1, Н2а, Н2b, Н3 и Н4. Гистоны – организаторы нуклеосом (рис. 8.6), элемен-

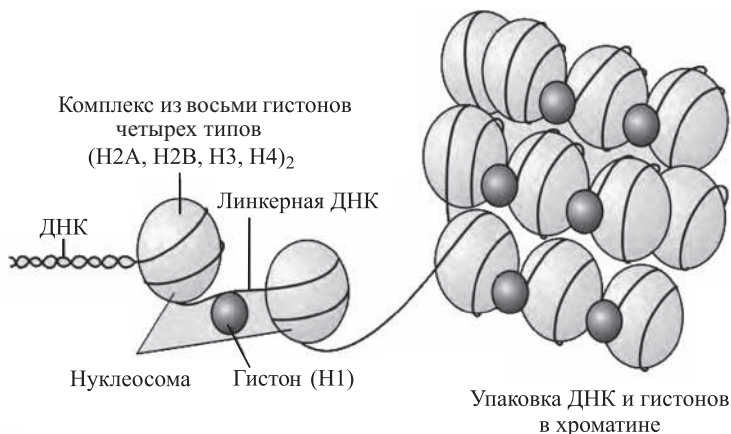


Рис. 8.6. Пространственная структура ДНК

тарных частиц, формирующих третичную структуру ДНК. Молекула ДНК образует несколько витков (150–200 пар оснований) вокруг белковой глобулы, состоящей из четырех пар гистонов H2a, H2b, H3 и H4. Гистон H1 связывается с участком ДНК, соединяющим соседние нуклеосомы. Нуклеосомы в свою очередь участвуют в образовании спиральных структур более высокого порядка.

Различают две формы хроматина: гетерохроматин и эухроматин. Первый более плотно упакован, часто находится около центромеров хромосом и довольно редко транскрибируется. Эухроматин упакован менее плотно и активно транскрибируется.

Есть два первичных механизма, способных динамично влиять на структуру хроматина. Это метилирование остатков цитозина в ДНК и модификация гистонов. Метилирование остатков происходит непосредственно после репликации ДНК под действием специфических метилтрансфераз. Метилирование важно в механизмах регуляции транскрипции. К метилированным цитозинам легко присоединяется специфический белок MeCP2, что может тормозить транскрипцию этих участков ДНК. Фосфорилирование такого белка снижает его способность связываться с метилированным основанием и разрешает транскрипцию. Дефект данного белка приводит к развитию синдрома Ретта, который проявляется у женщин и сопровождается остановкой развития, олигофренией, микроэнцефалией и потерей речи.

Гистоны могут подвергаться различным модификациям: ацетилирование, убиквитинилирование, метилирование, фосфорилирование. Такие модификации также влияют на структуру хроматина и его транскрипционную активность.

Рибонуклеиновая кислота. Из клеток можно выделить три основных вида РНК, которые различаются функцией, структурой, локализацией в клетке и размерами.

Около 80% всей клеточной РНК находится в цитозоле в составе рибосом. Это **рибосомная РНК** (рРНК). У эукариот рибосомы цитозоля содержат четыре типа рРНК, которые различаются константой седиментации – скоростью их оседания при ультрацентрифугировании (выражается в единицах Сведберга – S). Рибосома состоит из двух субъединиц с общей константой седиментации в 80 S. Пространственная структура такой рРНК формируется при участии белков, специфически связанных с молекулами РНК. Рибосомы есть и в митохондриях. Их строение напоминает строение рибосом прокариот (рис. 8.7).

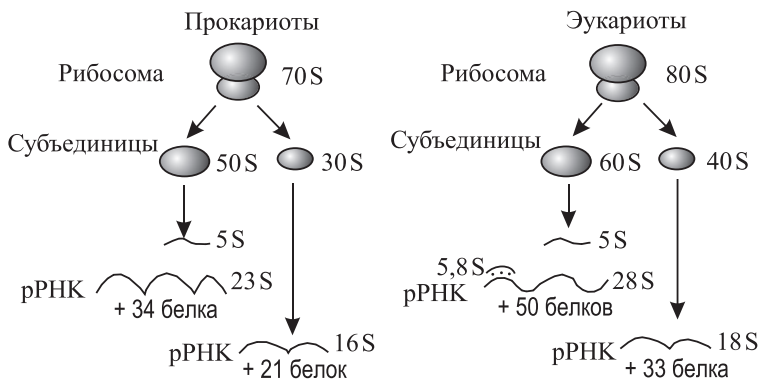


Рис. 8.7. Строение рибосом

Матричная, или информационная, РНК составляет 2–4% всей РНК клетки. Разнообразие первичных структур таких РНК связано с тем, что они представляют копии отдельных участков ДНК, несущих информацию о белках клетки, и играют роль матриц для синтеза белков.

Третий вид РНК клетки, составляющей около 15% всей РНК клетки, – *транспортные РНК* (тРНК). Эти небольшие по размерам (около 80 нуклеотидов) молекулы выполняют адапторную функцию: 3'-конец молекулы связывается с аминокислотой, а антикодонавая петля – с мРНК, что позволяет считывать информацию, кодируемую последовательностью нуклеотидов мРНК.

Выделено свыше 30 тРНК, которые различаются первичной структурой. Особенностью первичной структуры тРНК является высокое содержание модифицированных (минорных) нуклеотидов, среди которых различают метилированные или восстановленные азотистые основания, нуклеотиды с С–С связью между азотистым основанием и рибозой и некоторые другие варианты. Вторичная структура тРНК описывается структурой «клеверного листа». На уровне третичной структуры молекула тРНК приобретает форму, подобную букве Г.

Распад нуклеиновых кислот. С пищей нуклеиновые кислоты поступают в составе нуклеопротеинов. В желудке нуклеопротеины распадаются на белок и нуклеиновую кислоту. Дальнейший их распад идет по схеме, представленной на рис. 8.8.



Рис. 8.8. Схема распада нуклеопротеинов в желудочно-кишечном тракте

Такие же процессы происходят и в тканях. Затем азотистые основания или нуклеозиды могут использоваться повторно или разрушаться до конечных продуктов. Так, при распаде пиримидиновых оснований образуются β -аминокислоты и мочевины, а при распаде пуриновых – мочевая кислота (рис. 8.9).

Биосинтез нуклеотидов. Известны два основных пути синтеза нуклеотидов:

- реутилизация оснований и нуклеозидов для повторного синтеза нуклеотидов. Данный путь имеет меньшее в количественном отношении значение;
- синтез нуклеотидов *de novo*.

Ведущее место в реакциях обоих механизмов синтеза занимает фосфорибозилпирофосфат, который образуется из продукта окислительной части пентозофосфатного пути – рибозо-5-фосфата путем его фосфорилирования, катализируемого фосфорибозилпирофосфат синтетазой.

Синтез пуриновых нуклеотидов *de novo* представляет собой сложный, потребляющий большое количество энергии (6АТФ на каждую молекулу пуринового нуклеотида), многоступенчатый (11 этапов) путь, который можно условно разделить на две части. Вначале идет образование мононуклеотида – инозиновой кислоты (ИМФ). Это предшественник основ-

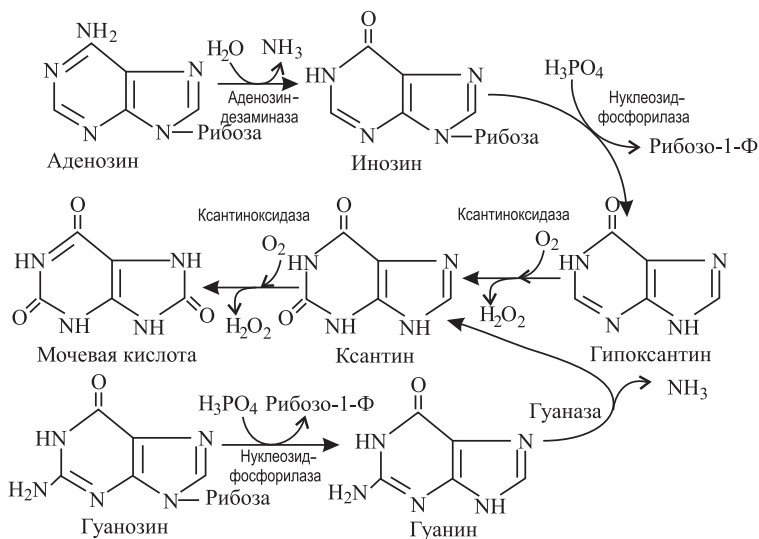


Рис. 8.9. Схема катаболизма пуриновых нуклеотидов

ных пуриновых нуклеотидов. В качестве азотистого основания в его составе выступает гипоксантин. Затем образуются основные пуриновые нуклеотиды – АМФ и ГМФ.

Субстратами синтеза пуриновых нуклеотидов являются фосфорибозилпирофосфат, аминокислоты (гли, асп, глн) и одноуглеродные фрагменты, донорами которых являются формилтетрагидрофолат (формилТГФ) и карбоксибиотин (рис. 8.10). Ключевая реакция процесса – образование 3-фосфо-β-рибозиламина. Эта реакция катализируется глутамин-фосфорибозиламидотрансферазой (ФРПФ-амидотрансферазой) и образует атом азота в девятом положении будущего кольца пурина. Атомы углерода в четвертом и пятом положениях, атом азота в седьмом положении кольца пурина образуются глицином, который полностью включается в кольцо. С8 возникает из N10-формилТГФ, N3 – из глн, С6 – из карбоксибиотина, N1 – из асп, С2 – из формилТГФ (рис. 8.11).

Образующийся в первом этапе инозинмонофосфат (ИМФ) служит точкой ветвления, от которой отходят двухшаговые пути синтеза АМФ и ГМФ (рис. 8.12). Для образования АМФ аспартат взаимодействует с ИМФ, образуя аденилосукцинат (очень похоже на образование аргининосукцината в синтезе

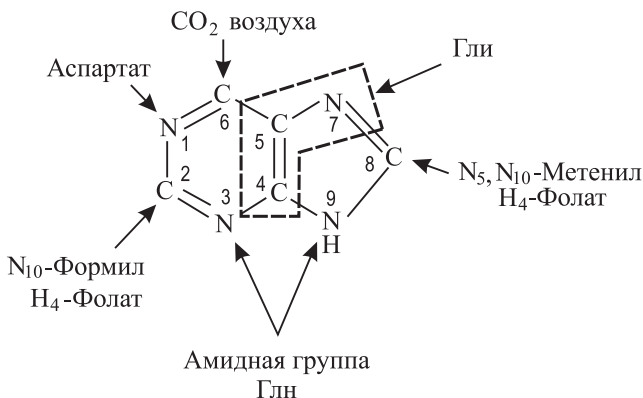


Рис. 8.10. Происхождение атомов С и N в пуриновом кольце

мочевины) с затратой ГТФ. Освобождаемый затем фумарат поступает в цикл Кребса и превращается в оксалоацетат, который может аминироваться вновь с образованием аспартата. Эта реакция, получившая название пуринового нуклеотидного цикла, играет важную роль в мышечной ткани в качестве своеобразной анаплеротической реакции, способствующей подключению белков к обеспечению мышц энергией и обезвреживанию аммиака, который при этом возникает. АМФ и ГМФ далее фосфорилируются киназами нуклеозидмонофосфатов (высокоспецифичными для отдельных нуклеоти-

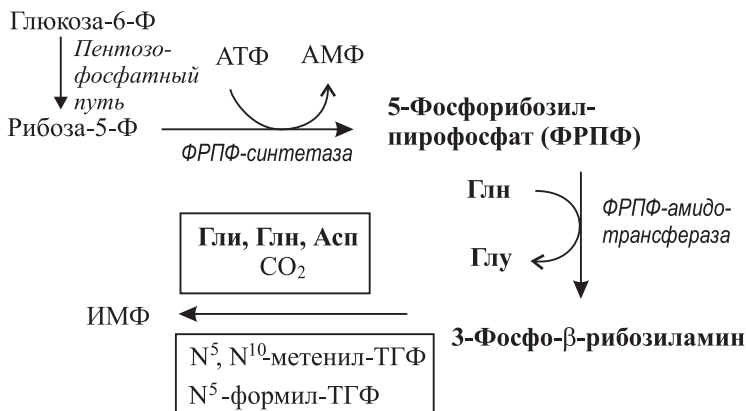


Рис. 8.11. Реакции синтеза инозинмонофосфата (ИМФ)

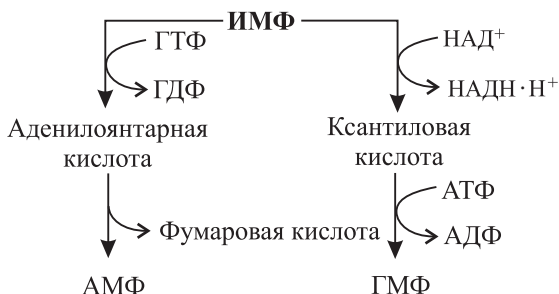


Рис. 8.12. Схема превращений ИМФ

дов) и киназами нуклеозиддифосфатов (с широкой специфичностью) с образованием АТФ и ГТФ.

Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов *de novo* происходит на нескольких уровнях. Следует назвать четыре регулируемых фермента: синтетаза ФРПФ, амидофосфорибозил трансфераза, аденилосукцинат синтетаза, дегидрогеназа ИМФ. Первые два фермента регулируют синтез ИМФ; другие два регулируют образование АМФ и ГМФ соответственно. Синтетаза ФРПФ имеет два отдельных аллостерических центра для связывания пуриновых нуклеотидов (для ГДФ и АДФ), которые ингибируют этот фермент и могут действовать синергично. Роль ключевой реакции играет формирование 5-фосфорибозил-1-амина. Ее катализирует фермент – глутамин фосфорибозил амидотрансфераза. Этот фермент ингибируется ГМФ и АМФ, а также соответствующими нуклеозид ди- и трифосфатами.

Если синтез *de novo* в основном протекает в печени, то в клетках других тканей пуриновые нуклеотиды синтезируются из продуктов катаболизма нуклеотидов – азотистых оснований и нуклеозидов. Использование азотистых оснований катализируется двумя ферментами гипоксантин-гуанин фосфорибозил трансферазой и аденин фосфорибозил трансферазой. Гипоксантин-гуанин фосфорибозил трансфераза катализирует присоединение фосфорибозилпирофосфата или к гипоксантину (образуется ИМФ), или к гуанину (образуется ГМФ). Аденин фосфорибозил трансфераза обеспечивает присоединение фосфорибозилпирофосфата к аденину, образуя АМФ.

Эти ферменты предотвращают необратимое превращение гипоксантина, гуанина и аденина в мочевую кислоту и уменьшают ее образование, а также способствуют снижению синте-

за нуклеотидов *de novo*, который потребляет большое количество энергии. Гипоксантин-гуанин фосфорибозил трансфераза и аденин фосфорибозил трансфераза катализируют также использование азотистых оснований, поступающих с пищей. О важности этих ферментов свидетельствуют последствия, связанные с их отсутствием или низкой активностью (см. ниже). Повторное использование нуклеозидов, аденозина и гуанозина катализируется специфическими киназами пуриновых нуклеозидов. Нарушение обмена пуриновых нуклеотидов проявляется в форме разных заболеваний и сопровождается, как правило, гиперурикемией.

Синтез пиримидиновых нуклеотидов. В отличие от синтеза пуриновых нуклеотидов синтез пиримидиновых нуклеотидов *de novo* начинается с образования основания, и только затем к нему присоединяется углеводная половина. Субстратами для их синтеза, как и в случае пуриновых нуклеотидов, являются аминокислоты (глутамин, аспартат), одноуглеродный фрагмент (карбоксибиотин) и фосфорибозилпирофосфат.

Первая реакция синтеза – образование карбамоилфосфата. В отличие от пути образования мочевины, где также образуется карбамоилфосфат, процесс протекает в цитозоле, донором аминогруппы служит глутамин, и катализируется реакция карбамоилфосфат синтетазой II (рис. 8.13). Этот фермент не чувствителен к N-ацетилглутамату.

К образовавшемуся карбамоилфосфату присоединяется молекула аспартата. Эта реакция катализируется аспартат карбамоилтрансферазой. Циклизация карбамоиласпартата катализируется дигидрооротазой и дегидрогеназой дигидрооротовой кислоты и завершается образованием оротовой кислоты. Оротовая кислота взаимодействует с фосфорибозилпирофосфатом (фермент – оротат фосфорибозил трансфераза). Возникает оротидин-5-фосфат (ОМФ) – первый пиримидиновый нуклеотид.

Декарбоксилирование оротидин-5-фосфата ведет к образованию уридиловой кислоты (УМФ). У млекопитающих процесс синтеза УМФ катализируется двумя большими белками. Один из них обладает активностью карбамоилфосфат синтетазы, аспартат транскарбамоилазы и дигидрооротазы, а другой – активностью оротаткарбамоилтрансферазы и декарбоксилазы ОМФ.

После фосфорилирования УМФ до УТФ при участии киназ последний может аминироваться по углероду в четвертом

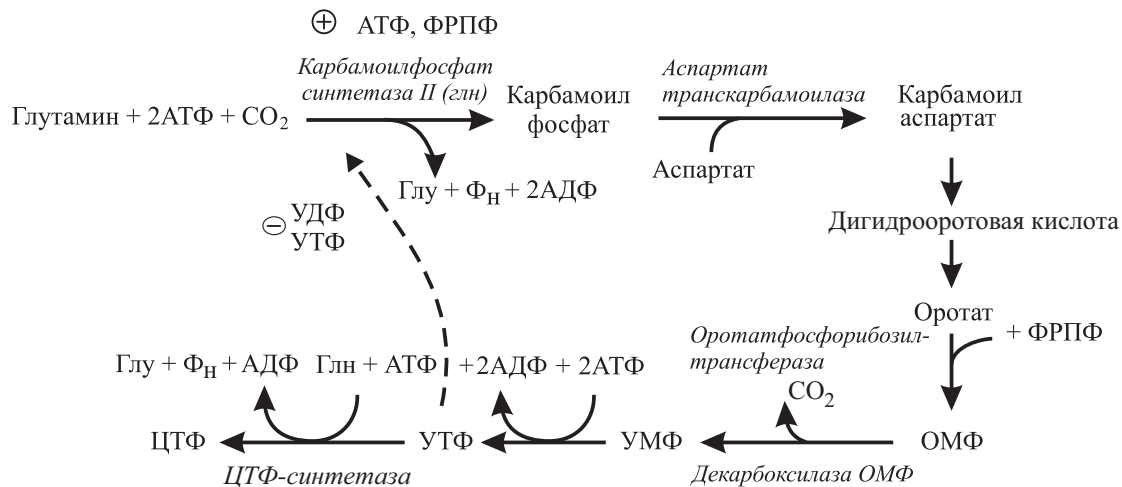


Рис. 8.13. Схема реакций синтеза пиримидиновых нуклеотидов

положении с участием глутамина и превращаться в ЦТФ (фермент – синтетаза ЦТФ). УМФ и УДФ не аминируются.

Реутилизация пиримидиновых оснований протекает в два этапа. Вначале относительно неспецифическая фосфорилаза пиримидиновых нуклеозидов превращает основания в их соответствующие нуклеозиды. Следует отметить, что предпочтительное направление этой реакции – распад нуклеозидов. Затем более специфические нуклеозидкиназы катализируют фосфорилирование нуклеозидов. Специфичность киназ увеличивается по мере увеличения числа остатков фосфата в составе моонуклеотида. Этот путь мало эффективен из-за очень низкой концентрации оснований в плазме и тканях.

Фосфорилаза пиримидиновых оснований более активна в отношении к урацилу, и иногда ее называют уридинфосфорилазой. Специфичная для тимина фосфорилаза катализирует взаимодействие тимина с дезоксирибозой. Карбамоилфосфат синтетаза-II – ключевой фермент в регуляции синтеза пиримидиновых нуклеотидов у людей. Основными его регуляторами являются УТФ (тормозит активность) и фосфорибозилпирофосфат (оказывает активирующее влияние).

Чувствительность фермента к этим регуляторам в свою очередь определяется действием модуляторов. Например, при приближении клетки к фазе S клеточного цикла фермент становится более чувствительным к действию фосфорибозилпирофосфата и слабее реагирует на УТФ.

Синтез дезоксирибонуклеотидов происходит путем восстановления C_2 -ОН группы рибозы в составе молекулы соответствующего рибонуклеотида. Эта реакция катализируется рибонуклеотидредуктазой (рис. 8.14). В качестве восстановителя используется небольшой белок, названный тиоредоксином. Его восстановление в свою очередь катализируется тиоредоксинредуктазой, использующей НАДФН · H^+ в качестве донора водорода. Образование дезоксирибонуклеотидов тщательно регулируется, чтобы обеспечить достаточное количество субстратов для синтеза ДНК при делении клетки. Тимидиловый нуклеотид образуется из дезоксиуридиловой кислоты путем ее метилирования с участием донора метильной группы N5-N10-метилентГФ. Реакцию катализирует специфическая тимидилатсинтаза.

Нарушения обмена пуриновых нуклеотидов. Они сопровождаются, как правило, гиперурикемией. Хроническое повышение уровня мочевой кислоты в крови может быть следстви-

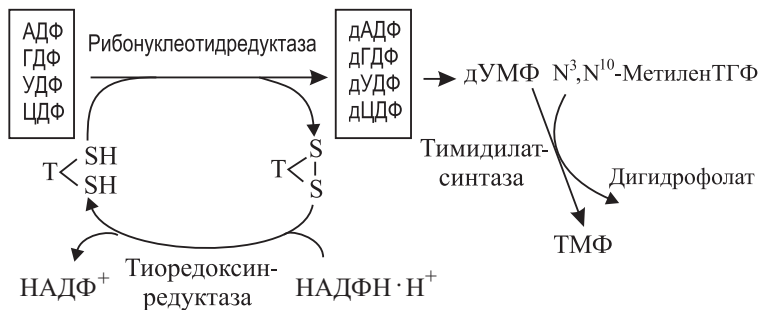


Рис. 8.14. Схема синтеза дезоксирибонуклеотидов

ем или повышенного образования пуринов, или снижения выделения мочевой кислоты¹.

Гиперурикемия может привести к подагре, которая является следствием повышения уровня мочевой кислоты в биологических жидкостях. Самый обычный симптом подагры — приступообразная боль в суставах, которая вызывается отложением кристаллов мочевой кислоты в хрящевой ткани, окружающей сустав, и воспалительной реакцией на появление кристаллов. Обычно поражаются участки с пониженной температурой (подагрические бугорки на кистях рук или пальцах ног). Формирование кристаллов в моче может быть основой почечно-каменной болезни. Подагра встречается у 0,3% людей.

Выделяют первичную и вторичную подагру. Первичная подагра — наследственная болезнь, тогда как вторичная подагра вызывается разными заболеваниями (например, при лейкозе). У большинства больных с признаками подагры молекулярные причины обычно неизвестны, хотя в ряде случаев показана связь с нарушением метаболизма пуринов. При исследовании ряда больных подагрой выделены три разных дефекта синтетазы ФРПФ. В одном случае при исследовании

¹ Примером гиперурикемии, связанной с повышенным образованием мочевой кислоты, может быть гликогеноз типа I (болезнь Гирке). Дефект глюкозо-6-фосфатазы при этом заболевании увеличивает окисление глюкозо-6-фосфата в рибозо-5-фосфат, что ведет к усилению образования пуринов (путем активирования одного из ферментов — синтетазы фосфорибозилпирофосфата). Болезнь встречается у 3% людей. Единственный подход к лечению — избегать длительных перерывов между приемом пищи (ночное голодание).

кинетики обнаружен вариант фермента с высокой V_{\max} . Другой вариант этого фермента обладал высоким сродством к рибозо-5-фосфату (низкая K_M), что приводило к избыточному образованию фосфорибозилпирофосфата. Третий вариант фермента отличался утратой способности к регуляции пуриновыми нуклеотидами по принципу обратной связи, и их накопление не тормозило активность фермента. К подагре ведет также снижение активности гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы (см. выше), что уменьшает реутилизацию оснований и повышение их распада до мочевой кислоты.

Для лечения подагры рекомендуются ограничения потребления продуктов, богатых пуринами, и лекарственная терапия, где ведущее место занимает использование аллопуринола – конкурентного ингибитора ксантиноксидазы. Это приводит к уменьшению образования мочевой кислоты и повышению выделения водорастворимых гипоксантина и ксантина почками. Кроме того, аллопуринол, как и пуриновые основания, может быть использован для синтеза рибонуклеотида при участии гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы, что способствует потреблению фосфорибозилпирофосфата и торможению синтеза пуринов. Высокая концентрация гипоксантина стимулирует его реутилизацию и замедляет синтез нуклеотидов *de novo*. Все указанные механизмы ведут к снижению синтеза пуриновых нуклеотидов, уменьшают образование мочевой кислоты, снимают воспалительные проявления в суставах и возможность образования камней в почках.

Репликация (синтез ДНК). Рост и деление клеток лежит в основе процессов жизнедеятельности любых организмов. Клетка должна уметь сохранить и передать «по наследству» всю информацию, которой владеет сама. Поскольку молекулы ДНК и есть форма хранения информации о свойствах клетки, процесс передачи информации сводится к механизму синтеза новых молекул ДНК. События, которые обеспечивают деление клеток, носят название **клеточный цикл**. Выделяют несколько фаз этого цикла: G1, S, G2, M. Фаза G1 – это состояние, в котором клетка выполняет свои функции. Продолжительность этой фазы колеблется в широких пределах, что позволяет говорить о клетках, которые быстро делятся (клетки эпителия кишечника или клетки крови), и клетках, которые делятся чрезвычайно медленно (нейроны). В фазу S (синтетическая фаза) происходят основные процессы, подготавливаю-

щие клетку к делению, и одним из них является удвоение ДНК – репликация.

Репликация – матричный процесс. Роль матрицы играют обе нити исходных молекул ДНК, и в результате репликации возникают две молекулы ДНК, каждая из которых содержит одну материнскую (матрица) и одну дочернюю (вновь синтезированную) цепи ДНК. Такой принцип синтеза называют **полуконсервативной репликацией**. Первичная структура матрицы (материнская цепь) определяет первичную структуру дочерней цепи благодаря тому, что в основе такой репликации лежит принцип комплементарности оснований ($G \equiv C$ и $A \equiv T$). Этот механизм и позволяет точно передать информацию от одной молекулы другой.

Репликация – многостадийный процесс. Можно выделить несколько этапов:

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

Основные субстраты – все четыре дезоксирибонуклеозидтрифосфата дАТФ, дГТФ, дЦТФ и дТТФ (для синтеза самой ДНК) и рибонуклеозидтрифосфаты для синтеза праймеров. Участвуют в этом процессе ферменты ДНК-топоизомераза 1, ДНК-хеликаза и белки, связывающиеся с одноцепочечными участками ДНК (SSB-белки). Инициация начинается с раскручивания двойной спирали ДНК в местах, получивших названия **ори** (рис. 8.15). Эти участки богаты $A=T$ парами. Учитывая, что скорость элонгации составляет около одного нуклеотида в секунду, в пределах одной хромосомы (одной молекулы ДНК) возникает множество таких ори. Фермент хеликаза с затратой АТФ обеспечивает разрыв водородных связей и расплетение двойной спирали ДНК. В поддержании этого участка ДНК в раскрученном состоянии участвуют SSB-белки (от англ. single strand binding proteins, т.е. белки, связывающиеся с одноцепочечными нитями ДНК). Они предотвращают образование шпилек и схождение двух цепей ДНК. Раскручивание молекулы вызывает усиление напряжения спирализованной структуры ДНК по обе стороны от ори, и с помощью топоизомераз, которые катализируют разрыв фос-

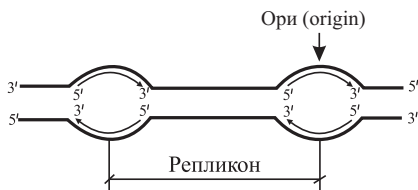


Рис. 8.15. Схема инициации репликона

фодифирных связей одной из цепей, это напряжение снимается благодаря вращению концов цепи ДНК, и затем место разрыва вновь соединяется. Раскручивание ведет к образованию репликативного пузырька, сходящиеся углы которого образуют репликативные вилки.

Элонгация – процесс присоединения нуклеотидов к 3'-ОН группе предшествующего нуклеотида с разрывом макроэргической связи субстрата (дезоксирибонуклеозидтрифосфата), энергия которой используется на образование ковалентной связи и высвобождение пирофосфата. Последний гидролизуется пирофосфатазой. Формирование 3',5'-фосфодифирной связи катализируется ДНК-зависимыми ДНК-полимеразами. У эукариот выделено пять таких полимераз (α , β , γ , δ , ϵ). ДНК-полимеразы различают по числу субъединиц, молекулярной массе, ассоциации с разными вспомогательными белками, ускоряющими процесс биосинтеза ДНК, и функциональному назначению. ДНК-полимераза γ (гамма) участвует в репликации митохондриальной ДНК, а остальные – в репликации ядерной ДНК. Все ДНК-полимеразы могут синтезировать нуклеотидную цепь только в направлении $5' \rightarrow 3'$, матричная цепь всегда считывается в направлении $3' \rightarrow 5'$.

Инициация репликации катализируется ДНК-полимеразой α , которая в отличие от других полимераз может использовать одноцепочечную ДНК в качестве матрицы. ДНК-полимераза α состоит из четырех субъединиц, каждая из которых обладает специфическими функциями. После присоединения к одноцепочечной матрице ДНК-полимераза α синтезирует небольшую последовательность нуклеотидов, используя свою РНК-полимеразную активность. Этот отрезок рибонуклеотидов получил название праймера. Затем к нему присоединяется еще около 50 дезоксирибонуклеотидов. Таким образом, ДНК-полимераза α синтезирует олигонуклеотид, содержащий примерно 60 нуклеотидов (праймер); первые 8–10 представлены рибонуклеотидами, а остальные – дезоксирибонуклеотидами.

ДНК-полимеразу α сменяет ДНК-полимераза δ , которая продолжает синтез новой цепи в направлении от 5'-к 3'-концу по ходу раскручивания репликативной вилки.

Особенностью репликации является одновременный синтез двух новых (дочерних) цепей, несмотря на антипараллельность матриц. 5' \rightarrow 3' направление синтеза цепи ДНК совпадает с направлением движения репликативной вилки лишь для одной из вновь синтезируемых цепей (лидирующая цепь). На второй матричной цепи синтез дочерней ДНК осуществляется двумя ферментами: ДНК-полимеразой α и ДНК-полимеразой ϵ в том же 5' \rightarrow 3' направлении, но против движения репликативной вилки. Поэтому вторую цепь приходится синтезировать прерывисто, в форме коротких фрагментов, каждый из которых начинает синтезироваться после образования праймера. Эти фрагменты получили название **фрагментов Оказаки** (по имени открывшего их исследователя). Эту дочернюю цепь ДНК называют **отстающей цепью**. Праймеры удаляет ДНК-полимераза β , постепенно отщепляя с 3'-конца фрагмента по одному рибонуклеотиду. К ОН группе на 3'-конце предыдущего фрагмента ДНК-полимераза β присоединяет дезоксирибонуклеотиды в количестве, равном вырезанному праймеру, и таким образом заполняет брешь, возникающую при удалении рибонуклеотидов.

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

После завершения репликации 5'-концы дочерних цепей ДНК остаются недостроенными в связи с тем, что удаление праймеров не сопровождается синтезом комплементарной последовательности, ибо ДНК-полимераза β , которая отвечает за этот процесс, не может вести синтез цепи ДНК от 3'-к 5'-концу. Поэтому в ходе каждого цикла репликации 5'-концы синтезированных цепей укорачиваются. Чтобы не происходило при этом потери генетической информации, укорочение ДНК идет за счет теломер – специальных не несущих информации последовательностей нуклеотидов. Это укорочение ДНК при каждом делении клеток – своеобразный сигнал, управляющий продолжительностью жизни клеток.

Для некоторых клеток (эмбриональные и другие быстро делящиеся клетки) потеря концов хромосом недопустима из-за очень быстрого укорочения ДНК. В таких клетках имеется фермент теломераза (нуклеотидилтрансфераза), который обеспечивает восстановление потерь этих концов. В качестве матрицы фермент использует РНК, которая является частью структуры этого фермента.

С помощью своей РНК фермент комплементарно прикрепляется к 3'-концу недостроенной дочерней цепи ДНК. Теломераза последовательно удлиняет 3'-конец цепи ДНК на один гексануклеотид -GGGTТА-. Синтез всегда идет от 5'- к 3'-концу. Затем теломераза смещается по цепи ДНК на один теломер и начинает синтез нового фрагмента -GGGTТА-. Теломераза многих соматических клеток неактивна. Однако ее активность обнаруживают в клетках с высокой скоростью обновления, таких как лимфоциты, стволовые клетки костного мозга, клетки эпителия, эпидермиса кожи и др.

Репарация ошибок и повреждений ДНК. Хотя ферменты, катализирующие репликацию, обладают способностью узнавать и исправлять ошибки репликации в структуре молекулы ДНК, под влиянием факторов внешней (УФО, радиационное излучение) и внутренней среды (активные формы кислорода и др.) постоянно происходят различные изменения:

- дезаминирование оснований (из цитозина образуется урацил);
- депуринизация – гидролитическое отщепление пуриновых оснований;
- образование пиримидиновых димеров;
- разрыв нуклеотидных цепей;
- появление ковалентных сшивок между цепями или между цепями и гистонами;
- включение некомплемментарного основания, вызванное ошибками репликации.

Исправление этих нарушений обеспечивают специальные системы репарации ДНК, которые постоянно функционируют в ядре клеток.

Различают несколько механизмов такой репарации.

Прямая репарация имеет место при таком повреждении, как депуринизация. То есть в нуклеотиде, встроенном в полинуклеотидную цепь, отсутствует пуриновое азотистое основание, но есть остаток дезоксирибозы этого нуклеотида, соединенный фосфодиэфирными связями с другими нуклеотидами.

В этом случае репарация достигается присоединением азотистого основания вместо удаленного при участии фермента ДНК-инсертазы.

Экцизионная репарация (нуклеотидов и азотистых оснований) считается универсальной системой. Механизм такой репарации выглядит следующим образом.

(1) Нарушение комплементарности обнаруживает специфическая эндонуклеаза и гидролитически расщепляет 3',5'-фосфодиэфирную связь вблизи участка повреждения нити ДНК.

(2) При участии экзонуклеазы происходит удаление участка ДНК (25–30 нуклеотидов) по обе стороны от разрыва фосфодиэфирной связи.

(3) ДНК-полимераза β , используя ДНТФ в качестве субстратов, присоединяет их к 3'-концу и заполняет место удаленного участка.

(4) Образованная цепь ДНК соединяется с основной цепью при участии ДНК-лигазы, используя АТФ в качестве источника энергии.

Если произошло дезаминирование азотистых оснований (например, цитозин превратился в урацил), то удаление некомплементарного основания катализирует фермент ДНК-гликозилаза. Участок, лишенный азотистого основания, обнаруживает специфическая эндонуклеаза (АП-эндонуклеаза), катализирующая гидролиз фосфодиэфирной связи и подключающая затем ферменты эксцизионной репарации.

Под влиянием УФО могут возникать пиримидиновые димеры (чаще всего тиминовые) за счет связывания двух соседних оснований. Такое повреждение устраняет фермент фотолиаза. Она расщепляет связи между соседними основаниями и восстанавливает нативную структуру ДНК. Свет активирует фермент и таким образом ускоряет этот процесс. Нарушение механизма репарации может сопровождаться накоплением мутаций в ДНК и является причиной многих заболеваний и преждевременного старения организма

Биосинтез РНК (транскрипция). Реализация генетической информации, которую получает клетка во время репликации, включает следующие этапы (рис. 8.16):

- транскрипцию (биосинтез и процессинг молекул РНК);
- рекогницию (механизмы образования аминоацил-тРНК);
- трансляцию (биосинтез полипептидов).

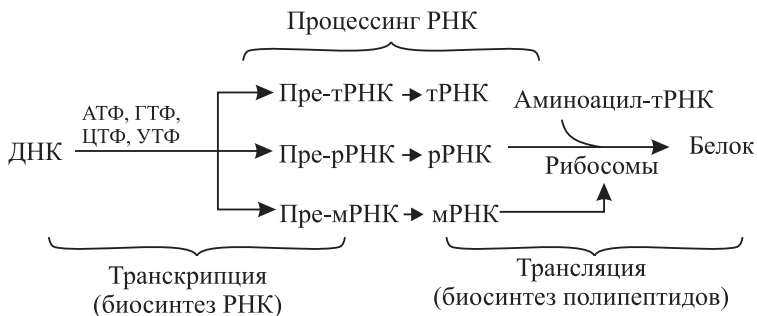


Рис. 8.16. Этапы реализации генетической информации в клетке

Транскрипция (биосинтез РНК). Транскриптон – участок ДНК, несущий информацию о биосинтезе полинуклеотидных цепей у эукариот. У прокариот такие участки называют оперонами. На 5'-конце его расположен промотор, с которого начинается транскрипция, а заканчивается транскриптон участком терминатии. В структуре транскриптона выделяют информативную часть (участки последовательности нуклеотидов, кодирующих белок, – экзоны), которая разделена неинформативными участками – интронами. По обе стороны от промотора располагаются регуляторные сайты, которые могут взаимодействовать с факторами, регулирующими транскрипцию. Транскрипция подобно репликации начинается с раскручивания участков ДНК. Эти участки богаты А=Т парами азотистых оснований (ТАТА-боксы).

Каждый тип РНК синтезируется своей РНК-полимеразой. У эукариот это:

- РНК-полимераза I – для рРНК;
- РНК-полимераза II – для мРНК;
- РНК-полимераза III – для тРНК.

Транскрипция состоит из трех этапов.

Этап 1 – инициация (рис. 8.17). Присоединение РНК-полимеразы к промотору иницируется специальным белком ТАТА-фактором, который вместе с факторами инициации помогает РНК-полимеразе соединиться с промотором. Образующийся комплекс вызывает расплетение двойной нити ДНК длиной в один виток спирали (около 10 нуклеотидных пар).

Этап 2 – элонгация. При участии факторов элонгации РНК-полимераза перемещается по нити ДНК, катализируя образование комплементарной копии (рис. 8.18).

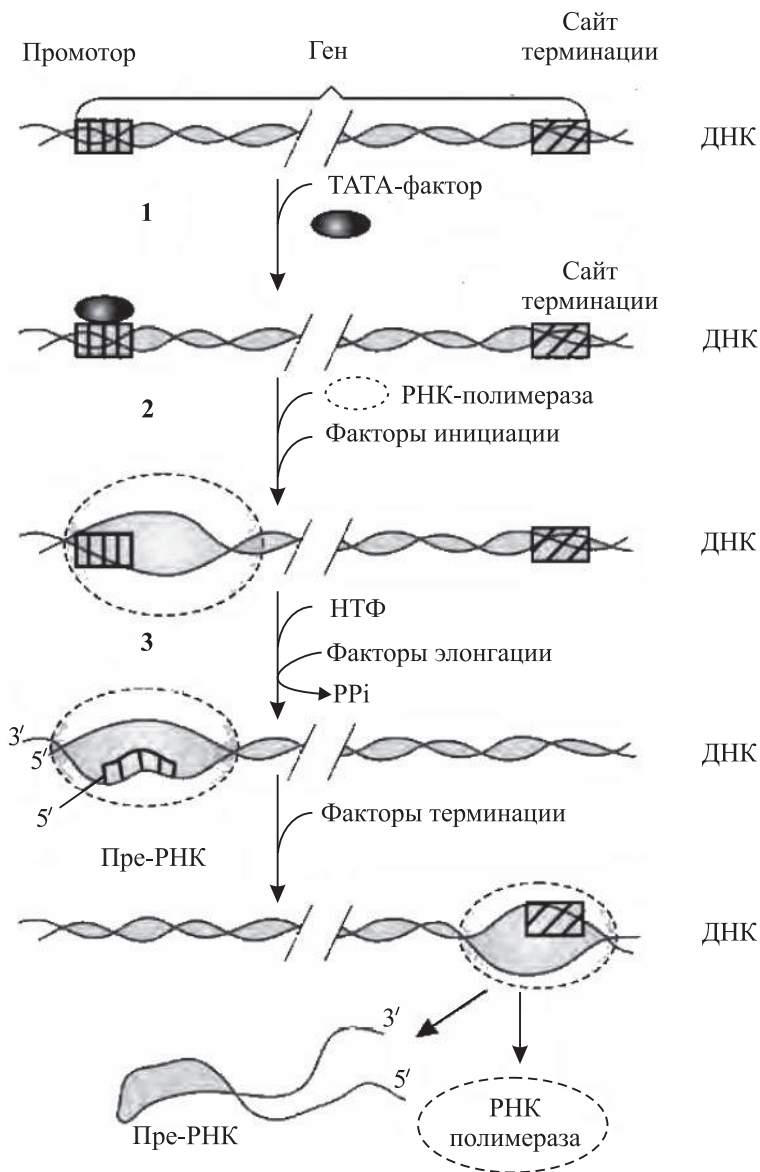


Рис. 8.17. Этапы транскрипции генов

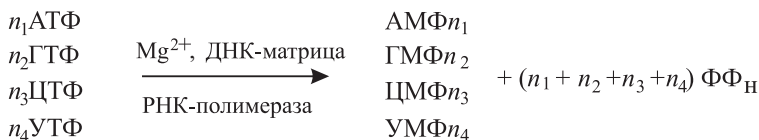


Рис. 8.18. Общий вид реакций синтеза РНК

Этап 3 – терминация. Когда РНК-полимераза достигнет участка терминации, присоединяются факторы терминации. Они помогают освободить синтезированную РНК, которая представляет комплементарную копию транскриптона – предшественника будущих активных молекул РНК – про-РНК. Про-РНК вступает в этап процессинга – этап преобразований молекулы про-РНК.

К про-мРНК еще на стадии элонгации к 5'-концу присоединяется метилированная молекула ГТФ с образованием 5'-5'-фосфодиэфирной связи. Этот нуклеотид получил название «кэп» – шапочка, он защищает мРНК от действия нуклеаз, а впоследствии будет играть важную роль в позиционировании мРНК на рибосоме (рис. 8.19). По окончании синтеза про-мРНК к ее 3'-концу под действием полиА-полимеразы присоединяется фрагмент, состоящий из более 100 остатков адениловой кислоты. Этот полиА хвост в последующем может определять продолжительность жизни мРНК.

Еще один этап процессинга про-иРНК называется сплайсингом. С помощью находящихся в ядре малых ядерных нуклеопротеинов копии интронов, не несущих информацию,

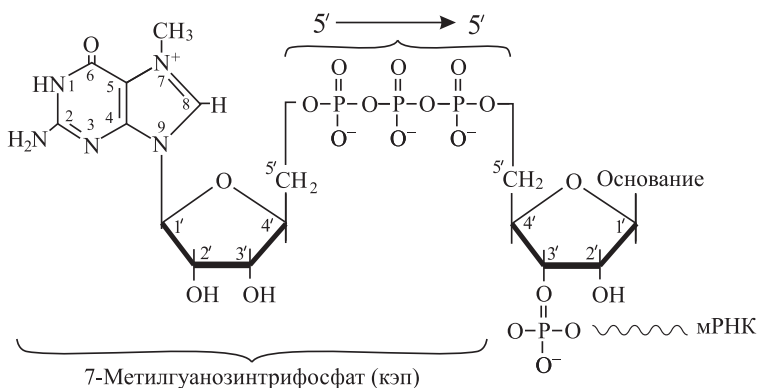


Рис. 8.19. Кэп и его структура

вырезаются, и свободные концы экзонов соединяются между собой, формируя зрелую мРНК, которая покидает ядро и может быть использована в трансляции. Важную роль приобретает альтернативный сплайсинг, который позволяет путем комбинаций экзонами получать разные мРНК и, следовательно, разные белки с одного и того же гена.

Процессинг про-тРНК включает ряд процессов, протекающих в ядре: удаление интрона в центральной области молекулы, удаление нуклеотидов на 3'- и 5'-конце про-тРНК и модификация азотистых оснований, присоединение триплета ЦЦА на акцепторном участке тРНК и формирование антикодоновой петли.

Пре-рРНК синтезируется в форме большой молекулы с константой седиментации 45 S. 1–2% нуклеотидов этой молекулы метилируется по 2'-гидроксильной группе рибозы. Метильные группы служат маркерами для последующего расщепления пре-рРНК на более мелкие молекулы, включающиеся в субъединицы рибосом, которые затем поступают в цитозоль из ядра.

Трансляция (синтез белка). *Генетический код.* Основная функция нуклеиновых кислот – хранение и реализация генетической информации. Последняя закодирована в виде последовательности нуклеотидов в первичной структуре нуклеиновых кислот. Однако реализуется эта информация в клетке при участии белков, которые состоят из аминокислот. Генетический (аминокислотный) код – это способ кодирования аминокислотной последовательности в структуре нуклеиновых кислот.

Свойства кода:

- триплетен. Это означает, что одна аминокислота может быть закодирована последовательностью из трех мононуклеотидов. Такую последовательность на мРНК называют кодоном, а комплементарную кодону последовательность нуклеотидов на транспортной РНК – антикодоном. Таким путем можно закодировать 64 ($4^3 = 64$) аминокислоты, из них имеют смысл, т.е. кодирует включение в белок определенной аминокислоты 61, триплет. Три остальных триплета – UAA, UAG, UGA – сигнализируют о завершении аминокислотной последовательности белка и выполняют функцию точки в записи информации. Их называют терминирующими или стоп-кодонами;

- вырожден. Большинство аминокислот зашифровано в молекулах ДНК и мРНК более чем одним кодоном. Исключе-

ние у человека составляют две аминокислоты: мет и три, каждая из которых шифруется одним кодоном, а для других аминокислот это значение составляет от двух до шести кодонов. Шестью кодонами шифруются лей, сер, арг;

- специфичен. Это означает, что каждая аминокислота кодируется несколькими, но специфичными только для нее последовательностями трех нуклеотидов;

- непрерывен. Последовательность нуклеотидов не разделена на отдельные фрагменты из трех нуклеотидов, но код и неперекрываем. Это означает, что нуклеотиды одного кодона не могут использоваться для кодирования другой аминокислоты в процессе считывания;

- универсален. Смысл кодонов един почти для всех организмов на Земле. Исключения встречаются у прокариот и в митохондриальной мРНК, у которой четыре кодона имеют другой смысл

Декодирование генетической информации стало возможным благодаря тРНК, в структуре которых имеется петля, содержащая триплет, комплементарный кодам на мРНК. Врожденность кода предполагает существование 61 тРНК (по числу смысловых кодонов), но оказалось, что число тРНК значительно меньше. Это объясняется тем, что при взаимодействии антикодона с кодоном первые два основания кодона образуют обычные комплементарные пары с третьим и вторым азотистыми основаниями антикодона, а связь третьего основания кодона с первым антикодона слабее. Данные основания обладают определенной степенью свободы и как бы «качаются» относительно друг друга. Эта особенность кодон-антикодоновых взаимодействий между мРНК и тРНК получила название *гипотезы качания* и позволяет антикодону одной и той же тРНК «прочитывать» несколько кодонов мРНК и обходиться меньшим числом тРНК.

Перед образованием пептидной связи аминокислота должна быть активирована. Этот процесс называют рекогницией – узнаванием. Реакция активирования протекает в два этапа. Вначале аминокислота взаимодействует с АТФ с образованием промежуточного соединения – аминоациладенилата. Затем остаток аминокислоты от аминоациладенилата переносится на соответствующую тРНК. Эти две реакции катализируются одним ферментом – аминоацил-тРНК-синтетазой (рис. 8.20).

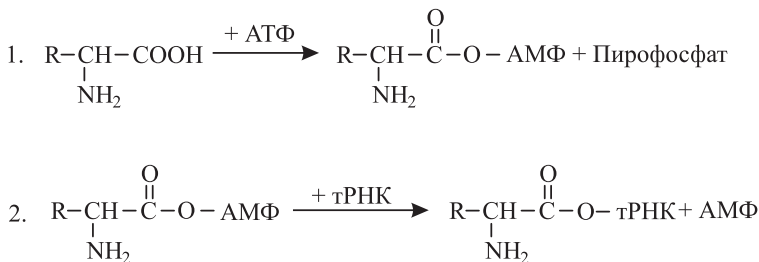


Рис. 8.20. Реакции, катализируемые аминоксил-тРНК-синтетазой (АРСазой)

Процесс «перевода» генетической информации происходит на рибосоме и назван **трансляцией**. В ней принимают участие:

- аминоксил-тРНК – субстраты синтеза белка;
- мРНК – матрица, содержащая информацию о первичной структуре белка в виде линейной последовательности кодонов;
- рибосомы – субклеточные структуры, с помощью которых происходит сборка аминокислот в полипептидные цепи;
- АТФ и ГТФ – источники энергии процесса;
- Mg^{2+} – кофактор, стабилизирующий структуру рибосом;
- факторы инициации, элонгации, терминации – внерибосомные белки, облегчающие и ускоряющие процесс трансляции.

В процессе трансляции выделяют три этапа: инициации (начало синтеза), элонгации (процесс образования пептида) и терминации (завершение синтеза). На каждом этапе действуют специальные белковые факторы.

Рибосома состоит из двух рибонуклеопротеиновых частиц, различающихся по размерам (малая и большая). До начала трансляции рибосомы диссоциированы на частицы.

Иницирующий комплекс образуется из малой частицы рибосомы, информационной РНК, специальных факторов инициации и иницирующей аминоксил-тРНК (у эукариот это всегда Мет-тРНК) и молекулы ГТФ. К нему затем присоединяется большая частичка рибосомы. При этом гидролизуются молекула ГТФ и удаляются факторы инициации. На таком *транслирующем комплексе* формируется два участка. Один – пептидный участок (Р), на котором удерживается фрагмент растущей полипептидной цепи, и второй аминок-

ацильный участок (А), на котором располагается очередная аминоацил-тРНК (рис. 8.21).

У элонгации три этапа.

Этап 1 – связывание аа-тРНК в А-участке. К А-участку присоединяется аа-тРНК, у которой антикодон комплементарен кодону мРНК. Это сопровождается конформационными изменениями рибосомы, протекающими с затратой энергии ГТФ. В этом процессе участвует фактор элонгации EF1.

Этап 2 – образование пептидной связи. Между $\alpha\text{-NH}_2$ группой аминокислоты, находящейся в А участке в составе аа-тРНК, и карбоксильной группой иницирующей аминокислоты или другой аминокислоты, входящей в растущую полипептидную цепь, которая присоединена к тРНК Р-участка, образуется пептидная связь. Катализирует эту реакцию пептидилтрансфераза. Образуется удлиненная на одну аминокислоту пептидил-тРНК, расположенная в А-участке рибосомы;

Этап 3 – транслокация – перемещение рибосомы по мРНК. Рибосома продвигается по мРНК на один кодон в направлении от 5'- к 3'-концу с использованием энергии ГТФ и при участии фактора элонгации eEF2. Результат перемещения – пептидил-тРНК из А-участка перемещается на Р-участок, а в А-участке оказывается следующий кодон мРНК. тРНК, освободившаяся от аминокислоты, теряет связь с Р-участком и уходит в цитозоль клетки.

Процесс повторяется до тех пор, пока в А-участок рибосомы не попадет один из стоп-кодонов мРНК: UAA, UAG, UGA. Белковые факторы терминации RF1, RF3 узнают эти кодоны и освобождают вновь синтезированный пептид от связи с последней тРНК, субъединицами рибосомы и мРНК. Этот этап энергозависим и сопровождается гидролизом молекулы ГТФ. Пептид покидает рибосому. Уже во время синтеза полипептидной цепи идет формирование пространственной структуры белковой молекулы.

В последующем белок может подвергаться посттрансляционной модификации. Она может включать разные процессы:

- фолдинг молекул. В процессе синтеза полипептидных цепей на рибосоме при участии белков-шаперонов происходит формирование термодинамически наиболее выгодной пространственной конформации. Объединение протомеров и формирование четвертичной структуры белков;

- образование внутри- и межцепочечных S–S-связей. Эта модификация имеет важное значение для проявления активно-

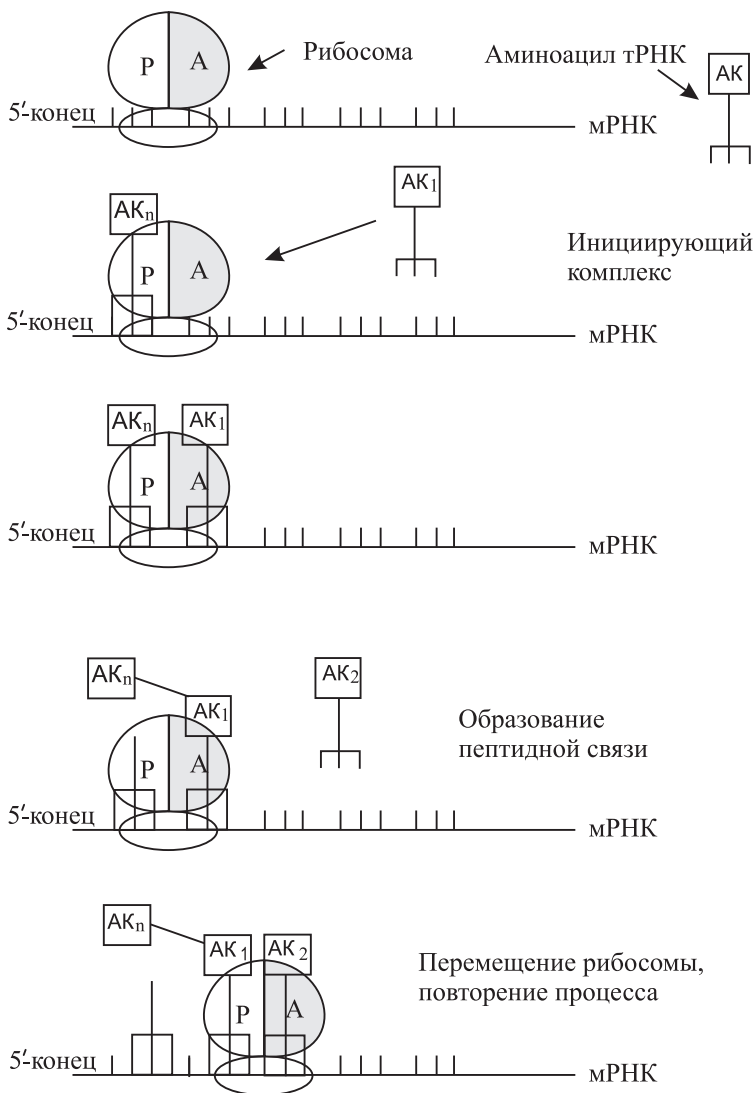


Рис. 8.21. Последовательность реакций трансляции:

Р – пептидный центр; А – аминоацильный центр; АК – аминокислота; АК_и – иницирующая аминокислота; АК₁ и АК₂ – последующие аминокислоты (первая, вторая и т.д.), связывающиеся с рибосомой

сти многих белков (инсулина, иммуноглобулинов, рибонуклеазы и др.);

- ограниченный протеолиз, который имеет место при синтезе всех белков на экспорт и некоторых внутриклеточных белков;

- ковалентное присоединение кофакторов и простетических групп (пиридоксальфосфат, биотин, образование сложных белков);

- модификацию аминокислотных остатков, свойственную многим белкам. Фосфорилирование гидроксильных групп в остатках сер, тре и тир, гидроксилирование остатков про и лиз в молекулах коллагенов; карбоксилирование остатков глу в факторах свертывания крови II, VII, IX, X и др., метилирование остатков арг и лиз в молекулах гистонов; йодирование остатков тир в белке щитовидной железы тиреоглобулине и т.д. является необходимым этапом в синтезе и функционировании биологически активных молекул.

В регуляции биосинтеза белка участвуют разные соединения. Регуляция синтеза белка может осуществляться на разных этапах синтеза, начиная уже с транскрипции. В регуляции принимают участие разные по строению вещества. Это могут быть гистоны и негистоновые белки, низкомолекулярная ядерная РНК, стероидные гормоны, адениловые нуклеотиды. В клетке широко используются принципы регуляции ферментов, участвующих в синтезе белков (изостерическая и аллостерическая регуляция, ковалентная модификация структуры ферментов и белков) и т.д.

Исследование механизмов синтеза белка позволило получить большое число соединений, которые в последующем стали использоваться в медицинской практике: антибиотики, противопухолые препараты, средства борьбы с вирусными болезнями и т.д. Примеры антибиотиков как лекарственных препаратов приведены в табл. 8.2.

Таблица 8.2. Регуляторы биосинтеза белка

Антибиотики	Механизм действия
1	2
Ингибиторы репликации	
Дауномицин. Доксорубицин. Актиномицин D	Внедряются («интеркалируют») между парами оснований ДНК и нарушают репликацию и транскрипцию

1	2
Мелфалан	Алкилирует ДНК и нарушает репликацию
Номермицин. Новобиоцин	Ингибируют ДНК-топоизомеразу II, ответственную за суперспирализацию ДНК, нарушают репликацию и транскрипцию
Ингибиторы транскрипции	
Рифамицины	Связываются с бактериальной РНК-полимеразой и препятствуют началу транскрипции
Ингибиторы трансляции	
Тетрациклины	Ингибируют элонгацию: связываются с 30 S субъединицей рибосомы и блокируют присоединение aa-тРНК в А-центр
Левомецетин	Присоединяется к 50 S субъединице рибосомы и ингибирует пептидилтрансферазную активность
Эритромицин	Присоединяется к 50 S субъединице рибосомы и ингибирует транслокацию
Стрептомицин	Ингибирует инициацию трансляции. Связывается с 30 S субъединицей рибосомы, вызывает ошибки в прочтении информации, закодированной в мРНК

ГЛАВА 9

БИОХИМИЯ ГОРМОНОВ

Краткое содержание главы

В процессе эволюции получили развитие механизмы обмена информацией между клетками в многоклеточных организмах. Сигналы воспринимаются специфическими молекулами, встроенными в плазматическую мембрану или расположенными внутри клетки (рецепторы). Рецепторы связаны со специфическими системами переноса сигнала. В ответ на пришедший сигнал в клетке изменяется активность и синтез ферментов, других внутриклеточных белков, проницаемость внутриклеточных мембран и плазматической мембраны.

Гормон – это вещество органической природы, которое вырабатывается специализированными клетками желез внутренней секреции, поступает в кровь или лимфу и взаимодействует с клетками-мишенями, оказывая влияние на метаболические процессы в них.

Химическая природа гормонов позволяет разделить их на гормоны белково-пептидной природы; гормоны, производные аминокислот; гормоны стероидной природы.

Механизмы действия гормонов обязательно включают процесс усиления их действия и выключения действия. У разных гормонов это проявляется специфическим образом. Ряд гормонов действует с участием молекул посредников, усиливающих их действие, другие оказывают влияние с помощью ферментных механизмов усиления. Роль «выключателей» у нестероидных гормонов выполняют ферменты с ГТФ-азной активностью (G-белки).

Гормоны гипоталамуса – либерины и статины, пептиды, оказывают влияние на секрецию тропных гормонов гипофиза.

Гормоны гипофиза – это белки и пептиды. Передняя доля синтезирует ряд тропных гормонов, действие которых направлено на регуляцию секреции гормонов периферическими эндокринными железами. Задняя доля – своеобразный промежуточный накопитель гормонов, секретируемых нейронами ядер гипоталамуса: вазопрессина и окситоцина.

Гормоны поджелудочной железы – инсулин и глюкагон, пептиды – основные регуляторы обмена углеводов и липидов. Рецептор инсулина – 1ТМС-рецептор, обладающий тирозинкиназной активностью. Глюкагон оказывает влияние через 7ТМС-рецепторы. Эффект его влияния усиливается при участии цАМФ.

Гормоны щитовидной железы – тироксин (T_4) и трийодтиронин (T_3), производные аминокислоты тирозин – содержат в своей структуре йод, а кальцитонин относится к пептидам. T_3 и T_4 оказывают многостороннее влияние на метаболические процессы в клетках, действуют через внутриклеточные рецепторы.

Регуляторы обмена кальция – гормон паращитовидной железы паратирин, гормон щитовидной железы – кальцитонин и активная форма витамина D – кальцитриол – регулируют содержание кальция в кровеносном русле. Паратирин и кальцитриол повышают концентрацию, способствуя поступлению кальция из кишечника или депо, а действие кальцитонина направлено на его снижение. Если паратирин и кальцитонин действуют через 7ТМС-рецепторы и регулируют активность белков и ферментов, участвующих в обмене кальция, то кальцитриол, действуя через внутриклеточные рецепторы, регулирует синтез таких белков.

Гормоны надпочечников представлены тремя группами – глюкокортикоиды, минералокортикоиды и половые гормоны. Эти стероидные гормоны при участии внутриклеточных рецепторов оказывают влияние на синтез белков на уровне генома. Данные гормоны ответственны за ответную реакцию организма на воздействие внешней среды (реакция на стресс).

Половые гормоны – мужские (тестостерон и дигидротестостерон) и женские (эстрадиол, эстриол, эстрон и прогестерон) относятся к стероидным гормонам, действуют через внутриклеточные рецепторы, регулируют экспрессию ряда белков и ферментов.

Клинико-лабораторное значение. Механизмы интеграции и координации метаболических процессов в клетках разных органов, лежащие в основе их функции – важная составляющая здоровья человека. Ряд параметров внутренней среды (уровень глюкозы, аминокислот, кальция) служат своеобразными сигналами, которые воспринимаются клетками эндо-

кринной системы. В ответ они выделяют молекулы, взаимодействующие с внешними или внутренними рецепторами клеток. Рецепторы в свою очередь связаны со специальными сигнальными путями внутри клеток, оказывающими влияние на ход метаболических путей в каждой клетке. Нарушение каждого из этих этапов передачи информации лежит в основе развития заболеваний.

Если нервная система передает информацию посредством нервных импульсов, используя молекулы только в местах контакта с другими клетками (нейромедиаторы), то эндокринная система действует с помощью специальных химических посредников, которые получили название *гормоны*. Термин «гормон» введен в 1905 г. У. Бейлисом и Э. Старлингом и происходит от латинского *hormao* – двигаю, возбуждаю. Эти исследователи впервые отметили увеличение секреторной активности поджелудочной железы в ответ на введение вещества, называемого секретинном.

Гормоны – часть большой группы *сигнальных молекул* в организме, которые клетки используют для координации своей деятельности. Группа классических гормонов за последние десятилетия пополнилась молекулами, которые синтезируются клетками органов, не относящихся к эндокринным железам (адипоциты, клетки предсердий и др.), а также молекулами, обладающими ауто- и паракринным действием (цитокины, эйкозаноиды).

Сигнальные молекулы по химическому строению можно разделить на несколько групп:

- сигнальные молекулы, построенные из аминокислот:
 - сложные белки (тиреотропин, гонадотропины);
 - простые белки (соматотропин, инсулин);
 - пептиды (глюкагон, кортикотропин, факторы роста, цитокины);
- производные аминокислот (адреналин, серотонин, тироксин, мелатонин);
- стероиды и полиизопреноиды (альдостерон, кортизол, ретиноевая кислота, витамин D);
- эйкозаноиды (производные 20-углеродных, полиненасыщенных жирных кислот) (простагландин E1, тромбоксан A2);
- производные фосфолипидов;
- активные формы кислорода, азота (NO) и углерода (CO);
- продукты распада гликозилированных белков.

Классические гормоны относятся, главным образом, к первым трем группам сигнальных молекул.

Другой принцип классификации сигнальных молекул – по месту их синтеза (гормоны гипофиза, поджелудочной железы, надпочечников, натрийуретические пептиды предсердий и т.д.).

По растворимости сигнальные молекулы могут быть гидрофильными (пептиды, белки, катехоламины) и липофильными (стероиды, гормоны щитовидной железы). Особенности растворимости сигнальных молекул во многом определяет особенности их действия. Транспорт по крови липофильных сигнальных молекул обеспечивают специальные транспортные белки. Растворимые в воде молекулы не требуют особых условий для транспорта, и время их пребывания в крови значительно меньше.

Растворимость сигнальных молекул определяет и их взаимоотношения с клеткой. Гидрофильные молекулы, как правило, не проникают в клетки и взаимодействуют с рецепторами плазматической мембраны, подключая механизмы внутриклеточной передачи сигнала с участием вторичных посредников. Так действуют пептидные гормоны, катехоламины и др.

Липофильные молекулы проникают в клетку и связываются с внутриклеточными рецепторами, расположенными в ядре или цитозоле. В комплексе с рецептором такие молекулы связываются с определенными участками ДНК, регулируя механизмы транскрипции. Так действуют стероидные гормоны и гормоны щитовидной железы. Однако липофильные молекулы могут взаимодействовать и с рецепторами плазматической мембраны, в то время как некоторые гидрофильные молекулы, связавшись с рецептором, могут проникать внутрь клетки и оказывать регуляторное влияние на метаболические процессы.

Растворимость сигнальных молекул определяет также и механизмы их распада.

Концентрация сигнальных молекул в крови и межклеточной жидкости низкая (10^{-12} – 10^{-6} моль/л) и подвержена колебаниям. Это могут быть периодические колебания (зависят от времени дня, месяца, времени года и т.д.), а также колебания, зависящие от внешних воздействий или изменений внутренней среды.

Рецепторы – важный инструмент проведения гормонального сигнала в клетках. Клетки специфически узнают

и взаимодействуют с сигнальными молекулами. Высокая избирательность взаимодействия обеспечивается специальными молекулами – рецепторами. Рецепторы могут быть структурными компонентами плазматических мембран клеток, находиться в цитозоле или ядре.

Цитозольные рецепторы связаны с белками теплового шока (шаперонами), которые прикрывают участок рецептора и предотвращают возможность перехода рецептора в ядро. Изменение конформации рецептора, вызванное присоединением сигнальной молекулы, способствует удалению шаперона и переходу комплекса рецептор – сигнальная молекула в ядро.

В структуре ядерных и цитозольных рецепторов содержится домен, который обеспечивает присоединение рецептора к специфическим регуляторным участкам ДНК (респонсивным элементам), что может способствовать увеличению или снижению скорости транскрипции (рис 9.1). Связывание с ДНК происходит после димеризации рецептора. При этом могут формироваться гомодимеры (два рецептора, связанные с одинаковыми сигнальными молекулами) или гетеродимеры (два рецептора, связанные с разными сигнальными молекулами).

Мембранные рецепторы обеспечивают узнавание, связывание и передачу регуляторного сигнала внутрь клетки и относятся к одному из четырех суперсемейств (рис 9.2):

- 7-сегментные трансмембранные рецепторы (7-ТМС) являются интегральными мембранными белками с семью трансмембранными спиральными сегментами, соединенными гидрофильными внеклеточными и внутриклеточными петлями. Внутриклеточная часть рецепторов связывает специальные белки, обладающие ГТФазной активностью (G-белки). После связывания с гормоном данные рецепторы при участии G-белка влияют на активность ферментов, катализирующих образование внутриклеточных вторичных посредников;

- односегментные трансмембранные рецепторы (1-ТМС) – являются интегральными мембранными белками с одним трансмембранным сегментом и глобулярными доменами на вне- и внутриклеточной поверхностях мембраны. Внеклеточный домен содержит участок узнавания и связывания гормона, а внутриклеточный домен, обладая ферментативной активностью, инициирует каскад биохимических реакций внутри клетки. Некоторые 1-ТМС рецепторы, не обладающие ферментативной активностью, могут связываться с протеинкиназами в цитозоле, включая их в механизм переноса сигнала

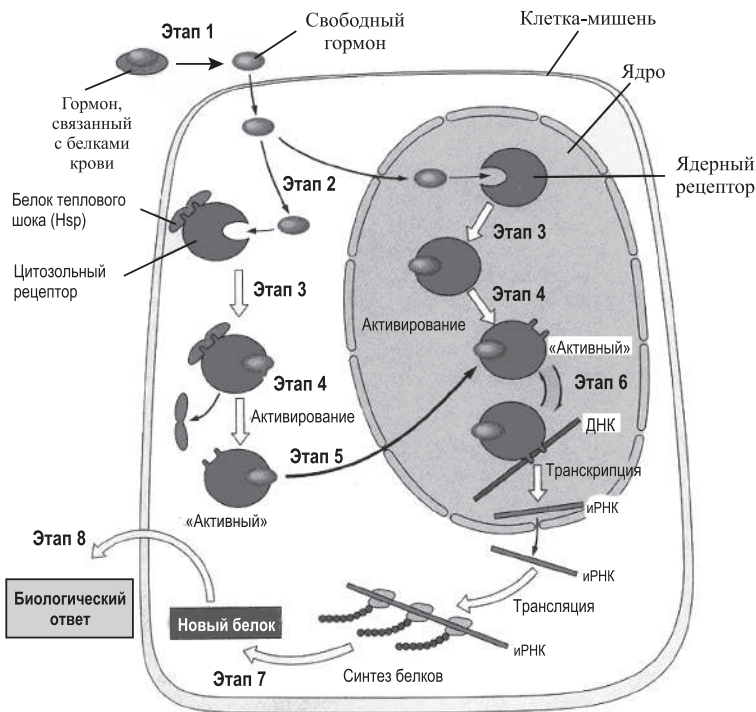


Рис. 9.1. Схема сигнального пути с участием ядерного (цитозольного) рецептора:

этапы 1–8: 1 – освобождение от транспортных белков; 2 – поступление в клетку; 3 – соединение с рецептором; 4 – удаление шаперона (Hsp); 5 – проступление в ядро; 6 – образование гомодимеров и связь с ДНК; 7 – синтез белков; 8 – биологический ответ

ла. Для проявления эффекта необходимо объединение рецепторов в димеры;

- **каналообразующие рецепторы** (лигандзависимые и потенциалзависимые) – построены из нескольких трансмембранных субъединиц, образующих канал в клеточной мембране. Открытие или закрытие такого канала регулируется изменениями трансмембранного потенциала или химическими соединениями (ацетилхолин, глутаминовая кислота). При участии лигандзависимых рецепторов происходит передача сигналов с участием нейромедиаторов;

- **интегрины** – рецепторы, обеспечивающие связь межклеточного матрикса с элементами цитоскелета клетки. Такие рецепторы играют важную роль в механизмах морфогенеза.

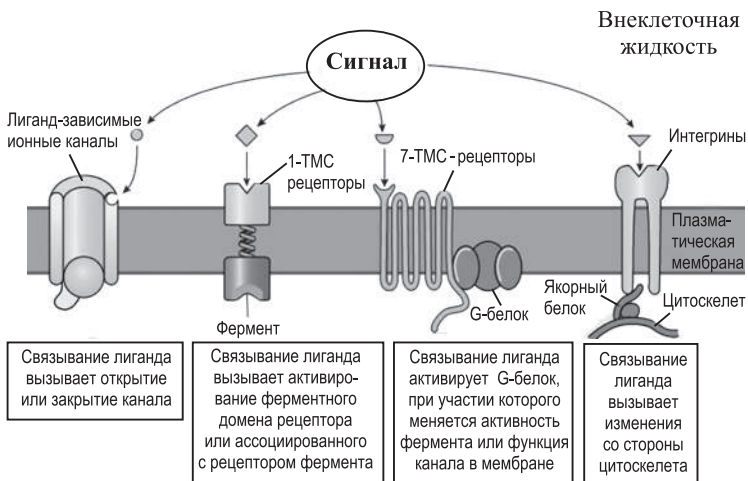


Рис. 9.2. Классификация рецепторов плазматической мембраны

Механизмы передачи сигналов с участием 7-TMC рецепторов. 7-TMC рецепторы ассоциированы с G-белками. Это семейство белков, обладающих ГТФазной активностью и состоящих из трех различных по строению субъединиц – α , β и γ . Такие белки связаны с цитоплазматической поверхностью плазматической мембраны с помощью жирных кислот, которые присоединяются к белку во время его посттрансляционной модификации. α -Субъединица имеет участок связывания гуаниловых нуклеотидов. В неактивном состоянии этот участок связан с ГДФ. После взаимодействия с гормоном сродство к ГДФ в α -субъединице снижается и происходит замена ГДФ на ГТФ. Это вызывает изменение конформации α -субъединицы, которое ослабляет связь с димером $\beta\gamma$ -субъединиц. Высвободившаяся α -субъединица смещается по липидному бислою и взаимодействует с еще одним участником системы передачи сигнала. В зависимости от типа клеток таковым могут быть ферменты (аденилатциклаза, фосфолипаза С, фосфодиэстераза цГМФ) или ионные каналы. Результат взаимодействия – активирование или ингибирование активности фермента, открытие или закрытие канала. В зависимости от эффекта гетеротримерные G-белки можно разделить на несколько типов:

- $G_{\alpha s}$ – активирует аденилатциклазу (β -адренергический рецептор), Ca^{2+} -канал;

- $G\alpha i$ – ингибирует аденилатциклазу (α_2 -адренергические рецепторы) или Ca^{2+} -канал;
- $G\alpha q$ – активирует фосфолипазу C;
- Gt – активирует цГМФ фосфодиэстеразу, снижает количество цГМФ (родопсин);
- G_o – G-белок рецептора обоняния.

Рецепторы для адренокортикотропного гормона, вазопрессина, кальцитонина, кортиколиберина, фолликулостимулирующего гормона, лютеинизирующего гормона, глюкагона, тиреотропного гормона, паратирина, адреналина (β -адренергические рецепторы) активируют белок $G\alpha s$. Ацетилхолин, адреналин (α_2 -адренергические рецепторы), ангиотензин II, соматостатин связываются с рецепторами, которые взаимодействуют с белками $G\alpha i$.

Существует также семейство *мономерных G-белков*. Такие белки не взаимодействуют с рецептором, а замена ГДФ на ГТФ происходит при участии специальных белков ($Grb2$). Одномерные G-белки структурно гомологичны α -субъединице тримерного G-белка. Они являются частью механизма передачи сигнала с участием каскада протеинкиназ (см. механизм передачи сигнала с участием 1ТМС-рецепторов).

Аденилатциклазная система передачи сигнала. После высвобождения из тримерного G-белка α -субъединица, связанная с ГТФ, перемещается по мембране и может взаимодействовать с аденилатциклазой. Аденилатциклаза является мембранным ферментом, который катализирует образование циклической АМФ (цАМФ) из АТФ.

цАМФ – аллостерический активатор цитозольного фермента – протеинкиназы А (ПкА) (рис 9.3). ПкА состоит из двух регуляторных и двух каталитических субъединиц. Молекулы цАМФ взаимодействуют с регуляторными субъединицами. После этого каталитические субъединицы высвобождаются и катализируют фосфорилирование серина или треонина в составе специфических белков или ферментов. В результате изменяется их функциональная способность или активность.

Протеинкиназа А может проникать в ядро, где фосфорилирует и активирует белок (CREB), который, связываясь с цАМФ-зависимой последовательностью нуклеотидов в составе ДНК, регулирует синтез некоторых ферментов, занимающих ключевые позиции в метаболических путях (рис. 9.4).

Инактивация передачи сигнала. ГТФазная активность α -субъединицы в составе G-белка способствует гидролизу

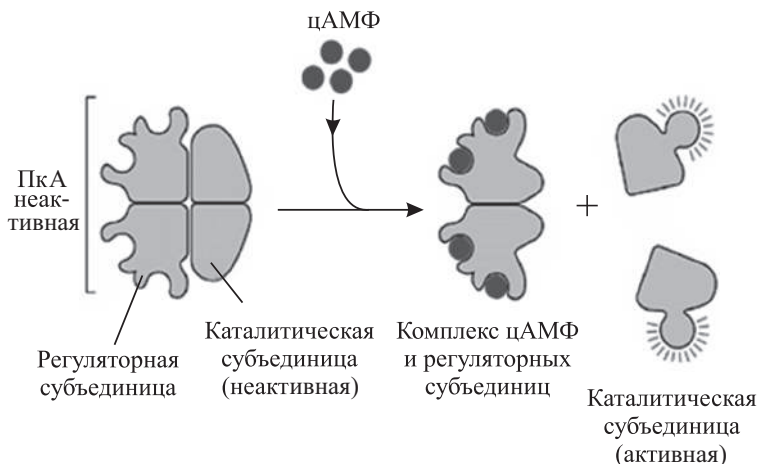


Рис. 9.3. Схема активирования протеинкиназы А при участии цАМФ

ГТФ, и образующаяся ГДФ прочно связывается с α -субъединицей. Вследствие этого сродство последней к аденилатциклазе снижается, и α -субъединица отделяется от аденилатциклазы, связываясь с $\beta\gamma$ -димером. Активность аденилатциклазы возвращается к исходному состоянию, останавливая передачу сигнала. цАМФ в свою очередь разрушается под действием связанного с плазматической мембраной фермента фосфодиэстеразы. При этом количество цАМФ в цитозоле снижается, и активность протеинкиназы А падает. Фосфорилированные протеинкиназой белки дефосфорилируются фосфопроteinфосфатазами, и изменения, вызванные действием гормона, исчезают.

Инозитолфосфатная система передачи сигнала. Gαq-белки активируют фермент, связанный с плазматической мембраной – фосфолипазу С. Этот фермент катализирует в мембране гидролиз фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата. Фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат образуется в мембранах путем двухэтапного фосфорилирования фосфатидилинозитола мембран.

Начальные этапы включения передачи сигнала подобны процессам, протекающим в аденилатциклазной системе. Присоединение гормона вызывает изменение конформации Gαq-белка и замену ГДФ на ГТФ в его α q-субъединице и диссоциацию тримерного белка с высвобождением α q-субъединицы.

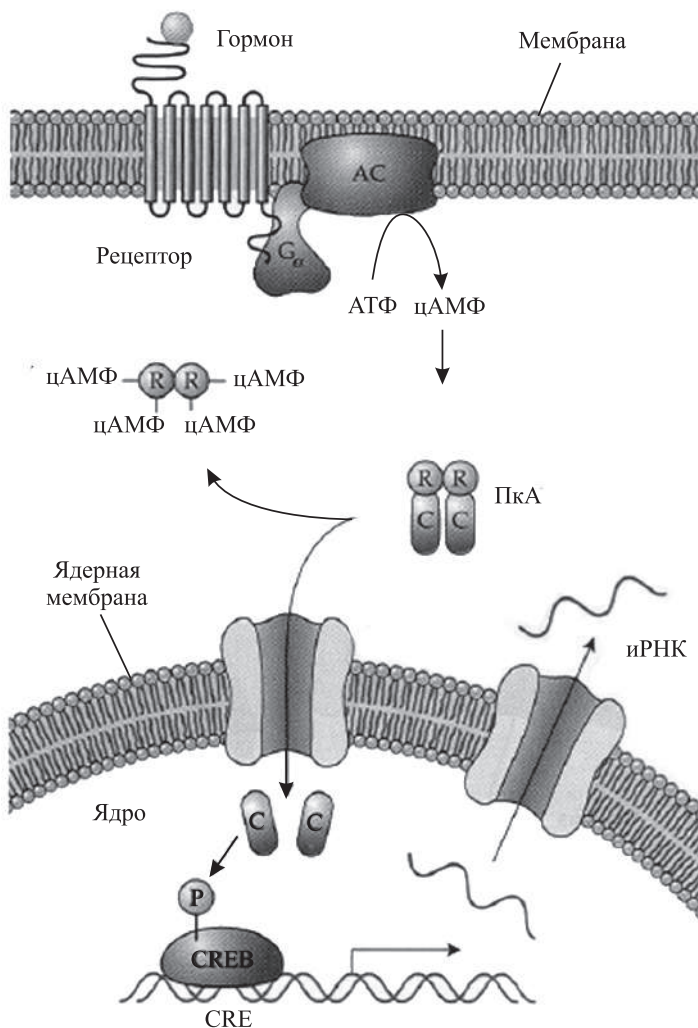


Рис. 9.4. Схема участия протеинкиназы А в регуляции транскрипции: CRE – цАМФ-зависимая последовательность нуклеотидов на ДНК; CREB – белок, связывающийся с CRE; С и R – каталитическая и регуляторная субъединицы протеинкиназы А; АС – аденилатциклаза

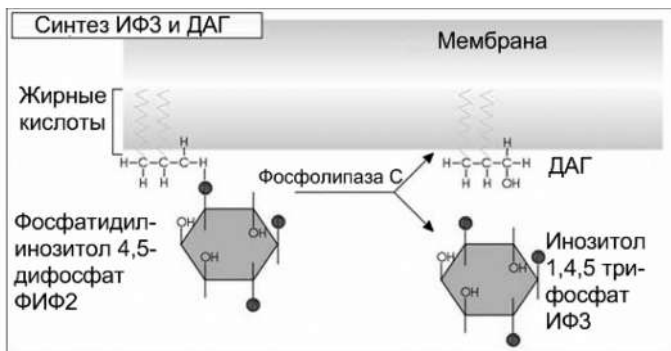


Рис. 9.5. Реакция, катализируемая фосфолипазой С

Высвободившаяся α q-субъединица активирует фосфолипазу С (рис. 9.5). При этом образуются два вторичных посредника – диацилглицерол (ДАГ), который остается в мембране, и инозитол-1,4,5-трифосфат I (ИФ3), переходящий в цитозоль, где он связывается со своим рецептором (кальциевым каналом) на мембранах эндоплазматического ретикулума и способствует высвобождению ионов кальция из депо (рис. 9.6).

Повышение уровня кальция в цитозоле вызывает активирование ряда белков, среди которых важное место занимают ферменты. В состав многих из них входит калмодулин. Калмодулин – белок, молекулярная масса которого составляет 17 000, относится к семейству кальцийсвязывающих белков. Калмодулин имеет четыре специфических места связывания кальция. Присоединение всех четырех ионов кальция ведет к структурной перестройке белка в спиральную форму. Тем самым калмодулин приобретает способность влиять на активность белков, с которыми он связан в составе так называемых сложных белков. С участием кальция и калмодулина регулируется активность таких ферментов, как аденилатциклаза, Ca^{2+} -зависимая протеинкиназа, Ca^{2+} - Mg^{2+} -зависимая АТФаза, Ca^{2+} -фосфолипид-зависимая протеинкиназа, фосфодиэстераза, глицерол-3-фосфат дегидрогеназа, гликогенсинтаза, гуанилатциклаза, миозинкиназа, пируваткарбоксилаза, пируватдегидрогеназа и т.д.

Одновременно ионы кальция связываются с цитозольным ферментом протеинкиназой С. Результатом такого взаимодействия является перемещение протеинкиназы С к плазматиче-

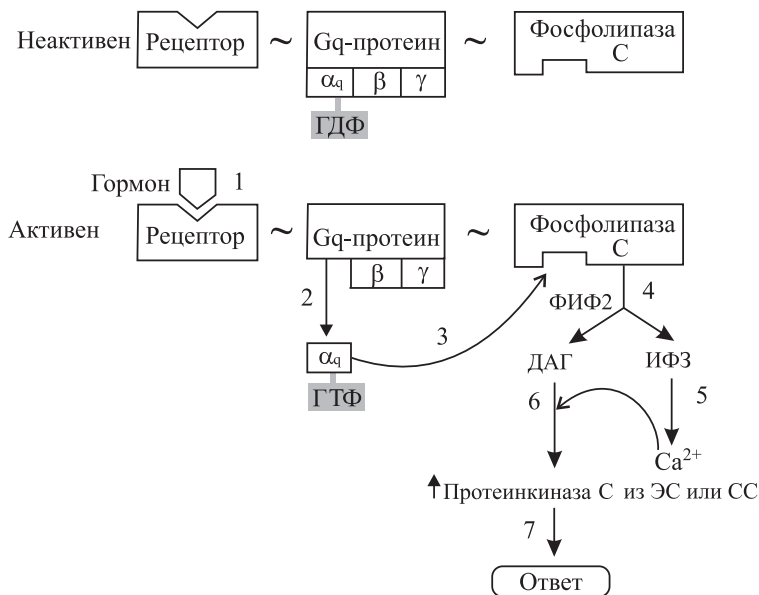


Рис. 9.6. Этапы передачи сигнала с участием инозитолфосфатной системы: 1 – присоединение гормона; 2 – замена ГДФ на ГТФ в α -субъединице и ее высвобождение; 3 – активирование фосфолипазы С; 4 – образование диацилглицерола (ДАГ) и инозитол-3,4,5-трифосфата (ИФ3) из фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата (ФИФ2); 5 – связывание с рецептором (Ca^{2+} -канал) и поступление ионов кальция из эндоплазматического или саркоплазматического ретикулула (на схеме ЭС и СС) в цитозоль; 6 – активирование протеинкиназы С (ПкС); 7 – изменение активности ферментов

ской мембране. Диацилглицерол в мембране повышает сродство протеинкиназы С к ионам кальция, что значительно увеличивает активность этого фермента. Протеинкиназа С катализирует фосфорилирование специфических ферментов и белков (см. рис. 9.6).

Выключение (инактивация) этого сигнального пути во многом напоминает инактивацию аденилатциклазной системы. ГТФазная активность α q-субъединицы катализирует гидролиз ГТФ. Образующаяся ГДФ прочно связывается с α q-субъединицей, которая вновь может образовывать тримерный белок, соединяясь с $\beta\gamma$ -димером.

Ионы кальция удаляются из цитозоля с помощью Ca^{2+} -АТФазы эндоплазматической сети и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ переносчиков плазматических мембран. Снижение уровня ионов

кальция в клетке способствует освобождению калмодулина из ферментов, с которыми он был связан. Активность протеинкиназы С падает. Фосфопротеинфосфатазы катализируют отщепление остатка фосфорной кислоты от белков, и система переходит к исходному состоянию.

цАМФ, диацилглицерол, инозитол-3,4,5-трифосфат, ионы кальция, образующиеся при переносе сигнала с участием 7-TMC рецепторов, называют **вторичными посредниками**. Им принадлежит важная роль в механизмах усиления сигналов.

Механизмы передачи сигналов с участием 1TMC-рецепторов. У 1TMC-рецепторов внутриклеточные участки обладают ферментативной (чаще, тирозинкиназной) активностью или к ним присоединяются (после связывания рецептора с гормоном) белки-ферменты. Непременным условием работы такой системы является образование димеров рецепторов. Важными участниками механизма передачи сигнала служат специфические домены в составе белков. Они способны узнавать и взаимодействовать с другими белками (рис 9.7).

Домены рецептора после присоединения гормона и димеризации рецептора перекрестно катализируют фосфорилирование друг друга или специальные белки – «субстраты» (инсулин или гормон роста). Белки, имеющие в своей структуре домены РТВ, SH2, связываются с фосфорилированными остат-

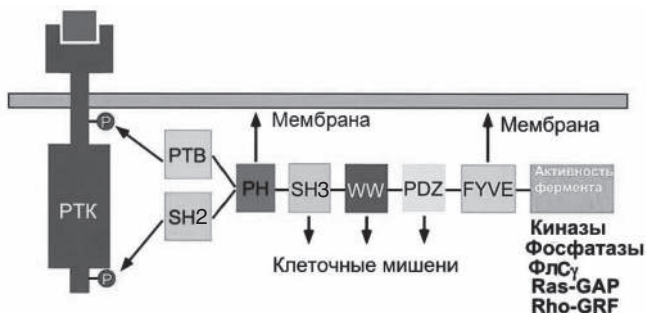


Рис. 9.7. Специфические домены, участвующие в механизмах передачи сигнала с участием 1TMC-рецепторов:

РТК – рецептор с тирозинкиназной активностью; SH2-домен и РТВ-домен связываются с участками, содержащими фосфорилированный тирозин; SH3-домен и WW-домен связываются с участками, богатыми пролином; PDZ-домен связывается с гидрофобными аминокислотами С-концевых отделов белков; PH-домен связывает фосфатидилинозитолы в мембранах клетки; FYVE домен связывает фосфатидилинозитол 3-фосфат

ками аминокислоты тирозина, активируясь при этом. Тем самым включаются внутриклеточные системы передачи сигнала. Участники таких систем внутриклеточного переноса сигнала могут влиять на активность ключевых ферментов метаболизма или, проникая в ядро, изменять синтез ферментов.

На рис 9.8 приведен пример передачи сигнала с участием 1TMC-рецептора (рецептор гормона роста), который сам не обладает ферментативной активностью, но может соединяться с ферментом – протеинтирозинкиназой. Одна из таких киназ – Janus2-киназа (JAK2). Присоединение гормона к рецептору вызывает димеризацию рецептора, затем происходит перекрестное фосфорилирование рецептора с участием JAK2, и присоединяется белок, у которого имеется SH2 домен (активатор транскрипции STAT). STAT белок после присоединения в свою очередь фосфорилируется с помощью JAK2. Вслед за этим происходит димеризация STAT и переход в ядро, где он совместно с другими белками участвует в регуляции экспрессии генов.

Примером механизма передачи сигнала с участием 1TMC-рецептора, внутриклеточный домен которого обладает ферментативной активностью, может служить передача сигнала от инсулина (рис 9.9). Рецептор инсулина состоит из четырех

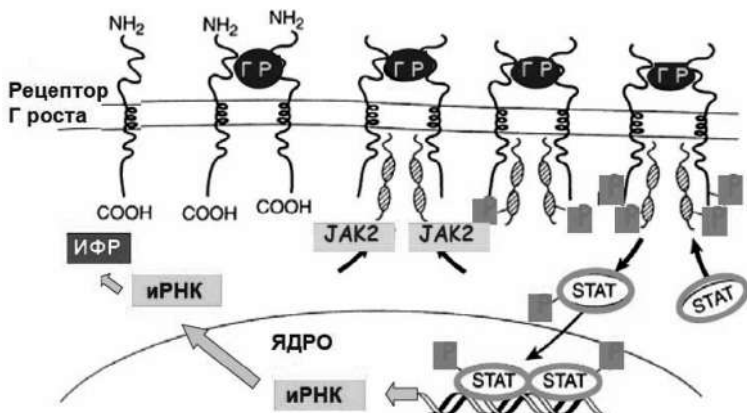


Рис. 9.8. Схематическое изображение механизма действия 1TMC-рецептора с ассоциированной протеинкиназой:

ГР – гормон роста; ИФР – инсулиноподобный фактор роста; JAK2 (Janus2-киназа) – представитель семейства цитозольных протеинтирозинкиназ; STAT (англ. Signal transducer and activators of transcription) – фактор транскрипции

субъединиц (две α - и две β -субъединицы, связанные дисульфидными связями). α -Субъединицы расположены на внешней стороне плазматической мембраны и связываются с инсулином. Цитозольная часть β -субъединиц обладает протеинтирозинкиназной активностью. Присоединение инсулина вызывает изменение конформации рецептора, которое приводит к появлению тирозинкиназной активности у внутриклеточного участка. Происходит перекрестное фосфорилирование специфических остатков тирозина в самом рецепторе, а также специфических белков – субстратов инсулинового рецептора (СИР).

Механизмы передачи сигнала с участием рецептора инсулина многообразны. На рис. 9.9 приводятся два из них.

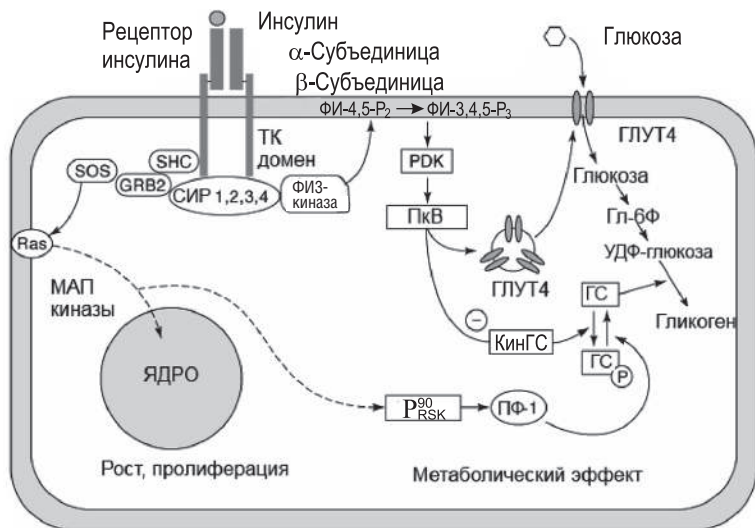


Рис. 9.9. Возможные варианты действия сигнальных систем с участием ИТМС-рецепторов, обладающих протеинтирозинкиназной активностью:

ФИ4,5- P_2 , ФИ3,4,5- P_3 – фосфатидилинозитол ди- и трифосфаты; ТК-домен – домен рецептора инсулина с тирозинкиназной активностью; SHC (Src homology 2 domain containing – англ.) белок, содержащий SH2-домен; SOS (англ. Son of Sevenless) – белок, способствующий обмену гуаниловых нуклеотидов; GRB2 – белок, взаимодействующий с рецепторами факторов роста; Ras – мономерный G-белок; ФИЗ киназа – фосфатидилинозитол-3-фосфаткиназа; PDK – фосфатидилинозитол-зависимая протеинкиназа; ГС – гликогенсинтаза; КинГС – протеинкиназа гликогенсинтазы; P_{RSK}^{90} – протеинкиназа-1, активируемая МАП-киназами; ПФ-1 – протеинфосфатаза-1; СИР 1,2,3,4 – субстраты инсулинового рецептора

1. Появление фосфорилированных остатков тирозина в структуре СИР способствует присоединению к ним белков с SH2 доменами. Один из таких белков – фосфатидилинозитол-3-фосфаткиназа. Этот фермент катализирует фосфорилирование фосфатидилинозитол-4,5 дифосфата в составе липидов плазматической мембраны с образованием фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата. Фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат связывается с другой киназой (фосфатидилинозитол-трифосфатзависимой протеинкиназой – PDK). В составе этого фермента имеется домен РН, который узнает и связывается с фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфат. После связывания фермент становится активным и катализирует присоединение остатков фосфорной кислоты к специфическим остаткам серина и треонина протеинкиназы В. Протеинкиназа В в свою очередь фосфорилирует ряд белков, которые обеспечивают слияние цитозольных везикул, содержащих переносчики глюкозы (ГЛЮТ4), с плазматической мембраной, увеличивая тем самым поступление глюкозы в клетку.

Кроме того, протеинкиназа В катализирует фосфорилирование киназы гликогенсинтазы, что ведет к угнетению ее активности. В результате тормозится процесс фосфорилирования гликогенсинтазы и фермент, тем самым, находится в активном состоянии. Одновременно фосфорилируется и, тем самым, активируется фосфодиэстераза, которая катализирует распад цАМФ и ингибирует гликогенолиз и липолиз.

2. В другом механизме участвуют одномерные G-белки. Он используется рецепторами для многих факторов роста. После взаимодействия гормона с рецептором и фосфорилирования остатков тирозина в составе рецептора и СИР с белком СИР при участии своих SH2-доменов, связывается белок GRB2 (англ. growth receptor binding protein). К нему присоединяется белок, способствующий обмену гуаниловых нуклеотидов (SOS), который ускоряет замену ГДФ на ГТФ на одномерном G-белке (Ras). Смена нуклеотидов изменяет конформацию этого белка и обеспечивает связывание его с каскадной системой трех протеинкиназ (рис. 9.10), которые путем фосфорилирования аминокислот активируют друг друга. В результате образуется активная форма так называемой МАП-киназы (митоген-активируемой протеинкиназы). Активная МАП-киназа катализирует фосфорилирование множества цитозольных и ядерных белков, участвующих в регуляции роста и пролиферации клеток, различных путей метаболизма.

Таблица 9.1. Характеристики некоторых гормонов гипоталамуса

Гормон	Состав	Вторичный посредник	Период полураспада
Гонадолиберин	10 аминокислот	ИФЗ/Са/ДАГ	5–7 мин
Кортиколиберин	41 аминокислота	↑цАМФ	60 мин
Соматолиберин	44 аминокислоты	↑цАМФ	Около 7 мин
Соматостатин	14 аминокислот	↓цАМФ	3–4 мин
Тиреолиберин	3 аминокислоты	ИФЗ/Са/ДАГ	3–4 мин

В нейронах ядер гипоталамуса синтезируются также два гормона, которые транспортируются системой нейронального транспорта к нервным окончаниям, формирующих заднюю долю гипофиза и хранятся там: *вазопрессин* и *окситоцин* (см. ниже).

Гормоны гипофиза. *Передняя доля гипофиза* (аденогипофиз) – место образования трех семейств гормонов: семейство пролактина (пролактин и соматотропный гормон); семейство гормонов гликопротеинов (тиреотропный гормон, фолликулостимулирующий и лютеинизирующий гормоны) и семейство проопиомеланокортина (адренотропный гормон, β-липотропин). Эти гормоны регулируют секрецию гормонов другими железами внутренней секреции.

Соматотропин (гормон роста) – белок, состоящий из 191 аминокислоты, влияет на рост и развитие костной и мышечной систем организма. Это их действие опосредовано взаимодействием гормона в клетках печени с ТМС-рецептором и образованием там инсулиноподобных факторов роста. Кроме того, гормон роста оказывает влияние на жировую ткань, стимулируя липолиз. Изменения секреции в детском возрасте приводят к гигантизму или карликовости, а в сформировавшемся организме повышение синтеза гормона ведет к акромегалии.

Лактотропин (пролактин) – белок, состоящий из 197 аминокислот, стимулирует синтез белков и липидов грудного молока, развитие молочных желез, лактацию, рост внутренних органов. Гормон вызывает регрессию желтого тела, тормозит синтез и секрецию гонадолиберина, ингибирует сперматогенез.

Опухоли, состоящие из пролактин-секретирующих клеток, вызывают у женщин аменорею (прекращение менструаций) и галакторею (истечение молока из грудных желез). С избыт-

ком пролактина связаны гинекомастия (увеличение грудных желез) и импотенция у мужчин.

Семейство гликопротеинов. Тиреотропин (ТТГ), молекулярная масса 30 кД, регулирует синтез гормонов щитовидной железы на всех этапах от поступления йода до секреции гормона; при продолжительном действии стимулирует синтез белков, фосфолипидов и нуклеиновых кислот, что приводит к увеличению размеров и количества тиреоидных клеток.

Фоллитропин (фолликулостимулирующий гормон) стимулирует секрецию эстрогенов фолликулярными клетками. В клетках Сертоли активирует синтез андрогенсвязывающего белка. Стимулирует рост семенных канальцев и сперматогенез.

Лютропин (лютеинизирующий гормон) стимулирует образование прогестерона клетками желтого тела и тестостерона — клетками Лейдига. Пик секреции гормона в середине менструального цикла индуцирует овуляцию у женщин. В интерстициальных клетках яичек лютропин индуцирует образование андростендиона, дегидроэпиандростерона и тестостерона.

Гормоны семейства гликопротеинов действуют на клетки-мишени через 7ТМС-рецепторы, G-белки которых активируют фосфолипазу С.

Семейство проопиомеланокортина. Проопиомеланокортин — синтезируется не только в гипофизе, но и в других отделах мозга, а также коже и репродуктивных органах. Его процессинг включает гликозилирование, ацетилирование и ограниченный протеолиз. Основными продуктами протеолиза проопиомеланокортина являются кортикотропин и β -липотропин.

Кортикотропин (адренокортикотропный гормон), состоит из 39 аминокислот, оказывает влияние на развитие коры надпочечников и секрецию стероидных гормонов. Гормон взаимодействует с 7ТМС-рецепторами клеток коры надпочечников и с помощью аденилатциклазного механизма способствует повышению поступления холестерина в митохондрии, где начинается синтез кортикостероидов. Он также повышает скорость синтеза ферментов, участвующих в синтезе гормонов. Гормон секретируется в ритмическом режиме. Пик секреции приходится на 6–8 ч утра, в момент пробуждения. При стрессе концентрация кортикотропина в крови возрастает во много раз.

Липотропины (липотропные гормоны) оказывают жиरोmobilizующее действие. Один из липотропинов, β -липотропин,

при гидролизе становится источником образования ряда пептидов, обладающих обезболивающим эффектом (**эндорфины, энкефалины**).

Нейрогипофиз. В гипоталамусе секретируются и поступают с нейросекретом в заднюю долю гипофиза два гормона: *вазопрессин* (антидиуретический гормон) и *окситоцин*. Эти гормоны образуются из прогормонов, похожи по структуре, являются небольшими пептидами (нанопептидами), которые различаются двумя аминокислотами.

Влияние вазопрессина на клетки-мишени обусловлено взаимодействием гормона с 7ТМС-рецепторами. В одних клетках такие рецепторы ассоциированы с Gαq-белком, активирующим фосфолипазу С. Именно этот механизм опосредует сосуживающий эффект. В клетках почек вазопрессин связывается с 7ТМС-рецепторами, ассоциированными с Gαs-белком. В результате активируется аденилатциклаза, что приводит к увеличению числа аквапоринов, встроенных в мембраны дистальных канальцев и собирательных трубочек почек. Тем самым повышается реабсорбция воды (антидиуретический эффект).

При недостаточности вазопрессина развивается заболевание – несахарный диабет (НД), которое характеризуется выделением большого объема мочи низкой плотности (гипотоническая полиурия). Экскреция мочи обычно возрастает до 3–6 л, достигая в крайних случаях 15–18 л. Компенсаторно развивается чувство жажды, которое приводит к потреблению большого количества жидкости.

Гормоны поджелудочной железы. Эндокринные клетки этой железы синтезируют разнообразные сигнальные молекулы (табл. 9.2), две из которых занимают ключевые позиции в регуляции метаболических путей – *инсулин* (β-клетки) и *глюкагон* (α-клетки).

Таблица 9.2. Сигнальные молекулы, синтезируемые и секретируемые клетками островков поджелудочной железы

Типы клеток	Продукт секреции
A (α)	Проглюкагон, глюкагон, подобные глюкагону пептиды (GLP-1, GLP-2)
B (β)	Инсулин, С пептиды, проинсулин, амилин, ГАМК
D (δ)	Соматостатин
F (PP)	Панкреатический пептид

Инсулин состоит из двух небольших пептидов, соединенных дисульфидными мостиками (51 аминокислота); образуется из проинсулина (81 аминокислота).

Основным сигналом, стимулирующим секрецию инсулина, является повышение уровня глюкозы или аминокислот в крови. В этом случае глюкоза поступает в В клетки. Там усиливается ее окисление, в результате увеличивается уровень АТФ. АТФ ингибирует работу K^+ -канала, накапливаются ионы калия, что приводит к деполяризации мембран В клеток и усиленному притоку ионов кальция, которые стимулируют экзоцитоз инсулина.

Инсулин синтезируется в форме препроинсулина, после удаления сигнального пептида в цистернах эндоплазматической сети образуется проинсулин. Проинсулин поступает в комплекс Гольджи, где упаковывается в секреторные гранулы и формирует свою нативную структуру, стабильность которой поддерживается двумя дисульфидными связями. Специфические эндопептидазы катализируют гидролиз пептидных связей, высвобождая среднюю часть проинсулина (пептид С). Оставшиеся два пептида, обозначаемые как пептиды А и В, связаны дисульфидными связями. В секреторных гранулах инсулин хранится в форме гексамеров, в образовании которых принимают участие ионы цинка.

Секретируемый инсулин попадает в кровь портальной системы печени, клетки которой разрушают около 60% поступающего инсулина. В других клетках-мишенях инсулин также разрушается путем протеолиза. Время полураспада в крови составляет 7–15 мин.

Внутриклеточные механизмы передачи сигнала с участием рецептора инсулина описаны выше. Снижение уровня глюкозы в крови достигается путем увеличения переносчиков глюкозы GLUT4 в плазматических мембранах адипоцитов и миоцитов, а также активированием ферментов, участвующих в синтезе гликогена в печени. Повышается активность и увеличивается синтез ключевых ферментов гликолиза, тормозится активность ключевых ферментов глюконеогенеза. В мышечной и жировой тканях инсулин тормозит распад и усиливает образование белков, липидов. Более подробная информация о влиянии инсулина на регуляцию активности ферментов приведена в гл. 10.

При нарушении образования инсулина или снижении чувствительности к нему рецепторов развивается заболевание

сахарный диабет. Сахарный диабет сопровождается повышением уровня глюкозы в крови и моче, высоким диурезом и другими проявлениями (см. гл. 5).

Глюкагон – пептид, включающий 29 аминокислотных остатков, синтезируется А клетками островковой части поджелудочной железы в составе большого белка-предшественника. При участии специфических пептидаз происходит гидролиз пептидных связей с высвобождением глюкагона и глюкагоноподобных пептидов. Глюкагон синтезируется также клетками кишечника и нейронами мозга. Синтез и секреция глюкагона усиливаются при понижении уровня глюкозы в крови.

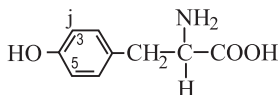
В крови он может транспортироваться в комплексе с белками, что увеличивает время его полураспада. Подобно инсулину глюкагон поступает в печень, где значительная часть его разрушается.

Рецептор глюкагона относится к семейству 7ТМС-рецепторов, ассоциированных с Gαs-белками. Вторичным посредником глюкагона является цАМФ. Он активирует протеинкиназу А в клетках печени и адипоцитах. В гепатоцитах это усиливает гликогенолиз, снижает утилизацию глюкозы и синтез гликогена, повышает глюконеогенез и образование кетонových тел. В адипоцитах протеинкиназа А катализирует фосфорилирование гормонзависимой липазы, что повышает ее активность. Протеинкиназа А также участвует в фосфорилировании белков – регуляторов транскрипции генов, кодирующих ключевые ферменты глюконеогенеза, способствуя их синтезу.

Гормоны щитовидной железы. В фолликулярных клетках железы синтезируются йодсодержащие гормоны, производные аминокислоты тирозина – *тироксин* (Т4) и *трийодтиронин* (Т3) (рис. 9.11), а в парафолликулярных – гормон пептидной природы *кальцитонин*.

Образование йодсодержащих гормонов начинается с синтеза белка тиреоглобулина, содержащего 125 остатков тирозина, из которых около 1/3 участвуют в йодировании. Синтезированный в эндоплазматической сети клеток фолликулов белок секретируется путем экзоцитоза в просвет фолликула. Йодиды поступают в фолликулярную клетку из крови с помощью специального белка, обеспечивающего симпорт йодидов с Na^+ . Этот процесс активируется тиреотропином. Градиент ионов натрия в клетке поддерживается при этом $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{АТФазой}$.

Моноидтирозин (МИТ)



Дийодтирозин (ДИТ)

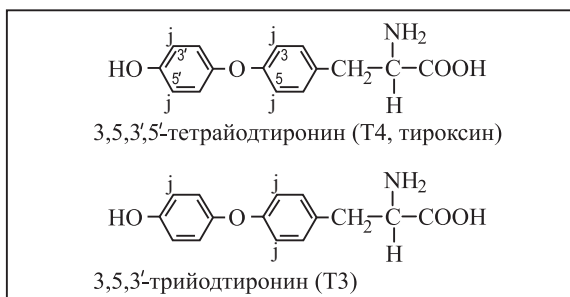
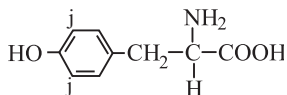


Рис. 9.11. Йодированные формы тирозина и йодсодержащие гормоны щитовидной железы

Фермент апикальной мембраны клетки фолликула *пероксидаза* катализирует окисление йодид-иона и присоединение йода к остаткам тирозина тиреоглобулина с образованием моноидтирозина и дийодтирозина (ДИТ). Пероксидаза катализирует также конденсацию моно- и дийодтирозинов с образованием 3,5,3'-трийодтиронина (Т3) и 3,5,3',5' – тетрайодтиронина (Т4) в составе тиреоглобулина (рис. 9.12). Йодированный тиреоглобулин поступает путем эндоцитоза в фолликулярные клетки, где при участии ферментов лизосом происходит его гидролиз с высвобождением Т3 и Т4 в кровь. Свыше 95% от общего количества секретируемых гормонов составляет Т4.

В крови гормоны транспортируются с помощью тироксинсвязывающего глобулина (около 70%), альбумина плазмы (около 15%), транстиретина (около 10%). Активными считаются свободные гормоны крови. В клетки они поступают с помощью специальных белков-переносчиков.

В регуляции синтеза гормонов щитовидной железы ведущую роль играет гипоталамо-гипофизарная система. Тиреолиберин гипоталамуса и тиреотропин гипофиза стимулируют синтез и секрецию йодсодержащих гормонов щитовидной железы. Гормоны щитовидной железы в свою очередь тормозят секрецию и синтез тропных гормонов и тиреолиберина.

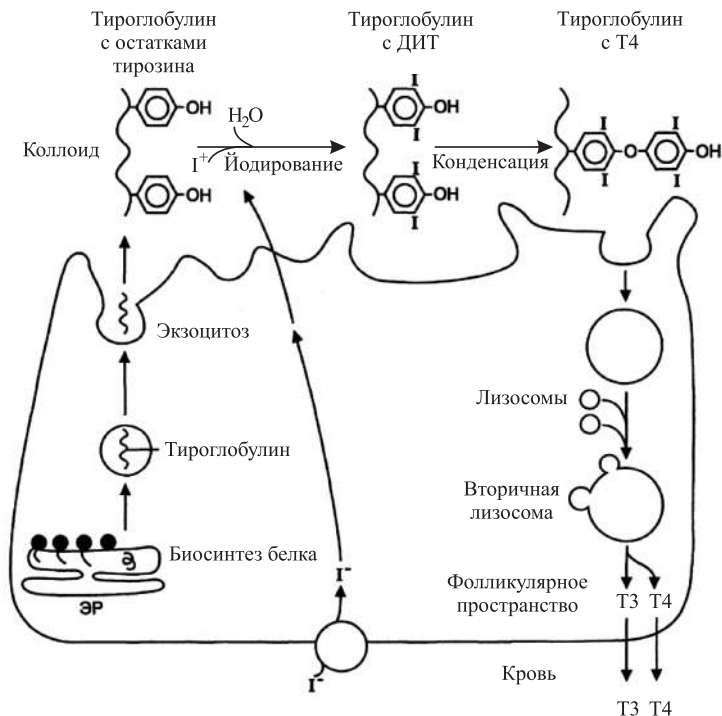


Рис. 9.12. Схема синтеза Т3 и Т4

В органах мишенях Т4 дейодируется с образованием Т3. Выделено несколько форм дейодаз. 5'-дейодазы катализируют образование активного Т3 гормона, а 5-дейодаза катализирует преобразование Т4 в неактивную форму rТ3 (реверсивная) – неактивную форму гормона. В состав дейодаз входит селен. В основе катаболизма гормонов лежит дейодирование.

Рецептор гормонов щитовидной железы – это классический ядерный рецептор (рис. 9.13). Т3 поступает в ядро, где связывается со своим рецептором. Для взаимодействия с ДНК комплекс гормон – рецептор образует димер. При этом могут формироваться гомодимеры или гетеродимеры с другим ядерным рецептором, связанным с 9-цис-ретиноевой кислотой. Образующиеся димеры взаимодействуют с определенными последовательностями нуклеотидов в составе ДНК (их называют «респонсивные элементы»), которые связаны с генами,

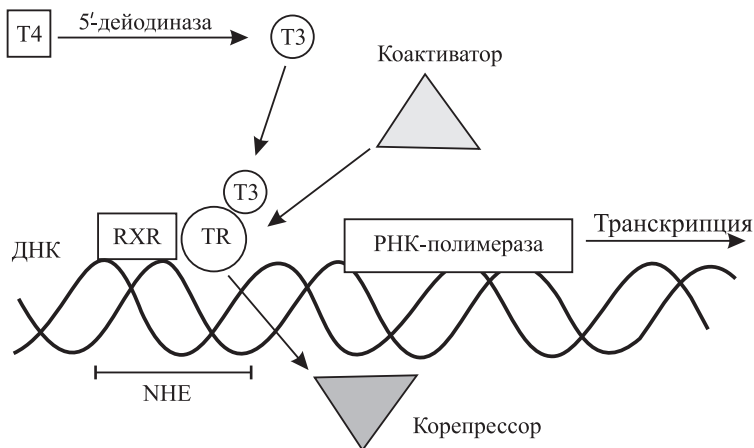


Рис. 9.13. Основные этапы механизма влияния Т3 на клетку мишень:

Т3 – трийодтиронин; Т4 – тироксин; RXR – ядерный рецептор, связанный с 9-цис-ретиноевой кислотой; TR – ядерный рецептор, связанный с трийодтиронином; TRE – участок ДНК, с которым связывается димер рецептора трийодтиронина и ретиноевой кислоты; коактиватор и корепрессор – белки, регулирующие скорость транскрипции участка ДНК

кодирующими различные белки – участники метаболических процессов, роста и пролиферации клеток.

При участии коактиваторов (см. рис. 9.13) гормон щитовидной железы стимулирует транскрипцию генов, кодирующих синтазу жирной кислоты, гормон роста, малик-фермент, основной белок миелина, тяжелую цепь миозина, фосфоенолпируваткарбоксикиназу, липогенные ферменты, белки – разобщители окислительного фосфорилирования. При участии корепрессоров Т3 тормозит образование пролактина, ТТГ, рецептора эпидермального фактора роста и др. К настоящему времени установлено наличие рецепторов для гормонов щитовидной железы в митохондриях и плазматической мембране.

Йодсодержащие гормоны оказывают выраженное влияние на умственное и физическое развитие человека, регулируют метаболические процессы в нервной, сердечно-сосудистой, мышечной системах, влияют на иммунную систему, изменяют свойства мембран, интенсивность биоэнергетических реакций. В физиологических концентрациях они увеличивают количество и размеры митохондрий в мышцах. В печени увели-

чивается синтез ферментов системы тканевого дыхания. В высоких дозах эти гормоны оказывают разобщающий эффект на тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование.

Гипертиреоз – состояние, развивающееся при избытке Т3 и Т4. Причинами его могут быть повышение продукции тиреоидных гормонов, ослабление прочности связи тироксина с тироксинсвязывающим глобулином, снижение метаболизма гормонов щитовидной железы или повышение чувствительности тканей-мишеней к их действию. Наиболее часто встречается диффузный токсический зоб (Базедова болезнь, болезнь Грейса).

Базедова болезнь проявляется рядом типичных признаков: увеличением щитовидной железы, пучеглазием, повышением основного обмена, усилением теплопродукции, тахикардией, дрожанием пальцев рук, повышением психической возбудимости. Эти и многие другие патологические явления обусловлены действием избыточного количества Т3 и Т4.

При избытке тироксина и трийодтиронина происходит увеличение числа митохондрий в клетке, их набухание, повышение активности ряда ферментов биологического окисления (сукцинатдегидрогеназы, цитохромоксидазы, α -глицерофосфатдегидрогеназы), Na^+ , K^+ -АТФазы и др.

Отрицательный азотистый баланс при тиреотоксикозе свидетельствует о преобладании катаболизма белков. Вследствие усиленного распада гликогена в печени и мышцах отмечается гипергликемия. Утилизация глюкозы тканями ускорена, активность гексокиназы повышена. Избыток тиреоидных гормонов тормозит переход углеводов в жиры, ускоряет распад холестерина и его утилизацию в тканях, интенсифицирует окисление липидов в печени, а также повышает чувствительность жировой ткани к липолитическому действию адреналина. Следствием этих изменений является усиленная мобилизация липидов из депо, похудание больных тиреотоксикозом, гипохолестеролемия, кетонемия.

Гипотиреоз – стойкое снижение функциональной активности щитовидной железы. Этиологическими факторами развития гипотиреоза являются врожденные дефекты биосинтеза тиреоидных гормонов, врожденная гипоплазия или аплазия щитовидной железы, аутоиммунные и инфекционные воспалительные процессы в железе, удаление значительной части железы при хирургических вмешательствах, повреждение же-

лезы тиреостатическими препаратами, радиоактивное заражение местности, недостаточное поступление в организм йода.

Различают раннюю врожденную форму гипотиреоза с выраженным нарушением психоинтеллектуального развития – кретинизм и позднюю форму приобретенного гипотиреоза – микседему. При кретинизме страдает дифференцировка ткани головного мозга, нарушается синтез короткоживущих РНК, связанных с формированием памяти, замедляется образование синаптических связей в формирующемся мозге. Слабоумие при кретинизме глубокое, с неспособностью к обучению и самообучению.

Микседема характеризуется плохим аппетитом, запорами, ожирением, гиперхолестеролемией. При дефиците тиреоидных гормонов уменьшается продукция предсердного натрийуретического полипептида. Создается тенденция к задержке натрия и воды в организме. Замедляется распад гликозаминогликанов. Их гидрофильные скопления в коже, подкожной клетчатке, голосовых связках, языке, некоторых внутренних органах задерживают в этих тканях воду, чем способствуют слизистому отеку и утолщению кожи, огрублению лица. Микседема сопровождается увеличением языка, расширением границ сердца, водянкой серозных полостей. Многие случаи микседемы обусловлены аутоиммунным процессом.

Гормоны – регуляторы обмена кальция. Концентрация кальция во внеклеточной жидкости – около 5 ммоль/л. Внутриклеточная концентрация ионов кальция значительно ниже и составляет 0,1–10 мкмоль/л, несколько выше она внутри клеточных органелл – 1–20 мкмоль/л. О наличии градиента концентрации кальция и трансмембранного электрического градиента свидетельствует 5000–10 000-кратное различие.

Кальций выполняет роль внутриклеточного посредника в действии гормонов благодаря нескольким механизмам. Один из них – это возможность быстрого изменения концентрации кальция, что является необходимым условием для выполнения функции посредника. Другим механизмом является способность кальция регулировать активность фосфодиэстеразы и, тем самым, уровень цАМФ в клетке.

В кальциевый гомеостаз включаются три гормона. *Паратиреоидный гормон (ПТГ)* – пептид, содержащий 84 аминокислотных остатка. Этот гормон не содержит углеводов или других молекул. Биологической активностью обладает N-концевой отдел (1–34 аминокислоты). Остатки аминокислот 25–34 отвечают за связывание с рецептором.

Функции ПТГ:

- увеличивает растворение костной ткани, включая органический и неорганический компоненты, тем самым увеличивая выход кальция в кровь;
- уменьшает выделение кальция почками, задерживая его в крови;
- увеличивает эффективность всасывания кальция в кишечнике, способствуя образованию кальцитриола.

Быстрый эффект достигается действием на почки, но количественно эффективнее влияние его на кость, поэтому, восполняя недостаток кальция при кальциевом голодании, паратирин разрушает кость. Влияя на выход кальция из костей, паратирин одновременно увеличивает и выход фосфатов, при этом происходит усиление выведения фосфатов почками, т.е. ПТГ, увеличивая уровень кальция, снижает уровень фосфатов, предотвращая пересыщение ими крови.

Недостаточность ПТГ – гипопаратиреоз. Биохимическими признаками его являются снижение кальция и увеличение фосфатов в крови, что приводит к тетаническим судорогам. Тяжелая острая гипокальциемия вызывает паралич дыхательных мышц, ларингоспазм, тяжелые конвульсии и смерть. Хроническая гипокальциемия приводит к кожным изменениям, катаракте и кальцификации базальных ганглиев мозга. Наиболее частые причины – хирургическое удаление паратимических желез или их повреждение во время операции (вторичный гипопаратиреоз), а также аутоиммунное повреждение (первичный гипопаратиреоз).

Гиперпаратиреоз – избыточная продукция ПТГ обычно связана с аденомой железы, но может быть следствием гиперплазии железы и эктопической продукции ПТГ злокачественной опухолью. Это проявляется повышением в плазме крови уровня ионизированного кальция, ПТГ и гипофосфатемией. При хроническом гиперпаратиреозе наблюдаются интенсивная резорбция кости и различные почечные нарушения, такие как почечные камни, нефрокальциноз, инфекция мочевыводящих путей, в тяжелых случаях снижается функция почек.

Вторичный гиперпаратиреоз связан с гиперплазией железы и гиперсекрецией ПТГ, но может наблюдаться у больных с прогрессирующей почечной недостаточностью. В этом случае он обусловлен снижением превращения 25-гидроксид- D_3 в 1,25-дигидроксид- D_3 в пораженной почечной паренхиме, что

приводит к уменьшению всасывания кальция в кишечнике и выведения ПТГ для поддержания уровня кальция в крови.

Кальцитриол (1,25 – дигидроксиколекальциферол) – см. витамин D (гл. 11).

Кальцитонин – пептид, содержащий 32 аминокислотных остатка, секретируется парафолликулярными клетками щитовидной железы. Для проявления действия необходима вся молекула. Существует межвидовое различие в аминокислотной последовательности (между 14 и 32 аминокислотами).

Секреция гормона линейно увеличивается при повышении уровня кальция от 2,3 до 3,7 ммоль/л. Глюкагон усиливает секрецию кальцитонина.

Хотя строение и синтез гормона изучены, роль его остается неизвестной. Удаление щитовидной железы обычно не сопровождается повышением кальция в крови, а введение гормона здоровому человеку не снижает уровень кальция. Первичным органом-мишенью гормона является кость, где снижается резорбция под влиянием гормона, при этом уменьшается высвобождение кальция и фосфора. Этот эффект не зависит от ПТГ. Гормон повышает поступление фосфора в кость, а уже вторично – кальция.

Пока не было описано клинических проявлений недостаточности кальцитонина. Избыток гормона бывает при мелллярной тиреоидной карциноме, которая может быть приобретенной или наследуемой. Уровень гормона при этом возрастает в тысячи раз, однако гипокальциемия проявляется редко. Необычайно высокий уровень кальцитонина является диагностическим признаком этого тяжелого и пока фатального заболевания.

Гормоны надпочечников. Мозговой слой. Хромаффинные клетки мозгового вещества надпочечников синтезируют и секретируют *адреналин* и *норадреналин* – гормоны, производные аминокислоты тирозина (рис. 9.14).

Тирозин превращается в адреналин в несколько этапов (рис. 9.14). Ключевым ферментом синтеза является тирозингидроксилаза. Она найдена только в надпочечниках и нервных окончаниях катехоламинэргических нейронов. Ее активность ингибируется норадреналином, а синтез индуцируется кортизолом. Дигидроксифенилаланин, который образуется с участием этого фермента, декарбоксилируется с образованием дофамина. Затем дофамин гидроксилируется с образованием

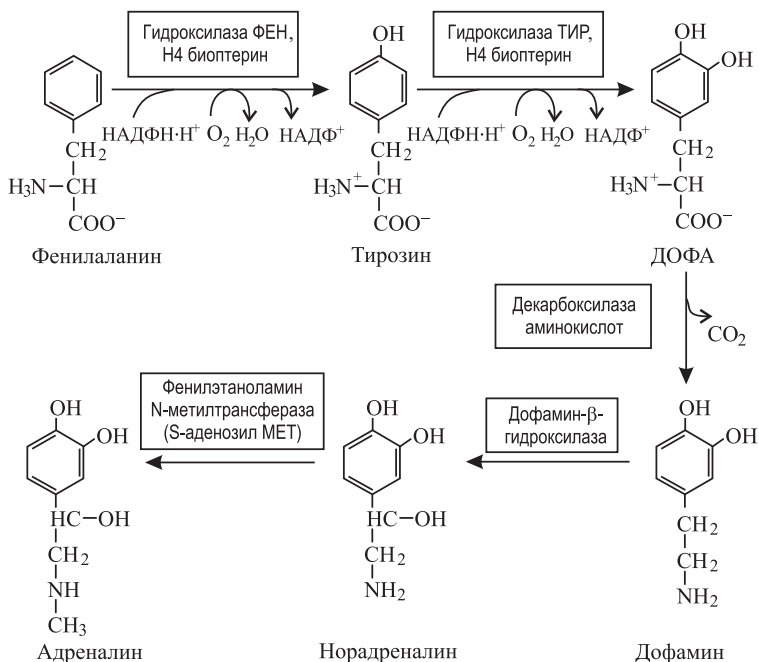


Рис. 9.14. Этапы синтеза норадреналина и адреналина

норадреналина. В этой реакции участвует витамин С. Норадреналин метилируется с участием активного метионина (S-аденозилметионина – SAM). Образовавшийся адреналин может храниться в секреторных гранулах.

Рецепторы адреналина относятся к семейству 7ТМС-рецепторов и широко распространены в клетках разных органов. Различают несколько типов таких рецепторов (табл. 9.3).

Таблица 9.3. Основные рецепторы адреналина

Рецептор	Тип G белка	Вторичный посредник	Эффект
1	2	3	4
$\alpha 1$	G α_q	Инозитолтрифосфат, Ca $^{2+}$	Сокращение сосудов (брюшная полость) Активирование гликогенолиза
$\alpha 2$	G α_i	↓цАМФ	Торможение гликолиза (адипоциты). Торможение секреции инсулина

1	2	3	4
$\beta 1$	G α s	\uparrow цАМФ	Активирование гликогенолиза и глюконеогенеза в печени. Повышение секреции инсулина. Увеличение силы сердечных сокращений
$\beta 2$	G α s	\uparrow цАМФ	Активирование липолиза в жировой ткани, дилатация мышечных сосудов
$\beta 3$	G α s	\uparrow цАМФ	Активирование липолиза в буром жире. Усиление термогенеза

Адреналин обладает выраженным физиологическим действием: увеличивает силу и частоту сердечных сокращений, повышает кровяное давление. Влияние на метаболизм проявляется прежде всего через активирование гликогенфосфоорилазы в печени и мышцах, жиромобилизующей липазы в жировой ткани. Действие этого гормона направлено на мобилизацию резервов организма в условиях стрессовых ситуаций. Это был первый гормон, изучение механизма действия которого привело к открытию цАМФ и других участников систем переноса сигнала с участием аденилатциклазы.

В крови адреналин транспортируется в свободной или связанной с сульфатом формах. Время полураспада составляет около 2 мин. Распад катехоламинов протекает, главным образом, под влиянием двух ферментных систем: катехол-О-метилтрансферазы (КОМТ) и моноаминоксидазы (МАО). Под действием КОМТ в присутствии донора метильных групп, S-аденозилметионина, катехоламины превращаются в норметанефрин и метанефрин (3-О-метилпроизводные норадреналина и адреналина). Те в свою очередь под влиянием МАО переходят в альдегиды и далее (в присутствии альдегидоксидазы) – в ванилилминдальную кислоту, основной продукт распада норадреналина и адреналина (рис. 9.15).

Гормоны коры надпочечников. В корковом слое образуются три группы гормонов: глюкокортикоиды (*кортизол* и *кортикостерон*) – в клетках пучковой зоны, минералокортикоиды (*альдостерон*) – в клетках клубочковой зоны, половые гормоны в небольших количествах – в клетках сетчатой зоны. Исходным субстратом для их образования служит холестерол, который синтезируется *de novo* в самих клетках или который доставляют в клетку липопротеины низкой плотности.

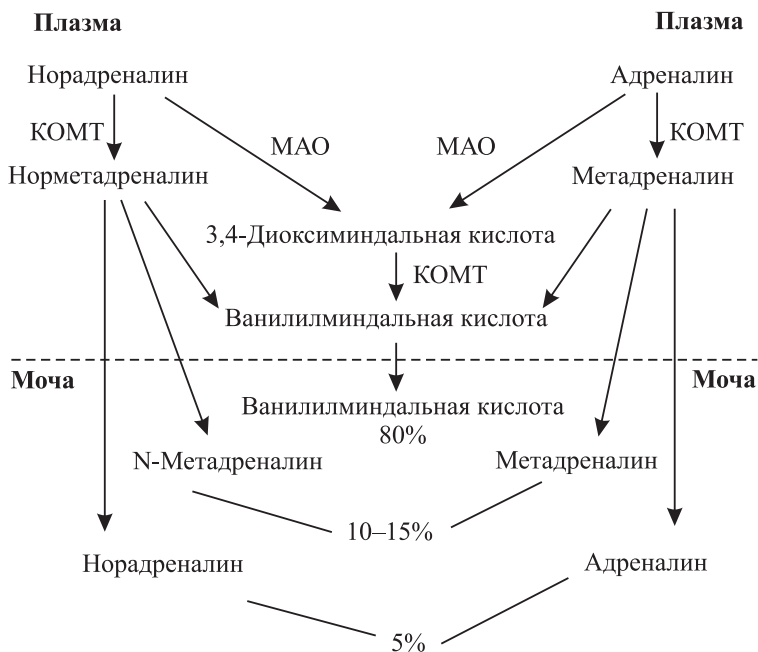


Рис. 9.15. Механизмы распада катехоламинов

Кортикотропный гормон, связывающийся с 7-TMC рецептором, инициирует аденилатциклазный механизм передачи сигнала. Образующаяся цАМФ активирует протеинкиназу А, которая в свою очередь ускоряет гидролиз эфиров холестерина и фосфорилирование белка, обеспечивающего перенос холестерина в митохондрию (StAR белок, англ. Steroidogenic acute regulatory protein). При участии десмолазы, катализирующей отщепление части боковой цепи холестерина, образуется прегненолон – основной предшественник гормонов стероидной природы.

Глюкокортикоиды. Их секреция контролируется системой кортиколиберин – кортикотропин. В гладком эндоплазматическом ретикулуме клеток пучковой зоны *прегненолон* подвергается ряду превращений с образованием 11-дезоксикортизола, который в митохондриях гидроксилируется с образованием *кортизола* (рис. 9.16).

В кровотоке транспорт около 95% всех глюкокортикоидов осуществляет белок – транскортин. Небольшое количество

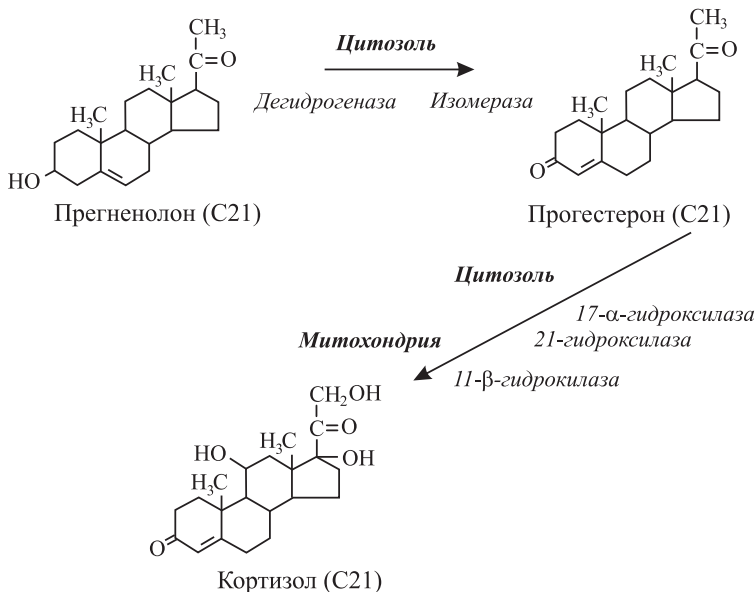


Рис. 9.16. Этапы синтеза кортизола

переносится альбумином. В клетках-мишенях глюкокортикоиды связываются с цитозольными рецепторами, переходят в ядро, формируют гомодимеры, которые взаимодействуют с определенными последовательностями нуклеотидов в составе ДНК (респонсивными элементами). Этим достигается участие в регуляции транскрипции специфических генов. К примеру, стимулируется транскрипция генов, кодирующих ключевые ферменты глюконеогенеза, снижается интенсивность синтеза белков, принимающих участие в формировании воспалительной реакции.

В больших дозах эти гормоны оказывают влияние на водно-минеральный обмен, повышая реабсорбцию натрия и выведение калия почками. Это в свою очередь вызывает замедление выведения воды из организма.

Глюкокортикоиды участвуют в развитии стрессовой реакции, оказывают противовоспалительное действие, вызывают инволюцию лимфоидной ткани.

Патологические состояния, связанные с нарушением образования глюкокортикоидов. Болезнь (синдром) Иценко – Кушинга представляет собой сово-

купность клинических симптомов, вызванных избыточным образованием гормонов коркового вещества надпочечников. Термин «синдром Иценко – Кушинга» применяют к состоянию, причиной которого является избыточный синтез гормонов (глюкокортикоидов) клетками корковой части надпочечника, а термин «болезнь Иценко – Кушинга» – для таких же проявлений заболевания, но вызванных гиперпродукцией тропных гормонов гипофиза или релизинг-гормонов гипоталамуса. Клинически заболевание проявляется ожирением, гипертонией, остеопорозом, гипофункцией половых желез, вторичным сахарным диабетом (стероидный диабет).

При гиперкортицизме нарушаются все виды метаболизма. Для углеводного обмена характерно ослабление эффектов инсулина, усиленный глюконеогенез. Жировая ткань и мышцы уменьшают потребление глюкозы в пользу ЦНС, миокарда, гонад и надпочечников. В результате формируется стероидный диабет, для которого характерны такие симптомы, как гипергликемия, глюкозурия, полиурия и полидипсия. Стероидный диабет устойчив к лечению инсулином.

Нарушение липидного обмена при гиперкортицизме проявляется в виде особой формы вторичного ожирения, названной по характеру распределения жира центральной. Липиды накапливаются на животе, в сальниках, брыжейке, на лице, между лопаток. Столь неравномерное распределение жира отражает особенности глюкокортикоидных, инсулиновых и андрогенных рецепторов в различных адипоцитах. У таких больных выявляется гиперлиппротеинемия, как правило, II типа – накопление ЛПНП, ЛПОНП, гиперхолестерolemия, гипертриацилглицерolemия.

Обмен белков, в целом, изменяется в сторону усиления катаболических процессов в большинстве клеток. Это приводит к отрицательному азотистому балансу. Наиболее явно катаболическая направленность белкового метаболизма при данном синдроме проявляется в мышцах, коже, соединительной ткани, костях, лимфоидной ткани, в меньшей степени это происходит в печени и ЦНС.

Водно-солевой обмен у больных с гиперкортицизмом характеризуется тенденцией к гипернатриемии, задержке воды, отекам, гипокалиемии и ускоренной потере кальция с мочой.

Болезнь Аддисона, или бронзовая болезнь, – это хроническая недостаточность коркового вещества надпочечников. Причиной заболевания чаще всего является аутоиммунный

процесс. Мишенью в 80% случаев становятся стероидогенные ферменты. В первую очередь характерно образование аутоантител к 21-стероидгидроксилазе, катализирующей переход прогестерона в дезоксикортикостерон. Нередко, особенно при раннем начале болезни, обнаруживаются аутоантитела к 17- α -гидроксилазе. Вторая по значению причина болезни Аддисона – туберкулез коры надпочечников (20% случаев). Клинически заболевание проявляется исхуданием, быстрой психической и физической утомляемостью, плохим аппетитом, дисфункцией желудочно-кишечного тракта, прогрессирующей гиперпигментацией кожи. Механизм гиперпигментации связан с усилением меланоцитостимулирующей активности гипофиза, которая сопутствует возникающему при гипoadренкортицизме увеличению секреции кортикотропина.

Нарушение углеводного обмена при болезни Аддисона проявляется в склонности к гипогликемии, резком снижении количества гликогена в печени и мышцах. Снижается синтез белков в печени, что обуславливает развитие гипопротеинемии. Уменьшается масса мышечной ткани и подкожной жировой клетчатки. Последнее обстоятельство связано с замедлением скорости липогенеза и усилением липолиза.

Водно-солевой обмен изменяется по типу гипоальдостеронизма (см. ниже). Многие больные испытывают неодолимую тягу к потреблению поваренной соли. Развивается гиповолемия на фоне снижения скорости клубочковой фильтрации.

Минералокортикоиды. Первые этапы синтеза минералокортикоидов схожи с синтезом глюкокортикоидов, однако в клетках клубочковой зоны имеется фермент альдостеронсинтаза, способствующий синтезу альдостерона (рис. 9.17). В регуляции биосинтеза холестерина кроме описанного выше влияния кортикотропина принимают участие ионы натрия (их концентрация), фермент почек – ренин и натрийуретические пептиды предсердий (рис. 9.18).

Рецепторы к альдостерону расположены в клетках собирательных трубочек, кишечника и потовых желез, сердца, ЦНС. Альдостерон взаимодействует с рецептором. Затем комплекс гормон – рецептор после димеризации связывается с респонсивными элементами генов, кодирующих белки, которые являются участниками механизма реабсорбции ионов натрия. Это могут быть белки натриевых каналов или ферменты цикла Кребса, обеспечивающие синтез АТФ, необходимой для работы Na^+K^+ -АТФазы.

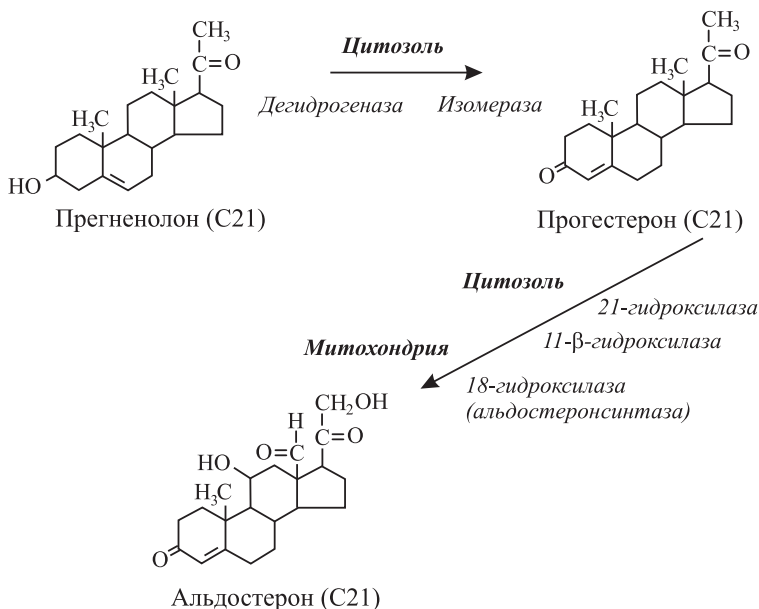


Рис. 9.17. Этапы синтеза альдостерона

Альдостерон регулирует обмен натрия и калия, он усиливает реабсорбцию ионов натрия, хлора и карбонатов в дистальных канальцах почек, потовых и слюнных железах, слизистой желудочно-кишечного тракта. Одновременно увеличиваются потери калия.

Среди распространенных нарушений, связанных с минералокортикоидами, можно назвать первичный гиперальдостеронизм (синдром Конна) и псевдоальдостеронизм. Типичной причиной первичного гиперальдостеронизма является гормонпродуцирующая опухоль – альдостерома. При этом в организме задерживаются Na^+ и вода, усиливается выведение K^+ и H^+ почками. Повышение уровня Na^+ в клетках, в частности сосудистой стенки, повышает их чувствительность к симпатическим медиаторам, а потери K^+ и Cl^- приводят к развитию миастении, судорог скелетных мышц, нарушению сократительной функции миокарда. Канальцы нефронов подвергаются дистрофическим изменениям и теряют способность реагировать на вазопрессин. В результате развивается полиурия, объясняющая отсутствие отеков при первичном гиперальдостеронизме.



Рис. 9.18. Регуляция образования минералокортикоидов:

1 – снижение уровня ионов натрия и повышение уровня ионов калия в крови оказывает прямой стимулирующий эффект на синтез альдостерона (1a); 2 – снижение объема крови и/или артериального давления или снижение концентрации ионов натрия в ультрафильтрате почек (16) стимулирует секрецию фермента-ренина (3), катализирующего ограниченный протеолиз ангиотензиногена (белка плазмы крови) с высвобождением полипептида ангиотензина I. Ангиотензин I в дальнейшем подвергается гидролизу при участии связанного с эндотелием сосудов легких ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) с образованием пептида, ангиотензина II, обладающего сосудосуживающим действием и стимулирующим синтез альдостерона; 4 – повышение объема крови и повышение артериального давления стимулируют синтез натрийуретических пептидов клетками предсердий

Псевдоальдостеронизм может проявляться такими же симптомами, но его причины связаны не с увеличением синтеза гормона клетками, а с изменениями в механизмах передачи сигнала.

Половые гормоны. Мужские половые гормоны, *андрогены* (греч. andros – мужчина): *тестостерон* и *дигидротестостерон*. Синтез андрогенов осуществляется, главным образом, в семенниках и частично в яичниках и надпочечниках. Холестерол превращается в прегненолон в клетках Лейдига. Прегненолон далее может превращаться или в прогестерон, или гидроксилироваться в 17- α -ОН прегненолон (C21). Под влиянием десмолазы (C17–C20 лиазы) 17- α -ОН прегненолон теряет боковую цепь и при участии ряда изомераз и дегидрогеназ превращается в тестостерон (рис. 9.19).

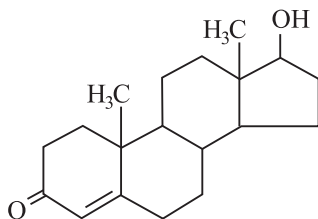


Рис. 9.19. Структура тестостерона

В кровотоке 55% тестостерона транспортируется специфическим глобулином, связывающим половые гормоны, около 40% гормона связывается с альбумином и около 2% находится в свободном, несвязанном виде.

Рецепторы гормона находятся в цитозоле. При связывании с гормоном они перемещаются в ядро, димеризуются и связываются со специфическими респонсивными элементами ДНК, способствуя экспрессии генов, кодирующих белки мышечной ткани, белки и ферменты, обеспечивающие рост и развитие организма по мужскому типу. Более подробное описание механизма проведения сигнала приводится выше (см. рис. 9.1).

Распад гормона происходит в печени, продукты распада выводятся в форме глюкуронидов почками.

Женские половые гормоны – эстрогены (греч. oïstrus – страстное влечение) и *прогестерон* (лат. pro – в пользу и gestatio – беременность). Среди эстрогенов выделяют *эстрадиол*, *эстрон*, *эстриол* (рис. 9.20).

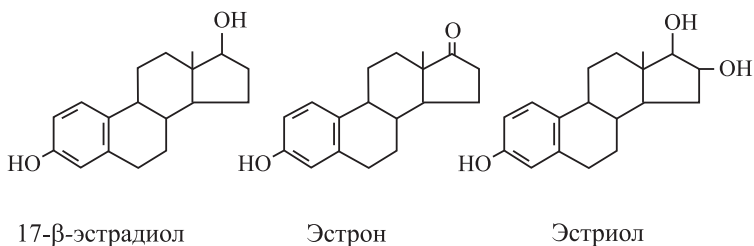


Рис. 9.20. Структура эстрогенов

Эстрогены синтезируются в основном в яичниках и желтом теле, небольшое их количество образуется в надпочечниках и семенниках (рис. 9.21).

Эстрогены – гормоны анаболического действия. Они активируют синтез специфических белков, влияющих на рост и дифференцировку клеток, синтез белков в органах-мишенях. Однако этот эффект у них менее выражен, чем у андрогенов.

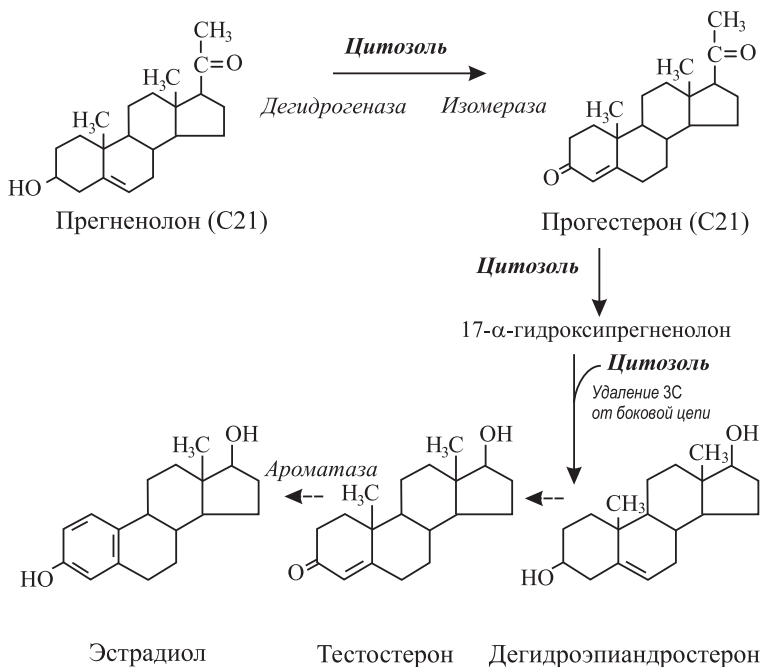


Рис. 9.21. Этапы синтеза эстрадиола

нов. Эстрогены эффективно действуют на жировой обмен, препятствуя отложению жиров в печени, усиливают выведение холестерина из организма и способствуют уменьшению его уровня в крови. Эстрогены регулируют развитие органов женской половой сферы, формирование вторичных половых признаков, пролиферативные процессы в матке, развитие молочных желез во время беременности. Прогестерон тормозит сокращение матки, готовит слизистую матки к беременности, стимулирует разрастание молочных ходов и лактацию.

Во время беременности формируется своеобразный эндокринный орган – плацента, который образует систему плод – плацента (фетоплацентарная система). В ней образуется ряд гормонов белковой (хорионический гонадотропин, плацентарный лактоген, тиреотропин) и стероидной (эстрогены, прогестерон) природы.

Низкая концентрация гормонов в жидкостях и тканях организма требует высокочувствительных методов исследования. Для количественного определения многих гормонов чувствительность традиционных методов исследования оказалась недостаточной. Эта проблема во многом была решена американской исследовательницей Р. Ялоу, которая предложила метод радиоиммунологического анализа (РИА). В основе РИА лежит феномен конкуренции. Связывание антител с антигеном, меченным радиоактивным изотопом, подавляется в присутствии таких же антигенов, но не содержащих радиоактивного изотопа. К раствору антител добавляют радиоактивный антиген и пробу, содержащую неизвестное количество «холодного» антигена (не содержащего радиоактивного изотопа в своем составе). Во время инкубации при определенной температуре радиоактивный и холодный антигены конкурентно связываются с антителами, образуя иммунные комплексы. Для оценки результатов иммунные комплексы, содержащие радиоактивный изотоп, отделяют от несвязавшихся радиоактивных антигенов и измеряют их радиоактивность.

Принцип РИА распространяется и на другие иммунохимические и неиммунохимические методы анализа. Например, в ИФА вместо радиоактивного изотопа в качестве метки используют ферменты, а в иммунохемофлюориметрическом анализе (ИХА) – флуоресцирующие вещества. В неиммунохимических методах роль антител выполняют реагенты, специфически связывающие определяемое вещество. Этими реагентами могут быть рецепторы гормонов или белки плазмы.

Эндокринопатии – нарушения деятельности эндокринных желез. Среди большого разнообразия этиологических факторов, приводящих к развитию эндокринопатий, можно выделить некроз, опухоль, воспалительный процесс, бактериальные и вирусные инфекции, интоксикации, алиментарные нарушения (дефицит йода, избыточное потребление углеводов), ионизирующую радиацию, врожденные хромосомные и генные аномалии.

Ведущее значение в патогенезе большинства эндокринных расстройств имеет недостаточная (гипофункция) или повышенная (гиперфункция) активность эндокринных желез. В связи с тем что эндокринные железы могут секретировать несколько гормонов, проявления эндокринопатий могут широко варьировать. Одни эндокринные заболевания возникают вследствие усиления или ослабления продукции нескольких гормонов, вырабатываемых данной железой. Например, некроз аденогипофиза (передней доли гипофиза), возникающий вследствие воспалительного процесса или кровоизлияния, ведет к прекращению выработки всех его гормонов – тотальная аденогипофизарная недостаточность. В других случаях характерным может быть изолированное нарушение секреции того или иного гормона, которое обозначают как парциальную гипер- или гипофункцию. Таково, например, происхождение некоторых форм гонадотропного гипогонадизма.

Направленность сопряженных сдвигов в эндокринных железах определяется характером влияния вырабатываемых ими гормонов на биохимические и физиологические процессы. По этому признаку гормоны делятся на антагонисты и синергисты. Так, гипогликемический эффект инсулина может быть нейтрализован кортизолом или адреналином. Соотношение между гормонами-антагонистами и гормонами-синергистами занимает центральное место в патогенезе некоторых эндокринных расстройств. Например, нарушение толерантности к глюкозе и гипергликемия могут развиваться в результате усиленного выделения контринсулярных гормонов – глюкагона, соматотропина или кортикостероидов.

Основные механизмы эндокринопатий. В зависимости от уровня повреждения эндокринной системы различают следующие механизмы эндокринопатий:

- нарушение центральной регуляции эндокринных функций;
- нарушение биосинтеза и секреции гормонов;

- нарушение транспорта, метаболизма и реализации биологического действия гормонов.

Нарушения центральной регуляции эндокринных функций. Несмотря на определенную автономность, эндокринные железы подчиняются регуляторному влиянию нервной системы. Нарушение нервной регуляции нередко приводит к развитию эндокринопатий. Так, психическая травма может стать причиной сахарного диабета, тиреотоксикоза. Существование психогенных эндокринопатий подтверждает важное значение коры больших полушарий головного мозга в патогенезе нарушений деятельности эндокринных желез.

Нарушения биосинтеза и секреции гормонов. Патологические процессы в эндокринных железах изменяют их функциональную активность. Гипофункция может развиваться вследствие уменьшения массы паренхимы железы (атрофия, некроз), недостаточности ферментных систем и их кофакторов при биосинтезе гормонов (НАДФН · Н⁺, фолиевая кислота, микроэлементы и др.), нарушения механизмов депонирования и секреции. Напротив, источником избыточной продукции гормонов (гиперфункции) является увеличение массы железистой ткани (гиперплазия, гипертрофия, опухоли), активация ферментов биосинтеза гормонов и др. Особенностью гормонально-активных опухолей желез, контролируемых гипофизом, является автономный характер секреции гормонов. Поэтому уменьшение выработки соответствующего тропного гормона аденогипофизом по механизму обратной связи не снижает образования гормонов в опухолевых клетках периферической эндокринной железы.

Нарушение скорости образования и выделения гормонов может происходить вследствие изменения чувствительности желез к нервным и гуморальным регуляторам. Так, уменьшение числа рецепторов лютропина на мембранах интерстициальных клеток яичек, вызванное длительной стимуляцией половых желез экзогенным хорионическим гонадотропином, обуславливает недостаточный ответ на эндогенный гонадотропин и снижает образование тестостерона. Избыток прогестерона в циркулирующей крови угнетает чувствительность гипофиза к люлиберину. Причиной изменения чувствительности железы может стать нарушение ее иннервации. Например, после перерезки симпатических нервов изменяется ответная реакция коркового вещества надпочечников на стимуляцию кортикотропином.

Функциональная активность тех желез, которые не находятся под контролем рилизинг-факторов и тропных гормонов гипофиза, непосредственно зависит от ингредиентов крови, специфически регулируемых гормонами этих желез. β -Клетки поджелудочной железы реагируют на увеличение концентрации глюкозы в крови усилением секреции инсулина. Гипокальциемия служит стимулирующим фактором для клеток паратгипофизарных желез, вырабатывающих паратгормон. Различают абсолютную и относительную (скрытую) недостаточность эндокринных желез. Последняя выявляется при повышенной потребности организма в гормонах, тогда как в условиях функционального покоя показатели синтеза и секреции гормонов имеют нормальные величины. Неполноценность гормональных резервов устанавливают с помощью специальных функциональных проб (нагрузок). В частности, нагрузка глюкозой с последующим определением ее содержания в крови позволяет выявить истощение резервных возможностей β -клеток, вырабатывающих инсулин.

Нарушение транспорта, метаболизма и реализации биологического действия гормонов. Указанные нарушения формируют внежелезистый механизм эндокринных расстройств, которые возникают на фоне нормальной секреции гормонов. Известны гормональные нарушения, обусловленные изменением концентрации связывающих белков плазмы крови. Гипертиреоз может развиваться в результате уменьшения концентрации тироксинсвязывающего глобулина. Довольно распространенный механизм нарушения действия гормонов заключается в их инактивации аутоантителами. При нарушении процессов метаболизма гормонов (цирроз, гепатит, низкая или высокая активность ферментов метаболизма) также возникают гормональные расстройства. Нарушение гормональной рецепции в клетках органов-мишеней также изменяет биологические эффекты гормонов.

Отклонения в системе иммунного гомеостаза при эндокринных заболеваниях выражаются в появлении антител против антигенов тканей железы или циркулирующих в крови гормонов. Классическим примером таких состояний может служить аутоиммунный тиреоидит, возникающий в результате повреждения щитовидной железы органоспецифическими антителами. Аутоантитела к гормонам способны нейтрализовать их биологическую активность. В крови больных нередко обнаруживают антитела к инсулину, соматотропину и другим гормонам.

Краткое содержание главы

В **метаболизме** – совокупности химических реакций и процессов, протекающих в клетке, – выделяют два на первый взгляд противоположных направления – **катаболизм** – распад молекул до конечных продуктов, выделяемых из клетки, и **анаболизм** – синтез макромолекул из простых соединений. Каждое из этих направлений имеет три фазы.

У катаболизма – это распад макромолекул до мономеров (**первая фаза**), превращение мономеров в небольшое число общих низкомолекулярных продуктов (α -кетокислоты, ацетил-КоА) (**вторая фаза**) и окисление и декарбоксилирование этих молекул в цикле Кребса (**третья фаза**).

У анаболизма к **первой фазе** относят анаболические функции цикла Кребса, во **второй фазе** происходит синтез мономеров, в **третьей фазе** формируются свойственные клетке полимеры. Ряд мономеров, которые клетка не может синтезировать, поступает в анаболизм из первой фазы катаболизма или непосредственно из пищевых продуктов.

Ана- и катаболизм тесно связаны между собой. Связующими звеньями являются субстраты цикла Кребса и других метаболических путей (центральные метаболические пути), возможность взаимопревращений субстратов, адениловая система, коферменты окислительно-восстановительных реакций и др. Координация этих процессов обеспечивается влиянием нервной и гуморальной систем. Существенную роль в организации метаболических путей отводится **компарментализации** процессов, которая обеспечивается внутриклеточными мембранами и локализацией процесса в клетке.

Взаимопревращение молекул играет важную роль в процессах **депонирования** (синтез гликогена, триацилглицеролов), что обеспечивает клетку необходимыми субстратами в случае уменьшения их поступления извне. Однако эта выбранная эволюцией возможность накапливать про запас

становится небезопасной для организма в случае избыточного поступления субстратов при переедании.

Ожирение – одно из распространенных состояний среди жителей многих стран в мире. Оно становится причиной развития сердечно-сосудистой патологии, опухолей и других заболеваний. С другой стороны, голодание из-за неспособности превращать депонированные жиры в углеводы и ограниченных возможностей в синтезе аминокислот также может служить причиной нарушений метаболизма и функций клеток.

Клинико-лабораторное значение. Способность организма животных к поддержанию постоянства состава внутренней среды организма осуществляется за счет интеграции метаболических путей и является одним из наиболее существенных достижений эволюции. Изменение интегративных связей нарушает сбалансированную продукцию энергии, пластического материала и служит основой развития заболеваний. Таким образом, для правильного понимания молекулярного механизма любого заболевания представление о принципах и механизмах взаимодействия различных метаболических путей, обеспечивающих жизнедеятельность и адаптацию, является определяющим.

Настоящая глава завершает раздел, посвященный обмену органических веществ в клетках. Метаболизм включает все химические реакции, которым подвергаются поступающие вещества и компоненты самого организма. Сюда относятся пути синтеза и пути распада, так же как и регуляция этих процессов. Промежуточный обмен составляет основу общих и специальных функций клетки. Нарушение метаболизма в большинстве случаев является основной причиной заболеваний. Отсюда вытекает большое значение исследований межклеточного обмена для медицины.

Исследование реакций, которым подвергаются поступающие с пищей вещества или образовавшиеся в организме молекулы, позволяет составить представление о том, каким образом поддерживается жизнедеятельность. При этом нет смысла разделять превращение веществ, поступивших с пищей и образованных в самом организме, потому что и те, и другие состоят из одинаковых молекул и подвергаются одинаковым изменениям. Можно выделить несколько этапов в процессах метаболизма. Классическое разделение метаболизма на *анабо-*

лизм как систему процессов синтеза и катаболизм как систему процессов распада веществ предполагает выделение в каждой из них трех фаз.

Анаболизм:

- цикл Кребса;
- образование мономеров;
- образование полимеров.

Катаболизм:

- превращение полимеров пищи и тканей организма в мономеры (аминокислоты, моносахариды, жирные кислоты);
- образование из мономеров общих низкомолекулярных продуктов превращения (ацетил-КоА, пировиноградная, α -кетоглутаровая кислоты);
- цикл Кребса.

Таким образом, сложные молекулы в организме постоянно распадаются до маленьких и простых молекул. Одновременно из этих продуктов вновь синтезируются сложные молекулы, которые заменяют собой разрушенные. Постоянство массы взрослого здорового организма объясняется тем, что процессы распада и синтеза соответствуют друг другу, поддерживая чаши весов на одном уровне. Такое состояние обозначается как динамическое равновесие. В растущем организме преобладают процессы синтеза над распадом. Это означает, что динамическое равновесие сдвинуто в сторону процессов синтеза.

Биологический период полураспада у молекул различен. Так, например, половина запасов жиров у мышей обновляется наполовину новыми молекулами за 1 неделю. Половина белков печени человека обновляется каждые 10 дней. Наоборот, белки мышц обновляются наполовину за полгода, а с сахаром крови это происходит за 1 ч. В последующем за такой же промежуток времени остаток старых молекул вновь замещается новыми. Таким образом, при исчезновении какого-то количества старых молекул появляется равное количество новых, а общее количество молекул остается постоянным.

Закономерности взаимосвязи метаболических путей в организме. Жизнедеятельность человека обеспечивается интеграцией или взаимодействием различных метаболических путей. Тем самым происходят постоянные производство энергии, ключевых метаболитов и восстановленных коферментов, необходимых для биосинтезов в процессе окислительного распада пищевых веществ.

К примеру, глюкоза образуется в организме из аминокислот, называемых гликогенными. Пребывание на белковом питании практически не сказывается на уровне глюкозы в организме. Некоторые аминокислоты непосредственно могут использоваться в синтезе глюкозы (аланин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты), из других она образуется через дополнительные реакции. Синтез аминокислот из углеводородных продуктов, образующихся в процессе метаболизма углеводов, также возможен. Однако если в глюкозу могут превращаться большинство аминокислот, то синтезироваться аминокислоты могут только те, которые заменимы. Для многих аминокислот в клетках отсутствуют ферменты, катализирующие образование их углеводородных радикалов.

Взаимосвязь между обменом белков и липидов также достаточно односторонняя. При избыточном употреблении белков, особенно в условиях неполноценного белкового питания, большая часть аминокислот может превращаться в ацетил-КоА, который расходуется на образование липидов. Аминокислоты с разветвленным углеводородным радикалом (валин, лейцин, изолейцин) после утраты аминогруппы переходят в кетоновые тела, некоторые аминокислоты могут быть использованы на синтез фосфолипидов. Напротив, синтез аминокислот из продуктов обмена липидов ограничен и касается только образования некоторых заменимых аминокислот.

Во взаимодействии различных метаболических путей имеются следующие закономерности.

1. Несмотря на большое число химических реакций, входящих в понятие «метаболизм», выделяют центральные метаболические пути. Метаболические пути различных соединений могут сливаться путем образования общего метаболита (промежуточного продукта). С него затем начинается общая цепь реакций дальнейшего распада. С другой стороны, часто одно соединение служит исходным материалом для синтеза различных веществ. При этом образуется перекресток центрального пути с другими путями.

Одному центральному пути может сопутствовать множество периферийных. Последние тоже могут быть достаточно сложными. Это можно сравнить с сетью городских улиц. «Улицы» – это цепи химических реакций, в которых конечные продукты одних реакций являются исходными веществами для других. Каждый продукт, который участвует более, чем

в одной реакции, становится «уличным перекрестком». В местах перекреста находятся общие продукты обмена. Благодаря «центральным улицам» имеется возможность, не вдаваясь в детали сотен реакций взаимопревращений, по образующимся общим конечным продуктам получить общее представление об обмене веществ (рис. 10.1).

Таковыми общими промежуточными продуктами являются, например, глюкоза-6-фосфат, пировиноградная кислота, ацетил-КоА. Посредством промежуточных продуктов осуществ-

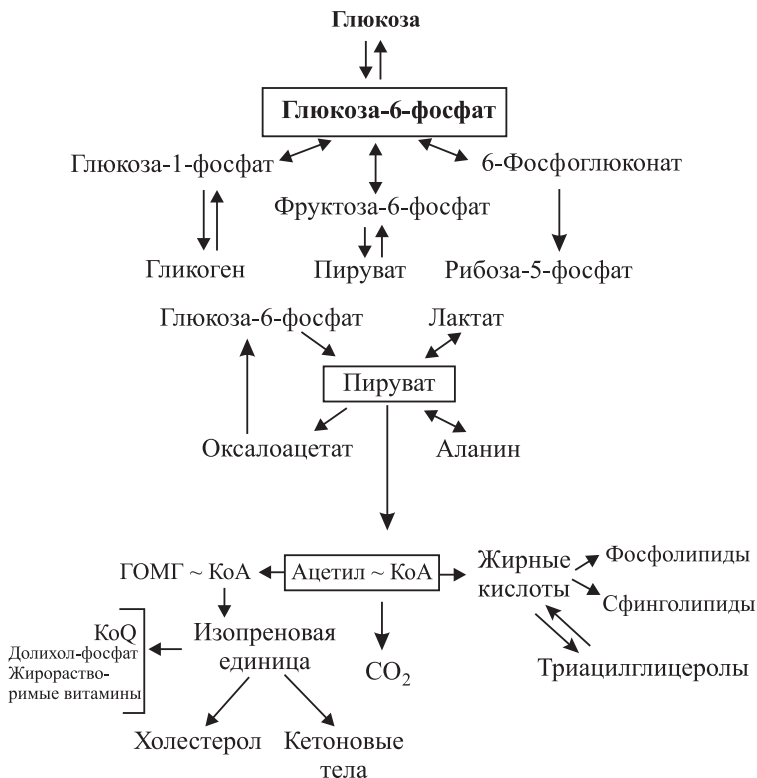


Рис. 10.1. Общие промежуточные продукты различных метаболических путей: глюкоза-6-фосфат – промежуточный продукт гликолиза и глюконеогенеза, гликогенеза и гликогенолиза, пентозофосфатного пути окисления глюкозы; пируват – промежуточный продукт гликолиза и аэробного дихотомического окисления глюкозы, трансминирования и глюконеогенеза; ацетил-КоА – промежуточный продукт аэробного дихотомического окисления глюкозы, окисления и синтеза жирных кислот, синтеза холестерина и кетоновых тел, образования полиизопреновых соединений

вляется взаимопревращение разных, казалось бы, соединений: углеводов, липидов, аминокислот.

К примеру, в процессе обмена углеводов образуется пировиноградная кислота, которая после окислительного декарбоксилирования превращается в ацетил-КоА. Ацетил-КоА может использоваться для синтеза липидов (жирных кислот, холестерина). Ацетил-КоА образуется и при окислении липидов, однако он не может стать источником образования углеводов, а вот глицерол, освобождающийся при гидролизе триацилглицеролов, окисляется в диоксиацетон, который затем может быть использован в синтезе глюкозы (глюконеогенез).

В разных метаболических путях участвуют одни и те же коферменты. Они обеспечивают тесную взаимосвязь таких метаболических путей. Например, кофермент НАДФ⁺ восстанавливается в пентозофосфатном пути окисления глюкозы или в результате работы малик-фермента (см. биосинтез жирных кислот, гл. 6). Окисление восстановленной формы НАДФН · Н⁺ происходит в ходе синтеза холестерина, жирных кислот, гормонов стероидной природы, обезвреживании ксенобиотиков и др.

2. Все многообразие метаболических путей, протекающих в организме, находится в рамках единой логической схемы общего пути катаболизма и единой системы освобождения и использования энергии: *а* – полимеры расщепляются до мономеров. Полисахариды, такие как крахмал, гликоген, превращаются в моно- и дисахариды; из липидов образуются жирные кислоты и глицерол, из белков – аминокислоты; *б* – катаболизм моно- и дисахаридов, жирных кислот и многих аминокислот приводит к образованию ацетил-КоА и небольшого количества АТФ и НАДН · Н⁺; *в* – в лимоннокислом цикле образуется НАДН · Н⁺, при этом ацетил-КоА окисляется до двуокиси углерода, транспорт электронов восстанавливает О₂ до воды, а посредством окислительного фосфорилирования идет синтез АТФ, НАДН · Н⁺ опять переходит в окисленную форму.

3. АТФ, образованный в ходе реакций катаболизма, обычно используется как поставщик энергии для термодинамически не выгодных реакций биосинтеза. Биосинтез моно- и дисахаридов, жирных кислот, белков и нуклеиновых кислот не повторяет в обратном направлении катаболизм этих соединений. Противоположно конвергентному характеру катаболических путей биосинтетические пути дивергентны. Во всех клетках

предшественниками биологических макромолекулярных соединений являются моносахариды, жирные кислоты, аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые азотистые основания.

4. Принципиально важная особенность метаболических путей состоит в том, что их скорость определяется не законом действующих масс, а активностью ключевых ферментов. Поток молекул в большинстве метаболических путей определяется прежде всего количеством и активностью определенных ферментов. Регуляторные механизмы, благодаря которым поддерживается на определенном уровне активность любого фермента, у всех метаболических путей однотипны: *а* – аллостерические и изостерические взаимодействия; *б* – ковалентная модификация структуры фермента (см. гл. 2); *в* – регуляция уровня фермента. Поскольку подавляющее большинство ферментов – белки, то регуляция их уровня или количества – не что иное, как реализация принципов регуляции биосинтеза белка (см. гл. 8).

5. В качестве еще одной закономерности, обеспечивающей взаимосвязь метаболических путей, выступает их разделение по отдельным отсекам (компартментам) клетки. Гликолиз, пентозофосфатный путь и синтез жирных кислот происходят в цитозоле, а окисление жирных кислот, цикл трикарбоновых кислот и окислительное фосфорилирование – в митохондриях. Судьба некоторых молекул определяется тем, где они находятся – в цитозоле или митохондриях. Например, жирные кислоты, будучи перенесенными в митохондрии, быстро расщепляются, тогда как в цитоплазме они этерифицируются или выделяются во внеклеточное пространство.

Благодаря всем этим закономерностям в целом в клетке устанавливается подвижное динамическое равновесие метаболических процессов, чутко реагирующее на воздействия внешней среды и регуляторных систем клетки и организма.

6. Последняя закономерность – органная и межорганная специализация метаболизма, суть которой заключается в том, что в определенном органе одни метаболические пути не работают или протекают не интенсивно, в то время как другие функционируют в полную силу. Центральным органом в интеграции метаболизма является печень. Благодаря ее функционированию в крови поддерживается необходимый уровень питательных веществ для использования их мозгом, мышцами и другими тканями. Решению этой задачи способствует уникальное расположение печени в организме. Все питатель-

ные вещества, подвергшиеся всасыванию в кишечнике, за исключением жирных кислот, попадают в воротную вену, а по ней – в печень.

После принятия пищи основными особенностями метаболизма в печени являются: поддержание уровня глюкозы в крови на постоянном уровне; увеличенная утилизация аминокислот для энергетических целей, усиленные гликолиз и окислительное декарбоксилирование пирувата, увеличение синтеза гликогена для пополнения его запасов, усиление синтеза жирных кислот. Жирные кислоты используются для синтеза триацилглицеролов, фосфолипидов, которые в составе липопротеинов секретируются в кровоток.

В состоянии натошак печень препятствует падению концентрации глюкозы в крови за счет расщепления гликогена, выхода глюкозы в кровь и стимуляции глюконеогенеза из продукта анаэробного расщепления глюкозы в мышцах – лактата и аминокислот (аланина и глутамина). Энергетическое обеспечение осуществляется за счет усиленного окисления жирных кислот. В основе изменения интенсивности тех или иных метаболических путей в различных условиях лежат вышеназванные регуляторные механизмы, которые включают проведение сигнала в клетку от гормонов и реализуются через влияние на активность ферментов.

Ожирение как пример нарушения механизмов взаимосвязи метаболических путей. Ожирение – это избыточное накопление жира в адипоцитах. Состояние, когда масса тела на 20% превышает «идеальную» для данного индивидуума, считают ожирением. Ожирение – достаточно распространенное явление, им страдают до 50% взрослого населения некоторых стран. Это важнейший фактор риска развития инфаркта миокарда, инсульта, сахарного диабета, артериальной гипертензии, желчнокаменной болезни. Ожирение развивается, когда в жировой ткани преобладают процессы липогенеза. Образование адипоцитов происходят во внутриутробном состоянии, начиная с последнего триместра беременности, и заканчивается в препубертатный период. После этого жировые клетки могут увеличиваться в размерах при ожирении или уменьшаться при похудании, но их количество не изменяется в течение жизни. Одна из классификаций ожирения основана на размерах и количестве адипоцитов. При повышении общего числа этих клеток говорят о гиперпластическом ожирении (развивается в младенческом возрасте, наследственное), уве-

личение размеров адипоцитов ведет к гипертрофическому ожирению. Согласно другой классификации, выделяют первичное и вторичное ожирение.

Первичное ожирение развивается в результате алиментарного дисбаланса, избыточной калорийности питания по сравнению с расходами энергии. Суточные потребности организма в энергии складываются из двух компонент: 1) основного обмена, т.е. энергии, необходимой для поддержания жизни; 2) энергии, необходимой для физической активности. В зависимости от интенсивности нагрузки и возраста суточная потребность в энергии колеблется у женщин от 2000 до 3000 ккал в сутки, у мужчин – от 2300 до 4000 ккал. Количество потребляемой пищи определяется многими факторами, в том числе и химическими регуляторами чувства голода и насыщения. Последние определяются концентрацией в крови глюкозы и гормонов, которые инициируют чувство насыщения – холецистокинина, нейротензина, бомбезина, лептина. Причинами первичного ожирения являются: генетические нарушения (до 80% случаев ожирения – результат генетических нарушений); состав и количество потребляемой пищи; уровень физической активности; психологические факторы.

Первичное ожирение характеризуется множеством гормональных и метаболических особенностей. Метаболические различия между тучными и худыми людьми до настоящего времени не могут быть определены однозначно. Существует несколько объяснений этих различий. Одно из них – генетически детерминированная разница в функционировании так называемых бесполезных циклов. Эти циклы состоят из пары метаболитов, превращаемых друг в друга с помощью двух ферментов (глюкоза \rightarrow глюкозо-6-фосфат; фруктозо-6-фосфат \rightarrow фруктозо-1,6-дифосфат). Одна из этих реакций идет с затратой АТФ. Если эти субстраты превращаются друг в друга с одинаковой скоростью, то происходит «бесполезный» расход АТФ и соответственно источников энергии, т.е. жиров. У людей, склонных к ожирению, имеется более прочное сопряжение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования. Отмечается разное соотношение аэробного и анаэробного гликолиза. Анаэробный гликолиз как менее эффективный «сжигает» гораздо больше глюкозы, в результате чего снижается ее превращение в жиры. У отдельных индивидуумов имеется различие в активности Na^+/K^+ -АТФазы, функционирование которой требует до 30% энергии, потребляемой клетками.

Установлено, что у человека и животных имеется ген ожирения – *obese gene*. Продуктом экспрессии этого гена является белок лептин, который синтезируется и секретируется адипоцитами и взаимодействует с рецепторами гипоталамуса. В результате его действия снижается секреция нейропептида Y, стимулирующего потребление пищи. У большей части больных ожирением (80%) имеется генетический дефект рецепторов лептина в гипоталамусе, поэтому, несмотря на продукцию лептина, центр голода в гипоталамусе продолжает секрецию нейропептида Y. В ряде случаев имеются изменения в первичной структуре лептина вследствие мутаций его гена, что ведет к развитию ожирения.

Адипоциты динамично реагируют на изменения эндокринно-метаболического статуса, так как имеют обширный набор поверхностных нейромедиаторных и гормональных рецепторов. Это позволяет динамично менять равновесие между процессами липогенеза и липолиза. Следует отметить, что первичное ожирение является не просто следствием переизбытка, а результатом действия многих факторов, т.е. это полигенное заболевание.

Вторичное ожирение развивается в результате какого-либо основного заболевания, чаще всего эндокринного. Вторичное ожирение подразделяют на центральные (гипоталамо-гипофизарные) и периферические формы. К центральным формам относится вторичное ожирение при базофильной аденоме гипофиза, гипофизарном нанизме, травмах, опухолях, инсультах с повреждением гипоталамуса. Периферические формы вторичного ожирения наблюдаются при синдроме Иценко – Кушинга, инсулиннезависимом сахарном диабете, гипотиреозе, гипогонадизме.

Нарушение липидного обмена при голодании. Голодание может быть кратковременным, в течение суток (I фаза), продолжаться в течение недели (II фаза) или несколько недель (III фаза). В условиях отсутствия пищи в крови снижается уровень глюкозы, аминокислот и триацилглицеролов. Снижается инсулин – глюкозаговый индекс и повышается концентрация контринсулярных гормонов, в первую очередь кортизола. Формируется состояние, для которого характерно преобладание процессов катаболизма жиров, гликогена и белков на фоне общего снижения скорости метаболизма. Под влиянием контринсулярных гормонов в этот период происходит обмен субстратами между печенью, жировой тканью, мышцами

и мозгом. Данный обмен выполняет две функции: поддержание концентрации глюкозы в крови для обеспечения глюкозо-зависимых тканей – мозг, эритроциты; мобилизация других источников энергии, в первую очередь жиров, для обеспечения энергией всех других тканей. Жирные кислоты, образующиеся в процессе мобилизации жиров из жировых депо, становятся основным источником энергии для большинства органов в первый период голодания.

Во II фазе продолжается мобилизация жиров, и концентрация жирных кислот в крови возрастает в 3–4 раза по сравнению с постабсорбтивным состоянием. В первые дни голодания активизируется биосинтез кетоновых тел, а во II фазе этот процесс значительно возрастает. Концентрация кетоновых тел в крови в этот период может достигать 20–30 мг/дл (в норме 1–3 мг/дл). Кетоновые тела используются в основном мышечной тканью. Во II и III фазах голодания часть энергетических потребностей мозга обеспечивается кетоновыми телами.

Краткое содержание главы

Классификация витаминов основана на физико-химических свойствах витамина. Витамины разделяют на водорастворимые и жирорастворимые

Провитамины и антивитамины. Некоторые витамины присутствуют в природных источниках в форме предшественников и превращаются в свои функциональные формы после поступления в клетки. Такие предшественники витаминов названы провитаминами. Молекулы веществ, которые препятствуют проявлению функций витаминов, могут быть структурно подобны витаминам или усиливают их распад в клетках. Такие вещества называли антивитаминами.

Суточная потребность человека в витаминах. Витамины в клетках подвергаются метаболическим превращениям и выделяются из организма. Поскольку они не синтезируются клетками, возникает необходимость их поступления с пищей. Для каждого витамина эта потребность выработана в процессе эволюции и зависит также во многом от внешних условий.

Витаминная недостаточность, гипervитаминозы. При неадекватном поступлении витамина или при нарушении его обмена развиваются состояния, названные гиповитаминозами. Их проявления обусловлены нарушением тех метаболических процессов, в которых принимает активное участие витамин. Избыточное поступление витаминов в свою очередь вызывает нарушения метаболизма, связанные с необходимостью их обезвреживания. Такие состояния названы гипervитаминозами.

Структура и функции водорастворимых витаминов. Витамины представляют группу разных по структуре химических соединений, объединенных лишь функциональными признаками – невозможностью их синтеза и особенностями их участия в метаболических процессах. В большинстве своем они являются составной частью коферментов.

Токсичность витаминов. Как и многие химические соединения, витамины могут оказывать токсическое действие на клетки.

Структура и функции жирорастворимых витаминов. Известны четыре основных витамина, растворимых в жирах, это витамины А, D, Е и К. Эти витамины депонируются в жировых депо и выполняют специфическую роль, не связанную с коферментной функцией.

Процесс зрения и витамин А. Недостаточность витамина А приводит к снижению темновой адаптации – «куриной слепоте». Это связано с непосредственным участием этого витамина в процессе восприятия света.

Клинико-лабораторное значение. Недостаток поступления витаминов с пищей, нарушение их всасывания или нарушение их использования организмом приводит к развитию патологических состояний, называемых гиповитаминозами, которые, в свою очередь, могут отягощать течение других заболеваний. Некоторые витамины или их производные используются как терапевтические средства для лечения ряда заболеваний.

Витамины. Это низкомолекулярные органические вещества, которые необходимы в малом количестве для нормального функционирования организма в поддержании его метаболической интеграции; не синтезируются в организме и должны поступать с пищей. Дефицит того или иного витамина в организме приводит к появлению специфических признаков и симптомов; устранение дефицита приводит к их исчезновению.

Витамины не являются источниками энергии и не встраиваются в клеточные структуры. В отличие от макрокомпонентов пищи они не объединены общностью химического строения, не имеют сходных эффектов в отношении метаболизма. Это вносит определенные сложности при создании классификации витаминов. Существующая в настоящее время классификация основана лишь на физико-химических свойствах витаминов, прежде всего на растворимости в воде или в жирах. В их названиях нашли свое отражение исторические изменения отношения к витаминам. Каждый витамин имеет: химическое название; название, полученное им от авторов, впервые его открывших (тиамин, рибофлавин), и часто сохранившееся до настоящего времени в качестве тривиальных назва-

ний; буквенное обозначение; название с учетом заболевания, которое развивается при его недостаточности, с приставкой «анти-», указывающей на способность предотвращать развитие определенного заболевания.

Классификация витаминов:

- водорастворимые:
 - В₁ (тиамин), антиневритный;
 - В₂ (рибофлавин), витамин роста;
 - В₃ (ниацин), антипеллагрический;
 - В₅ (пантотеновая кислота), антидерматитный;
 - В₆ (пиридоксин), антидерматитный;
 - В₉ (фолиевая кислота), антианемический;
 - В₁₂ (кобаламин), антианемический;
 - Н (биотин), антисеборейный;
 - С (аскорбиновая кислота), антискорбутный;
 - Р (рутин), витамин проницаемости;
- жирорастворимые:
 - А (ретинол), антиксерофтальмический;
 - D (холекальциферол), антирахитический;
 - Е (токоферол), витамин размножения;
 - К (филлохинон), антигеморрагический.

Помимо двух главных групп витаминов выделяют ряд химических соединений, объединенных названием *витаминоподобные вещества*. Сюда относят холин, липоевую кислоту, инозитол, карнитин, парааминобензойную кислоту. Некоторые из них частично синтезируются в организме, могут встраиваться в клеточные структуры (холин, инозитол входят в состав фосфолипидов клеточных мембран). Суточная потребность в них для человека не установлена.

Провитамины и антивитамины. Некоторые витамины могут образовываться в организме из предшественников, описанных под названием *провитамин*ов. Так, предшественниками витамина А являются компоненты, найденные у растений, – каротиноиды. Это группа веществ со сходными функциями, включающая ликопен (в томатах), лютеин (в шпинате), β-каротин (в моркови). Витамин D образуется из 7-дегидрохолестерола, который содержится в коже и под действием ультрафиолетового облучения превращается в витамин D₃.

Открытие витаминов сыграло важнейшую роль в лечении многих инфекционных заболеваний. Так как бактерии для своего роста и размножения нуждаются в некоторых витаминах для синтеза коферментов, введение в организм структур-

ных аналогов витаминов, называемых *антивитаминами*, приводит к гибели микроорганизмов. Примером может служить назначение сульфаниламидов, структурно сходных с парааминобензойной кислотой, необходимой для синтеза микроорганизмами фолиевой кислоты; назначение структурных аналогов фолиевой кислоты, тормозящих рост и деление злокачественных клеток.

Антивитамины обычно блокируют активные центры ферментов, вытесняя из них коферментные формы витаминов, или, сами являясь ферментами, разрушают витамины (тиаминаза, аскорбиназа).

Суточная потребность и пищевые источники. Потребность в витаминах измеряется *весовыми единицами* (мкг, мг), для некоторых витаминов применяются *интернациональные единицы* (ИЕ), которые характеризуют их биологическую активность. Суточная потребность в витаминах зависит от физиологического состояния организма, возраста и пола.

Источниками витаминов являются растительные и животные продукты. Некоторые витамины преобладают в растительных продуктах (витамины B_1 , С, К, β -каротины); другие – в животных продуктах (витамин B_{12}). Источниками водорастворимых витаминов являются хлеб, крупы грубого помола, семена, овощи, фрукты, рис, бобовые, сливочное масло, молоко, рыба, яйца, печень. Источники жирорастворимых витаминов – печень, орехи, растительные масла, яйца, молоко.

Наиболее богаты витаминами семена всех видов, включая цельное зерно, орехи, а также яйца, печень, дрожжи и дрожжевые экстракты.

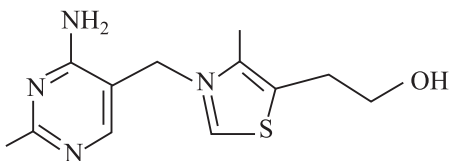
Витаминная недостаточность, показания к назначению витаминотерапии. Метаболические нарушения в организме зачастую бывают связаны с недостаточным поступлением в организм, нарушением всасывания, транспорта, образования активных форм витаминов. В результате развиваются *а-* и *гиповитаминозы*. Гораздо реже встречаются *гипервитаминозы* – состояния, связанные с избыточным поступлением витаминов в организм (описаны случаи гипервитаминоза А и D).

Здоровые люди, получающие разнообразное полноценное питание, обычно не нуждаются в витаминных добавках. *Первичная витаминная недостаточность*, однако, может наблюдаться в группах повышенного риска: дети в определенные периоды жизни, беременные и кормящие грудью женщины, старики. Помимо этого, показаниями для витаминотерапии

являются состояния дефицита, синдром нарушения всасывания, ожоги, почечная недостаточность и гемодиализ, необычная диета и вегетарианство, длительное лечение антибиотиками, применение антивитаминов в качестве лекарственных препаратов, генетические болезни.

Водорастворимые витамины. Эти витамины в тканях почти не накапливаются, малотоксичны при передозировке. Дефицит их встречается довольно часто. В организме они активируются путем фосфорилирования; активные формы их в качестве коферментов участвуют в биохимических реакциях распада и синтеза белков, жиров, углеводов, нуклеиновых кислот, в окислительно-восстановительных реакциях. К водорастворимым витаминам относятся следующие.

- **Витамин В₁ (тиамин):**



Биологическая роль (коферментная форма – ТПФ):

- пируватдегидрогеназный комплекс (окислительное декарбоксилирование пирувата);
- α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс (цикл Кребса);
- полиферментный комплекс, катализирующий окислительное декарбоксилирование α -кетокислот, образующихся при деаминации аминокислот с разветвленным радикалом;
- транскетолаза (пентозофосфатный путь окисления глюкозы).

Ранние признаки дефицита тиамина – запоры, снижение аппетита, тошнота, депрессия, усталость. Тяжелые формы недостаточности проявляются в форме заболевания *бери-бери*. Это заболевание было неизвестно до тех пор, пока не появились машины, полирующие рис. Дефицит тиамина затрагивает сердечно-сосудистую, мышечную, нервную системы и желудочно-кишечный тракт. При полиневритной, или сухой, форме на первый план выступает поражение периферической нервной системы, заключающееся в симметричном нарушении чувствительности, моторики и рефлексов дистальных отделов тела. Наиболее характерен симптом симме-

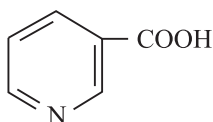
тричного опускания ступни (овечья походка). При отечной форме бери-бери преимущественно поражается сердечно-сосудистая система, хотя отмечаются также явления полиневрита. Для этой формы болезни характерны высокое артериальное давление, одышка, тахикардия, увеличение размеров сердца и нарастающая сердечная недостаточность с выраженными отеками.

При бери-бери резко возрастает в крови и тканях уровень пирувата и пентозосахаров, развивается отрицательный азотистый баланс, потеря с мочой аминокислот и креатина. У алкоголиков иногда наблюдается недостаточность тиамина, получившая название *синдрома Вернике – Корсакофф*, которая сопровождается расстройством функции нервной системы, нистагмом, психозами, необратимой потерей памяти.

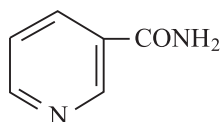
Богатыми источниками тиамина являются рыба, говядина, неочищенный рис, бобовые. Введение тиамин больным облегчает симптомы бери-бери сравнительно быстро.

Коферменты, содержащие тиамин, образуются путем фосфорилирования витамина B_1 , при этом могут возникать формы разной степени фосфорилирования: тиаминмонофосфат (ТМФ), тиаминдифосфат (ТДФ) или тиаминтрифосфат (ТТФ). Тиаминдифосфат входит в состав как минимум трех ферментов и ферментных комплексов: в составе пируват- и альфа-кетоглутаратдегидрогеназных комплексов он участвует в окислительном декарбоксилировании пирувата и альфа-кетоглутарата; в составе транскетолазы ТДФ участвует в пентозофосфатном пути превращения углеводов.

- *Никотиновая кислота, ниацин, РР, B_3* :



Никотиновая кислота



Амид никотиновой кислоты

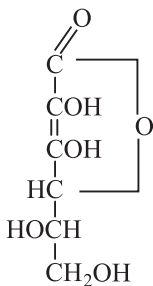
При недостаточном поступлении ниацина с пищей или уменьшении его синтеза в организме наблюдается заболевание *пеллагра*. Наиболее характерные признаки пеллагры описываются тремя Д: дерматитом, диареей и деменцией (слабоумие). Характерны симметричные пигментированные высыпания на коже в местах, открытых солнцу (тыльная поверх-

ность рук, лицо, шея). Поражения желудочно-кишечного тракта проявляются рвотой или диареей, язык – ярко-красный, болезненный и отекающий. Неврологические симптомы выражаются в беспокойстве, бессоннице, дезориентации и галлюцинациях.

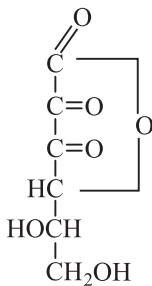
Известно, что в организме ниацин может синтезироваться из триптофана (60 мг триптофана эквивалентно 1 мг ниацина). Встречается пеллагра в странах, где основным продуктом питания является кукуруза, а пища бедна мясом или рыбой. Кукуруза содержит очень мало триптофана, а никотинамид присутствует в связанной форме, в которой не может быть усвоен. Лучшими источниками ниацина являются мясо, бобовые, орехи и рыба.

Витамин РР входит в состав двух коферментов – никотинамидадениндинуклеотида (НАД^+) и никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФ^+). Около 200 ферментов содержат НАД^+ или НАДФ^+ в качестве кофермента; эти коферменты, как уже упоминалось ранее, действуют как промежуточные переносчики водорода.

- *Витамин С (аскорбиновая кислота):*



L-Аскорбиновая кислота



Дегидро-L-аскорбиновая кислота

Биологическая роль:

- кофактор в синтезе коллагена (гидроксирование пролина и лизина);
- гидроксирование триптофана в 5-гидрокситриптофан (при синтезе серотонина);
- реакции гидроксирования при биосинтезе гормонов корковой и мозговой части надпочечников;
- в составе оксигеназной системы микросом витамин С играет роль прооксиданта;

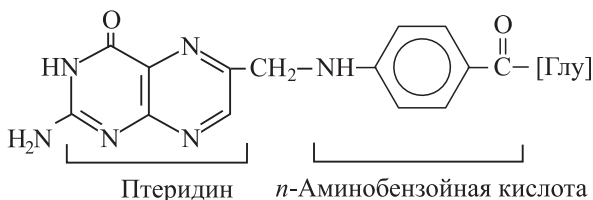
- стабилизирует витамин Е, выполняя антиоксидантную функцию;
- участвует в синтезе тироксина;
- защищает железо от окисления в тонком кишечнике, облегчая всасывание.

Хотя аскорбиновая кислота не имеет ярко выраженных коферментных форм, однако она может участвовать в окислительно-восстановительных реакциях, защищая гемоглобин от окисления, способствуя образованию гидроксипролина из пролина при синтезе коллагена, обеспечивает образование гормонов коры надпочечника, является мощным антиоксидантом.

Вследствие гиповитаминоза С развивается *цинга*. С давних времен известно, что цингу можно вылечить свежей зеленью, овощами и фруктами, особенно цитрусовыми. Аскорбиновая кислота очень нестабильна и разрушается при нагревании в щелочных условиях, а также под действием кислорода в присутствии ионов железа и меди, катализирующих ее окисление.

Ранние признаки цинги – слабость, легкая утомляемость, вялость, одышка, ноющие боли в костях, суставах и мышцах. Поражается кровеносная система, повышается проницаемость сосудистой стенки, что служит причиной мелких точечных кровоизлияний под кожу, так называемых петехий, отмечаются кровоизлияния во внутренние органы и слизистые оболочки. Для цинги характерны также кровоточивость десен, кариес, расшатывание и выпадение зубов, поражение костной и хрящевой ткани, резкое падение массы тела.

- Витамин B₉ (фолиевая кислота):



Фолиевая кислота содержит в своем составе витаминоподобное вещество – парааминобензойную кислоту, которая соединена с птеридином и глутаминовой кислотой.

Коферментные формы (рис. 11.1) необходимы:

- для синтеза нуклеотидов, следовательно, нуклеиновых кислот;

5-Формимино ТГФ	$-\text{HC}=\text{NH}-$
5,10-Метенил ТГФ	$=\text{CH}-$
5,10-Метилен ТГФ	$-\text{CH}_2-$
5-Метил ТГФ	$-\text{CH}_3$

Рис. 11.1. Коферментные формы фолиевой кислоты:

ТГФ – тетрагидрофолат

– превращения гомоцистеина в метионин. Накопление гомоцистеина предрасполагает к развитию *атеросклероза*.

Недостаточность фолиевой кислоты – явление, распространенное во всем мире; часто встречается среди неимущих людей, у престарелых, беременных женщин, новорожденных и у лиц, получающих в течение длительного периода времени антибиотики, которые подавляют кишечную микрофлору. Важно помнить также, что для активирования фолиевой кислоты в организме необходимы витамины B_{12} и С.

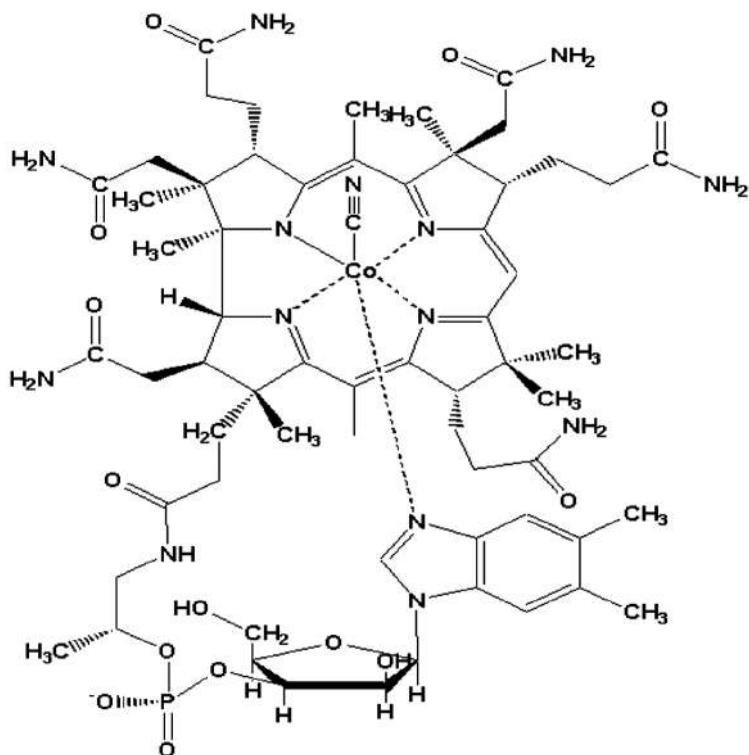
При дефиците фолиевой кислоты развиваются общая слабость, потеря веса, а в дальнейшем – макроцитарная анемия, весьма сходная с анемией вследствие дефицита витамина B_{12} , но без неврологических симптомов; в плазме крови значительно снижается уровень фолата, наблюдается гиперсегментация полиморфно-ядерных лейкоцитов. Как следствие нарушения эритропоэза в крови появляются мегалобласты – молодые клетки с низким содержанием ДНК.

Наиболее богаты фолиевой кислотой зеленые листья овощей, печень, дрожжи и мясо, однако при кулинарной обработке пищи она может разрушаться.

- *Кобаламин, витамин B_{12} .*

Витамин B_{12} – единственный витамин, содержащий в своем составе металл. В его необычайно сложной молекуле центральный атом кобальта соединен с атомами азота четырех восстановленных пиррольных колец, образующих порфириноподобное корриновое ядро.

Биологическая роль: коферментные формы метили или 5'-дезоксиаденозилкобаламин используются в транспорте одноуглеродных фрагментов и метаболизме фолиевой кислоты. Как и в случае фолиевой кислоты, метилкобаламин принимает участие в превращении гомоцистеина в метионин. 5'-Дезоксиаденозилкобаламин необходим в процессах превращения пропионил-КоА в сукцинил-КоА. Эта реакция имеет место в ходе катаболизма аминокислот – мет, тре, иле, а также



Витамин В₁₂

при β -окислении жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов. Поэтому при дефиците витамина накапливается метилмалонил-КоА, определение уровня которого используется для диагностики дефицита витамина В₁₂.

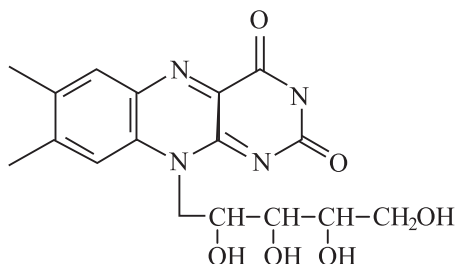
Дефицит кобаламина может быть следствием неадекватной диеты, вегетарианства и нарушения всасывания. Для активного всасывания огромной молекулы витамина В₁₂ необходимым условием является наличие в желудочном соке особого белка – гликопротеина, так называемого *внутреннего фактора Касла*. В таком связанном виде витамин В₁₂ всасывается в кишечнике. Нарушения всасывания могут развиваться у лиц, перенесших операцию на желудке (резекция), у лиц с нарушениями функции кишечника, а также в случае, когда бактерии или паразиты конкурируют за пищевой витамин В₁₂ в кишечнике.

Недостаточность витамина B_{12} приводит к развитию злокачественной макроцитарной анемии, так называемой пернициозной анемии. Помимо нарушения кроветворной функции развивается резкое снижение кислотности желудочного сока и расстройство деятельности нервной системы. Последнее является следствием нарушения синтеза миелина. Повреждаются периферическая нервная система, спинной и головной мозг. Неврологические симптомы сводятся к парестезиям, онемению кистей и ступней, неустойчивости походки, ослаблению памяти. Могут наблюдаться спутанность сознания и галлюцинации. Для лечения пернициозной анемии витамин B_{12} обычно назначается парентерально.

Богата кобаламином печень животных. В растительной пище этот витамин отсутствует. Витамин синтезируется главным образом бактериями.

Витамин B_{12} входит в состав двух типов коферментов: метилкобаламина и 5'-дезоксиаденозилкобаламина.

- Витамин B_2 (рибофлавин):



Название «флавин» происходит от *flavus*, что означает желтый, так как рибофлавин в окисленной форме желтого цвета. Окраска исчезает при восстановлении.

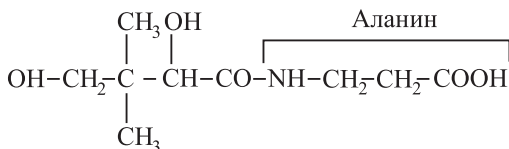
Биологическая роль: коферментные формы витамина B_2 образуются путем фосфорилирования или аденилирования витамина B_2 . Различают 2 кофермента, содержащие рибофлавин, – флавиномононуклеотид (ФМН – фосфорилированная форма рибофлавина) и флавинаденидинуклеотид (ФАД – аденилированная форма флавиномононуклеотида). Они принимают участие в окислительно-восстановительных реакциях в качестве промежуточного переносчика атомов водорода. Такие реакции имеют место: *a* – в комплексе II дыхательной цепи в составе сукцинатдегидрогеназы, ацил-КоА де-

гидрогеназы, глицерофосфатдегидрогеназы; *б* – в метаболизме лекарств или токсинов (в составе микросомной системы вместе с цитохромом P_{450}); *в* – в ходе внутриклеточного распада пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов (ксантиноксидаза); *г* – в восстановлении глутатиона (глутатион редуктаза), *д* – в окислительном дезаминировании аминокислот (оксидазы аминокислот); синтезе тетрагидрофолиевой кислоты; *е* – в обмене нейромедиаторов (МАО).

Недостаточность рибофлавина чаще развивается у беременных женщин, у детей в период роста и у людей в состоянии стресса. Характерными признаками недостаточности являются раздражение и растрескивание губ и уголков рта, воспаление слизистой языка (глоссит). Наиболее характерные поражения глаз – *катаракта* (помутнение хрусталика) и *кератит* (воспаление роговицы). Кроме того, развиваются общая мышечная слабость и изменения в миокарде.

Наилучшими источниками рибофлавина являются молоко, печень, яйца, мясо и желтые овощи.

- *Пантотеновая кислота (витамин B_5):*



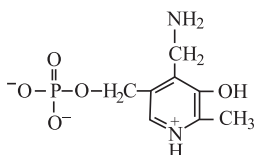
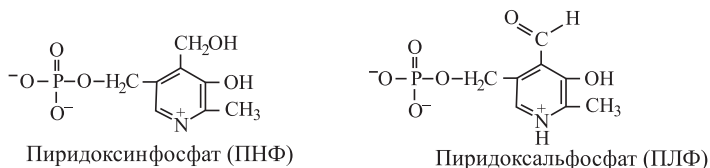
Пантотеновая кислота, или 2,4-дигидрокси-3,3-диметилмасляная кислота

Пантотеновая кислота входит в состав: *а* – кофермента А (КоА-SH) (наиболее популярным в клетках является ацетил, связанный с коферментом А: $\text{CH}_3\text{-CO-S-CoA}$ – это соединение, которое объединяет обмен разных веществ в клетке); *б* – ацилпереносящего белка, одного из компонентов ацилсинтазного полиферментного комплекса.

- *Витамин B_6 (рис. 11.2).*

Биологическая роль: роль витамина B_6 выполняют три производных пиридина – пиридоксин, пиридоксаль и пиридоксамин. Коферменты образуются путем фосфорилирования указанных форм витамина. Ведущим коферментом является пиридоксальфосфат, который участвует в катализе реакций обмена аминокислот:

- реакции трансаминирования;
- реакции декарбоксилирования аминокислот;

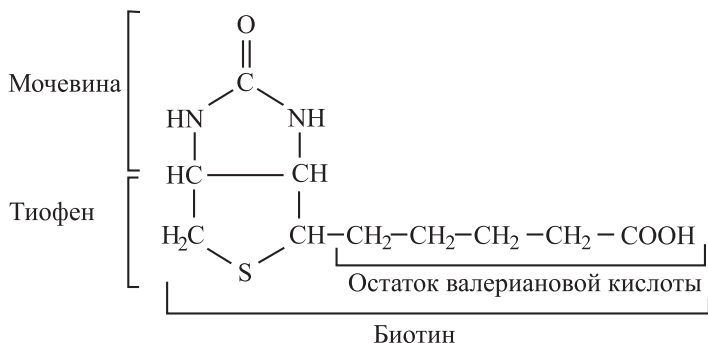


Пиридоксаминфосфат (ПМФ)

Рис. 11.2. Витамин В₆ (вверху) и его коферментные формы (внизу)

- реакции обезвреживания (окисления) биогенных аминов;
- реакции разрушения D-аминокислот;
- синтезе гормонов щитовидной железы и их распаде в периферических тканях;
- превращении триптофана в ниацин;
- синтезе гема.

• *Биотин (витамин H):*



Биологическая роль: витамин образует активную форму карбоксибиотина, который участвует в реакциях карбоксилирования. Такие реакции имеют место в глюконеогенезе (превращение пирувата в оксалоацетат), синтезе жирных кислот (образование малонил-КоА из ацетил-КоА), β -окислении жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов (превращение пропионил-КоА в метилмалонил-КоА), синтезе мочевины (образование карбамоилфосфата). Кроме того, биотин способен присоединяться к белкам. Это явление носит название *биотинилирования*. В частности, биотинилированию подвергаются гистоны, и это влияет на репликацию ДНК и транскрипцию.

Недостаточность пиридоксина, биотина и пантотеновой кислоты у людей встречается крайне редко. При обычных условиях потребность в этих витаминах полностью покрывается за счет пищи, но недостаточность их можно вызвать экспериментально или обнаружить у людей, придерживающихся необычных диет.

Случай недостаточности биотина был описан у больного, питавшегося исключительно вином и сырыми яйцами, которые содержат специфический белок – авидин, связывающий биотин и препятствующий его всасыванию в кишечнике. При варке яиц авидин разрушается и теряет способность связывать биотин. При дефиците биотина наблюдаются замедление роста, выпадение волос, усиление деятельности сальных желез (себорея), дерматит.

При недостаточности пиридоксина также наблюдаются дерматиты, развиваются стоматит и конъюнктивит. Потребность в витамине B_6 возрастает при употреблении большого количества белка. Дефицит его наблюдается у больных туберкулезом, леченных изониазидом – антагонистом пиридоксина.

Дефицит пантотеновой кислоты встречается крайне редко и проявляется дерматитами, потерей веса, депигментацией волос, поражением слизистых оболочек, анемией вследствие нарушения синтеза гема. Наблюдаются невриты, параличи, характерен симптом жжения стоп.

Богатые источники витаминов Н, B_6 , B_5 – печень, яйца, дрожжи, бобовые и зерновые.

Токсичность водорастворимых витаминов и их использование в качестве терапевтического средства. Ниацин при передозировке может вызывать сильную гиперемии, голов-

ную боль, судороги, тошноту, рвоту, повреждения печени, повышение уровня мочевой кислоты и сахарный диабет.

Аскорбиновая кислота в больших дозах (1–10 г в сутки) может вызвать диарею, повышение всасывания железа, повышенное образование оксалатов (риск оксалатных камней в почках). Наблюдаются повышение артериального давления, нарушение питания миокарда, чувство жара, бессонница, снижается функция органа зрения. У беременных женщин может произойти выкидыш. Длительное применение больших доз аскорбиновой кислоты угнетает β -клетки островков Лангерганса (риск сахарного диабета), повышается протромбин крови, что предрасполагает к тромбообразованию.

Аскорбиновая кислота в фармакологических дозах используется для профилактики и лечения простудных заболеваний и рака в силу ее иммуностимулирующего и антиоксидантного действия. Однако этот вопрос является спорным и, несомненно, требует дальнейшего изучения.

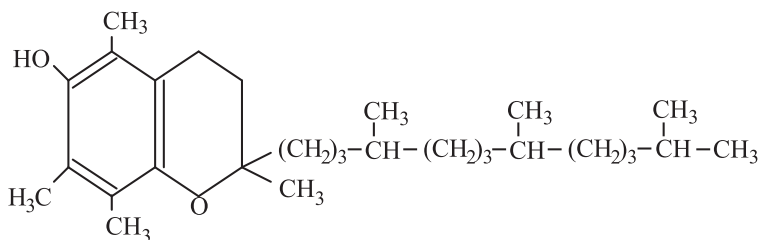
Пиридоксин в фармакологических дозах назначается для лечения предменструального синдрома, депрессии, мышечной слабости.

Фолиевая кислота при добавке к рациону беременных женщин (400 мкг/день) уменьшает риск нейрорэктодермии у новорожденных. Второе показание для ее назначения – профилактика атеросклероза. Исследования показали, что повышение уровня гомоцистеина в плазме людей на фоне диеты, бедной фолиевой кислотой, витаминами B_6 и B_{12} , которые участвуют в качестве кофакторов в превращениях гомоцистеина, существенно увеличивает риск атеросклероза.

Жирорастворимые витамины. Эти витамины могут депонироваться разными клетками (витамины А и D), дефицит их встречается реже. При передозировке они более токсичны, чем водорастворимые. Участвуют в процессах светоощущения (витамин А), свертывания крови (витамин К), являются индукторами синтеза белков на уровне генома, что роднит их с гормонами стероидного ряда, выполняют антиоксидантную функцию. К жирорастворимым витаминам относятся следующие.

- *Витамин Е (токоферол, витамин размножения).*

Витамин Е был впервые выделен из масла зародышей пшеницы и хлопкового масла. Добавление его к диете предохраняло животных от бесплодия, поэтому он был назван *токоферолом* (от греч. tokos – потомство, phero – несу).



6-Гидроксихроман (токол)

Изопреновые остатки

Существует несколько природных токоферолов. Все они являются 6-гидроксихроманами, или токолами, с изопреноидными заместителями. Наиболее широко распространен α -токоферол. Он имеет и наибольшую витаминную активность.

Как и все жирорастворимые витамины, токоферол всасывается при переваривании липидов и в составе хиломикронов транспортируется через лимфатические пути в кровь. В печени он связывается со специальным белком, который необходим для транспорта витамина в органы и ткани, а избыток токоферола выводится с желчью.

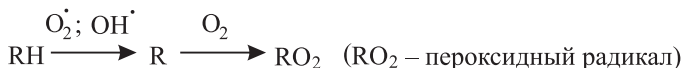
Основная функция токоферола – антиоксидантная, т.е. он препятствует развитию цепных свободнорадикальных реакций. *Свободным радикалом* называется молекула (или ее часть), содержащая неспаренный электрон. Такая молекула очень агрессивна – она легко вступает в реакцию с различными соединениями: белками, нуклеиновыми кислотами, липидами.

Процесс свободнорадикального окисления ненасыщенных липидов клеточных мембран называется *перекисным окислением липидов* (ПОЛ).

Активируется перекисное окисление липидов свободными радикалами кислорода: супероксидным (O_2^-), пероксидным (O), гидроксильным (OH^-), гидроперекисным (HO_2). Эти радикалы возникают в клетке при многих реакциях, в которых используется молекулярный кислород воздуха. Так, они образуются при функционировании важнейшей оксигеназной системы – цитохрома Р (он выполняет функцию обезвреживания ксенобиотиков и участвует в синтезе многих активных соединений: простагландинов, стероидных гормонов и др.); при функционировании оксидаз аминокислот, ксантинооксидазы (катализирует распад пуриновых нуклеотидов) часть их образуется в дыхательной цепи, особенно в случаях, когда снижена активность цитохромоксидазы.

Свободнорадикальному окислению подвергаются ненасыщенные жирные кислоты липидов клеточных мембран. Если жирную кислоту обозначить RH, то процесс ПОЛ можно представить следующей схемой:

I этап – зарождение цепи



II этап – продолжение цепи



III этап – разветвление цепи



Как видно из схемы, в процессе ПОЛ образуются гидроперекиси липидов. Подвергаясь дальнейшим превращениям, особенно в присутствии Fe^{2+} , они могут в свою очередь способствовать образованию альдегидов, кетонов, эпоксидов и других высокореакционных соединений, которые способны, реагируя с биомолекулами, привести к полному распаду клеточных мембран и клетки в целом.

Для поддержания процесса свободнорадикального окисления на оптимальном для клетки уровне (напомним, что свободные радикалы кислорода и продукты ПОЛ являются нормальными метаболитами клетки, выполняющими определенные функции) существуют защитные механизмы. Они могут быть ферментативными и неферментативными. Важнейшим неферментативным антиоксидантом является токоферол. Этот витамин способен реагировать со свободными радикалами кислорода и свободными радикалами жирных кислот. В реакции принимает участие OH-группа фенольного ядра, которая способна окисляться, т.е. отдавать электрон с образованием малоактивного свободного радикала (рис. 11.3). Свободный радикал токоферола (токоферол-О \cdot) легко восстанавливается аскорбиновой кислотой. Эта реакция жирорастворимого витамина с водорастворимым аскорбатом в клетке возможна потому, что токоферол располагается поперек мембраны и его OH группа как бы «смотрит» в цитоплазму.

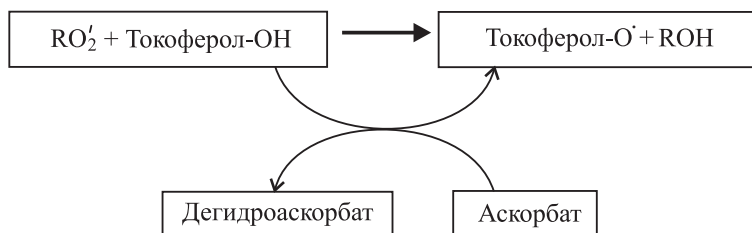


Рис. 11.3. Один из механизмов антиоксидантного действия витамина Е

Таким образом, антиоксидантная функция витамина Е заключается в том, что он «гасит» свободные радикалы кислорода и жирных кислот. Синергистом этого действия является витамин С. С другой стороны, прооксидантное действие витамина С (витамин С может быть не только анти-, но и прооксидантом в присутствии ионов Fe^{2+}) устраняется токоферолом. Следовательно, оба эти витамина следует назначать всегда вместе.

Витамин Е оказывает стабилизирующее действие на клеточные мембраны не только потому, что он, обладая определенной подвижностью, защищает от пероксидной деструкции. Он занимает такое положение в мембране, которое препятствует контакту кислорода с ненасыщенными липидами мембран. Вследствие этих причин при гиповитаминозе Е происходит повреждение клеточных мембран. Повреждение мембран лизосом (витамин Е является также ингибитором лизосомной фосфолипазы A_2) приводит к выходу протеолитических ферментов в цитозоль, которые и повреждают клетку. Клинически это проявляется в усилении гемолиза эритроцитов, атрофии мышц, прерывании беременности (вплоть до рассасывания плода), атрофии семенников, импотенции; отмечается размягчение мозга, особенно мозжечка.

Особенно страдает митохондриальная мембрана, так как именно в митохондриях содержится больше всего ненасыщенных липидов. В результате усиления процесса ПОЛ в митохондриях наблюдается разобщение окислительного фосфорилирования (перекиси жирных кислот являются сильными разобщителями); недостаточное образование АТФ приводит к нарушению всех биосинтетических процессов в клетке. Установлено, что при гиповитаминозе Е резко нарушается биосинтез убихинона – важнейшего компонента дыхательной

цепи и основного биоантиоксиданта митохондрий. Вот почему витамин Е называют также *антигипоксантом*: он, улучшая использование кислорода митохондриями, тем самым предохраняет клетку от гипоксии. Как известно, миокард богат митохондриями, поэтому назначение токоферола (вместе с аскорбатом) весьма эффективно при ишемической болезни сердца.

Витамин Е принимает участие в биосинтезе гема. Он улучшает иммунозащитные реакции организма. Важную роль токоферол играет в метаболизме сильного антиоксиданта – селена. По-видимому, он (наряду с витамином С) необходим для включения Se в активный центр фермента глутатионпероксидазы, а также для предохранения селена от окисления. Глутатионпероксидаза является одним из важнейших ферментов антиоксидантной ферментативной защиты организма, так как инактивирует гидропероксиды липидов (продукты ПОЛ).

Токоферол повышает эффективность действия витамина А, так как защищает его ненасыщенную боковую цепь от перексидного окисления.

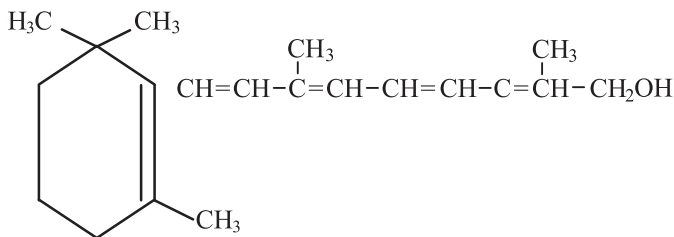
Витамином Е богаты растительные масла, но только свежие, технология получения которых исключает высокие температуры и другие процедуры, применяемые в промышленности. Более того, избыток таких растительных масел в рационе усиливает недостаточность витамина Е, так как он расходуются на интенсифицированный ненасыщенными жирными кислотами масел процесс ПОЛ. Растительные масла легко прогоркают, особенно если они хранятся в тепле и на свету. Растительные масла, содержащие высоконепредельные жирные кислоты (масло льняного семени) практически не хранятся. Сохраняется витамин Е в растительных маслах, полученных «холодным» прессованием.

Витамина Е много в семечках, орехах, семенах злаков; содержат его листья салата, капусты. Из продуктов животного происхождения витамин Е содержится в сливочном масле, сале, мясе, желтке яиц. Молоко бедно токоферолом,

Суточная потребность в витамине Е составляет 20–50 мг. Однако во время беременности, при рационе, богатом рафинированными маслами, при стрессе потребность в нем увеличивается. Особую роль играет витамин в профилактике и лечении лучевой болезни, злокачественных новообразований, гипоксических состояниях, атеросклерозе, т.е. всех патологий, которые сопровождаются усилением ПОЛ клеточных мем-

бран. Витамин Е нетоксичен даже в дозах, многократно превышающих физиологические. В отсутствии аскорбата он быстро окисляется. Для усиления его антиоксидантного действия необходимо назначать витамин А (см. ниже). Невсосавшийся токоферол выводится с калом, а продукты его метаболизма в виде токофероновой кислоты и ее водорастворимых глюкуронидов – с мочой.

- *Витамин А (ретинол, антиксерофтальмический):*



Имеется три формы витамина А (ретинол, ретиналь, ретиновая кислота), однако все они представляют собой циклический, высоконепредельный (содержит пять двойных связей) одноатомный спирт. Всасываясь с продуктами гидролиза липидов, витамин А транспортируется в лимфу в виде ретиниловых эфиров; в крови он связывается с ретинолсвязывающим белком и частично преальбумином.

В тканях организма ретинол окисляется в альдегиды (ретинали): *цис*- и *транс*-ретинали. Витамин А может откладываться про запас в печени и жировой ткани в форме устойчивых эфиров с уксусной или пальмитиновой кислотой. Ретиналь может окисляться в ретиновую кислоту, которая выводится с желчью в виде глюкуронидов.

Наиболее ранним симптомом недостаточности витамина А является «*журиная слепота*» – резкое снижение темновой адаптации. Характерным является поражение эпителиальной ткани: кожи, слизистой оболочки кишечника (вплоть до развития язв), бронхов (бронхиты), мочеполовой системы.

Дерматиты сопровождаются патологической пролиферацией, усиленной кератинизацией и слущиванием эпителия. Слущивание эпителия слезных каналов может привести к их закупорке и уменьшению смачивания роговицы глаза слезной жидкостью – она сохнет (ксерофтальмия) и размягчается (кератомалиция) с образованиям язв. Распад и размягчение рого-

вой оболочки могут развиваться очень быстро, поскольку при отсутствии слезной жидкости легко развивается гнойная инфекция (слезные железы секретируют лизоцим, обладающий бактерицидным действием).

Витамин А также называют *витамином роста*. Хищные животные при его недостатке в корме перестают расти и погибают.

Хорошо изучено участие витамина в процессе зрения. В палочках сетчатки, которые, как известно, воспринимают слабое освещение, содержится зрительный пигмент – родопсин. Родопсин представляет собой специфический белок опсин, связанный с альдегидной формой витамина А – *цис*-ретиналем. Под действием квантов света родопсин распадается на белок опсин, а *цис*-ретиноаль изомеризуется в *транс*-ретиноаль. *Транс*-ретиноаль активизирует белок трансдуцин, который в свою очередь активизирует фосфодиэстеразу цГМФ, локализирующуюся в мембране палочки. цГМФ стимулирует перекрытие Na^+ -каналов, вызывая деполяризацию мембраны и возникновение электрического импульса, который распространяется по нервному волокну.

В темноте происходит обратный процесс – синтез родопсина. Для этого необходимо образовавшийся на свету *транс*-ретиноаль превратить в *цис*-форму. Это осуществляет фермент изомеразы. *Транс*-ретиноаль может также превращаться в *транс*-ретинол. Эта реакция восстановления альдегидной формы витамина А в спиртовую протекает при участии $\text{НАДН} \cdot \text{H}^+$ -зависимой дегидрогеназы. *Транс*-ретинол, поступая с током крови в печень, изомеризуется в *цис*-ретинол. *Цис*-ретинол окисляется при участии НАД^+ -зависимой дегидрогеназы в *цис*-ретиноаль, используемый для синтеза зрительного пурпура родопсина.

При расстройстве указанных механизмов (в том числе и при нарушении функции печени) появляется «куриная слепота».

Витамин А проявляет тропность к эпителиальной ткани; он также регулирует дифференцировку и деление других быстропролиферирующих тканей – сперматогенного эпителия, плаценты, хряща и костной ткани. Он необходим для нормального роста и дифференцировки тканей эмбриона и молодого организма. Этот механизм окончательно не выяснен. Имеются данные о том, что ретинол необходим для биосинтеза полиадениловой РНК, участвующей в биосинтезе белков в клетке.

Выраженное влияние на хрящевую и костную ткань объясняется участием витамина А в биосинтезе хондроитинсульфата в клетках хряща.

Витамин А необходим для образования гликопротеинов. Синтез последних, т.е. реакции гликозилирования (присоединения углеводного компонента к молекуле синтезированного на рибосомах белка) осуществляются в аппарате Гольджи. Именно с участием витамина А и протекают реакции присоединения углевода к белковой части гликопротеинов. Нарушением этих процессов можно объяснить появление изъязвлений в слизистой желудочно-кишечного тракта при недостатке витамина (нарушается образование защитных слизей).

Витамин А принято называть витамином антиоксидантного действия. Так, показано его участие в реакциях созревания эпителия. Он предотвращает его кератинизацию. Кератинизация обуславливается окислением входящих в состав эпителия SH-содержащих белков с образованием в них поперечных сшивок – S-S-связей между отдельными аминокислотами. Усиление кератинизации эпителия (гибель эпителиальных клеток) приводит к его усиленному слущиванию, развивается дерматит. Витамин А способствует поддержанию SH групп в восстановленном состоянии, тем самым он препятствует кератинизации эпителия. Антиоксидантное действие витамина А проявляется в том, что он способен значительно усиливать антиоксидантное действие токоферола. Он совместно с витаминами Е и С способствует включению Se в состав глутатионпероксидазы – важнейшего фермента антиоксидантной защиты.

Гипервитаминоз проявляется такими симптомами, как воспаление роговицы глаза, гиперкератоз, потеря аппетита, тошнота (при остром отравлении – рвота), понос, головные боли, боли в суставах, увеличение печени. Развивается общее истощение организма.

Хроническое отравление наблюдается при регулярном приеме высоких доз витамина, больших количеств рыбьего жира. Случаи острого отравления наблюдали при употреблении в пищу печени акулы, белого медведя, морских животных.

Этот витамин имеется только в животных жирах, растительные его не содержат. Особенно много его в жире морских рыб и животных.

Суточная потребность в ретиноле составляет 2–3 мг. Однако частично витамин А может образовываться под влиянием кишечных оксигеназ в организме человека и всеядных млекопитающих из β -каротинов. По своей структуре молекула β -каротина представляет как бы две молекулы витамина А. Каротины широко распространены в природе. Особенно их много в красно-оранжевых фруктах и овощах; чемпионом среди них является морковь. Суточная потребность в каротинах составляет 2–5 мг.

- *Витамин D (кальциферол, антирахитический)* (рис. 11.4).

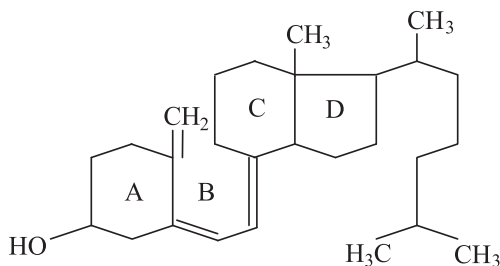


Рис. 11.4. Витамин D₃

Провитаминами – предшественниками витаминов группы D – являются эргостерол (содержится в растениях и дрожжах) и 7-дегидрохолестерол (имеется в коже). 7-Дегидрохолестерол синтезируется из холестерина. Под действием ультрафиолетового облучения оба провитамина превращаются в витамины: эргостерол – в витамин D₂ (эргокальциферол), 7-дегидрохолестерол – в витамин D₃ (холекальциферол).

Однако обе формы в организме биологически неактивны. Их активация после всасывания в составе хиломикронов начинается в печени. В этом органе в мембранах эндоплазматического ретикулума под влиянием фермента гидроксилазы образуются 25-гидрокси-D₃ и гидрокси-D₂. В этой форме с помощью транспортного белка крови – кальциферолсвязывающего белка – они переносятся к почкам, где осуществляется еще одна реакция гидроксилирования, при этом образуются 1,25-дигидрокси-холекальциферолы (1,25-D₃ и 1,25-D₂). Процесс гидроксилирования контролируется гормоном паращитовидных желез паратирином. Именно гидроксилированные формы и являются активным витамином D.

Недостаток витамина у детей характеризуется симптомами недостаточности кальция. Заболевание проявляется деформацией костей скелета конечностей в результате их размягчения (остеомалации), черепа (позднее заращение родничков), грудной клетки (появление рахитических утолщений – четок). У взрослых заболевание сопровождается *кариесом зубов* и *остеопорозом* (разрежением кости), кости становятся хрупкими, что нередко приводит к их переломам. Из-за недостатка кальция развивается гипотония мышц, например у детей увеличивается в объеме живот. Отмечается склонность к судорогам. При рахите у взрослых, который вызывается как недостатком активной формы витамина D, так и недостаточным поступлением кальция с пищей (меньшее потребление молока), помимо остеопороза нередко наблюдается почечно-каменная болезнь. Объясняется это усиленным «вымыванием» кальция из костной ткани и нарушением реабсорбции кальция в почечных канальцах при дефиците витамина D.

Иногда, даже в случаях достаточного снабжения организма кальцием и провитаминами D, развиваются *симптомы рахита*. Они наблюдаются при заболеваниях печени и особенно почек, так как эти органы принимают непосредственное участие в активировании провитаминов D.

Витамин 1,25-дигидроксид- D_3 – важнейший регулятор обмена кальция и фосфора в организме. Основными органами – мишенями витамина D являются кишечник, костная ткань и почки.

Подобно всем жирорастворимым витаминам, 1,25-дигидроксигогокальциферол принимает участие в работе генетического аппарата клеток. Связываясь со специальным рецептором, этот витамин способен проникнуть через клеточную мембрану органа-мишени. Воздействуя на геном клеток слизистой оболочки тонкого кишечника, этот витамин, очевидно, индуцирует биосинтез специального кальцийсвязывающего белка, а также белкового компонента Ca^{2+} -АТФазы. В кишечнике всасывание кальция осуществляется как путем облегченной диффузии (с участием белка, связывающего кальций), так и путем активного транспорта (с помощью Ca^{2+} -АТФазы).

В почках стимуляция витамином D Ca^{2+} -АТФазы мембран почечных канальцев приводит в увеличению реабсорбции ионов кальция. Возрастает и реабсорбция фосфатов, однако этот механизм до конца не выяснен.

Витамин 1,25-D₃ оказывает непосредственное влияние на костную ткань. Обнаружено, что его введение стимулирует резорбцию кости. Этим объясняется выраженная декальцинация кости при гипервитаминозе D: уровень кальция и фосфатов в крови резко повышался в результате извлечения из костей, усиления всасывания кальция из кишечника и увеличения реабсорбции этих элементов в почках. Следствием высокой концентрации кальция в крови является кальцинация сосудов, внутренних органов (кальций плохо растворяется) и почек. Летальный исход при остром гипервитаминозе D наступает в результате кальцификации почек.

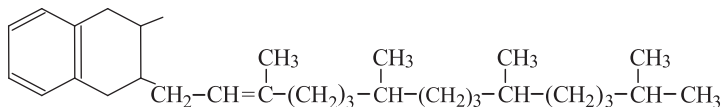
При физиологических концентрациях витамина D процесс всасывания кальция из кишечника уравнивает его вымывание из кости; если содержание кальция в крови повышается, то стимулируется выделение тиреокальцитонина (гормона щитовидной железы) и кальций поступает в костную ткань.

Витамин D₃ содержится только в животных жирах. Особенно богат им свежий рыбий жир. Содержится он в мясе, яйцах, молоке. В растительных маслах присутствует витамин D₂. Биологически он менее активен.

Помимо полноценного питания, содержащего достаточное количество кальция, для профилактики и лечения рахита рекомендуется наряду (или) с препаратами холекальциферола ультрафиолетовое облучение. Достаточно 30-минутной солнечной инсоляции лица, чтобы в организме синтезировалась суточная доза витамина.

Суточная потребность в витамине D составляет для детей 10–25 мг, при беременности она увеличивается.

- *Витамин К (антигеморрагический):*



К группе витамина К относятся нафтохиноны: это хиноны, содержащие боковую изопреноидную цепь. Различают витамин К₁ – филлохинон (содержится в растениях) и витамин К₂ – менахинон (синтезируется кишечными бактериями или образуется в тканях организма млекопитающих).

Всасывается витамин К в тонком кишечнике и в составе хиломикронов из лимфатических путей попадает в кровь.

В плазме крови он связывается с альбуминами, аккумулируется в печени, селезенке и сердце. В тканях образуется активная форма витамина – менахинон-4 (содержит четыре изопреноидные единицы).

При недостатке витамина повышается кровоточивость, особенно при травмах. У взрослых людей кишечная микрофлора полностью удовлетворяет потребность организма в витамине. Однако у маленьких детей (кишечная микрофлора недостаточно развита) при недостаточном поступлении витамина с пищей может развиваться картина гиповитаминоза. Кстати, гиповитаминоз и других жирорастворимых витаминов может наблюдаться при нарушении функции кишечника. Наиболее частым проявлением недостатка витамина является *геморрагическая болезнь* новорожденных. Причиной гиповитаминоза К у взрослых может быть прием кумариновых антикоагулянтов и антибиотиков, нарушающих свертывание крови.

Витамин К необходим для биосинтеза в печени факторов свертывающей системы крови: протромбина (II), а также VII, IX и X факторов свертывания. Причем он не только стимулирует синтез этих белков, но и оказывает непосредственное активирующее действие, выполняя роль кофермента γ -глутамилкарбоксилазы. Этот фермент катализирует реакцию карбоксилирования глутаминовой кислоты в молекулах белков свертывающей системы крови.

Карбоксилирование глутаминовой кислоты, которое осуществляется в пострибосомальной стадии синтеза факторов свертывания, играет важную роль в связывании ионов кальция, так как γ -карбоксиглутаминовая кислота содержит дополнительные отрицательно заряженные ионы карбоксильных групп. Образовавшийся протромбин связывается с помощью ионов кальция с фосфолипидами мембраны (где протекает указанная реакция) и ферментативно расщепляется с образованием тромбина. Последний запускает систему свертывания крови. Витамин К участвует в карбоксилировании также белков костей (участие в образовании минерального компонента кости) и почек.

Синтетическими аналогами витамина К являются викасол, менадион и др. Одним из мощных антивитаминов является природное соединение дикумарол (дикумарин). Он выделяется слюной пиявок. Введение дикумарола вызывает резкое

снижение содержания в крови протромбина, что используется с лечебной целью для профилактики тромбозов.

Витамина К много в капусте, зеленых томатах, шпинате, ягодах рябины. Очень богаты им крапива и люцерна. В животных продуктах его почти нет (исключая печень свиньи). Однако, как уже отмечалось, он синтезируется микрофлорой кишечника. Потребность в нем составляет 1 мг/сут.

ГЛАВА 12

БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ.

ВОДА И МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Краткое содержание главы

Функции воды в организме. Вода – важнейшая составная часть организма, растворитель, транспортное средство, среда и участник химических реакций.

Распределение воды в организме неравномерное: вода входит в состав внутриклеточной и внеклеточной жидкости. Внеклеточная жидкость распределяется в сосудистом русле и межклеточном пространстве.

Электролитный состав жидкости в организме различается в зависимости от ее распределения. Внеклеточная жидкость богата ионами натрия, хлора, бикарбоната и содержит мало белков. Внутриклеточная жидкость богата белками, содержит много ионов калия, фосфаты и органические кислоты.

Водный или жидкостный баланс – результат соотношения поступления и выделения воды. У взрослого человека потери воды за сутки составляют около 2500 мл. С пищей поступает около 2200 мл воды и около 300 мл воды образуется при окислении веществ.

Обмен электролитов. Любые перемещения или потери воды сопровождаются перемещением и потерей электролитов.

Регуляция объемов и осмолярности жидкостей организма – важная составляющая часть гомеостаза в организме. В регуляции принимают участие вазопрессин, натрий-уретические пептиды предсердий, ренин-ангиотензин-альдостероновая система. Изменения осмолярности и объема тесно взаимосвязаны между собой.

Патология водно-солевого обмена проявляется в форме гидратации или дегидратации, которые могут быть изо-, гипо- или гипертоническими.

Определение нарушения водно-солевого обмена в клинических лабораториях – обязательный элемент лабора-

торного обследования больного, подлежащего госпитализации, поскольку любое заболевание сопровождается нарушением водно-солевого обмена. Определяют обычно содержание ионов натрия, калия, хлора и бикарбонаты в крови.

Обмен ионов характеризуется специфическими особенностями для каждого минерального компонента. Понятие «обмен минеральных веществ» включает обычно источники поступления, всасывание, распределение и участие в метаболических превращениях, механизмы регуляции, поддерживающие уровень данного компонента в крови.

Клинико-лабораторное значение. Изменение количества воды в тканях оказывает существенное влияние на трофику клеток. Изменение состава минеральных веществ и нарушение распределения электролитов и жидкости в организме являются причиной серьезных нарушений, коррекцией которых чаще приходится заниматься реаниматологам. Указанные изменения можно своевременно обнаружить в лаборатории путем измерения концентрации ионов, гематокрита, белков в плазме крови, биохимического исследования компонентов мочи. Показатели водно-электролитного баланса и его регуляторы – важный инструмент мониторингования, т.е. отслеживания во времени объективного состояния пациентов, эффективности проводимого им лечения.

Вода неравномерно распределена в организме и имеет разный ионный состав. Среднее содержание воды у взрослого человека составляет около 60% массы тела. К примеру, у человека массой 70 кг содержится 42 л воды. Содержание воды зависит от возраста и количества жира. Жировая ткань бедна водой. Мышцы, наоборот, богаты водой. У полных людей содержание воды меньше (до 40%), а у худых – больше (до 75%). У новорожденных также содержание воды в организме составляет 75% массы тела. В течение первого года жизни это количество быстро уменьшается, а позже – уже незначительно. В пожилом возрасте происходит постепенное уменьшение воды («высыхание» тела в старости).

Количество воды в организме строго регулируется. Потеря более 10% воды вызывает тяжелые функциональные нарушения. Потеря свыше 20% воды приводит к смерти. Как и любое другое вещество, вода неравномерно распределена в организме. В большинстве тканей содержание воды составляет около 70–80%.

В организме различают два главных водных пространства: внутриклеточное пространство как сумма водного содержания каждой клетки организма и внеклеточное пространство, которое включает жидкость, находящуюся вне клеток. Соответственно пространствам различают внутриклеточную и внеклеточную жидкость. Первая составляет $\frac{2}{3}$, а вторая – $\frac{1}{3}$ всей воды. Внеклеточная жидкость локализована внутри сосудов и в межклеточном интерстициальном пространстве (рис. 12.1).

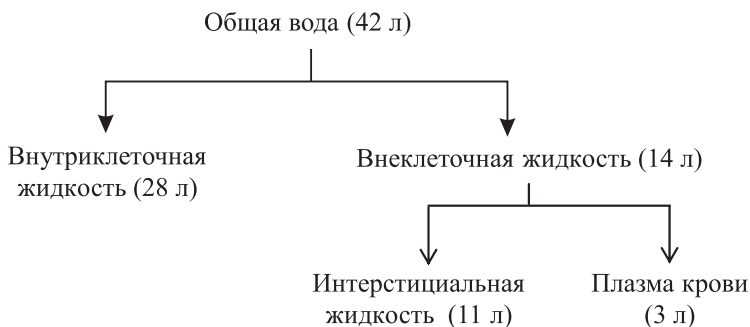


Рис. 12.1. Приблизительное распределение воды в организме человека

Относительное разделение воды между внутри- и внеклеточным пространствами неодинаково в различных органах и тканях. Оно зависит от типа и числа клеток, которые образуют ткани, и от возраста. Молекулы воды свободно перемещаются между пространствами. Небольшая часть внеклеточной жидкости практически не принимает участия в водном обмене между пространствами. Имеется в виду та часть внеклеточной жидкости, которая содержится в очень плотных тканях (костях) или в полых пространствах (кишечник, желчный и мочевой пузыри, суставная щель и т.д.). Эта часть внеклеточной жидкости называется **трансцеллюлярной**. Ее объем составляет около 2 л. Вне- и внутриклеточные пространства находятся в динамическом равновесии. Нарушения или изменения в одном из них вызывают изменения в другом. Объемы жидкостных пространств и состав их жидкостей находятся под регуляторным контролем.

Разделение на два главных пространства не является искусственным. Оно обосновано как морфологически, так и функционально. Стенка сосудов, которая разделяет внутри-

сосудистую и интерстициальную часть внеклеточной жидкости, образует барьер только для высокомолекулярных веществ (белки) и клеток, в то время как низкомолекулярные вещества и неорганические ионы примерно одинаково распределяются по всему внеклеточному пространству. Доказательством служит одинаковый ионный состав плазмы крови и интерстициальной жидкости (табл. 12.1).

Таблица 12.1. Электролитный состав вне- и внутриклеточной жидкости, ммоль/л

Электролиты	Плазма крови	Внеклеточная жидкость	Внутриклеточная жидкость
Na^+	142	145	10
K^+	4	4	160
Ca^{++}	2,5	2,5	1
Mg^{++}	1	1	13
H^+	0,04	0,04	0,13
Cl^-	101	114	3
HCO_3^-	27	31	10
Фосфат	1	1	50
Сульфат	0,5	0,5	10
Органические кислоты	6	7	—
Белки	70 г/л	<5г/л	280 г/л

Имеется довольно значительная разница в ионном составе между внутри- и внеклеточной жидкостью. Эта разница связана с активной деятельностью клеточных мембран, которые образуют пограничную поверхность между обоими пространствами.

Для внутриклеточного пространства характерна более высокая концентрация K^+ , фосфата, белкового содержимого и низкая концентрация Na^+ и Cl^- . В то же время во внеклеточном пространстве содержится меньше калия, фосфата, но много Na^+ , Cl^- и HCO_3^- .

Водный обмен. Обеспечение водного баланса в организме заключается в поддержании равновесия между поступлением и потерями воды. Потери воды и их постоянное возобновление составляет понятие «водный обмен». Ежесуточные потери воды организмом составляют: через легкие (испарение

воды с выдыхаемым воздухом) – 400 мл; через кожу (испарение с поверхности тела и потоотделение) – 500 мл; через почки (моча) – 1500 мл; через кишечник (стул) – 100 мл; всего – 2500 мл.

Приведенные цифры представляют усредненные данные. Фактические же потери зависят от температуры тела, температуры окружающей среды, влажности воздуха, физической нагрузки и т.д. При патологических состояниях (кровотечение, рвота, понос, увеличенный диурез, истечение экссудата из ран) или при сильном нагревании потери воды увеличиваются. Восполнение потерь воды осуществляется за счет поступления ее с пищей (2200 мл/сут) и эндогенной воды (продукт окисления веществ в организме – 300 мл/сут). В сумме это составляет 2500 мл/сут.

Из приведенных выше данных видно, что основное количество воды выделяется почками. Поэтому действие факторов, регулирующих водный обмен, направлено главным образом на функцию этого органа. Оно заключается в гормональной регуляции концентрирующей способности (плотность мочи).

Обмен электролитов. Только в случае потерь воды организмом путем испарения (с выдыхаемым воздухом и через кожу) имеет место чистая водная недостаточность. Во всех остальных случаях потери жидкости происходят параллельно с потерей электролитов. Наиболее существенное выведение электролитов из организма происходит с мочой и фекалиями. Обильное потоотделение также сопровождается выведением электролитов. Необходимо отметить, что пот является гипотонической жидкостью. Поэтому с потом организм теряет прежде всего воду. Вместе с тем концентрация ионов Na^+ и Cl^- в потовой жидкости составляет от 5 до 80 ммоль/л, а ионов K^+ – 10 ммоль/л. Особую значимость такие потери электролитов приобретают у людей, профессия которых связана с обильным потоотделением. Для восполнения их необходимо потребление жидкости, содержащей ионы.

Ежесуточно в желудочно-кишечный тракт выделяется до 8 л различных пищеварительных соков. Однако этот объем не учитывается в общем балансе воды и электролитов. Это обусловлено тем, что пищеварительные соки в норме подвергаются полной реабсорбции (обратное всасывание). Поэтому расстройство функции желудочно-кишечного тракта (рвота, понос) ведет к быстрой потере не только воды, но и электро-

литов, являющихся составными компонентами соков. В первую очередь это относится к ионам HCO_3^- , Cl^- , Na^+ и K^+ (табл. 12.2). Желудочный сок кроме указанных электролитов содержит в своем составе около 120 ммоль/л водородных ионов. Таким образом, становится очевидным, что потери желудочного сока, например при рвоте, приводят к усиленному выведению из организма в первую очередь ионов хлора. Для организма это может иметь самые тяжелые последствия, поскольку потери Cl^- -ионов, как и ионов HCO_3^- , оказывают влияние на кислотно-щелочной баланс.

Таблица. 12.2. Концентрация электролитов в составе пищеварительных соков, ммоль/л

Вид пищеварительного сока	Объем, л/сут	Na^+	K^+	Cl^-	HCO_3^-
Слюна	1	14	21	24	8
Желудочный сок	2,5	125	25	300	0
Желчь	0,7	105	4	70	25
Сок поджелудочной железы	0,9	125	5	70	70
Кишечный сок	3,0	435	15	300	90
Всего	8,1	804	70	764	193

Регуляция объема и осмолярности жидкостей организма. Первоначальной целью регуляции является обеспечение изотоничности и поддержание объема внеклеточного жидкостного пространства. Осмотическая регуляция осуществляется через почки. Рецепторы, чувствительные к изменению осмотического давления протекающей крови, локализованы в сонной артерии. При повышении осмолярности на 2% с их помощью импульс передается по нервным волокнам в гипофиз. В ответ гипофиз выделяет гормон вазопрессин. Под влиянием вазопрессина увеличивается реабсорбция воды в почках, и моча становится более концентрированной. Задержка таким путем воды в организме способствует снижению осмолярности внеклеточной жидкости (рис. 12.2). Одновременно в цепь событий включаются рецепторы, чувствительные к уменьшению объема протекающей крови (волюморепцепторы). Они локализованы в предсердиях. В результате усиливается секреция гипофизом вазопрессина. Действие этого гормона также направлено на задержку воды в организме.

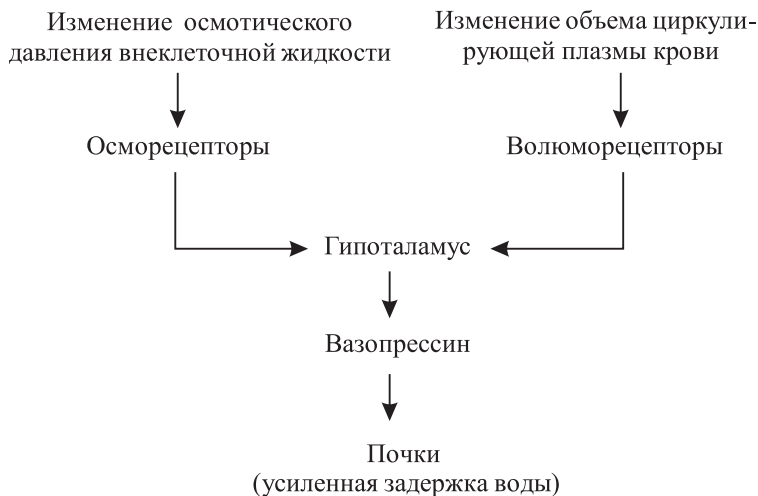


Рис. 12.2. Регуляторные механизмы поддержания изотоничности и объема внеклеточной жидкости, реализуемые с помощью гипоталамуса

Другой механизм регуляции объема внеклеточного жидкостного пространства осуществляется посредством гормона альдостерона. Изменение объема протекающей через почки крови включает механизм детекции с участием волюморецепторов. В результате надпочечники секретируют альдостерон. Под влиянием этого гормона в почках усиливается реабсорбция ионов натрия. Тем самым увеличивается осмолярность плазмы крови, что приводит к секреции вазопрессина и, таким образом, к задержке воды и увеличению объема циркулирующей крови (рис. 12.3).

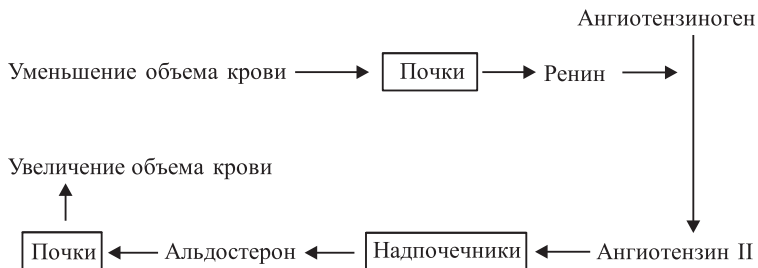


Рис. 12.3. Ренин-ангиотензин-альдостероновый механизм регуляции объема внеклеточной жидкости

На самом деле механизм, опосредованный альдостероном, представляет собой многоступенчатый процесс. Он включает еще ряд других биологически активных соединений, в частности ренин и ангиотензин. Поэтому более точное его название – *ренин-ангиотензин-альдостероновый механизм*. Суть его состоит в том, что уменьшение объема циркулирующей крови приводит к раздражению волноморецепторов и барорецепторов (чувствительных к изменению кровяного давления), локализованных в почках. В ответ в почках увеличивается секреция протеолитического фермента – ренина. Совместно с ферментами плазмы крови он воздействует на белок – ангиотензиноген. Ангиотензиноген синтезируется в печени и оттуда поступает в кровь. В результате от ангиотензиногена отщепляется олигопептид – ангиотензин II. Ангиотензин II стимулирует выделение надпочечниками альдостерона. Восстановление объема циркулирующей плазмы крови приводит к снижению секреции ренина. Другим важным действием ангиотензина II в организме является повышение кровяного давления.

Третий участник регуляции объема циркулирующей крови – предсердный натрийуретический фактор, который секретируется клетками предсердий при их растяжении вследствие увеличения объема крови. Воздействуя на клетки собирательных трубочек, он способствует увеличению почечной экскреции Na^+ и, следовательно, воды. Потеря воды восстанавливает объем крови, противодействуя стимулу, который первоначально вызвал секрецию натрийуретического фактора.

Еще один из важнейших факторов регуляции водного обмена – чувство жажды. Оно возникает при повышении осмолярности внеклеточной жидкости. Вслед за возникновением ощущения жажды следует потребление воды. Это ведет к нормализации водного баланса.

В организме нет отдельной системы регуляции осмолярности и объема внутриклеточной жидкости. Контролирующие механизмы в этом случае тесно связаны с процессами, протекающими во внеклеточных жидкостных пространствах.

Подытоживая, отметим, что изменение объема и осмолярности взаимосвязаны между собой и регулируются тремя факторами:

- вазопрессорный механизм (преимущественно реагирует на изменение осмотического давления);

- ренин-ангиотензин-альдостероновый механизм (преимущественно реагирует на изменение объема);

- жажда.

Первый и второй механизмы реализуются через почки, поскольку ионы Na^+ и Cl^- вносят основной вклад в осмотическое давление внеклеточной жидкости организма.

Патологические изменения водно-электролитного баланса. Изменения водного и электролитного обмена происходят параллельно. Это связано с тем, что выделение свободной от солей воды практически невозможно. Поступление электролитов всегда происходит при участии воды.

Можно выделить две категории изменений водного и электролитного балансов: *изотонические* (пропорциональные) и *неизотонические* (непропорциональные). Изотонические изменения наступают тогда, когда изменение объема воды соответствует количественному изменению электролитов. Возможны следующие изменения водно-электролитного баланса:

- пропорциональное увеличение воды и электролитов (изотоническая гидратация);

- пропорциональная потеря воды и электролитов (изотоническая дегидратация);

- увеличение воды с незначительным увеличением количества электролитов (гипотоническая гидратация);

- увеличение воды со значительным увеличением количества электролитов (гипертоническая гидратация);

- уменьшение воды с еще более сильным уменьшением количества электролитов (гипотоническая дегидратация);

- уменьшение воды с небольшим уменьшением количества электролитов (гипертоническая дегидратация).

Клинически состояния организма, обусловленные недостаточностью воды (эксихозы), более опасны, чем состояния, вызванные увеличением объема воды. Особенно это заметно у новорожденных, у которых обмен воды протекает более интенсивно.

Изотоническая дегидратация. Это состояние наступает при потерях изотонических жидкостей (кровопотеря, ожоги, рвота). Объем внеклеточной жидкости при этом снижается без изменений осмотичности.

Гипертоническая дегидратация. Если организм потерял больше воды, чем электролитов (чистой воды), развивается эксихоз. Вследствие увеличения осмолярности вода из внутриклеточного пространства переходит во внеклеточное про-

странство, при этом снижается объем внутриклеточного пространства. Наиболее частой причиной таких нарушений является ограничение потребления воды (утрата чувства жажды при нарушениях сознания или у новорожденных).

Потеря большого количества гипотонической жидкости может наблюдаться при обильном потоотделении, несахарном диабете и осложненных формах сахарного диабета. Несахарный диабет развивается при нарушении образования и выделения вазопрессина, что ведет к уменьшению реабсорбции воды почками. При сахарном диабете большие потери глюкозы почками приводят к осмотическому увеличению выделения воды. Компенсация таких состояний не всегда достигается введением чистой воды. При этом следует вводить и соли.

Гипотоническая дегидратация. Она возникает при массивных потерях гипертонических растворов, особенно при массивных потерях ионов натрия вследствие недостаточности надпочечников, поскольку при недостаточности альдостерона увеличивается выведение натрия. Снижение осмолярности внеклеточной жидкости ведет к увеличению выделения воды почками и к наполнению внутриклеточного пространства, которое при этом увеличивается в объеме.

Изотоническая гидратация. При накоплении изотонической жидкости свыше нормы во внеклеточном пространстве наблюдается изотоническая гидратация. Объем внутриклеточной жидкости при этом не меняется. Это состояние развивается после введения больших количеств изотонической жидкости или при заболеваниях, сопровождающихся отеками. Под отеком понимают скопление жидкости в ткани, т.е. расширение межклеточного пространства. Отеки возникают по разным причинам. Повышение гидростатического венозного давления происходит при сердечной недостаточности или при циррозе печени, при снижении уровня белков в крови (голодание, потери белков почками). Тогда осмотическое давление внутри сосудов падает и вода переходит из сосудов в ткани. Переход воды из сосудов в ткани ведет к снижению объема плазмы. Это вызывает раздражение волюморецепторов и стимулирует восполнение объема плазмы, что приводит к увеличению жидкости в организме.

Гипотоническая гидратация (отравление водой). Это состояние развивается при приеме большого количества воды или после введения больших количеств растворов, не содержащих солей (раствор глюкозы).

Гипертоническая гидратация. Если в организм поступает такое большое количество гипертонического раствора, что почки не справляются с выведением солей, то развивается гипертоническая гидратация. Это может быть, например, при употреблении человеком морской воды. Повышение осмолярности приводит к переходу воды из внутриклеточного пространства, объем которого при этом уменьшается (клеточный эксикоз). Такое же состояние может быть и при гиперфункции надпочечников (синдром Кушинга).

Основные изменения содержания натрия, белка и гематокрита при нарушении водно-электролитного баланса приведены в табл. 12.3.

Таблица 12.3. Изменение содержания натрия, белка и гематокрита при нарушении водно-электролитного баланса

Нарушение	Натрий	Белок	Гематокрит
Изотоническая гидратация	н	—	—
Изотоническая дегидратация	н	+	+
Гипотоническая гидратация	—	+	+
Гипертоническая гидратация	+	—	—
Гипотоническая дегидратация	—	+	+
Гипертоническая дегидратация	+	+	+

Примечание. Условные обозначения: «н» — норма; «+» — повышено; «—» — понижено.

Определение нарушений в клинической лаборатории. Указанные гипо- или гипертонические состояния можно диагностировать в лаборатории путем определения концентрации ионов натрия в плазме. При гипертонических изменениях находят повышенное значение этого показателя, а при гипотонических — пониженное. Определение уровня хлоридов менее показательно из-за быстрого компенсационного обмена хлоридов на другие анионы. Изотонические изменения таким способом нельзя подтвердить. Однако они могут быть распознаны путем определения гематокрита (доля объема эритроцитов в объеме крови в процентах) или концентрации белка в плазме.

Изменения обмена отдельных ионов. Если изменение обмена натрия сказывается, в основном, на величине осмотического давления, то изменение содержания ионов калия или

кальция вызывает нарушение обмена веществ внутри клеток. Изменения количества бикарбонатов сказываются на состоянии кислотно-основного равновесия в крови.

Обмен натрия и его нарушения. Натрий входит в состав всех тканей и жидкостей организма. Общее содержание его в организме около 105 г. Половина всего натрия находится во внеклеточных жидкостях, 6% – в клетках, а остальная часть депонируется главным образом в костях. Кости – основное депо натрия. На долю ионной формы приходится 85% всего количества натрия и около 15% удерживается белками. Ионы натрия принимают активное участие в регуляции осмотического давления (потеря одного ммоль натрия сопровождается потерей 6 мл воды), в проведении нервных импульсов. Потребность в натрии для взрослых колеблется от 4 до 5 г в сутки.

В организм натрия поступает с пищей, активно всасывается в тонком кишечнике. Активируют всасывание натрия стероидные гормоны, угнетают – гастрин, секретин, простагландины. Печень частично задерживает ионы натрия, сглаживая резкие его колебания. Выводится натрий в основном почками. Взрослый человек теряет с мочой 130–261 ммоль (3–6 г) в сутки. Это 90–95% общих потерь, остальное выделяется с потом и калом.

Обмен натрия регулируется с участием нервной и гуморальной систем. Основная роль в регуляции принадлежит альдостерону, который способствует реабсорбции натрия дистальными канальцами почек.

Содержание ионов натрия в плазме крови взрослого человека колеблется в пределах 137–150 ммоль/л, в цельной крови – 70–90 ммоль/л, в эритроцитах – 9–28 ммоль/л. Нарушения проявляются гипо- и гипернатриплазмиями.

Гипонатриплазмия может быть относительной и абсолютной. Относительная гипонатриплазмия не сопровождается уменьшением общего содержания натрия в организме, связана с разбавлением плазмы. Это бывает после введения большого количества жидкости или после перераспределения натрия при метаболических нарушениях в клетке. Абсолютная гипонатриплазмия развивается при недостаточном поступлении или повышенной потере натрия. Повышенные потери натрия почками бывают при гипоальдостеронизме, нефрите с потерей солей, диабетическом ацидозе, после

приема диуретиков. При заболеваниях желудочно-кишечного тракта, сопровождающихся рвотой и поносом, происходит потеря натрия с кишечным содержимым.

Чрезмерное потоотделение при усиленной физической работе, работе в условиях высокой температуры окружающей среды может приводить к потере больших количеств натрия и завершиться коллапсом.

Относительная гипернатриплазмия наблюдается при гиперосмолярной дегидратации в результате потери воды без потери солей, при ограниченном приеме жидкости. Абсолютная гипернатриплазмия развивается при повышенном поступлении натрия в организм или снижении его выделения при некоторых заболеваниях. При первичном гиперальдостеронизме, вызванном опухолью клубочкового слоя надпочечников, гипернатриемия развивается вследствие повышенной реабсорбции натрия в канальцах. С мочой теряются ионы калия и протоны, что приводит к алкалозу. Наблюдаются изменения в почечной паренхиме, снижается чувствительность клеток к вазопрессину, возникает полиурия. Потери калия клетками приводят к проникновению натрия и протонов внутрь клеток, развивается внутриклеточный ацидоз. *Вторичный гиперальдостеронизм* обусловлен гиперпродукцией ренина при нарушении кровообращения в почках. Этот механизм отмечен при гипертонической болезни, сердечно-сосудистой недостаточности, снижении поступления натрия.

Обмен калия и его нарушения. Ионы калия в отличие от ионов натрия находятся внутри клеток. Общее содержание ионов калия в организме около 160 г (80–250 г). Около 90% его находится внутри клеток, и только около 2% – во внеклеточной жидкости. Остальной хранится в депо (костная и рыхлая соединительная ткань). В жидкостях калий ионизирован, внутри клеток – связан с белками и другими соединениями. Подобно ионам натрия, ионы калия выполняют такие же функции, но внутри клеток. Различное распределение ионов натрия и калия по разные стороны мембраны обеспечивает возможность создания ионных градиентов как формы запасаения легкодоступной энергии для клеток.

Потребность в калии составляет 50–102 ммоль в сутки и удовлетворяется в основном растительной пищей (табл. 12.4).

Таблица 12.4. Суточный баланс калия

Изменения	Количество
Поступление с пищей	2–3 г (52–78 ммоль)
Выведение почками	2–3 г (52–78 ммоль)
Секреция и реабсорбция в кишечнике	2–5 г (52–130 ммоль)
Потери с потом	Следы

Почки – важнейший орган в регуляции обмена калия в организме. Почти весь профильтрованный в клубочках калий реабсорбируется и затем секретируется в дистальных канальцах. Секреция зависит от его поступления с пищей.

В регуляции калиевого обмена участвуют минералокортикоиды и инсулин. Альдостерон усиливает выведение калия почками, а инсулин, наоборот, задерживает его в клетках. На обмен калия оказывает влияние и состояние кислотно-основного равновесия.

Содержание ионов калия у взрослых людей составляет в сыворотке 3,6–5,3 ммоль/л (14–21 мг/100 мл), в эритроцитах – 79,8–99,3 ммоль/л (312–388 мг/100 мл). У детей показатели обычно не отличаются от таковых у взрослых.

Гипокалиплазмия наблюдается при недостаточном поступлении калия с пищей, при недостаточности инсулина, алкалозе. Значительные потери ионов калия отмечаются при заболеваниях кишечника, хронических нефритах, приеме диуретиков. Гиперпродукция кальцитонина, вазопрессина, глюко- и минералокортикоидов, первичный и вторичный гиперальдостеронизм, метаболический и дыхательный алкалозы способствуют повышенной секреции ионов калия в дистальных канальцах почек.

Снижение уровня ионов калия может быть при переливании жидкостей, не содержащих калия. Потери ионов калия не сразу отражаются на их уровне в крови, учитывая большие запасы их внутри клеток. Гипокалиплазмия сопровождается мышечной гипотонией, слабостью, адинамией, нарушением перистальтики, изменением сократительной функции миокарда, тахикардией. Снижение концентрации ионов калия в плазме ниже 1,5 ммоль/л вызывает паралич мышц и остановку сердца.

Гиперкалиплазмия вызывается избыточным поступлением, нарушением выведения и выходом калия из клеток. Избыточ-

ное поступление может быть в результате внутривенного введения растворов калия. Нарушение выведения наступает при заболеваниях почек (олигурия), гипофункции коры надпочечников. Травмы с большими повреждениями тканей, гемолиз, ожоги, гипертиреоз сопровождаются повышением уровня ионов калия в плазме. Повышение уровня ионов калия быстро влияет на сердечную деятельность, что выражается в брадикардии, аритмии. Критический уровень составляет 7–8 ммоль/л. При нормальной функции почек гиперкалипемия сопровождается повышением выведения ионов калия с мочой. *Гиперкалиурия* развивается при гиперфункции надпочечников и гипопиза, приеме стероидных гормонов и диуретиков, усиленном распаде клеток.

Обмен кальция и фосфора. Общее количество кальция в организме составляет около 2% массы тела, и 99% этого количества сосредоточено в костной ткани. Концентрация кальция в сыворотке крови – 2,5 ммоль/л (2,3–2,7 ммоль/л). Основная масса его находится в ионизированной форме (1,25 ммоль/л). Некоторое количество кальция связано с белками (0,9 ммоль/л). Биологически активным является ионизированный кальций. Помимо структурной функции кальций принимает активное участие в свертывании крови, регулирует активность многих ферментов, выполняет функцию вторичного мессенджера в действии гормонов на клетки, участвует в мышечном сокращении и т.д.

Суточная потребность в кальции составляет 0,8–1,5 г (20–37,5 ммоль). Повышенную потребность в кальции испытывают беременные и кормящие женщины. Всасывание кальция из кишечника идет медленно и регулируется гормонами и витамином D. Лучшим источником кальция являются молоко и молочные продукты. Выводится кальций из организма почками и кишечником.

Изменения уровня кальция в крови чаще всего связаны с нарушением его регуляции, о чем уже упоминалось ранее.

Обмен фосфора тесно связан с обменом кальция. В организме человека количество фосфора составляет около 1% массы тела. Как и кальций, основная масса фосфора сосредоточена в костной ткани. В крови фосфор представлен в форме неорганического фосфата, а также входит в состав фосфолипидов, нуклеотидов и других фосфорных эфиров органических соединений. Концентрация неорганического фосфора в плазме крови – 1–2,3 ммоль/л (20–40 мг/л).

Основные функции фосфора связаны с его участием в образовании эфиров органических соединений: процессы фосфорилирования и дефосфорилирования широко протекают в клетках и тканях. Неорганические фосфаты формируют буферные системы биологических жидкостей.

Суточная потребность в фосфатах около 0,9 г. Более высокая потребность, как и в случае кальция, у беременных и кормящих женщин. Фосфор в организм поступает обычно с растительной пищей. Всасывается совместно с ионами кальция.

Контролируется обмен фосфора в организме при участии регуляторов обмена кальция (см. гл. 8). *Гиперфосфатемия* встречается при хронической почечной недостаточности, гипопаратиреозе, гипертиреозе, лейкозах. *Гипофосфатемия* имеет место при нарушении всасывания фосфора в кишечнике, рахите, гиперпаратиреозе, ацидозе и т.д.

Обмен железа и его нарушения. Содержание железа в организме – 0,0065%, или 3–5 г. Свыше половины от этого количества входит в состав гемоглобина (около 1,1 г) и миоглобина. В составе железосодержащих ферментов содержится 0,1–0,2% всего железа организма. Остальное количество железа депонируется в форме ферритина (1,0–1,5 г).

Ферритин – это белок, состоящий из 24 субъединиц. Несвязанная с железом форма белка носит название апоферритина и представляет полую сферу, которая заполняется железом. Полностью заполненная форма содержит свыше 2000 атомов железа. При дальнейшем насыщении железом ферритин превращается в гемосидерин. Около 30% всего ферритина находится в ретикулоэндотелиальной системе, в печени – 500–600 мг, в мышечной ткани – 400–450 мг.

В крови железо транспортируется в составе белка трансферрина. Трансферрин – белок с молекулярной массой 76 000, синтезируется гепатоцитами. Он играет важную роль в регуляции транспорта железа из кишечника к тканям. Общая железосвязывающая способность трансферрина колеблется от 14,7 до 71,6 мкмоль/л. Несвязанная с железом форма белка – апотрансферрин может получать железо из эндогенных источников (распад гемоглобина), что уменьшает переход железа из кишечника в кровь и тем самым защищает организм от избыточного поступления железа. Повышенная потеря железа (кровопотери) увеличивает количество свободного апотрансферрина, что способствует повышению поступления железа из кишечника. Такой механизм позволяет поддерживать

баланс железа в организме. Из 10–15 мг железа обычного рациона человека всасывается 1–1,5 мг, ровно столько, сколько выделяется почками.

Суточная потребность в железе – 20–25 мг. Благодаря возможности повторного использования железа и функции трансферрина, за сутки извне поступает только 1–1,5 мг железа.

Нарушения обмена железа проявляются его дефицитом в организме и могут быть обусловлены кровопотерей, недостаточным поступлением и всасыванием в кишечнике. Вначале уменьшаются запасы железа, затем снижается концентрация сывороточного железа, повышается уровень общей железосвязывающей способности сыворотки и ненасыщенной железосвязывающей способности, снижается процент связывания трансферрина с железом (критическим считается насыщение менее чем на 16–17%), снижается уровень гемоглобина, развивается гипохромия эритроцитов и постепенно снижается их количество. В отличие от железодефицитных анемий приобретенные и наследственные железоустойчивые анемии могут быть следствием нарушения включения железа в протопорфирин. Эти анемии протекают при повышенном уровне в организме ферритина, повышенной концентрации сывороточного железа (63–99 мкмоль/л), гипохромии и нарушении формы эритроцитов.

ГЛАВА 13

ХИМИЯ КРОВИ

Краткое содержание главы

Состав крови. Кровь состоит из плазмы (жидкая часть) и форменных элементов (эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов).

Фракционирование белков плазмы крови достигается методами высаливания (используются разные концентрации солей щелочно-земельных металлов в комбинации со спиртом или ацетоном) или электрофорезом при использовании разных носителей (бумага, ацетатцеллюлозные полоски или гели).

Функции белков плазмы используются для их классификации. Различают системы транспортных белков, компонента, свертывания, фибринолиза, кининов, ингибиторов протеолиза. Важную роль в защите организма играют иммуноглобулины.

Лабораторная оценка состояния белков плазмы включает измерение скорости оседания эритроцитов, проведение проб коллоидоустойчивости белков, проведение иммунологических тестов и электрофоретические методы исследования.

Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз – механизм остановки кровотечения при повреждении капилляров. Основная роль в этом процессе принадлежит тромбоцитам, которые, пройдя через ряд стадий (адгезия, агрегация, «вязкий метаморфоз»), формируют сгусток белого цвета (белый тромб). После ретракции он обеспечивает восстановление кровотока по капиллярам.

Коагуляционный гемостаз – механизм остановки кровотечения при обширных повреждениях тканей и крупных сосудов. Основная роль принадлежит факторам свертывания плазмы, тканей, форменных элементов. Выделяют внешнюю и внутреннюю системы, каждая из которых включает фазу образования полного тромбопластина крови, фазу образования тромбина и фазу образования фибрина. Большая часть факторов свертывания – это протеазы.

Противосвертывающая система I (ПСС I) и система фибринолиза сдерживают активность факторов коагуляции (ПСС I) и обеспечивают растворение образующегося сгустка (фибринолиз).

Патология гемостаза включает нарушения процессов гемостаза и фибринолиза (коагулопатии), нарушение функций тромбоцитов (тромбоцитопатии) и сосудов (вазопатии).

Эритроциты – высокоспециализированные безъядерные клетки крови, основная функция которых – транспорт кислорода и углекислоты.

Основные понятия, описывающие кислотно-основное состояние. Вода очень слабо диссоциирует. Ионное произведение воды, вычисленное из уравнения, описывающего реакцию диссоциации, равно 10^{-14} . Это означает, что в чистой воде, где $[H^+] = [OH^-]$, концентрация H^+ равна 10^{-7} и $pH = 7$. Под буферными системами крови понимают физиологические системы и механизмы, поддерживающие кислотно-основное равновесие в крови. В крови действуют бикарбонатная, фосфатная, белковая и гемоглобиновая буферные системы.

Принципы регуляции pH крови. Поддержание pH основано на условии постоянной регенерации растрачиваемых и выводимых компонентов буферных систем. Основную роль в поддержании этих процессах играют органы выделения, и в первую очередь легкие и почки. Нарушения функций буферных систем проявляются в форме ацидозов или алкалозов. Они могут быть дыхательными и метаболическими, компенсированными и некомпенсированными.

Клинико-лабораторное значение. Кровь, являясь тканью внутренней среды, связывает между собой все органы организма. В то же время она наиболее доступна для исследования. Это делает ее незаменимым источником информации о состоянии внутренней среды, что широко используется в медицинской практике. Исследование состава крови позволяет судить о состоянии функций внутренних органов.

Половину объема крови составляет жидкая часть, содержащая кроме белков множество низкомолекулярных соединений (табл. 13.1). Эта жидкость называется *плазмой крови*. Остальная часть крови представлена *форменными элементами*, к которым относятся эритроциты (красные клетки) и лейкоциты (белые клетки). Среди клеток эритроциты преобладают на-

столько, что составляют около 45 % объема крови. Остальные форменные элементы занимают только 5% объема.

Таблица 13.1. Важнейшие низкомолекулярные вещества крови

Вещество	Средняя концентрация, ммоль/л
Глюкоза	4,5
Жирные кислоты	0,5
Триацилглицеролы	1
Фосфолипиды	2,5
Холестерол	5
Лактат	1
Кетоновые тела	0,5
Аминокислоты	4
Мочевина	6,5
Мочевая кислота	0,1

В 0,1 мкл крови содержится в среднем около 500 эритроцитов, 25 тромбоцитов и 1 лейкоцит. Название «эритроцит» объясняется присутствием в них красного пигмента (erythros – красный) гемоглобина. Лейкоциты (leukos – белый) при центрифугировании образуют слой белого цвета над осадком эритроцитов. Тромбоциты получили свое название (thrombus – тромб) из-за их важной роли в формировании сгустка крови.

Путем центрифугирования можно отделить форменные элементы от плазмы. Объемные соотношения между форменными элементами и плазмой называют *гематокритом*. Получаемую после свертывания жидкость называют *сывороткой*. В отличие от плазмы она не содержит ряд белков, участвующих в свертывании крови.

Белки плазмы крови находятся не только в плазме, но и во внесосудистом пространстве. Однако концентрация белков в плазме в 6–8 раз выше, чем во внесосудистом пространстве. У взрослого здорового человека общее количество белков около 400 г, из них 250 находится в сосудистом пространстве, а остальное – вне сосудов. Между этими пространствами идет постоянный обмен белками.

С помощью электрофореза на ацетилцеллюлозе или агарозном геле белки плазмы крови можно разделить на альбу-

мины (55–65%), α_1 -глобулины (2–4%), α_2 -глобулины (6–12%), β -глобулины (8–12%) и γ -глобулины (12–22%).

Специальные способы разделения позволяют, в свою очередь, разделить и эти фракции. С помощью электрофореза в полиакриамидном геле в сочетании с иммунологическими методами анализа можно выявить более 30 фракций белков. На самом деле число индивидуальных белков в плазме намного больше. В табл. 13.2 приводятся данные о составе белковых фракций, получаемых при электрофорезе. Общее содержание белков в плазме 60–80 г/л. Большую часть их составляют альбумины.

Таблица 13.2. Белковые фракции плазмы крови и их состав

Фракции при электрофорезе	Белки, выделенные из фракции
Альбумины	Преальбумин, альбумин
α_1 -Глобулины	α_1 -Липопротеин, α_1 -гаптоглобин
α_2 -Глобулины	α_2 -Гаптоглобин, α_2 -макроглобулин, α_2 -липопротеин
β -Глобулины	Трансферрин
γ -Глобулины	Фибриноген, иммуноглобулины

Функции белков плазмы крови. Плазма крови – это водная транспортная фаза для питательных веществ, продуктов метаболизма, гормонов, неорганических ионов и конечных продуктов, выделяемых из организма (см. табл. 12.1).

Одна из ведущих функций белков плазмы – *транспортная*. Например, липопротеины участвуют в переносе липидов, железо переносится трансферрином. Гаптоглобин связывает и переносит гемоглобин, который может поступать при гемолизе эритроцитов в плазму крови. Многие гормоны и витамины также транспортируются специальными белками.

Белки используются для транспорта плохо растворимых в воде соединений, которых в плазме довольно много. Так как белки в силу их высокой массы не проходят через почечный барьер, они переносят плохо растворимые в воде вещества к специальным органам (чаще всего, к печени), где эти вещества образуют конъюгаты с серной или глюкуроновой кислотами, растворимые в воде.

Особую роль в транспорте веществ по крови занимают альбумины. Они связывают многие вещества (жирные кислоты, билирубин, стероидные гормоны).

Альбумины играют важную роль в *распределении воды* в организме. Осмотическое давление раствора пропорционально числу частиц в единице объема. Альбумины – самые маленькие по размеру молекул среди белков, но количественно – самые многочисленные, поэтому они вносят наибольший вклад в коллоидно-осмотическое давление плазмы. Снижение количества белков в плазме приводит к выходу воды из сосудов и накоплению ее в межклеточных пространствах (отеки).

Среди белков плазмы можно выделить группу белков *системы комплемента*, которые выполняют защитную функцию, участвуя совместно с иммуноглобулинами в борьбе с чужеродными клетками, проникающими в организм.

Группа белков образует функциональную систему, участвующую в регуляции тонуса кровеносных сосудов (*кининовая система*) и регулирующую кровяное давление.

Важное значение принадлежит белкам – *ингибиторам протеолиза* (α_2 -макроглобулин, α_1 -антитрипсин и т.д.).

γ -Глобулины выполняют *функцию антител*. Под антителами понимают белки, которые могут взаимодействовать с чужеродными белками или другим веществами, переводя их в неактивное состояние. Указанные чужеродные вещества могут провоцировать усиление синтеза антител, поэтому их называют *антигенами*. Снижение синтеза иммуноглобулинов приводит к снижению защиты от инфекционных заболеваний. Так как реакция антигена (поливалентные антигены) с антителом может протекать с образованием не растворимых в воде комплексов, то многие количественные и качественные методы исследования основаны на использовании реакции антиген – антитело, которую проводят в пробирке. Например, на таком принципе основаны методы установления групп крови.

Главным органом, обеспечивающим обмен белков плазмы крови, является печень. Она ответственна за синтез альбуминов, большинства α - и β -глобулинов, фибриногена. γ -Глобулины, наоборот, синтезируются клетками лимфоидной ткани: селезенки, тимуса, костного мозга, лимфатических узлов. Общее содержание белков плазмы в организме является результатом взаимосвязанных процессов их синтеза, распада и потерь. Биологическое время полураспада белков плазмы составляет от 0,5 до 20 суток. Главным местом их распада является печень, часть выводится через кишечник. Нарушение обмена белков плазмы может быть врожденным или приобретенным.

Клинико-диагностическое значение определения белков плазмы крови. Многие заболевания у человека могут сопровождаться изменением качественного и количественного состава белков крови. Как правило, оно заключается в снижении уровня альбуминов и повышении глобулинов. Об этом свидетельствуют и косвенные данные в форме изменения скорости оседания эритроцитов (СОЭ), растворимости белков в присутствии различных осаждающих веществ, электрофоретической подвижности белков. Чаще всего эти изменения недостаточно специфичны для заболеваний и поэтому не всегда могут быть использованы для дифференциальной диагностики в клинике.

В клинико-биохимических лабораториях для оценки состояния белков плазмы крови используют несколько подходов:

- измерение скорости оседания эритроцитов;
- пробы коллоидоустойчивости;
- иммунологические тесты;
- электрофорез белков.

Увеличение скорости оседания эритроцитов связано с изменением соотношения альбуминов и глобулинов и указывает на повышение доли глобулинов.

Пробы коллоидоустойчивости основаны на изменении растворимости белков в присутствии некоторых соединений (хлористого кальция, тимола и др.). Добавление сыворотки к раствору такого вещества вызывает фл о к к у л я ц и ю (осаждение), интенсивность которой измеряют колориметрически.

Среди иммунологических тестов следует упомянуть определение *C-реактивного белка*, который относят к белкам «острой фазы».

Наиболее информативным для анализа белков является метод электрофореза. При некоторых заболеваниях он позволяет выявить появление *необычных белков*, специфичных для данного заболевания. Например, при опухолевом разрастании клеток ретикулоэндотелиальной системы в крови появляются необычные белки – парапротеины, количество которых может быть настолько большим, что при окраске электрофореграмм другие белки могут и не выявляться. Нередко такие заболевания сопровождаются появлением парапротеинов и в моче (парапротеинурия). Их называют *белками Бенс-Джонса*. Имея молекулярную массу 40 000, они легко обнаруживаются благодаря необычному свойству выпадать в осадок при нагрева-

нии до 45–55 °С и затем вновь растворяться при дальнейшем повышении температуры.

Ферменты плазмы могут быть разделены на несколько групп по своему происхождению. Можно выделить специфические для плазмы и неспецифические ферменты. Первые секретируются в кровь, как правило, из печени и необходимы для выполнения функций плазмы (свертывание, фибринолиз и т.д.). Их количество обычно уменьшается при заболеваниях печени. Вторые попадают в кровь как следствие физиологической регенерации клеток и тканей. При патологических процессах в тканях количество таких ферментов увеличивается.

Кроме белков в плазме крови находится довольно значительное количество *низкомолекулярных азотсодержащих продуктов*. Их содержание можно определить после осаждения белков плазмы крови. Поэтому эту группу соединений обозначают как остаточный азот плазмы крови. Половину всего остаточного азота составляет мочевины, 25% остаточного азота приходится на аминокислоты и пептиды (табл. 13.3).

Таблица 13.3. Основные компоненты остаточного азота

Компонент	Концентрация, ммоль/л
Азот мочевины	7–14
Азот мочевой кислоты	0,2–0,9
Азот аминокислот	3–4
Азот креатинина	2,2–4,6
Азот креатина	До 0,15

При нарушении функций почек уровень остаточного азота увеличивается за счет азота мочевины. Этот тест широко используется при диагностике почечной недостаточности. Уровень мочевой кислоты может повышаться при нарушении обмена пуриновых нуклеотидов (подагра).

В последнее время много внимания уделяют количеству так называемых *средних молекул*. Это пептиды с молекулярной массой меньше 5000. Они накапливаются при различных заболеваниях, сопровождающихся проявлениями интоксикации.

Система гемостаза. Исследование показателей этой системы занимает важное место в клинико-биохимических лабораториях. Можно условно выделить два механизма оста-

новки кровотечения: сосудисто-тромбоцитарный гемостаз и коагуляционный гемостаз. Они довольно тесно связаны между собой. В зависимости от условий меняется лишь доля участия того или иного механизма.

В *сосудисто-тромбоцитарном гемостазе* основная роль принадлежит тромбоцитам. Эти форменные элементы крови на своей поверхности имеют рецепторы, чутко реагирующие на изменения клеток эндотелия капилляров и других сосудов. Среди мембранных рецепторов тромбоцитов имеются рецепторы группы интегринов (см. главу о гормонах), специфически связывающихся с коллагеном. При участии таких рецепторов происходит прилипание (адгезия) тромбоцитов к месту повреждения. Адгезия сопровождается выделением из тромбоцитов факторов агрегации тромбоцитов (АДФ, биогенные амины, продукты окисления арахидоновой кислоты). Факторы агрегации при участии 7-ТМС рецепторов, действуя на другие тромбоциты, усиливают зависимость от интегринов их адгезию. Ряд рецепторов тромбоцитов может связывать и белки плазмы. Возникают агрегаты тромбоцитов (фаза агрегации). В центре этих агрегатов происходит распад мембран тромбоцитов и формируется **тромб** (фаза «вязкого метаморфоза»). Завершается процесс сокращением (ретракцией) тромба. При этом формируется тромб без участия эритроцитов (белый тромб). Такой тромб может остановить кровотечение при небольших повреждениях мелких сосудов (капилляров).

При значительном повреждении тканей и крупных сосудов активируются факторы *коагуляционного гемостаза*. В этом процессе занято большое число белковых и небелковых факторов, входящих в состав плазмы, тромбоцитов, эритроцитов, лейкоцитов, сосудистой клетки и тканей (табл. 13.4).

Таблица 13.4. Факторы свертывания плазмы крови

Название фактора	Период полураспада, ч	Краткая характеристика фактора
1	2	3
I. Фибриноген	100	Гликопротеин, вырабатывается гепатоцитами. Под действием тромбина фибриноген превращается в нерастворимый в крови фибриллярный белок – фибрин

1	2	3
II. Протромбин	72–96	Синтезируется в печени при участии витамина К. Концентрация в крови снижается при заболеваниях печени, при эндо- или экзогенной недостаточности витамина К. Повышенный уровень способствует развитию тромбозов. Превращается в тромбин путем протеолиза фактором Ха в присутствии фактора Va, ионов кальция и фосфолипидов
III. Тканевой тромбопластин	—	Содержится в значительных количествах в легких, тканях мозга, сердца, кишечника, матки, в эндотелии. При контакте с факторами плазмы (VIIa, IV) активирует фактор X (внешний путь формирования протромбиназы)
IV. Ионы Ca^{++}	—	Необходимы для взаимодействия факторов свертывания с фосфолипидной поверхностью клеток
V. AC-глобулин, проакселерин	12–15	Синтезируется гепатоцитами, независим от витамина К, термолабилен, быстро разрушается при хранении, необходим для образования внутренней протромбиназы, активирует фактор X
VII. Проконвертин	2–6	Синтезируется в печени, зависим от витамина К, устойчив при хранении. Активируется факторами XII, Ха, калликреином. Способствует образованию тканевой протромбиназы и превращению протромбина в тромбин. В циркулирующей крови активирует фактор X
VIII. Антигемофильный глобулин	?	Гликопротеин, может синтезироваться в печени, селезенке, клетках эндотелия, лейкоцитах, почках. Неустойчив при хранении. В крови циркулирует в виде комплекса из трех субъединиц
IX. Фактор Кристмаса	20–30	A-Глобулин, сериновая пептидаза. Активируется факторами XIa, VIIIa. Катализирует при участии фактора VIII, ограниченный протеолиз фактора X. При отсутствии возникает гемофилия В

1	2	3
X. Фактор Стюарта – Прауэра	20–40	Гликопротеин. Синтезируется в печени при участии витамина К, состоит из двух полипептидных цепей
XI. Предшественник тромбопластина	10–20	Плазменный предшественник тромбопластина, гликопротеин, гомодимер. Сериновая пептидаза, термолабилен. Активируется при участии фактора XIIa. Активирует фактор IX. При недостаточности – гемофилия С
XII. Фактор Хагеманна	50–70	Сериновая пептидаза, активирует фактор XI
XIII. Фибриназа. Фибрин-стабилизирующий фактор	100	α_2 -Гликопротеин. В плазме находится в виде профермента, соединенного с фибриногеном. Превращается в активную форму под влиянием тромбина

По международной номенклатуре факторы свертывания плазмы обозначаются римскими цифрами, а тромбоцитов – арабскими. Коагуляционный гемостаз продолжается около 7 мин и состоит из трех фаз. В *первую фазу*, самую продолжительную, образуется полный тромбопластин крови (5–7 мин). Во *вторую фазу*, продолжительностью 2–5 с, образуется тромбин. И завершается процесс *фазой образования фибрина* (продолжительность 2–5 с).

В зависимости от механизма развития первой фазы различают внутреннюю и внешнюю системы коагуляционного гемостаза (рис. 13.1). *Внешняя система* включается при повреждении сосудов и тканей. В тканях содержится специальный фактор – тканевой тромбопластин, который при контакте с факторами плазмы активирует фактор VII плазмы, что требует участия ионов кальция. Фактор VIIa становится активатором фактора X плазмы.

Основным механизмом активирования факторов является ограниченный протеолиз, поскольку большинство факторов плазмы, участвующие в свертывании – пептидазы. Внутренняя система коагуляционного гемостаза «включается» при внутрисосудистых повреждениях. Инициатором этой системы является фактор XII (фактор контакта) – обладает пептидазной

Внутренний путь свертывания крови Внешний путь свертывания крови

Контакт с аномальной поверхностью

Коллаген, поверхность активированного тромбоцита

Повреждение ткани

Тканевый тромбопластин (Ф. IIIa)

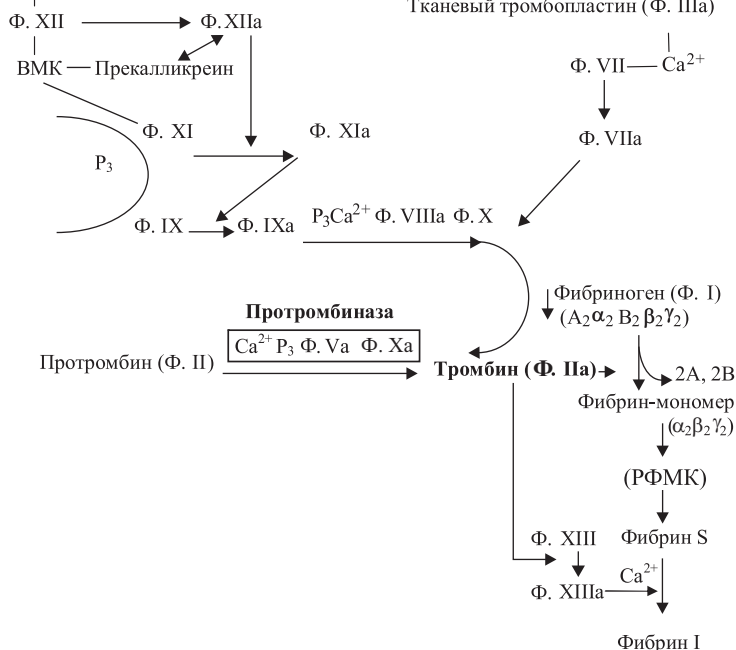


Рис. 13.1. Схема процессов коагуляционного гемостаза:

Ф. I – Ф. XIII – факторы свертывания крови; Ф. Ia – Ф. XIIIa – активные факторы свертывания крови; Ф. III – липопротеины тканей; РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы; P₃ – тромбоцитарный тромбопластин

активностью, легко переходит в активное состояние при контакте с чужеродной поверхностью или под влиянием свободных жирных кислот, адреналина и других факторов «риска», инициирующих свертывание. Субстратом фактора XIIa является фактор XI, который переходит в активное состояние и в свою очередь активирует фактор IX плазмы. Субстратом последнего является фактор X, который при этом активируется. Активирование фактора X происходит при участии фактора VIII (он не является ферментом), ионов кальция и фактора 3 тромбоцитов, выполняющего роль поверхности, на которой происходит взаимодействие указанных факторов.

Активный фактор Ха формирует комплекс на поверхности тромбоцитов, состоящий из фактора 3 тромбоцитов, фактора V и ионов кальция. Комплекс получил название *полного тромбопластина крови (протромбиназа)*, который катализирует превращение протромбина в тромбин. Тромбин в свою очередь катализирует реакции ограниченного протеолиза полипептидных цепей фибриногена, превращая фибриноген в фибрин, обладающий способностью к агрегации.

Молекулы фибрина в агрегатах соединены между собой нековалентными связями и в последующем с помощью специфического фермента – транспептидазы (фактора XIII) «сшиваются» ковалентными связями. Образующийся тромб проходит стадию ретракции (сокращения) и прочно укрепляет место повреждения, останавливая кровопотерю. Этим завершаются фазы коагуляции, и процесс вступает в *посткоагуляционную* фазу. Во время этой фазы (1,5–2 ч) происходит фибринолиз, медленное растворение сгустка с помощью специфического фермента – плазмина. Последний в крови находится в форме своего неактивного предшественника плазминогена. Активирование происходит с помощью специальных активаторов плазминогена, которые можно разделить на активаторы прямого и непрямого действия.

Система фибринолиза является одновременно и системой, выполняющей важную функцию противосвертывающей системы. В крови постоянно создаются условия, способствующие свертыванию. При этом образуются активные факторы свертывания, образуется и фибрин. Поэтому чрезвычайно важно противостоять этим процессам. Так называемые естественные антикоагулянты (ингибиторы протеолиза) объединяются в *противосвертывающую систему 1 (ПСС1)* и систему фибринолиза (ПСС2). Некоторые из естественных антикоагулянтов используются в лабораторной практике при получении плазмы крови (гепарин).

Особо следует отметить роль ионов кальция в системе свертывания. Прежде всего ионы кальция могут оказывать влияние на конформацию факторов свертывания белковой природы, находящихся в крови. Кроме того, они играют роль связующих мостиков между белковыми компонентами свертывающей системы крови и клеточными мембранами.

Мембраны тромбоцитов, которые формируют агрегаты в местах повреждения сосудов, содержат фосфатидилсерин, а факторы плазмы (II, VII, IX, X) имеют в своем составе

сгруппированные у одного из концов молекул остатки γ -карбоксиглутаминовой аминокислоты. Свободные карбоксильные группы этой аминокислоты образуют комплексное соединение с ионами кальция, которое обладает способностью связываться с полярными головками фосфатидилсерина. Положительно заряженный ион кальция может формировать до шести таких связей. За счет кальциевых мостиков происходит первоначальная ориентация на фосфолипидной поверхности многих факторов свертывающей системы крови. Если ионы кальция отсутствуют, то факторы свертывания не могут взаимодействовать надлежащим образом друг с другом, и кровь теряет способность свертываться.

γ -Карбоксиглутаминовая кислота образуется в пострибосомальную фазу синтеза факторов свертывания путем карбоксилирования глутаминовой кислоты при участии витамина К. Поэтому недостаточность витамина К приводит к нарушению образования функционально полноценных факторов свертывания. Без γ -карбоксиглутаминовой кислоты в своем составе такие факторы неспособны объединяться между собой из-за утраты способности связывать ионы кальция. Это и приводит к нарушению свертывания. Из указанной роли кальция и витамина К вытекают практические выводы:

- вещества, связывающие ионы кальция, можно использовать в лабораторной практике для получения плазмы крови или для консервирования крови (лимонная кислота, щавелевая кислота, этилендиаминтетраацетат – ЭДТА).
- структурные аналоги витамина К (антивитамины К) можно использовать для лечения заболеваний, сопровождающихся гиперкоагуляцией, а витамин К – для профилактики кровотечений.

В зависимости от места нарушения процессов гемостаза выделяют нарушение свертывания крови и фибринолиза – *коагулопатии*; тромбоцитарные нарушения (снижение их количества) – *тромбоцитопении*; повышение их числа – *тромбоцитемии*; качественные дефекты тромбоцитов – *тромбоцитопатии*; нарушения гемостаза, связанные с изменением микроциркуляции – *вазопатии*.

Существует группа нарушений гемостаза, связанная с одновременным нарушением нескольких звеньев коагуляционного процесса. По происхождению все они могут быть врожденными или приобретенными. Так, например, наследственные формы коагулопатий могут быть обусловлены де-

фектом первичной структуры любого из перечисленных выше факторов, участвующих в свертывании крови. Наиболее распространенными заболеваниями этого типа являются гемофилии, обусловленные дефектом структуры фактора VIII (гемофилия А) или фактора IX (гемофилия В).

Приобретенные коагулопатии характеризуются сложностью течения и многоликостью причин, их вызывающих (нарушение функций органов, участвующих в синтезе факторов свертывания, неправильное питание, иммунные нарушения и т.д.). Среди приобретенных коагулопатий наиболее часто в клинике встречается *синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания* (ДВС-синдром).

Как и коагулопатии, нарушения тромбоцитарного гемостаза могут быть врожденными и приобретенными. Снижение числа тромбоцитов наступает при нарушениях функций клеток – предшественников тромбоцитов – мегакариоцитов, обусловленных генетическими дефектами в них или аутоиммунными реакциями, нарушением функций некоторых паренхиматозных органов или дефектами в питании. Эти же причины лежат в основе тромбоцитопатий, при которых нарушается форма тромбоцитов. Сведения о причинах и лабораторной диагностике вазопатий весьма ограничены.

Для оценки состояния системы свертывания используется большое число методов исследования. Это прежде всего методы, дающие общие представления о состоянии системы свертывания (время свертывания крови, продолжительность кровотечения, количество тромбоцитов), или методы, характеризующие состояние отдельных фаз свертывания и противосвертывающих систем (протромбиновое время, количество фибриногена, определение продуктов распада фибриногена и т.д.).

Эритроциты. Эритроциты – безъядерные двояковогнутые клетки (табл. 13.5). Главная их составная часть – гемоглобин. Они выполняют важные функции и включаются во многие патологические процессы.

Таблица. 13.5. Состав эритроцитов

Вещество	Процент	Вещество	Процент
Вода	65	Липиды	0,5
Гемоглобин	33	Глутатион	0,1
Другие белки	1	АТФ, АДФ	0,15

Главная функция эритроцитов – транспорт кислорода и углекислого газа. Исходная клетка, предшественник эритроцита, не содержит гемоглобина. По мере созревания она превращается в эриthroбласт, синтезирующий гемоглобин. Эритробласты проходят стадии нормобласта и ретикулоцита, постепенно увеличивая запасы гемоглобина. Одновременно идет потеря клетками ядер, митохондрий. Переходя в сосудистое русло, ретикулоцит становится эритроцитом.

Эритроцит – яркий пример высокоспециализированной клетки, где все служит выполнению главной функции. Поверхность всех эритроцитов крови взрослого человека достигает 4000 м^2 . Особая форма эритроцитов поддерживается благодаря специальным белкам мембраны: спектрину, актину, анкирину и др. (табл. 13.6).

Таблица 13.6. Важнейшие белки мембран эритроцитов

Белок	Число молекул на клетку
Гликофорин А	$4 \cdot 10^5$
Гликофорин В	$1 \cdot 10^5$
Гликофорин С	$1 \cdot 10^5$
Спектрин	$1 \cdot 10^5$
Анкирин	$1 \cdot 10^5$
Актин	$5 \cdot 10^5$
Дегидрогеназа глицеральдегид-3-фосфата	$5 \cdot 10^5$

Продолжительность жизни эритроцита составляет 120 дней. По мере снижения активности ферментов эритроцит стареет, захватывается клетками ретикулоэндотелиальной ткани и разрушается.

Нарушение образования эритроцитов связано с нарушением питания (недостаток железа, кобальта, фолиевой кислоты, витамина B_{12}). При этом развиваются различного рода анемии.

Буферные системы крови. Функции эритроцитов и компонентов плазмы крови тесно переплетаются в процессах регуляции рН крови. Значение рН определяет степень диссоциации веществ и ферментов, что оказывает влияние на конформацию молекул в клетках и их функции. Изменения рН оказывают влияние и на процессы ионного обмена через мембраны, и в первую очередь на перенос ионов калия, поэтому колеба-

ния pH будут сказываться на зависимых от калия функциях клеток.

Учитывая тесную связь между вне- и внутриклеточными пространствами, регуляция pH во внеклеточном пространстве оказывает влияние на внутриклеточные процессы. Обычно в норме pH внеклеточной жидкости находится в пределах 7,44–7,37 со средним значением 7,4.

В метаболических процессах чаще всего образуются кислоты. За довольно короткий промежуток времени может возникнуть большое количество протонов. Среди кислых продуктов, возникающих в процессе обмена, прежде всего следует назвать угольную кислоту (H_2CO_3), фосфорную кислоту и серную кислоту, образующуюся при распаде аминокислот. Из органических кислот следует назвать кроме кетоновых кислот еще молочную кислоту (лактат). Накопление кислых продуктов метаболизма представляет основную опасность для изменений pH.

Большую опасность для организма представляет и CO_2 . В обмене веществ образуется до 800 ммоль CO_2 в час. Поэтому его накопление могло бы уже в течение получаса снизить pH до 7. Но это накопление устраняется при выдыхании (до 18 000 ммоль за сутки).

Буферные системы поддерживают ионное равновесие в воде. Под буферной системой понимают комбинацию веществ, которые в состоянии поддерживать постоянное pH значение раствора при добавлении ограниченного количества ионов H^+ или OH^- . Такая буферная система состоит из смеси слабой кислоты (НА) и конъюгированного основания (A^-) (например, уксусная кислота и ионы ацетата [CH_3COO^-] или H_2CO_3 и HCO_3^- (бикарбонатная система)).

В процессах обмена веществ в организме возникают кислые продукты, которые должны быть доставлены к органам выделения (легкие, почки) без заметного изменения pH значения циркулирующей жидкости. Эту задачу выполняют буферные системы.

Все биологические жидкости содержат буферные системы. Жидкости организма благодаря содержащимся в них электролитам являются буферными растворами. Важнейшие буферные системы внеклеточной жидкости и крови образуются следующими компонентами: $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3^-$; $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$; белок/белок $^-$.

Наибольшее значение в сохранении кислотно-основного состояния принадлежит бикарбонатной буферной системе. Можно утверждать, что значение pH крови остается на постоянном уровне до тех пор, пока не изменяется отношение $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$. В поддержании этого коэффициента заключается важнейший принцип регуляции в организме.

Принципы регуляции pH. Недиссоциированная угольная кислота находится в равновесии с количеством CO_2 , поэтому обычно понятия «концентрация угольной кислоты» и «концентрация CO_2 » используются с одинаковым смыслом. При повышении концентрации ионов водорода они связываются гидрокарбонат-ионом в недиссоциируемую H_2CO_3 .

Увеличение количества аниона бикарбоната или уменьшение количества недиссоциированной угольной кислоты ведет к повышению pH. Наоборот, pH снижается, если увеличивается количество недиссоциированной угольной кислоты и уменьшается количество аниона. Соотношение аниона к угольной кислоте при pH 7,4 равно 20; это значит, что концентрация бикарбоната в 20 раз превышает концентрацию угольной кислоты. Следовательно, если это соотношение не меняется, не меняется и pH. Поэтому регуляция направлена на поддержание соотношения $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$. Если, например, количество бикарбоната уменьшается на 1/10 своего значения, то необходимо и соответствующее снижение концентрации угольной кислоты, чтобы соотношение поддерживалось. Так реализуется общее правило: *изменение числителя должно быть компенсировано изменением знаменателя.*

В поддержании соотношения $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$ основную роль играют почки и легкие. Легкие регулируют количество угольной кислоты, а почки – бикарбоната. Накопление угольной кислоты вызывает усиление дыхания, а снижение – ослабление.

Почки регулируют образование бикарбонатов в дистальных канальцах почек. При этом количество образуемого бикарбоната находится под прямым влиянием концентрации угольной кислоты в крови. Если, например, концентрация CO_2 в крови снижается, то уменьшается ее диффузия в клетки канальцев, уменьшается количество образуемых бикарбонатов и ионов H^+ , и ионный обмен замедляется. Это значит, что снижение угольной кислоты сопровождается снижением количества бикарбоната, что не меняет коэффициент $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$ и сохраняет pH крови. При повышении кон-

центрации угольной кислоты наблюдаются противоположные изменения, направленные на сохранение соотношения $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$.

В регуляции кислотно-основного равновесия принимают участие также печень, костная ткань, желудочно-кишечный тракт, кожа.

Все нарушения кислотно-основного равновесия делятся на две группы: ацидозы и алкалозы. В зависимости от механизмов развития различают метаболический и дыхательный ацидоз и алкалоз. При ацидозе концентрация водородных ионов увеличивается, а при алкалозе – уменьшается. Это, однако, может не сказываться на значении рН крови (компенсированное состояние) или сопровождается изменением рН (некомпенсированное состояние) (табл. 13.7).

Таблица 13.7. Интервалы колебания рН при ацидозе и алкалозе

Состояние	Ацидоз	Алкалоз
Компенсированный	7,40–7,35	7,40–7,45
Субкомпенсированный	7,34–7,25	7,46–7,55
Некомпенсированный	7,24 и ниже	7,56 и выше

Дыхательный ацидоз возникает при уменьшении объема дыхания (бронхиальная астма, эмфизема легких и т.д.). Это ведет к повышению парциального давления углекислоты в крови и, как следствие, к накоплению H_2CO_3 и HCO_3^- . Одновременно повышается выделение с мочой аммонийных солей органических кислот.

Самым распространенным нарушением кислотно-основного равновесия является *метаболический ацидоз*. Он развивается при нарушении обмена веществ, которое сопровождается накоплением органических кислот в тканях и крови. Это бывает при сахарном диабете, голодании, заболеваниях желудочно-кишечного тракта и т.д.

Дыхательный алкалоз возникает при активном усиленном дыхании (гипервентиляции), во время пребывания в разреженной атмосфере, при заболеваниях, сопровождающихся одышкой, и других состояниях, сопровождающихся снижением щелочных резервов крови.

Метаболический алкалоз возникает при потере большого количества кислотных эквивалентов (рвота) или

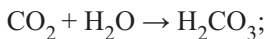
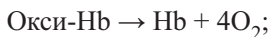
при поступлении большого количества щелочных эквивалентов из желудочно-кишечного тракта, что приводит к повышению щелочных резервов крови.

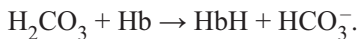
Изолированные формы нарушения кислотно-основного равновесия встречаются редко. Данных о значении рН крови недостаточно для характеристики нарушений. Обычно пользуются целым набором показателей:

- актуальный рН крови – 7,36–7,42 (капиллярная кровь);
- актуальное $p\text{CO}_2$ – парциальное давление углекислого газа при физиологических условиях – 4,8–6,1 кПа (артериальная кровь);
- актуальный бикарбонат (AB) – концентрация бикарбоната в плазме в физиологических условиях – 21–25 ммоль/л;
- стандартный бикарбонат плазмы (SB) – концентрация бикарбоната плазмы в стандартных условиях ($p\text{CO} = 5,3$ кПа, $\text{HbO} = 100\%$, $t^\circ = 38^\circ\text{C}$) – 19–24 ммоль/л;
- буферные основания крови (BB) – сумма всех щелочных компонентов крови при полном насыщении крови кислородом – 45–52 ммоль/л;
- нормальные буферные основания крови (NBB) – буферные основания крови в физиологических условиях;
- избыток (или дефицит) оснований (BE) – 2 ммоль/л.

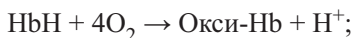
Зная значение рН и $p\text{CO}_2$, можно с помощью специальных номограмм рассчитать остальные показатели.

Работа бикарбонатной буферной системы тесно связана с переносом угольной кислоты при участии гемоглобина. При насыщении гемоглобина кислородом гемоглобин отдает протоны и, наоборот, при диссоциации оксигемоглобина гемоглобин связывает протоны. Это свойство гемоглобина имеет большое значение для транспорта CO_2 . В тканях, где идет отдача кислорода, имеется высокая концентрация углекислоты (конечного продукта метаболизма). Она выделяется в основном легкими. Существует несколько форм переноса углекислоты кровью. Лишь небольшое количество углекислоты растворяется в плазме крови (около 5%). Основная масса (80%) транспортируется в форме ионов HCO_3^- . Образование этих ионов происходит при участии гемоглобина следующим образом:





Угольная кислота образуется в тканях с помощью специального фермента карбоангидразы (угольной ангидразы) из CO_2 и H_2O . Гемоглобин, отдав кислород, взаимодействует с угольной кислотой. Основная масса образовавшегося аниона HCO_3^- переходит из эритроцитов в плазму, что приводит к увеличению количества анионов бикарбонатной буферной системы в плазме крови. В легких гемоглобин насыщается кислородом, становится более сильной кислотой, увеличивает концентрацию протонов, которые способствуют образованию недиссоциированной угольной кислоты. Угольная кислота под влиянием легочной карбоангидразы распадается на CO_2 и H_2O , и углекислый газ выделяется с выдыхаемым воздухом:



Небольшая часть углекислоты связывается с гемоглобином, образуя карбгемоглобин, и не участвует в регуляции pH. Выделение анионов кислот из организма осуществляют почки. Что касается протонов, то они практически не выделяются в свободной форме, а переводятся в воду с помощью бикарбонатной системы (рис. 13.2).

Белки крови и патология. При воспалении метаболизм изменяется не только в зоне повреждения, но и в других органах и тканях. В свою очередь общие изменения отражаются на течении воспалительного процесса в очаге. Главным органом, реагирующим на повреждение тканей с помощью производимых в нем продуктов, является печень. В печени синтезируются белки. Оттуда они поступают в кровоток. Появление некоторых из них или изменение их содержания в кровотоке рассматривается как индикатор воспалительного процесса в организме. Это обусловило их общее название – белки острой фазы.

Белки острой фазы. К ним относятся белки, представляющие различные функциональные системы:

- белки с иммуномодулирующими свойствами – С-реактивный белок (СРБ), α_1 -кислый гликопротеин;
- ингибиторы протеаз (α_1 -антитрипсин, антихимотрипсин и др.);

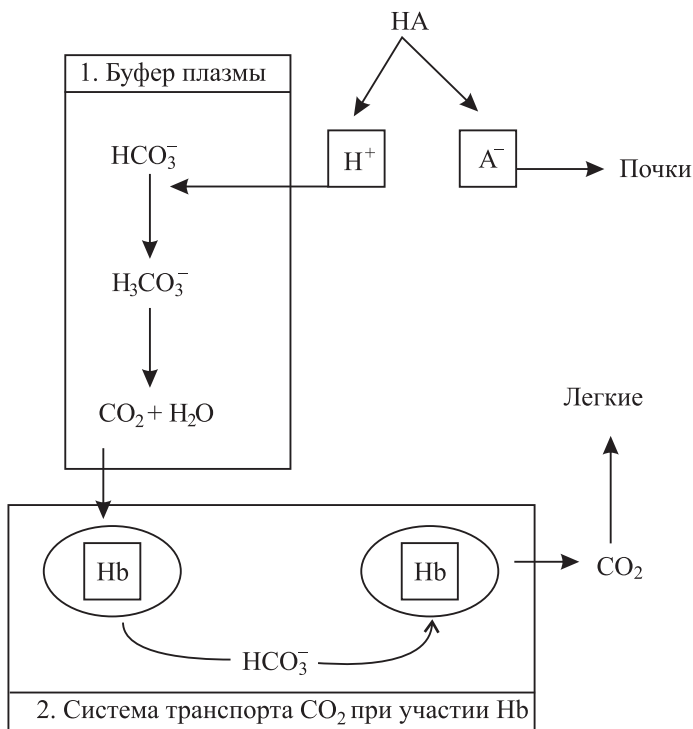


Рис. 13.2. Участие бикарбонатной системы и CO_2 в выделении кислых продуктов:

H^+ – протон; A^- – анион кислоты; 1 – мышцы, кровь; 2 – эритроциты

- белки системы свертывания крови (фибриноген);
- белки системы комплемента (C3, C4);
- транспортные белки (гаптоглобин, ферритин, церулоплазмин).

Кислый α_1 -гликопротеин – один из главных компонентов мукопротеинов плазмы крови. В физиологических условиях его концентрация в крови составляет 0,2–0,4 г/л. Эта концентрация быстро увеличивается (в течение нескольких часов после начала воспаления) и достигает максимума на 2–3-й день. Кислый α_1 -гликопротеин синтезируется гепатоцитами. Разрушение его также происходит в печени посредством отщепления концевой сиаловой кислоты. Пусковой механизм синтеза α_1 -гликопротеина на молекулярном уровне неизвестен. Биоло-

гическая функция этого белка не установлена, хотя экспериментально показана его способность в зоне воспаления внесосудисто связываться с молекулами тропоколлагена и способствовать тем самым фибриллогенезу. На более поздних стадиях воспаления эту функцию принимают на себя гликопротеины, синтезируемые фибробластами.

α_1 -Антитрипсин – это α_1 -гликопротеин с молекулярной массой 50000 дальтон, содержащий 12% углеводов. Концентрация его в норме в плазме крови составляет 2–4 г/л, синтезируется гепатоцитами. При воспалительном процессе синтез быстро нарастает и достигает максимума за 2–3 дня. Главное свойство антитрипсина – способность ингибировать протеазы путем образования стехиометрических комплексов (1 : 1). Наиболее активен он по отношению к трипсину, химотрипсину, плазмину, тромбину и протеазам, высвобождающимся при распаде лейкоцитов или чужеродных клеток. На его долю приходится около 88% всей антитрипсиновой активности крови.

C-реактивный белок в условиях нормы содержится в количестве, составляющем менее 0,01 г/л в плазме, мигрирует при электрофорезе с β -глобулинами. Концентрация C-реактивного белка во время воспаления быстро увеличивается в 20 раз и более, достигая максимума через 50 ч. Как и предыдущие белки, синтезируется гепатоцитами.

С клинической точки зрения представляет интерес классификация белков острой фазы по степени увеличения их концентрации. По этому признаку выделяют:

- главные реактанты острой фазы – их концентрация увеличивается в 100–1000 раз в течение 6–12 ч:

- C-реактивный белок;
- амилоидный белок А сыворотки крови;

- умеренное увеличение концентрации (в 2–5 раз) в течение 24 ч:

- α_1 -кислый гликопротеин;
- α_1 -антитрипсин;
- гаптоглобин;
- фибриноген;

- незначительное увеличение концентрации (на 20–60%) в течение 48 ч:

- церулоплазмин;
- C3-компонент комплемента;
- C4-компонент комплемента.

Изменение концентрации общего белка в сыворотке крови. Концентрация общего белка сыворотки крови у здоровых взрослых людей составляет 65–85 г/л, в плазме эта величина в среднем больше на 3 г/л за счет фибриногена и белков свертывания крови. Изменение содержания белка в сыворотке крови может быть относительным (вследствие колебания объема внутрисосудистой жидкости) и абсолютным (связанным с нарушением поступления, синтеза и выведения белка).

Гиперпротеинемия – увеличение концентрации общего белка более 85 г/л. Абсолютная гиперпротеинемия чаще всего обусловлена увеличением γ -глобулиновой фракции и наблюдается при ревматоидном артрите, коллагенозах, миеломной болезни, бронхоэктатической болезни. Относительная гиперпротеинемия наблюдается при гипогидратации организма (рвота, понос), венозном стазе.

Гипопротеинемия – снижение концентрации общего белка ниже 65 г/л. Абсолютная гипопротеинемия наблюдается при: недостаточном поступлении белков с пищей (голодание), потерях белка через кожные покровы (ожоги), с мочой (гломерулонефрит, нефротический синдром), через желудочно-кишечный тракт (гастроэнтеропатии), нарушениях синтеза белка (гепатиты, цирроз печени), повышенном катаболизме белков (септические состояния, раковая кахексия). Снижение общего белка в сыворотке крови ниже 45 г/л при концентрации альбумина ниже 20 г/л является опасным для жизни.

Первичные гипопротеинемии. Эти состояния обусловлены генетическими дефектами, приводящими к полному прекращению или замедлению синтеза определенных белковых фракций, а также синтезу белков с измененными свойствами. К ним относятся анальбуминемия и бисальбуминемия.

Анальбуминемия вызвана мутацией гена, контролирующего синтез альбумина в гепатоцитах. Клинически проявляется повышенной утомляемостью, отеками стоп, умеренной артериальной гипотонией. На протеинограмме отсутствуют или определяются в малом количестве (до 3%) альбумины. Процентное содержание α - и β -глобулинов пропорционально увеличивается (до 30%), умеренно повышается количество γ -глобулинов.

Бисальбуминемия – качественная аномалия сывороточных альбуминов генетического характера (наследственная ауто-сомно-рецессивная аномалия, мутация гена, контролирующе-

го синтез альбуминов). Протекает почти бессимптомно и обнаруживается случайно. Наличие бисальбуминемии диагностируется по характерной электрофореграмме.

Вторичные гипопротеинемии. В зависимости от происхождения вторичные гипопротеинемии могут быть обусловлены следующими причинами:

- недостаточностью белка в питании, нарушением переваривания и всасывания белков в ЖКТ;
- врожденными дефектами переваривания и всасывания белков.;
- нарушением синтеза белков (например, при поражении печени);
- усиленной потерей белка (острые и хронические кровопотери, большие раневые поверхности, обширные ожоги, потери через желудочно-кишечный тракт);
- ускоренным распадом белков (гипертиреоз, острые инфекции);
- повышенным использованием белков, особенно альбуминов (послеоперационные состояния, лейкомия).

Диспротеинемия – изменение качественного и количественного состава отдельных белков сыворотки при нормальном уровне общего белка.

Изменение фракции глобулинов. В состав фракции глобулинов входит более 100 разных белков. Определение концентрации некоторых из них нашло клиническое применение.

α_1 -Антитрипсин. Концентрация в плазме крови увеличивается при всех воспалительных процессах и клеточном распаде, уменьшается при потере глобулинов с мочой (нефротический синдром) и тяжелых поражениях печени (нарушение синтеза). α_1 -Антитрипсин является главным ингибитором трипсина и других протеаз, которые из места своего образования (клетки поджелудочной железы) могут попасть в кровь. Недостаточность α_1 -антитрипсина делает возможным расщепление структур соединительной ткани под влиянием трипсина, причем особенно поражается соединительная ткань легких. Поэтому для такого состояния характерно разрушение межальвеолярных перегородок, которое может стать причиной развития эмфиземы.

α_2 -Глобулины. В состав этой белковой фракции входят гаптоглобины и церулоплазмин. Содержание гаптоглобинов связано с интенсивностью деполимеризации гликопротеинов в основном веществе соединительной ткани и зависит от ак-

тивности гиалуронидазы. Повышение их уровня в плазме крови наблюдается при воспалительных процессах, коллагенозах, сепсисе, некротических процессах. Уменьшение концентрации наблюдается у новорожденных, при гемолизе, поражении печени.

Церулоплазмин. Это гликопротеин, связывающий более 90% меди сыворотки крови. Повышенный уровень церулоплазмينا в плазме крови наблюдается у беременных, при инфаркте миокарда, острых и хронических инфекциях. Недостаточность церулоплазмينا проявляется в форме болезни Вильсона. При этом заболевании ионы меди выходят во внесосудистое пространство. Они проходят через базальные мембраны почек в гломерулярный фильтрат и выводятся с мочой или накапливаются в соединительной ткани, где связываются с протеогликанами. Болезнь Вильсона рассматривают как генетически обусловленную ацерулоплазминемию. Церулоплазмин также относят к белкам острой фазы.

β-Глобулины. Врожденная абетаполипротеинемия – генетически обусловленное заболевание, при котором отмечается полное отсутствие β-липопротеинов, уменьшение количества β-глобулинов, снижение содержания холестерина (до 0,5 ммоль/л). Клиническими проявлениями являются: атаксия, стеаторея, неправильная форма эритроцитов (акантоцитоз).

Атрансферринемия – редкое заболевание с признаками железодефицитной анемии, гепатоспленомегалии, плохо поддающееся лечению препаратами железа. Отсутствие трансферрина приводит к тому, что несвязанное железо откладывается в тканях и вызывает картину гемосидероза с гепатоспленомегалией. Лабораторно выявляется резкое снижение содержания железа в сыворотке крови (в 20–30 раз ниже нормы).

γ-Глобулины (иммуноглобулины). Это белки плазмы крови, которым свойственна функция антител. Различают пять основных классов иммуноглобулинов: IgG, IgA, IgM, IgD и IgE. Иммуноглобулины IgG составляют 70–80% от общего количества иммуноглобулинов. Они играют ключевую роль в защитных реакциях организма. Относительное содержание остальных классов иммуноглобулинов следующее: IgA – 10–15%; IgM – 5–10%; IgD – 1%; IgE – 0,01% от общего их количества.

Гипериммуноглобулинемия возникает при следующих состояниях:

- при подостром гепатите, дифтерии, кори (IgG), при циррозах, заболеваниях кишечника и дыхательных путей (IgA), при инфекционном мононуклеозе, остром и хроническом персистирующем гепатите (IgM);

- аутоиммунных заболеваний;

- аллергических состояниях (IgE – при бронхиальной астме, сенной лихорадке, атопической экземе, повышенной чувствительности к лекарственным препаратам);

- паразитарных заболеваниях (IgE при аскаридозе, трепаномозе).

Синдром дефицита антител обусловлен дефектом В-лимфоцитов. Приобретенные формы часто являются следствием злокачественных заболеваний лимфорегикулярной системы, действия иммунодепрессивных субстанций (цитостатики, кортикостероиды, антибиотики).

Комбинированные иммунодефициты характеризуются поражением В- и Т-лимфоцитов. К этой группе состояний относятся парапротеины.

Парапротеины. При некоторых заболеваниях в сыворотке находят протеины, отличающиеся от нормальных сывороточных белков по физико-химическим свойствам и биологической активности. Каждый из этих необычных белков представляет собой измененный аналог одного из нормальных иммуноглобулинов. Чаще всего встречаются парапротеины класса IgG (70–80%), реже IgA (13–18%) и еще реже – IgD и IgE. Состояния, сопровождающиеся появлением в крови парапротеинов, имеют обобщающий термин парапротеинемии (парапротеинозы). К этой группе заболеваний относятся плазмоцитома (миеломная болезнь Рустицкого – Каллера), макроглобулинемия Вальденштрема, болезнь тяжелых цепей и др.

Изменение в крови концентрации белков свертывания крови. Патологию, обусловленную нарушением свертывания крови, называют коагулопатией.

Афибриногенемия – редкое заболевание аутосомно-рецессивной природы, характерным признаком которого являются тяжелые кровотечения (геморрагии). Причина заболевания – полное или, в более легких случаях, частичное отсутствие фибриногена в плазме.

Дисфибриногенемия – аутосомное наследственное заболевание, проявляющееся во многих формах. Количество фибриногена может быть нормальным, но он имеет измененную первичную структуру. В результате изменения состава и кон-

фигурации молекул фибриногена его превращение в фибрин затрудняется, в результате чего увеличивается время кровотечения. Отдельные формы измененного фибриногена отличаются электрофоретически или иммунохимически.

Гемофилия – группа нарушений свертывания крови, проявляющихся сильными кровотечениями даже при незначительных ранениях. Причиной является отсутствие какого-либо из факторов, необходимых для процесса свертывания крови. Чаще всего встречается гемофилия А, при которой отмечается дефицит или молекулярные аномалии фактора VIII – высокомолекулярного белка, состоящего из трех структурно и функционально различающихся доменов. При гемофилии В (встречается в 5 раз реже, чем форма А) отсутствует фактор IX, а при гемофилии С – фактор XI.

ГЛАВА 14

БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ

Краткое содержание главы

Клетки печени поддерживают концентрацию глюкозы крови в пределах нормального диапазона. При понижении уровня глюкозы (состояние натошак) гликолиз и синтез гликогена ингибируются, а глюконеогенез и гликогенолиз, наоборот, активируются. Одновременно активируется окисление жирных кислот для обеспечения энергией синтеза глюкозы. Скорость использования глюкозы печенью определяется уровнем активности глюкокиназы.

При обильном поступлении в организм пищи активируются сигнальные системы, которые усиливают **синтез триацилглицеролов и холестерина**. Поступление большого количества холестерина с пищей компенсаторно снижает активность ферментов, катализирующих синтез эндогенного холестерина. В этом случае печень действует как **рециркуляторное депо**, отправляя «лишний» холестерол, поступивший в составе пищи, в периферические ткани, или принимая холестерол из тканей.

Печень – единственный орган, который **может синтезировать кетоновые тела**, и один из немногих, который не может их использовать в качестве источника энергии.

Печень располагает богатым спектром ферментов, катализирующих **катаболизм аминокислот до углекислого газа и воды**. Аминогруппы из тканей перемещаются в печень в составе глутамина и аланина, и гепатоциты используют их для синтеза мочевины, которая в последующем выделяется почками. В печени могут синтезироваться *de novo* и повторно утилизироваться все рибо- и дезоксирибонуклеотиды.

Ксенобиотики и эндогенные метаболиты через синусоидальную мембрану поступают в гепатоцит и выделяются затем после преобразований через каналикулярную мембрану в желчный каналец. Ключевое значение в первой фазе метаболизма ксенобиотиков имеет цитохром P450

(цитР450), который входит в состав *монооксигеназной системы* микросом печени. **Гемоглобин, метгемоглобин, биливердин, непрямой билирубин, диглюкуронид билирубина, уробилиноген, стеркобилиноген, стеркобилин** – этапы катаболизма гемоглобина, большая часть которых протекает в печени. На знании и понимании этих этапов основана дифференциальная диагностика желтух.

Клинико-лабораторное значение. Знание молекулярных процессов, происходящих в печени, призвано помочь в понимании функций гемопротеинов в организме. Кроме того, нарушение этих процессов связано с развитием заболеваний. Так, с нарушением биосинтеза гема связана группа заболеваний, получивших название *порфирии*. Гораздо чаще встречаются патологические состояния, связанные с распадом гема и нарушением выведения из организма продуктов его катаболического превращения. Наиболее распространенной является *желтуха*, обусловленная повышением содержания билирубина в плазме крови. Она обычно вызвана или чрезмерным образованием билирубина, или нарушением выведения его из организма. Гипербилирубинемия свойственна таким заболеваниям, как вирусный и сывороточный гепатиты, рак поджелудочной железы, цирроз печени и др.

Природа стратегически расположила печень между общим кровообращением (внутренней средой) и пищеварительным трактом (внешней средой). Печень получает 20–25% объема крови, прокачиваемого сердцем каждую минуту (сердечный выброс) через портальную вену (которая доставляет поступающие вещества из желудочно-кишечного тракта в печень) и через печеночную артерию (которая доставляет вещества из общего кровообращения). Потенциально токсические вещества, всасываемые в кишечнике или попавшие туда через печеночную артерию, должны пройти через печень, прежде чем они попадут в другие органы. Относительно большие размеры (приблизительно 3% от веса тела) позволяют обеспечить достаточно продолжительное время пребывания в печени многих соединений, для того чтобы использовать их для нужд самой печени, депонировать или обезвредить, подготовив их к выделению из организма через почки или кишечник.

Из портальной вены поступает 75% крови, протекающей через печень. Остальные 25% крови поступают из печеночной

артерии. Кровь из портальной вены и печеночной артерии смешивается в синусоидах печени. Синусоиды выстланы особого рода эндотелиальными клетками, которые обеспечивают относительно свободный доступ компонентов плазмы к гепатоцитам, расположенным по другую сторону от клеток эндотелия.

Гепатоциты, или печеночные паренхиматозные клетки, — основная функциональная единица печени (60% от общего числа клеток). Они формируют дольки и создают общий объем органа. Остальные 40% приходится на долю непаренхиматозных клеток, выстилающих стенки синусоидов. К ним относятся клетки эндотелия, клетки Купфера, звездчатые клетки.

Печень — центр по распределению субстратов в организме. В гепатоцитах проходит множество биохимических реакций (табл. 14.1). Это связано с их ролью в модификации и перераспределении многих соединений, поступающих из пищеварительного тракта и общего кровообращения. Если какое-либо поступившее в печень соединение потенциально полезно для организма, то реакции в гепатоците позволяют преобразовать его в субстрат, который может использоваться. Если это соединение токсично, реакции в гепатоците позволяют преобразовать его в форму, которая удобна для выделения с мочой или желчью.

Таблица 14.1. Некоторые пути использования метаболитов в печени

Метаболиты	Пути превращения
1	2
Углеводный обмен	
Гликоген	Гомеостаз глюкозы крови путем синтеза и распада гликогена
Глюкоза	Гликолиз, пентозофосфатный путь, глюконеогенез
Галактоза	Превращение в глюкозу
Фруктоза	Превращение в глюкозу
Обмен липидов	
Липопротеины	Биосинтез, формирование и распад ЛПОНП и ЛПВП. Утилизация ремнантов хиломикронов, ЛПНП и ЛПНП
Жирные кислоты	β -окисление жирных кислот. Синтез кетонových тел

1	2
Холестерол	Биосинтез холестерина в зависимости от количества, поступившего с пищей. Превращение холестерина в желчные кислоты
Азотсодержащие соединения	
Аминокислоты	Биосинтез заменимых аминокислот. Распад всех аминокислот. Образование биогенных аминов. Биосинтез белков
Мочевина	Синтез мочевины в орнитиновом цикле
Креатин	Этап синтеза креатина

Смешение венозной (портальной) и артериальной крови предоставляет гепатоцитам доступ к различным метаболитам, образованным в периферических тканях, таким как глюкоза, аминокислоты, белки, ненужные метаболиты и токсические вещества.

Фенестрация и поры в эндотелиальных клетках, отсутствие классической базальной мембраны и плотных контактов между клетками, низкое кровяное давление в системе воротной вены (отсюда – медленный ток крови) способствуют эффективному обмену соединениями между синусоидальной кровью и гепатоцитами. Из крови поглощаются для последующего разрушения большие молекулы, такие как белки или ремнанты хиломикронов. Наоборот, синтезированные в гепатоцитах молекулы, такие как липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП) или белки, легко секретируются в кровь. Секреция ЛПОНП позволяет обеспечивать клетки органов и тканей жирными кислотами, фосфолипидами и холестерином. Синтез и секреция гликопротеинов осуществляется благодаря способности печени использовать из пищи или синтезировать моносахариды, аминокислоты.

Одновременно клетки печени способны модифицировать и выделять такие соединения, которые не могут далее использоваться. Это представляет особую важность для понимания судьбы лекарственных препаратов.

Обезвреживание ксенобиотиков в клетках печени. Ксенобиотики (греч. *xenos* – чужой и *bios* (*biotos*) – жизнь) – чужеродные для организмов соединения или факторы (промышленные загрязнения, пестициды, препараты бытовой химии, лекарственные средства, метаболиты и т.п.); вещества, дей-

ствующее как токсины или фармакологически и эндокринологически активные.

Эндотелиальные клетки синусоидов печени формируют большие трансцеллюлярные поры или фенестры, сквозь которые проходят плазменные белки. Будучи связанными с ксенобиотиком, они могут пассивно проникать через синусоиды в пространства Диссе. Далее ксенобиотик попадает в гепатоцит путем пассивного или активного транспорта, где превращается в более гидрофильный метаболит под влиянием ферментов, локализованных в эндоплазматическом ретикулууме. Затем полученные метаболиты либо вновь попадают в кровь через синусоидальный ток и выводятся почками с мочой, либо через каналикулярную мембрану секретируются в желчь и потом выводятся с калом.

В механизмах обезвреживания выделяют несколько фаз. Прохождение этих фаз зависит от природы и свойств ксенобиотика. Поскольку многие из ксенобиотиков липофильны, они окисляются, гидроксилируются или гидролизуются ферментами в реакциях фазы I (рис. 14.1).

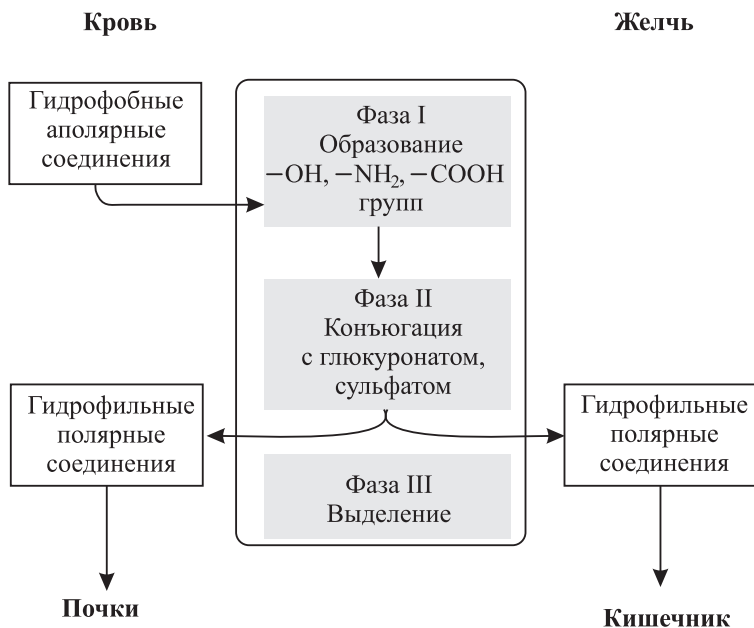
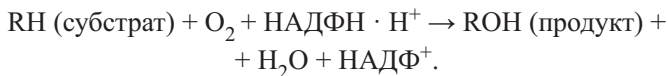


Рис. 14.1. Общая схема процессов обезвреживания

Метаболиты, образовавшиеся в результате действия этих ферментов, могут быть менее токсичными или, наоборот, высокотоксичными и даже чрезмерно токсичными по сравнению с их предшественниками. Обычно метаболит первой фазы подвергается дальнейшему превращению под влиянием фермента второй фазы. В результате происходит его конъюгирование с другим соединением или функциональной группой: глутатионом, глюкуроновой кислотой, сульфатной или сульфидной группами. Типичным примером препарата, метаболизм которого проходит в две фазы, является снотворное средство мидазолам. Сначала оно превращается в 1-гидроксимидазолам, а затем – в 1-гидроксимидазолам глюкуронид. Некоторые лекарства подвергаются метаболическим превращениям, присущим преимущественно второй фазе. Примером является морфин, который сразу преобразуется в морфин-3 глюкуронид и морфин-6 глюкуронид.

Значение цитохрома P450 для метаболизма ксенобиотиков и лекарственных препаратов. Ключевое значение в первой фазе метаболизма ксенобиотиков имеет цитохром P450 (цитP450), который входит в состав *монооксигеназной системы* микросом печени. Обычно гемовое железо находится в окисленном состоянии (Fe^{3+}). Восстанавливаясь до состояния Fe^{2+} , цитP450 способен связывать лиганды, такие как кислород или монооксид углерода (CO). Комплекс восстановленного цитP450 с CO имеет максимум поглощения 450 нм, что и явилось основанием для названия этих ферментов.

В качестве восстановителя в реакции участвует НАДФН · H^+ :



Механизм, благодаря которому цитохром получает электрон от НАДФН · H^+ , зависит от внутриклеточной локализации цитP450. В ЭПР, где расположено большинство гемопротеинов, участвующих в биотрансформации ксенобиотиков, электрон передается через флавопротеин, который называется НАДФН · H^+ -P450 редуктаза. Одна молекула редуктазы может доставлять электроны на несколько различных молекул P450. В митохондриях, где расположены цитохромы P450, участвующие в биосинтезе стероидных гормонов и метабо-

лизме витамина D, электрон переносится с помощью двух белков: ферредоксина и ферредоксин-редуктазы.

Цитохромы P450 широко распространены в клетках органов и тканей. Высокая концентрация их обнаружена в носу (там они расщепляют амины, вызывающие запах) и в надпочечниках (там они принимают участие в синтезе стероидов). Однако наибольшая концентрация цитP450 обнаруживается в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов (микросомах). Именно печеночные микросомальные цитP450 играют важнейшую роль в определении интенсивности и времени действия чужеродных соединений за счет их детоксикации или, наоборот, активации их до токсичных и/или канцерогенных метаболитов.

Суперсемейство цитохрома P450 включает около 150 изоферментов, у которых 40% аминокислот имеют гомологичную последовательность (табл. 14.2). У человека к настоящему времени известно около 25 цитP450. Все они кодируются суперсемейством генов. Суперсемейство разделено на семейства, подсемейства и индивидуальные гены.

Характерным свойством ферментов из суперсемейства цитP450 является низкий уровень их базальной экспрессии в отсутствие субстрата и существенное нарастание экспрессии в присутствии субстратов или каких-то других соединений-индукторов. Индукция цитP450 и других ферментов, катализирующих метаболизм лекарственных препаратов, может изменять скорость выведения препарата из организма, тем самым влияя на его уровень в крови.

Источники энергии для клеток печени. Реакции преобразования и инактивации токсических веществ и образования конечных метаболитов, как и анаболические реакции (синтез жирных кислот, глюконеогенез), требуют энергии. Потребность в энергии в гепатоците достаточно высока. Печень потребляет около 20% используемого организмом кислорода. После приема обычной смешанной пищи основными окисляемыми субстратами являются глюкоза, галактоза и фруктоза.

В случае приема этанола в печени происходит его окисление с образованием ацетата, а затем – ацетил-КоА.

При голодании основным источником энергии становятся жирные кислоты. Они окисляются до углекислого газа и воды. Одновременно из ацетил-КоА синтезируются кетоновые тела для других клеток. Печень также может использовать в качестве источника энергии большинство аминокислот, превращая

Таблица 14.2. Некоторые цитохромы Р450 человека и ксенобиотики, которые они окисляют

ЦитР450	Место экспрессии	Типичные субстраты	Индукторы
1A1	Вне печени, другие ткани, синтез индуцированный	Полициклические ароматические углеводороды, бензо[а]пирен, 2,3,7,8-тетрахлордибензолдиоксин	Полициклические ароматические углеводороды, омепазол, курение
1A2	Печень, легкие, синтез постоянный	Гетероциклические амины, ариламины, ароматические амины, пищевые мутагены, афлатоксин В1	Полициклические ароматические углеводороды, курение, продукты питания, особенно приготовленные на древесном угле
2A6	Печень, легкие, синтез постоянный	Гетероциклические амины, ариламины, ароматические амины, пищевые мутагены, афлатоксин В1. Ответствен за 7-гидроксилирование стероидов и холестерина в желчные кислоты	
2B6	Печень, другие	Лекарства (циклофосфамид)	Барбитураты
2C8	Печень	Бензо[а]пирен, толбутамид, R-мефенитоин, диазепам и нестероидный противовоспалительный – оксикам	Барбитураты
2C9	Печень	Толбутамид, R- и S-мефенитоин варфарин	Барбитураты
2C18	Печень	R-мефенитоин	
2C19	Печень	R- и S-мефенитоин	

2D6	Полиморфная экспрессия	Дебрисоквин, морфин, его аналоги и β -блокаторы	
2E1	Печень, другие	Хлорзоксазон, нитрозодиметиламин, этанол	Этанол, изониазид
2F1	Легкие, другие	Тестостерон, нафтиламин	
3A3	Тонкий кишечник, печень, другие	Нифедипин	Барбитураты, рифампицин, дексаметазон, кортизол
3A4	Печень, другие	Нифедипин, тестостерон, цикло-спорин	
3A5	Печень	Нифедипин	
3A7	Печень	Тестостерон	

их в глюкозу. Основной механизм синтеза АТФ – окислительное фосфорилирование.

Особенности обмена углеводов в печени. *Регуляция уровня глюкозы в крови.* Одна из важных функций печени – поддержание концентрации глюкозы крови в пределах нормального диапазона. Основные механизмы были описаны ранее. Уровень глюкозы крови контролируется поджелудочной железой. При повышении уровня она секретирует инсулин, а при снижении уровня глюкозы – глюкагон. Кроме того, физиологическое повышение уровня гормона роста, кортизола и секреция катехоламинов помогают поддерживать нормальный уровень глюкозы крови во время ограничения пищи или при стрессовых состояниях.

При понижении уровня глюкозы (состояние натошак) гликолиз и синтез гликогена ингибируются, а глюконеогенез и гликогенолиз, наоборот, активируются. Одновременно активируется окисление жирных кислот для обеспечения энергией синтеза глюкозы (шесть молекул АТФ необходимо для синтеза одной молекулы глюкозы из двух молекул пирувата). Способность печени экспортировать глюкозу в кровь связана с тем, что это одна из двух тканей (почки), которые синтезируют глюкозо-6-фосфатазу.

Глюкоза как источник энергии. Поступление глюкозы в печень зависит от уровня глюкозы в воротной вене. Поскольку константа Михаэлиса (K_m) и для транспортера глюкозы (GLUT2), и для глюкокиназы довольно велика (около 10 ммоль/л), глюкоза поступает в печень преимущественно после повышения ее концентрации в воротной вене до 10–40 ммоль/л. При этом в кровотоке повышается концентрация инсулина, который будет способствовать синтезу гликогена. Стимулируется гликолиз (ФФК-2 активируется и фруктозо-2,6-фосфат будет активировать ФФК-1), что ведет к образованию ацетил-КоА, который используется на синтез жирных кислот (ацетил-КоА карбоксилаза при этом активируется цитратом). Таким образом, после приема пищи с высоким содержанием углеводов печень использует глюкозу как свое главное топливо, активируя пути синтеза гликогена и жирных кислот.

Скорость использования глюкозы печенью определяется уровнем активности глюкокиназы. Активность этого фермента в свою очередь регулируется специальным белком (RP), который расположен в ядре. В отсутствие глюкозы глюкокиназа изолирована в ядре и связана RP, поэтому находится в неактивной форме. Высокая концентрация фруктозо-6-фосфата

способствует взаимодействию глюкокиназы с РР, тогда как высокий уровень глюкозы или фруктозо-1-фосфата блокирует это взаимодействие и вызывает диссоциацию комплекса. Таким образом, после повышения уровня глюкозы в цитоплазме и ядре (например, после еды), значительно повышается фосфорилирование глюкозы, поскольку глюкокиназа выходит из ядра, поступает в цитоплазму и катализирует фосфорилирование глюкозы.

Главный регулирующий этап гликолиза в печени – реакция ФФК-1. Даже при голодании концентрация АТФ в печени достаточно высока (2,5 ммоль/л) и эффективно ингибирует активность ФФК-1. В этих условиях основным регулятором гликолиза в печени является продукт реакции, катализируемой ФФК-2, – фруктозо-2,6-бисфосфат. При увеличении уровня фруктозо-2,6-бисфосфата (например, под действием инсулина), скорость гликолиза растет. Если увеличивается уровень глюкагона и протеинкиназа А катализирует фосфорилирование ФФК-2, активность фермента, следовательно и гликолиза, замедляется, а глюконеогенеза усиливается.

Пентозофосфатный путь. Основное значение пентозофосфатного пути окисления глюкозы состоит в генерации НАДФН · Н⁺ и образовании пентоз. Ферменты этого метаболического пути имеются во всех типах клеток, включая эритроциты, так как в каждой клетке НАДФН · Н⁺ является донором водорода для глутатионредуктазы. Фермент глутатионредуктаза катализирует превращение окисленного глутатиона (GSSG) в его восстановленную форму (GSH). Эта реакция необходима для защиты от повреждающего действия свободных радикалов. Образование пентоз особенно важно для быстро делящихся клеток и клеток, активно синтезирующих белки.

В гепатоцитах значимость этого пути особенно велика. НАДФН · Н⁺ гепатоциты используют для биосинтеза жирных кислот, в механизмах обезвреживания ксенобиотиков.

Поскольку в клетках печени протекает много реакций, ведущих к образованию свободных радикалов, потребность в восстановленном глутатионе здесь особенно велика. Использование глюкозы по этому пути в гепатоците может составлять более 30% от количества глюкозы, используемой в гликолизе.

Особенности обмена липидов в печени. Синтез и экспорт холестерина и триацилглицеролов. При обильном поступлении в организм пищи активируются сигнальные системы, которые

усиливают синтез жирных кислот, триацилглицеролов и холестерина. Поступление большого количества холестерина с пищей компенсаторно снижает активность ферментов, катализирующих синтез эндогенного холестерина. В этом случае печень действует как рециркуляторное депо, отправляя «лишний» холестерол, поступивший в составе пищи, в периферические ткани или принимая холестерол из тканей. Пути метаболизма холестерина были обсуждены в гл. 6.

Использование липидов печени в качестве источника энергии. Как уже упоминалось, главным «топливом» гепатоцитов в период ограничения пищи служат длинноцепочечные жирные кислоты. Они высвобождаются из триацилглицеролов жировой ткани и доставляются альбумином в печень.

В цитозоле они связываются со специальными белками и затем активируются на внешней митохондриальной мембране, мембране пероксисом и агранулярной эндоплазматической сети с помощью ацил-КоА-синтетазы. Ацильная группа затем передается карнитину для транспорта через внутреннюю митохондриальную мембрану, затем к ацилу вновь присоединяется КоА-SH и происходит β -окисление (см. гл. 6).

Ферменты, активирующие жирные кислоты и катализирующие β -окисление (синтетазы, ацилкарнитин трансферазы, дегидрогеназы), обладают специфичностью. Выделяют ферменты для длинноцепочечных (12–20C), среднецепочечных (8–12C) и короткоцепочечных (4–8C) жирных кислот.

В клетках печени и почек происходит окисление среднецепочечных жирных кислот. Этими жирными кислотами богато грудное молоко. В желудке ТАГ со среднецепочечными жирными кислотами гидролизуются желудочной липазой, в кишечнике – панкреатической липазой. Процесс идет даже более активно, чем в случае расщепления ТАГ с длинноцепочечными жирными кислотами. В энтероцитах среднецепочечные жирные кислоты не участвуют в ресинтезе липидов, а высвобождаются непосредственно в систему воротной вены. Это обусловлено тем обстоятельством, что жирные кислоты с семью или меньше углеродными атомами растворимы в воде. В митохондриях печени они подвергаются β -окислению с помощью специализированных ферментов.

Количество пероксисом в печени намного превышает содержание их в клетках других органов. В пероксисомах печени содержатся ферменты для окисления жирных кислот с большим числом углеродных атомов (больше 20C), кислот

с разветвленной цепью (фитановая кислота). Процесс пероксисомального β -окисления был описан ранее (см. гл. 6). Здесь также сосредоточены ферменты, катализирующие отщепление боковой цепи холестерина (необходимого для синтеза желчных кислот), метаболизм арахидоновой кислоты.

Важную роль в метаболизме липидов в печени играют так называемые рецепторы, активированные пролифератором пероксисом. Они являются членами семейства ядерных рецепторов и при активировании могут стимулировать транскрипцию генов.

В печени рецепторы, активированные пролифератором пероксисом, регулируют активность генов, которые вовлечены в β - и ω -окисление жирных кислот. Жирные кислоты являются эндогенным лигандом для таких рецепторов, поэтому, если уровень жирных кислот в крови повышается (с параллельным увеличением содержания жирных кислот в гепатоцитах), то повышается транскрипция генов, кодирующих белки – регуляторы метаболизма жирных кислот.

Синтез кетоновых тел. Печень – единственный орган, который может синтезировать кетоновые тела, и один из немногих, который не может их использовать в качестве источника энергии. Кетоновые тела начинают синтезироваться при условии снижения образования глюкозы и усиления окисления жирных кислот. Кетоновые тела проходят через гематоэнцефалический барьер и становятся главным источником энергии для нервной системы в условиях длительного голодания. Синтез кетоновых тел и их метаболизм были описаны в гл. 6.

Метаболизм липидов при поражении клеток печени. Хроническое воспаление паренхимы печени связано с характерным изменением уровня липидов в плазме крови. Оно может быть связано со снижением активности лецитин-холестерол ацилтрансферазы (ЛХАТ, функция фермента – см. гл. 6). Тогда в плазме крови снижается уровень эфиров холестерина, а уровень свободного холестерина нормальный или повышен.

Триацилглицеролы в составе липопротеинов плазмы крови гидролизуются с участием липопротеинлипазы и печеночной липазы. Активность этих ферментов обычно снижена у больных с нарушенной функцией клеток печени. Тогда в плазме крови нарастает уровень триацилглицеролов.

Особенности метаболизма азотсодержащих соединений в печени. *Аминокислоты.* Печень занимает ведущее место в метаболизме аминокислот у человека (табл. 14.3).

Таблица 14.3. Азотсодержащие соединения, синтезируемые гепатоцитами и другими клетками

Продукт	Предшественник	Ткани	Значимость
Креатин	Арг, гли, S-аденозилметионин	Печень	Образует креатинфосфат в мышцах как источник энергии
Глутатион	Глу, цис, гли	Все ткани, но больше в печени	Антиоксидант
Пурины	Гли, глн, асп, CO ₂ , тетрагидрофолат, фосфорибозилпирофосфат	Печень, немного в нейронах и иммунной системе	Нуклеотиды и нуклеозиды
Пиримидины	Асп, глн, CO ₂	Печень, немного в нейронах и иммунной системе	ДНК, РНК, коферменты, макроэрги
Сиаловые кислоты, аминокислота	Глн	Большинство клеток	В печени синтез олигосахаридов для секретируемых белков. В большинстве клеток гликопротеины. Протеогликаны и гликолипиды
Сульфосоединения	Цис	Печень и почки образуют сульфат	Многие клетки используют сульфат для образования ФАФС, который является донором сульфата для синтеза протеогликанов и обезвреживания
Таурин	Цис	Печень	Конъюгированные желчные кислоты
Сфингозин	Сер и пальмитоил-КоА	Печень, мозг и другие ткани	Предшественник сфинголипидов, найден в миелине и других мембранах
Гем	Гли и сукцинил-КоА	Печень, костный мозг	Гем печени идет в цитохромы, гем костного мозга – в гемоглобин

Конъюгаты глицина с ксенобиотиками	Гли	Печень, почки	Обезвреживание и выделение почками
Ниацин	Трп, глн	Печень	НАД ⁺ , НАДФ ⁺
Метильные группы для тетрагидрофолата и S-аденозилметионина	Гли, сер, гис, мет	Больше в печени	Синтез холина, фосфатидилхолина, пуринов и пиримидинов, метаболитов и ксенобиотиков путем метилирования, обезвреживание

В печени имеется богатый спектр ферментов, катализирующих катаболизм аминокислот до углекислого газа и воды. Продукты дезаминирования аминокислот в печени могут быть использованы для синтеза кетонových тел (кетогенные аминокислоты) или глюкозы (гликогенные аминокислоты).

Печень – ведущий орган в процессе синтеза мочевины и своеобразное депо аммиака. Аминогруппы из тканей перемещаются в печень в составе глутамина и аланина, и гепатоциты используют их для синтеза мочевины, которая в последующем выделяется почками. В гепатоцитах сосредоточен весь набор ферментов синтеза мочевины из токсичного иона аммония. Реакции орнитинового цикла синтеза мочевины были обсуждены в гл. 7.

После приема смешанной или высокобелковой пищи в кишечнике используются аспартат, глутамат и глутамин в качестве источника энергии (во время голодания кишечник использует для этой цели глутамин крови). Поэтому поступившие с пищей кислые аминокислоты не поступают в общее кровообращение, а их азот поступает в печень в составе цитруллина или иона аммония через портальную вену.

Аминокислоты с разветвленной цепью (валин, лейцин и изолейцин) могут использоваться большинством клеток в качестве источников энергии. После приема высокобелковой пищи большая часть таких аминокислот не окисляется печенью (из-за очень низкой активности специфической трансаминазы), а поступает в периферическое кровообращение. Оттуда аминокислоты попадают в другие ткани.

Гепатоциты используют аминокислоты не только для синтеза собственных белков, но и для синтеза белков плазмы крови. Кроме того, в печени из аминокислот синтезируются многочисленные азотсодержащие соединения: гем, пурины, пиримидины и др.

Нуклеотиды. В печени могут синтезироваться *de novo* и повторно утилизироваться все рибо- и дезоксирибонуклеотиды. Некоторые клетки утратили способность синтезировать нуклеотиды *de novo*, но могут использовать пути реутилизации азотистых оснований в нуклеотиды. Печень снабжает через кровоток такие клетки азотистыми основаниями. Синтез нуклеотидов и их распад рассмотрены в гл. 8.

Метаболизм аминокислот при заболеваниях печени. Содержание аминокислот в крови пациентов с заболеваниями печени часто увеличивается. Это связано со значительным по-

вышением катаболизма белков, прежде всего в мышцах, и со снижением использования аминокислот печенью. Так, например, при циррозе печени повышается уровень ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана), а также метионина. Наряду с этим характерно снижение концентрации аминокислот с разветвленной цепью, хотя механизм его не известен.

Синтез белков крови. Печень обеспечивает синтез основных белков плазмы крови (альбумина, факторов свертывания крови и др.). В случае заболеваний печени эта функция может нарушаться и уровень белков плазмы снижается. Гипопротеинемия может привести к отеку тканей из-за снижения осмотического давления крови, обусловленного белками. Гепатоцит имеет хорошо развитую эндоплазматическую сеть, систему комплекса Гольджи и клеточный цитоскелет, что необходимо для синтеза, процессинга и секреции белков. Наиболее активно синтезируется альбумин. Этот белок составляет 55–60% от общего содержания белков плазмы крови. Он выполняет транспортную функцию для большого количества гидрофобных соединений, таких как жирные кислоты, стероиды, гидрофобные аминокислоты, витамины, фармакологические препараты. Он также является важным регулятором осмотического давления. Другая большая группа белков, синтезируемых в печени – гликопротеины. Они участвуют в процессах гемостаза, транспорте гормонов и витаминов, регуляции секреции гормонов. Белки острой фазы, которые являются частью иммунной реакции на многие формы повреждения, также синтезируются в печени.

Синтез гликопротеинов и протеогликанов. Для синтеза углеводной простетической группы этих сложных белков необходимо большое количество моносахаридов: манноза, фруктоза, галактоза, аминсахара и уоновые кислоты. В гепатоците синтез этих моносахаридов не зависит от глюкозы, поступающей с пищей или депонированной в форме гликогена. Это связано с тем, что в печени такие моносахариды образуются из гликогенных аминокислот (превращаются в пируват или метаболиты цикла Кребса), из лактата (образуется в результате анаэробного гликолиза) и глицерола (продукта липолиза в адипоцитах). Однако и глюкоза пищи, и запасы гликогена в печени могут использоваться для синтеза других моносахаридов.

Секреторная функция печени. У человека ежедневно образуется и секретируется в кишечник 600–700 мл желчи. Основные компоненты желчи – желчные кислоты, фосфолипиды и холестерол, электролиты, белки, конъюгаты ксенобиотиков, желчные пигменты.

Желчные пигменты. Билирубин является продуктом распада гема. У взрослого человека за сутки образуется около 250–400 мг билирубина. От этого количества 70–80% обязаны своим происхождением распаду эритроцитов (гем гемоглобина) и 20–25% – распаду гема в составе других белков (миоглобина, цитохромов, каталазы).

Биосинтез гема. Прямым предшественником всех порфиринов, в том числе и гема, является порфобилиноген. Он синтезируется конденсацией двух молекул δ -аминолевулиновой кислоты. При этом отщепляется молекула углекислого газа. В свою очередь δ -аминолевулиновая кислота образуется в митохондриях конденсацией сукцинил-КоА с глицином (рис. 14.2). Катализируется эта реакция специальным ферментом – δ -аминолевулинатсинтазой (δ -АЛС). Он является ключевым ферментом в синтезе гема, поскольку от его активности зависит интенсивность всего процесса.

Ферменты, участвующие в биосинтезе гема, локализованы в печени, костном мозге, слизистой кишечника, почках. Молекула порфобилиногена представляет собой циклическую структуру. Далее четыре молекулы порфобилиногена конденсируются, при этом отщепляется ион аммония NH_4^+ и образуется тетрапиррольное соединение – уropорфириноген III. Эта конденсация проходит не одномоментно, а в несколько стадий и катализируется двумя ферментами. На следующем этапе уropорфириноген III подвергается пятикратному окислению и двукратному декарбоксилированию. В результате формируется протопорфирин IX. Затем в молекулу протопорфирина IX включается ион двухвалентного железа и образуется гем.

Образование порфобилиногена из δ -аминолевулиновой кислоты и последующие реакции до образования копропорфириногена III протекают в цитозоле клеток. Синтез же протопорфирина IX, включение в его состав железа и формирование гема протекают в митохондриях.

Гем является простетической группой ряда жизненно важных сложных белков: гемоглобина, миоглобина, цитохромов, хлорофилла. Эти белки наделены рядом уникальных биологических функций. Они участвуют в фундаментальных процес-

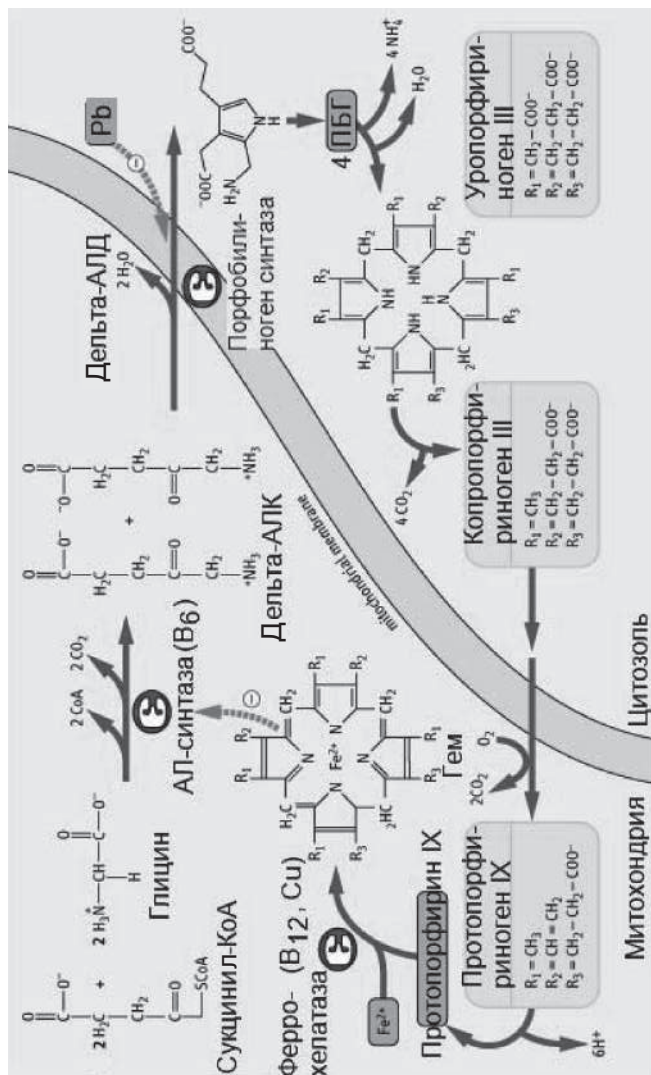


Рис. 14.2. Схема синтеза гема:

АЛ-синтаза – аминолевулилат синтаза; дельта-АЛК – δ-аминолевулиновая кислота; дельта-АЛД – δ-аминолевулилат дегидратаза; ПБГ – порфириноген

сах жизнедеятельности: фотосинтезе, дыхании клеток и целостного организма, транспорте кислорода и углекислого газа, окислительно-восстановительных реакциях, свето-, цветовосприятии и др.

Регуляция синтеза гема. Фермент, лимитирующий скорость синтеза гема, — δ -АЛС. Она ингибируется гемом по принципу обратной связи, а активируется стероидами. Гемом ингибируются и другие ферменты, участвующие в синтезе: δ -аминолевулинат дегидрогеназа и гемсинтаза. Последние два фермента к тому же чрезвычайно чувствительны к свинцу и другим тяжелым металлам.

Распад гемоглобина. Время жизни эритроцитов у взрослого организма составляет около четырех месяцев. Спустя этот период времени эритроциты разрушаются. Основным местом разрушения эритроцитов являются печень, селезенка и костный мозг. В ходе разрушения из эритроцитов высвобождается гемоглобин (8–9 г в день).

В ретикулоэндотелиальной системе клеток двухвалентное железо в составе гемоглобина окисляется до Fe^{3+} . В результате гемоглобин превращается в метгемоглобин. Затем начинается разрушение тетрапиррольной структуры гема. Образуется вердоглобин, из молекулы которого удаляется Fe^{3+} , и он превращается в зеленый пигмент — биливердин (рис. 14.3). Эту реакцию катализирует пигмент гемоксигеназа. Затем центральный метениловый мостик биливердина восстанавливается под действием биливердинредуктазы с образованием желтого пигмента — билирубина. Изменение цвета синяков на теле — наглядное проявление этой реакции. Образовавшийся билирубин называется *свободным* или *непрямым билирубином*, поскольку из-за плохой растворимости в воде он легко

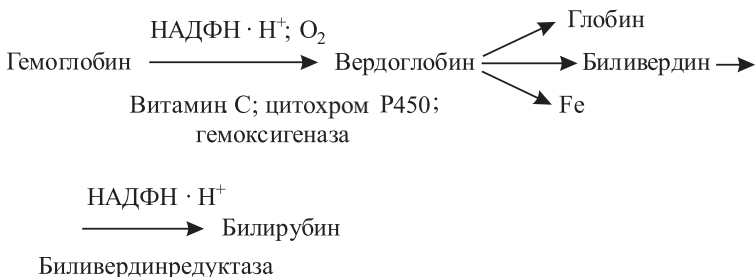


Рис. 14.3. Схема распада гемоглобина в РЭС клеток

адсорбируется на белках плазмы крови, и для его определения в крови необходимо предварительное осаждение белков спиртом. Только после этого билирубин вступает во взаимодействие с диазореактивом Эрлиха.

Реакция Эрлиха основана на использовании диазосульфаниловой кислоты (реактив Эрлиха). Она соединяется с билирубином, образуя азосоединение с красно-пурпурным окрашиванием. В плазме билирубин специфически связывается с альбумином. В комплексе с этим белком он переносится в печень. В печени он переходит в более растворимое в воде состояние благодаря присоединению полярных групп. Эти полярные группы принадлежат остатку моносахарида – глюкуроновой кислоте. Сначала происходит образование моноглюкуронид билирубина, затем присоединяется второй остаток глюкуроновой кислоты.

Конъюгат билирубина и двух молекул глюкуроната, диглюкуронид билирубина, выделяется с желчью в просвет тонкого кишечника. Диглюкуронид билирубина называется **прямым билирубином**. Он растворим в воде, поэтому не связан с белками в крови и дает прямую реакцию с диазореактивом Эрлиха (без предварительного осаждения белков спиртом).

После того как билирубин достигает области подвздошной и толстой кишок, диглюкуронид билирубина гидролизуются специфическими бактериальными ферментами. Далее кишечная микрофлора восстанавливает пигмент в бесцветные соединения, сначала уробилиноген, а затем – стеркобилиноген (рис. 14.4).

В подвздошной кишке и толстом кишечнике небольшая часть уробилиногена снова всасывается и попадает в печень. Там он подвергается разрушению. Большая часть стеркобилиногена под действием микрофлоры окисляется в кишечнике в окрашенное соединение, стеркобилин, и выделяется из кишечника с фекалиями. Небольшое количество стеркобилиногена всасывается через систему геморроидальных вен и попадает в систему большого круга кровообращения, минуя печень. В виде стеркобилина он выводится почками с мочой.

Нарушения обмена гемоглобина. Следует различать состояния, связанные с нарушением синтеза гема и синтеза гемоглобина.

Нарушение синтеза гема. Возникает при заболеваниях печени, недостатке витамина B_{12} (пернициозноподобная анемия) и при врожденных дефектах синтеза ферментов.

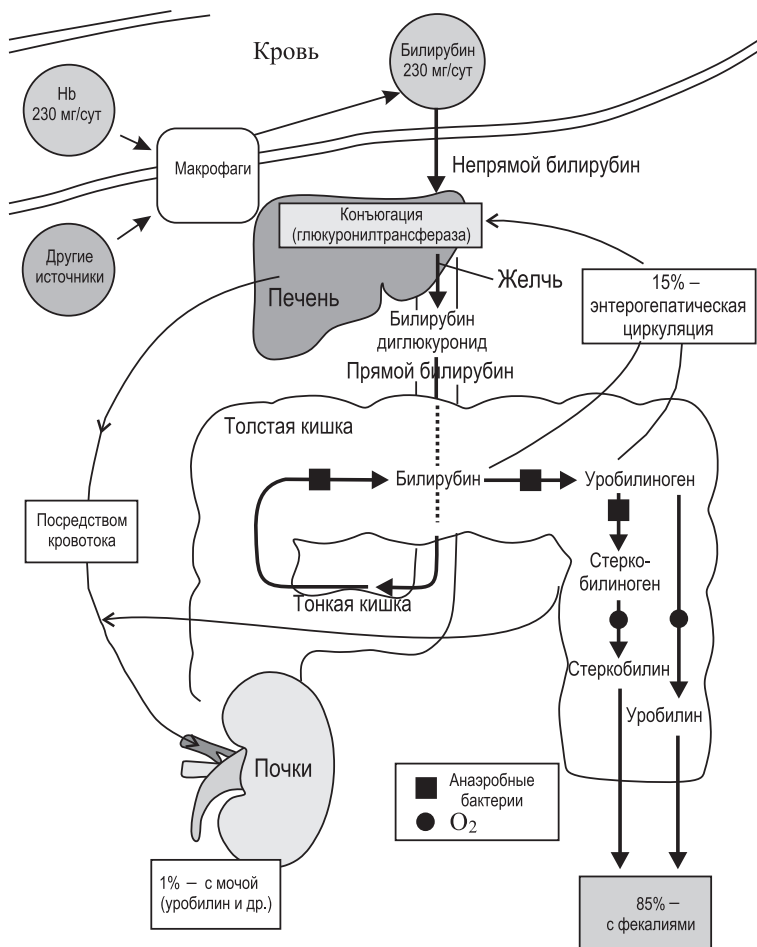


Рис. 14.4. Схема процессов катаболизма билирубина и выведения конечных продуктов

Изменение синтеза ферментов в эритроблестах приводит к чрезмерному образованию продуктов превращения прото-порфирина III – эритропоэтическая порфирия или чрезмерной продукции общего предшественника порфирина – δ -аминолевулиновой кислоты. В результате длительность жизни клеток укорачивается и развивается гемолитическая анемия. Кожа у таких пациентов чрезвычайно чув-

ствительна к свету (фотосенсибилизация). После облучения солнечным светом на ней отмечаются экземопоподобные изменения, трещины. Как правило, при этих состояниях с мочой выделяется большое количество порфиринов. Моча при этом окрашивается в пурпурно-красный цвет (п о р ф и р и н у р и я). Труднее установить причинную связь с другими клиническими симптомами, отмечаемыми у таких людей: болями в животе и нарушениями центральной нервной системы.

Нарушение синтеза глобина. Изменение синтеза белкового компонента гемоглобина заключается в нарушении аминокислотной последовательности α - или β -глобиновых полипептидных цепей или их образования вообще. К настоящему времени известно более 300 видов аномальных гемоглобинов, у которых изменена структура глобина. Их обозначают буквенными символами (HbC, HbS, HbD).

Для того чтобы возник патологический гемоглобин, достаточно замены только одной аминокислоты в составе полипептидной цепи. Например, возникновение HbS обусловлено заменой глутаминовой кислоты на валин в составе β -полипептидной цепи. Такая форма гемоглобина в дезоксигенированной форме (не связанной с кислородом) плохо растворяется в воде и внутри эритроцитов часто выпадает в осадок. В этом случае эритроциты приобретают форму серпа. Они закупоривают капилляры и мелкие сосуды. В результате нарушается кровоснабжение, что приводит к повреждению различных органов, в особенности почек и костей. Серповидные клетки отличаются большей хрупкостью, чем нормальные. Их срок жизни укорочен. Это служит причиной развития тяжелой анемии, которая называется серповидноклеточной. Заболевание распространено в Центральной Африке. Там частота встречаемости гена, который кодирует синтез измененной β -полипептидной цепи глобина, достигает 40%.

В Средиземноморье распространено другое заболевание – т а л а с с е м и я . При нем в клетках резко ограничена способность синтезировать β -полипептидные цепи глобина. Гораздо реже встречаются заболевания, при которых имеют место сочетанное нарушение аминокислотной последовательности и синтеза полипептидных цепей. Например, в составе глобина может быть четыре одинаковых, но нетипичных цепи.

Нарушения распада гемоглобина. При некоторых заболеваниях происходит нарушение процессов распада гемоглобина. В результате в плазме крови и (или) в моче наблюдаются из-

менения концентрации желчных пигментов. С мочой может выделяться и неразрушенный (интактный) гемоглобин. Клинико-биохимическое доказательство таких изменений лежит в основе дифференциальной диагностики следующих патологических состояний: острого гемолиза; гемолитической анемии; механической закупорки желчевыводящих путей; нарушении функции печени; нарушении образования ферментов (табл. 14.4).

Таблица 14.4. Изменение концентрации продуктов распада гемоглобина при различных патологических состояниях

Виды желтух	Кровь		Моча				Кал
	Билирубин		Билирубин		Стеркобилин	Уробилин	Стеркобилин
	прямой	непрямой	прямой	непрямой			
Норма	±	+	—	—	+	—	+
Гемолитическая желтуха	±	↑↑↑	—	—	↑↑	↑	↑↑
Паренхиматозная желтуха	↑↑↑	↑	+	—	±	↑↑	±
Обтурационная желтуха	↑↑↑	↑	+	—	—	—	—

Примечание. Условные обозначения: «+» – присутствует; «–» – отсутствует; «±» – может присутствовать или отсутствовать; ↑ – увеличение; ↑↑ – концентрация увеличена; ↑↑↑ – концентрация значительно увеличена

Острый гемолиз. Острый гемолиз возникает в тех случаях, когда происходит одномоментное разрушение большого количества эритроцитов. Подобное явление возникает при переливании неогруппной крови или некоторых формах острого отравления. Существует закономерность, согласно которой выход в плазму крови более 2% гемоглобина приводит к выделению гемоглобина почками в мочу. В молекуле гемоглобина полипептидные цепи (субъединицы) связаны между собой нековалентными связями. Попадание таких белков с кровотоком в почки приводит к нарушению функции почечного фильтра. Развивается острая почечная недостаточность – крайне опасное для организма состояние. Первыми субъективными симптомами являются резкие боли в пояснице. Не следует забывать о том, что появление гемоглобина

в моче возникает также в результате кровотечения в самой мочевыделительной системе.

Гемолитическая анемия. Некоторые заболевания сопровождаются постоянным повышенным разрушением эритроцитов и, следовательно, увеличенным количеством распадающегося гемоглобина. Это ведет к повышению образования желчных пигментов. Типичным для таких состояний является увеличение концентрации непрямого билирубина в плазме крови. Печень не в состоянии превратить такое большое количество билирубина в конъюгированную форму (моно- и диглюкурониды), а свободный билирубин не может экскретироваться в кишечник. Вследствие поступления в кишечник большого количества прямого или связанного билирубина для этого состояния характерны интенсивно окрашенный стул, повышенная концентрация уробилиногена и уробилина в моче.

Обтурационная желтуха. Механическая закупорка желчных путей камнем, опухолью или вследствие воспалительного процесса (холангит) создает препятствие для поступления билирубинглюкуронида в кишечник. Поэтому там не образуются дальнейшие продукты распада (уробилиноген, стеркобилин) и стул становится ахоличным (неокрашенным). В крови повышается уровень прямого билирубина. Поскольку прямой билирубин растворим в воде, он может выводиться с мочой. В результате моча приобретает темно-коричневый цвет.

Паренхиматозная желтуха. В случаях тяжелого острого нарушения функциональной способности печени (к примеру, в результате острого гепатита) происходит массивное разрушение печеночных клеток. Вследствие этого нарушается экскреция прямого билирубина в желчные капилляры и он поступает в кровь. Там его концентрация увеличивается. Кроме того, снижается способность гепатоцитов к образованию билирубинглюкуронидов. Поэтому в плазме крови увеличивается также концентрация непрямого билирубина. Как и в случае закупорки желчных путей, развивается желтуха, и билирубин выводится с мочой. Противоположно тому, как это имеет место при обтурационной желтухе, в данном случае стул имеет окраску, а концентрация уробилиногена и уробилина в моче еще более увеличивается. Последнее обстоятельство обусловлено тем, что в норме уробилиноген из кишечника подвергается всасыванию и по системе кровеносных сосудов поступает в печень. При повреждении печени эта функция нарушается и в мочу поступают большие количества уробилиногена.

Ферментативные нарушения. Ферментативные нарушения, связанные с катаболическими превращениями гемоглобина, встречаются гораздо реже. Среди них в первую очередь следует назвать нарушение образования диглюкуронидбилирубина в печени. В результате в крови вырастает концентрация непрямого билирубина и наблюдаются функциональные изменения центральной нервной системы.

Еще одной формой гипербилирубинемии является физиологическая желтуха, наблюдающаяся как временное состояние у новорожденных. Причиной этой гипербилирубинемии является повышенный уровень разрушения эритроцитов и незрелое состояние системы поглощения, конъюгации и секреции билирубина. При этом не только снижена активность фермента, катализирующего связывание билирубина с остатком глюкуроновой кислоты, но и, как полагают, образование самого субстрата для этого фермента – УДФ-глюкуроновой кислоты. Накапливающийся билирубин, находясь в неконъюгированной форме, может преодолевать гематоэнцефалический барьер. В ряде случаев это приводит к гипербилирубинемической токсической энцефалопатии (ядерная желтуха).

Биохимическая диагностика поражений печени. Выраженная клиническая симптоматика заболевания печени появляется при нарушении функции довольно значительной части ее паренхимы, в то время как на основании изменения биохимических показателей крови и мочи можно выявить ранние повреждения гепатоцитов.

Поскольку в печени синтезируются основные белки крови – альбумины и глобулины, на основании определения их соотношения в плазме крови можно судить о белок-синтезирующей функции печени. В норме коэффициент $A/G = 1,7$ (с небольшими отклонениями в ту либо другую сторону). При остром поражении паренхимы печени этот коэффициент снижается за счет уменьшения уровня альбуминов. Это приводит к падению коллоидоосмотического давления плазмы крови, что сопровождается развитием периферических отеков. Поскольку синтез γ -глобулинов при повреждении печени не нарушается, повышается их концентрация относительно альбуминов. Такое состояние называется *диспротеинемией*.

Нарушение белок-синтезирующей функции печени может приводить к уменьшению эвакуации липидов (уменьшение синтеза липопротеинов) и жировой дистрофии печени.

Определение коллоидной устойчивости белков плазмы крови – *тимоловая* и *сулемовая пробы* – позволяет определить характер желтухи: эти пробы положительны при паренхиматозной желтухе и отрицательны при механической желтухе.

О функциональных нарушениях печени свидетельствует *изменение фракционного состава остаточного азота* сыворотки крови (небелковых азотсодержащих соединений). Если увеличение количества остаточного азота происходит за счет аминокислот, то это свидетельствует о нарушении процесса окислительного дезаминирования аминокислот в гепатоцитах, а если за счет мочевины (при нарушении функции печени коэффициент азот мочевины/остаточный азот снижается, норма 0,5), то это свидетельствует о нарушении функции почек.

При заболеваниях паренхимы печени в крови увеличивается активность органоспецифического фермента *фруктозо-1-фосфат альдолазы*. Отмечается также возрастание активности *аланиновой трансаминазы* и в меньшей степени – *аспарагиновой трансаминазы*. Увеличивается активность изофермента *лактатдегидрогеназы* – ЛДГ₅ (часто без общего повышения активности ЛДГ). Снижается активность *холинэстеразы*.

О тяжести поражения гепатоцитов можно судить на основании определения активности в плазме крови определенных ферментов. При незначительном поражении гепатоцитов в плазме крови увеличивается активность *цитоплазматических ферментов* печени: *аспарагиновой трансаминазы*, *аланиновой трансаминазы*, *сорбитолдегидрогеназы*, *γ-глутамил-транспептидазы* (особенно при алкогольной интоксикации). При выраженном повреждении гепатоцитов повышается также активность *митохондриальных ферментов*: *глутаматдегидрогеназы*, *аспарагиновой трансаминазы*.

При механической желтухе в крови определяется возросшая активность *щелочной фосфатазы*, *лейцинаминопептидазы*.

При длительном декомпенсированном поражении печени в крови падает активность *холинэстеразы*, *ЛХАТ* (*лецитин: холестерол-ацилтрансфераза*), содержание факторов свертывающей системы крови и общее содержание белков крови.

ГЛАВА 15

БИОХИМИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

Краткое содержание главы

АТФ для мышечного сокращения поступает из нескольких источников.

1. В начале работы основным источником энергии служит **креатинфосфат**. Он образуется путем перефосфорилирования с АТФ и служит количественно важнейшей формой запасаения энергии в мышцах. В синтезе креатина принимают участие глицин и аргинин (почки), метионин (печень). После завершения синтеза креатин кровью доставляется в мозг, мышцы, сердце. Креатинфосфат спонтанно циклизуется в креатинин и выделяется из организма с мочой. Количество выделяемого человеком креатинина постоянно и зависит от мышечной массы.

2. В течение первой минуты после начала работы для синтеза АТФ используются также реакции **субстратного фосфорилирования** в ходе анаэробного гликолиза. Источником глюкозы для этого процесса служит гликогенолиз.

3. При достаточном кровотоке и обеспечении мышц кислородом основным источником энергии для мышечного сокращения служат реакции **окислительного фосфорилирования**. В качестве основного окисляемого субстрата используются углеводы, жирные кислоты и другие субстраты.

4. В условиях тяжелой физической работы и при некоторых других состояниях синтез АТФ может обеспечиваться **миокиназной реакцией**, при которой две молекулы АДФ превращаются в АТФ и АМФ. АМФ является мощным физиологическим активатором процессов окисления глюкозы и жирных кислот.

Образующаяся в анаэробных условиях **молочная кислота** в период покоя может окисляться в присутствии кислорода или током крови доставляться в печень и участвовать в реакциях **глюконеогенеза**.

Клинико-лабораторное значение. Мышечная ткань играет важную роль в организме не только как ткань, обеспечивающая

движение. Миоциты – важнейшие потребители глюкозы и место ее депонирования. Резистентность миоцитов к инсулину – основа развития диабета типа II. Инфаркты сердечной мышцы частая причина смерти и инвалидности среди людей, повышение тонуса мышечных клеток сосудов – основа гипертонической болезни. Нередки и врожденные нарушения функции этих клеток. Понимание особенностей метаболизма миоцитов – важное условие правильной тактики врача при лечении многих распространенных заболеваний.

Коротко о структуре мышечной ткани. Мышечная ткань у взрослого мужчины составляет более 40% общей массы тела, у детей – 25%, у пожилых – 30%. Масса мышц у женщин того же возраста обычно ниже, чем у мужчин. У спортсменов, которые специализируются в силовых видах спорта, мышечная масса может достигать 50–55%, а у культуристов – 60–70% общей массы тела. Основная функция мышечной ткани – обеспечение процессов движения.

В организме человека существует три типа мышц: *скелетные*, *сердечная* (миокард) и *гладкие*. Они различаются морфологически, биохимически и функционально. Основная функция мышц – сократительная, которая обеспечивается способностью мышечной клетки превращать химическую энергию в механическое движение при постоянном давлении и постоянной температуре.

Функциональной единицей мышечного волокна является миофибрилла. Миофибриллы занимают практически всю цитоплазму мышечного волокна (рис. 15.1), оттесняя ядра на периферию. Каждая миофибрилла построена из большого числа саркомеров, которые стыкуются друг с другом конец в конец.

К Z-линиям (пластинкам) саркомера прикреплены тонкие нити, построенные из F-актина, тропомиозина и тропонина, между ними расположены толстые нити, состоящие из миозина. В процессе сокращения происходит втягивание тонких нитей в промежутки между толстыми.

Химический состав мышечной ткани. В мышечной ткани человека содержится 72–80% воды и 20–28% сухого остатка от массы мышц. Большую часть сухого остатка образуют белки и другие органические соединения.

Белки мышечной ткани можно разделить на три основные группы: саркоплазматические белки, на долю которых прихо-

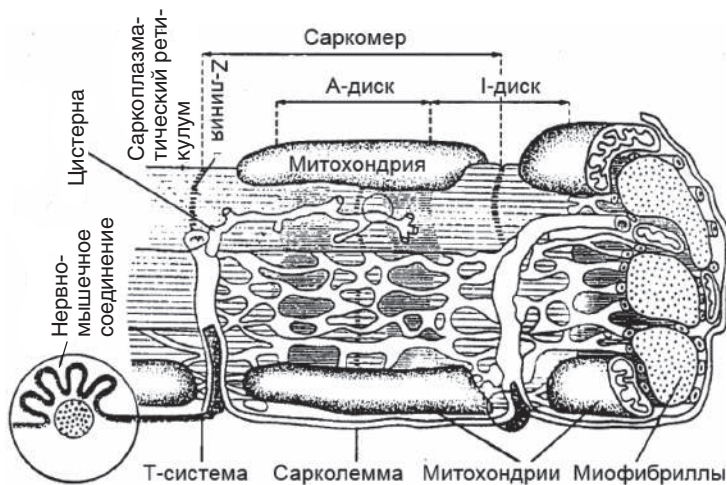


Рис. 15.1. Схема расположения компонентов мышечного волокна

дится около 35%, миофибриллярные белки, составляющие около 45%, и белки стромы, количество которых достигает 20%.

Основная масса саркоплазматических белков представлена ферментами, которые катализируют пути метаболизма глюкозы, аминокислот и липидов. К этой группе также относится миоглобин, депонирующий молекулярный кислород в мышцах. К миофибриллярным белкам относятся сократительные белки: миозин, актин и актомиозин, а также регуляторные белки: тропомиозин, тропонин, α - и β -актинины. Миофибриллярные белки обеспечивают сократительную функцию мышц.

Миозин – основной сократительный белок мышц, составляющий около 55% общего количества мышечных белков. Из него состоят толстые нити миофибрилл. Молекулярная масса этого белка – около 470 000. В молекуле миозина различают длинную фибриллярную часть и глобулярные структуры (головки). Фибриллярная часть молекулы миозина имеет двуспиральную структуру. В составе молекулы выделяют шесть субъединиц: две тяжелые полипептидные цепи (молекулярная масса 200 000) и четыре легкие цепи (молекулярная масса 1500–2700), расположенные в глобулярной части (рис. 15.2). Основной функцией фибриллярной части молекулы миозина является способность образовывать хорошо упорядоченные пучки миозиновых филаментов или толстые протофибриллы. Глобу-

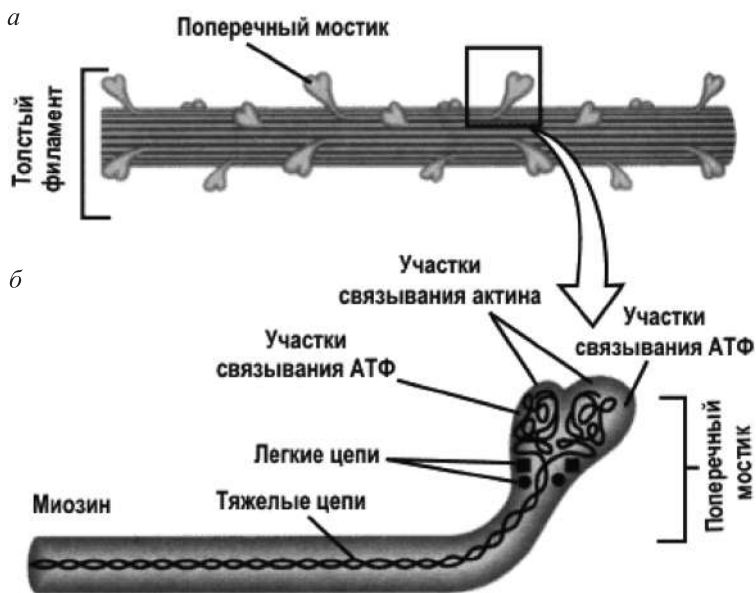


Рис. 15.2. Строение миозина (б) и толстой нити (а)

лярные субъединицы молекул миозина обладают АТФазной активностью и связываются с актиновыми филаментами.

Молекула миозина содержит значительное количество глутаминовой аминокислоты и имеет большой отрицательный заряд, что усиливает связывание свободных ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} . Ионы Ca^{2+} стимулируют АТФ-азную активность миозина и скорость гидролиза АТФ. Химическая энергия, высвобождаемая в ходе данной ферментативной реакции, используется для изменения конформации белка миозина и генерации напряжения между толстыми и тонкими нитями миозина в сокращающейся мышце.

Актин – сократительный белок мышц, который составляет основу тонких нитей. Различают глобулярный G-актин и фибриллярный F-актин. G-актин – белок с молекулярной массой 42 000. На его долю приходится около 25% общей массы мышечного белка. В присутствии Mg^{2+} актин нековалентно полимеризуется с образованием F-актина. Обе формы актина не обладают ферментативной активностью. Каждая молекула

G-актина способна связывать один ион Ca^{2+} , который играет важную роль в инициировании сокращения.

F-актин активирует АТФ-азу миозина, что создает движущую силу процессу сокращения. Актин способен взаимодействовать с миозином, образуя актомиозиновый комплекс. Молярное соотношение актина и миозина в актомиозиновом комплексе – примерно 1 : 1. Нить F-актина может связывать большое число молекул миозина. Существенным свойством актомиозинового комплекса является диссоциация его в присутствии АТФ и Mg^{2+} .

В состав тонких нитей входят также тропомиозин, тропонины, актинины. *Тропомиозин* (Тм) – это структурный белок актиновой нити, представляющий собой вытянутую в виде тяжа молекулу. Две его полипептидные цепи как бы обвивают актиновые нити (рис. 15.3). На концах каждой молекулы тропомиозина расположены белки тропониновой системы, наличие которой характерно только для поперечно-полосатых мышц.

Тропонин (Тн) является регуляторным белком актиновой нити. Он состоит из трех субъединиц – ТнТ, ТнИ и ТнС. Тропонин Т (ТнТ) обеспечивает связывание этих белков с тропомиозином. Тропонин I (ТнИ) блокирует (ингибирует) взаимодействие актина с миозином. Тропонин С (ТнС) – это Ca^{2+} -

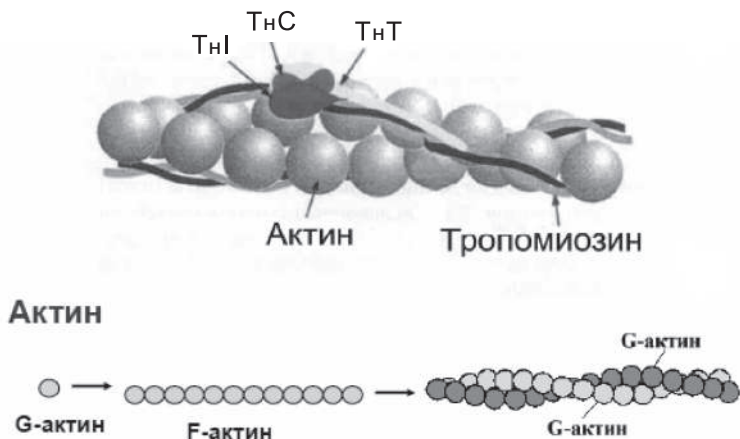


Рис. 15.3. Строение глобулярного G-актина, фибриллярного F-актина и тонкой нити

связывающий белок, структура и функции которого подобны широко распространенному в природе белку кальмодулину. Тропонин С, как и кальмодулин, связывает четыре иона Ca^{2+} на молекулу белка и имеет молекулярную массу 17 000. В присутствии Ca^{2+} изменяется конформация тропонина С, что приводит к изменению положения Тн по отношению к актину, в результате чего открывается центр взаимодействия актина с миофибриллом.

Таким образом, тонкий филамент миофибриллы поперечно-полосатой мышцы состоит из F-актина, тропомиозина и трех тропониновых компонентов – ТnC, ТnI и ТnT (см. рис. 15.3). Кроме этих белков в мышечном сокращении участвует белок *актинин*. Обнаруживается он в зоне Z-линии, к которой крепятся концы F-актиновых молекул тонких нитей миофибрилл.

Белки мышечной стромы в скелетной мышце представлены в основном *коллагеном* и *эластином*, которые входят в состав сарколеммы и Z-линий миофибрилл. Эти белки обладают эластичностью, большой упругостью, что имеет существенное значение для процесса сокращения и расслабления мышцы.

В состав сухого остатка мышц наряду с белками входят другие вещества, среди которых выделяют азотсодержащие, безазотистые и минеральные.

К *азотсодержащим веществам* скелетных мышц относятся АТФ и продукты ее гидролиза – АДФ и АМФ, а также креатинфосфат, креатин, креатинин, карнозин, ансерин, свободные аминокислоты и др. АТФ и креатинфосфат служат источниками энергии для мышечного сокращения. Продукты их распада – АДФ, АМФ и креатин могут оказывать регулирующее действие на обмен веществ в мышцах. Дипептид карнозин участвует в переносе фосфатных групп, стимулирует работу ионных насосов, увеличивает амплитуду мышечного сокращения, способствует восстановлению работоспособности.

Из клеточных мембран мышечной ткани выделен ряд азотсодержащих фосфолипидов: фосфатидилхолин (лецитин), фосфатидилэтаноламин (кефалин), фосфатидилсерин и др. Фосфолипиды могут быть поставщиками холина и жирных кислот. Другие азотсодержащие вещества: мочевины, мочевая кислота, пуриновые азотистые основания (аденин, гуанин), – являются промежуточными или конечными продуктами азотистого обмена и встречаются в мышцах в небольших количествах.

Среди важных *безазотистых соединений* мышечной ткани можно назвать гликоген – основной энергетический субстрат при напряженной работе. Его количество колеблется от 0,3 до 3,0% от общей массы мышц. В мышце содержится ряд промежуточных продуктов обмена углеводов – гексозофосфаты, пировиноградная и молочная кислоты. Из безазотистых липидов в мышечной ткани обнаруживаются триацилглицеролы в виде капелек жира, а также холестерол.

Минеральные вещества составляют 1–1,5% от общей массы мышц.

Молекулярный механизм мышечного сокращения предложен в 50-е гг. XX в. в форме модели скользящих нитей. Данный механизм приводится ниже.

1. В состоянии покоя тропонин-тропомиозиновый комплекс блокирует связывающие миозин участки на актине. Головка миозина готова для проведения сокращения (рис. 15.4).

2. Сокращение запускается нервным импульсом. Высвобождение ацетилхолина способствует формированию потенциала действия на поверхности саркоплазматической мембраны. Потенциал действия распространяется вглубь волокна через Т-системы, которые контактируют с мембранами саркоплазматического ретикулума. Возбуждение способствует выходу ионов Ca^{2+} из пузырьков ретикулума в саркоплазму, и концентрация Ca^{2+} в саркоплазме достигает 10^{-5} М. Ионы Ca^{2+} затем связываются с тропонином С и меняют его конформацию. Эти изменения в силу эффекта кооперации передаются на субъединицу I и блокируют ее. Далее изменения достигают субъединицы Т, которая сдвигает в сторону молекулу тропомиозина, освобождая сразу семь молекул актина.

3. Поворот головки миозина. После установления поперечного мостика энергия, запасенная в головке миозина, высвобождается и головка миозина движется к центру саркомера (рабочий ход). При этом АДФ и фосфат, связанные с головкой миозина, высвобождаются.

4. Расщепление поперечного мостика. Головка миозина отделяется от связывающего участка на молекуле актина, и к ней присоединяется молекула АТФ.

5. Регенерация головки миозина. АТФаза головки миозина катализирует гидролиз АТФ на АДФ и фосфат. Энергия, высвобождаемая в ходе этой реакции, используется для реэнергизации головки миозина (см. п. 1), и, если присутствуют ионы кальция и имеются достаточные резервы АТФ, весь цикл повторяется.

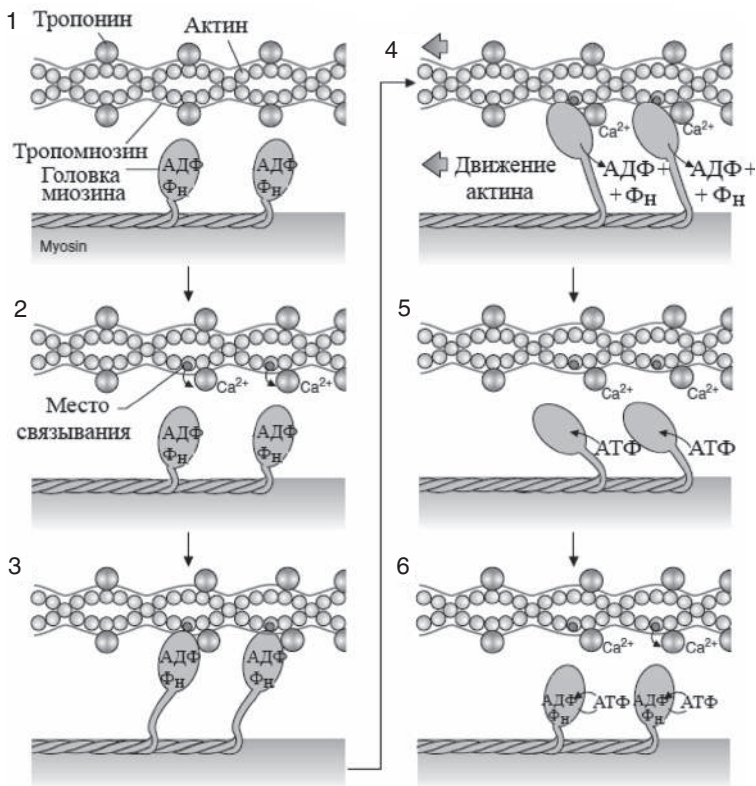


Рис. 15.4. Этапы мышечного сокращения

6. Образование поперечного мостика. Как только связывающие участки на актине освободились, головка миозина связывается с ними, образуя поперечный мостик.

Скелетные мышцы для образования АТФ используют разнообразные субстраты. Эти субстраты приведены ниже.

1. Основным и непосредственным источником АТФ в мышцах является креатинфосфат.

2. АТФ может синтезироваться в анаэробных и аэробных условиях за счет окисления глюкозы, которая образуется при распаде гликогена или поступает из крови.

3. В аэробных условиях миоциты могут также окислять кетонные тела, жирные кислоты и углеводородные радикалы аланина, аспартата, глутамата, валина, лейцина и изолейцина.

4. Источником быстрого восстановления уровня АТФ может быть превращение двух молекул АДФ в одну молекулу АТФ и одну молекулу АМФ, катализируемое аденилаткиназой (миокиназой). Образовавшийся АМФ в ходе последующего дезаминирования превращается в ИМФ (инозинмонофосфат), что сдвигает реакцию в направлении образования АТФ.

АТФ и креатинфосфат. АТФ, являясь универсальным источником энергии, тем не менее не может накапливаться в количествах, достаточных для создания резервов энергии, поскольку АТФ – мощный аллостерический регулятор метаболических процессов. Мышечные клетки решают эту проблему, сохраняя энергию в форме креатинфосфата. По мере необходимости креатинфосфат передает остаток фосфата на АДФ, синтезируя АТФ для мышечного сокращения.

Синтез креатина (рис. 15.5) начинается в почках и заканчивается в печени. В почках аргинин обменивается с глицином гуанидиловой группой с образованием гуанидиноацетата и орнитина, а в печени гуанидиноацетат метилируется с об-

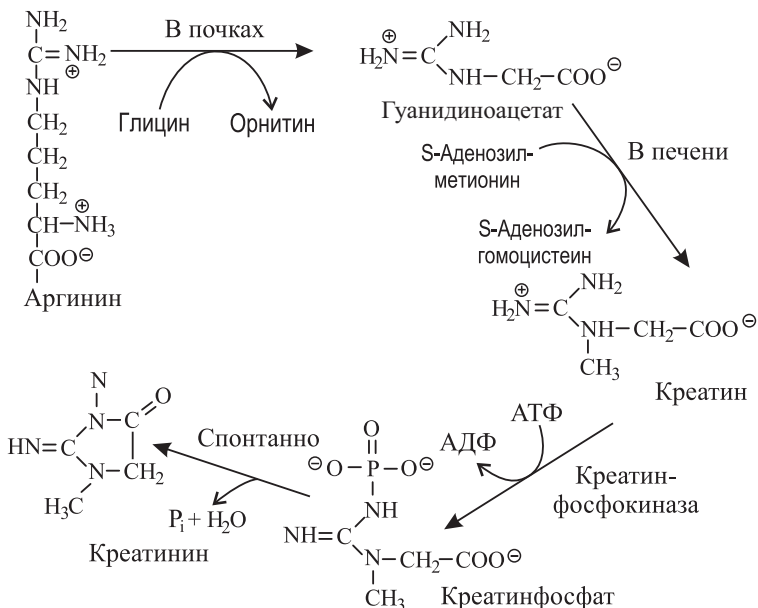


Рис. 15.5. Реакции и локализация синтеза креатина

разованием креатина. Кровотоком креатин переносится к разным органам (скелетная мышца, сердце, мозг), где взаимодействует с АТФ, формируя макроэргическое соединение креатинфосфат.

Эта обратимая реакция катализируется креатинфосфокиназой (КФК). Поэтому клетки могут использовать креатинфосфат для регенерации АТФ. Различают митохондриальную (мхКК) и цитоплазматическую креатинкиназы (КК). МхКК располагается на наружной поверхности внутренней мембраны митохондрий. Креатинкиназа состоит из двух субъединиц М (англ. muscle – мышца) и В (англ. brain – мозг). В разных клетках она представлена разными изоферментами: ММ изоформа характерна для скелетных мышц, ВВ – для мозга, МВ – для сердечной мышцы.

В механизмах переноса энергии при участии креатина принимает участие еще один фермент – транслоказа адениловых нуклеотидов (ТАН). Весь механизм выглядит следующим образом: креатин из саркоплазмы проходит через каналобразующий белок – порин внешней мембраны митохондрий и связывается с активным центром мтКК. ТАН переносит из матрикса к этому ферменту АТФ, и формируется креатинфосфат (см. рис. 15.5). Образовавшаяся молекула АДФ с помощью ТАН переносится обратно в матрикс митохондрий. Креатинфосфат проходит через мембрану митохондрий в саркоплазму миофибрилл, где с помощью цитозольной креатинкиназы может использоваться в синтезе АТФ для мышечного сокращения.

Являясь своеобразным резервуаром богатых энергией фосфатов, креатинфосфат играет особенно важную роль в мышцах во время физических упражнений.

Креатинфосфат – нестабильное соединение. Оно спонтанно циклизуется с образованием креатинина, который выделяется почками с мочой. Количество креатинина, выделяемого каждый день, является постоянным и зависит от массы мышц человека. Это позволяет использовать его содержание в моче для сравнительного определения количества других соединений, выделяемых почками, а также в качестве индикатора экскреторной функции почек.

Анаэробный гликолиз. В мышечной ткани наиболее важным долгосрочным энергетическим резервом является гликоген. В покоящейся ткани содержание гликогена составляет

до 2% от мышечной массы. При распаде под действием фосфоорилазы гликоген легко расщепляется с образованием глюкозо-1-фосфата, который в ходе последующего гликолиза превращается в пируват. При большой потребности в АТФ и недостаточном поступлении кислорода пируват за счет анаэробного гликолиза восстанавливается в молочную кислоту (лактат), которая диффундирует в кровь.

В *аэробных условиях* образующийся в ходе дихотомического расщепления глюкозы пируват поступает в митохондрии, где подвергается окислению. Сопряженные тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование – наиболее эффективный и постоянно действующий путь синтеза АТФ. Однако этот путь реализуется при условии хорошего снабжения мышц кислородом. Наряду с глюкозой, образующейся при расщеплении мышечного гликогена, для образования пирувата, ацетил-КоА используются и другие «энергоносители», присутствующие в крови: глюкоза, аминокислоты, жирные кислоты и кетонные тела.

При значительном увеличении концентрации АДФ в саркоплазме источником быстрого восстановления уровня АТФ является *реакция, катализируемая аденилаткиназой (миокиназой)*. Суть этой реакции была описана выше. Такая ситуация возникает при выраженном мышечном утомлении, когда скорость процессов, принимающих участие в ресинтезе АТФ, не уравнивает скорость расщепления АТФ. С этой точки зрения миокиназную реакцию можно рассматривать как аварийный механизм, обеспечивающий ресинтез АТФ в условиях, когда другие пути ресинтеза уже невозможны. Увеличение концентрации АМФ в саркоплазме в результате миокиназной реакции оказывает активирующее влияние на ферменты гликолиза (в частности, на фосфофруктокиназу) и скорость анаэробного ресинтеза АТФ.

Особенности метаболизма в сердечной мышце. В обычных условиях в качестве источника энергии сердце использует в основном жирные кислоты (60–80%) и в меньшей мере – лактат и глюкозу (20–40%), причем 98% всей АТФ в сердце образуется путем окислительного фосфорилирования, и только 2% поставляется из гликолиза. Лактат поступает в сердце при участии белка – транспортера монокарбоновых кислот, который также используется для транспорта кетонных тел. Однако кетонные тела в кардиомиоцитах используются в ограниченном количестве.

Лактат образуется в эритроцитах и работающих скелетных мышцах. В сердце он окисляется до двуокиси углерода и воды (лактат \rightarrow пируват \rightarrow ацетил-КоА \rightarrow цикл Кребса). Реакции цикла Кори – альтернативный путь использования лактата.

Глюкоза в кардиоцит поступает главным образом при участии ГЛЮТ4 (90%) и в меньшей мере – ГЛЮТ1. Инсулин стимулирует увеличение количества транспортеров ГЛЮТ4 в кардиальной мембране клетки. Увеличение числа ГЛЮТ4 наблюдается также при ишемии.

Жирные кислоты поступают в сердечную мышцу подобно другим типам мышечных клеток. При этом необходимы белки, связывающие жирные кислоты, и карнитинацил трансфераза наружная для переноса их в митохондрии. Этот фермент является лимитирующим звеном, поскольку подвержен регуляторному влиянию малонил-КоА (аллостерический ингибитор). В свою очередь образование малонил-КоА катализирует ацетил-КоА карбоксилаза, а расщепление зависит от активности фермента – малонил-КоА декарбоксилазы.

Ишемические условия. При нарушении кровоснабжения сердце переключается на анаэробный метаболизм, увеличивается уровень свободных жирных кислот в крови. Резкое усиление окисления жирных кислот приводит к накоплению НАДН \cdot H^+ в митохондриях, что в свою очередь тормозит работу аспартат-малатного шунта. В результате увеличивается уровень НАДН \cdot H^+ и образование лактата в цитозоле, уровень ацетил-КоА в митохондриях. Последний ингибирует пируват-дегидрогеназный комплекс и способствует в свою очередь накоплению пирувата и лактата в цитозоле. Повышение концентрации лактата ведет к снижению рН в цитозоле, тем самым изменяется градиент ионов на сарколемме, который чрезвычайно важен для сердечной функции. На его поддержание необходима энергия гидролиза АТФ. Использование АТФ для восстановления градиента уменьшает количество АТФ, доступного для сердечных сокращений. Это осложняет способность сердца восстанавливаться после ишемии.

Особенности строения и функции гладких мышц. В отличие от скелетных мышц гладкие мышцы лишены поперечных полос. Они состоят из длинных, заостренных на концах клеток, которые имеют только одно ядро и содержат как толстые, так и тонкие филаменты, ориентированные вдоль длинной оси клетки. Расположены эти филаменты не столь упорядоченно, как в скелетных мышцах.

доченно, как в клетках скелетной мускулатуры и клетках сердечной мышцы.

Сократительные белки гладкой мускулатуры отличаются от скелетных мышц. Прежде всего это относится к аминокислотной последовательности актина, хотя функциональное значение этих отличий неизвестно. Миозин гладкой мускулатуры, будучи сходен по структуре с миозином скелетных мышц, отличается по двум важным функциональным параметрам. Во-первых, его АТФазная активность почти в 10 раз ниже, чем у миозина скелетных мышц. Во-вторых, миозин имеет особые легкие цепи, фосфорилирование которых необходимо для взаимодействия с актиновыми филаментами и сокращения.

Фосфорилирование и дефосфорилирование легких цепей миозина гладких мышц производят специфические ферменты. Миозиновая АТФаза гладких мышц кальций-зависима, так как фосфорилирующий фермент, киназа легких цепей миозина, регулируется концентрацией ионов кальция. Гладкие мышцы, подобно скелетным мышцам, тоже сокращаются в ответ на повышение концентрации ионов кальция, однако пусковые механизмы их сокращения различны. В случае гладких мышц это не волевые команды, а импульсы, пришедшие по вегетативным нервам, или гормональные сигналы.

Гладкие мышцы специально приспособлены для того, чтобы поддерживать длительное напряжение, затрачивая на это в 5–10 раз меньше АТФ, чем понадобилось бы для выполнения той же задачи скелетной мышце. Медленное образование и разрушение актин-миозиновых сшивок не позволяет гладкой мышце быстро сокращаться, но зато дает ей возможность сохранять постоянный мышечный тонус.

В мышечном волокне среди актиновых нитей разбросаны миозиновые нити. Их диаметр более чем в 2 раза превышает диаметр актиновых нитей. На электронных микрофотографиях актиновых нитей обычно обнаруживают в 5–10 раз больше, чем миозиновых. Актиновые и миозиновые нити, содержащиеся в гладких мышцах, имеют химические характеристики, подобные актиновым и миозиновым нитям скелетных мышц. Однако в гладких мышцах нет тропонинового комплекса, необходимого для запуска сокращения скелетной мышцы.

Благодаря особым поперечным мостикам между миозиновыми нитями гладкомышечные клетки сокращаются с укорочением до 80% (для скелетной мышцы эта величина составля-

ет менее 30%). Скорость присоединения их к актину и открепления от него значительно ниже, чем в скелетных мышцах. Частота таких циклов составляет 1/10–1/300 от величины этого показателя в скелетной мышце. Однако сила сокращения гладких мышц значительно выше. Возможной причиной медленной смены циклов присоединения и отделения от актина является гораздо меньшая, по сравнению со скелетной мышцей, АТФазная активность головок поперечных мостиков. В связи с этим скорость разрушения АТФ, источника энергии для движения головок поперечных мостиков, значительно снижена, соответственно, замедлена скорость циклов. С медленной скоростью прикрепления к актину связывают и медленное начало сокращения.

При сокращении гладкой мышцы требуется лишь 1/10–1/300 энергии, потребляемой скелетной мышцей для поддержания той же степени напряжения. Такое малое потребление энергии гладкой мышцей чрезвычайно важно для экономии общей энергии организма, поскольку гладкие мышцы кишечника, мочевого пузыря, желчного пузыря и других практически постоянно находятся в состоянии тонического сокращения.

Как и в скелетной мышце, пусковым стимулом для сокращения большинства гладких мышц является увеличение количества внутриклеточных ионов кальция. В разных типах гладких мышц это увеличение может быть вызвано нервной стимуляцией, гормональной стимуляцией, растяжением волокна или даже изменением химического состава окружающей волокно среды. Отсутствие в гладких мышцах тропонина (регуляторного белка, который активируется кальцием) компенсируется другим регуляторным белком – кальмодулином. Активация и сокращение проходят в следующей последовательности.

1. Ионы кальция связываются с кальмодулином.
2. Комплекс кальмодулин-кальций соединяется с фосфорилирующим ферментом миозинкиназой и активирует ее.
3. Одна из легких цепочек каждой головки миозина, называемая регуляторной цепочкой, фосфорилируется под действием миозинкиназы, и головка приобретает способность к повторному связыванию с актиновой нитью и осуществлению всего циклического процесса, лежащего в основе сокращения, как и в скелетной мышце.

Прекращение сокращения наступает, когда концентрация ионов кальция падает ниже критического уровня, что приводит к активированию фермента – миозинфосфатазы. Миозин-

фосфатаза локализуется в жидкостях гладкомышечной клетки и отщепляет фосфат от регуляторной легкой цепочки. Поэтому время, необходимое для расслабления мышцы, в большой степени определяется количеством активной миозинфосфатазы в клетке.

Заболевания мышц. К основным заболеваниям мышц относятся мышечные дистрофии, миастения гравис и сердечные миопатии.

Мышечные дистрофии. Миозин, актин, тропомиозин и тропонин вместе составляют три четверти всех белков, сосредоточенных в мышечных волокнах. Оставшуюся долю составляют более 20 других белков. Они осуществляют такие функции, как прикрепление и организация нитей в саркомере, связывание саркомера с плазматической мембраной и внеклеточным матриксом. Мутации генов, которые кодируют эти белки, приводят к различным мышечным заболеваниям.

Наиболее часто мышечные дистрофии развиваются вследствие мутации гена, кодирующего белок – дистрофин.

Ген дистрофина огромен по размеру. Он содержит 79 экзонов, состоящих из 2,3 млн пар нуклеотидов. То есть один этот ген занимает 0,1% всего человеческого генома ($3 \cdot 10^9$ пар нуклеотидов) и почти половину генома *E.coli*.

Вероятно, такие большие размеры делают этот ген чрезвычайно подверженным делециям. Если мутация такого рода приводит к изменению рамки считывания генома, дистрофин не будет синтезироваться. В таком случае развивается очень тяжелое заболевание, известное под названием «мышечная дистрофия Дюшена». Если делеция сводится только к удалению некоторых экзонов, образуется укороченный белок и развивается сравнительно мягкая форма заболевания, известного как «мышечная дистрофия Беккера». Ген дистрофина локализован на X хромосоме, поэтому эти два заболевания поражают мужчин, унаследовавших его обычным X-сцепленным путем.

Миастения гравис. Это аутоиммунное заболевание возникает вследствие поражения нервномышечных синапсов. У больных отмечается сниженный потенциал концевой пластинки. Повторная стимуляция приводит к тому, что этот потенциал становится слишком малым для запуска последующих событий, связанных с проведением в миоциты нервного импульса. В результате мышечные волокна прекращают сокращаться. Назначение ингибитора ацетилхолинэстеразы по-

степенно может восстановить сократимость за счет того, что больше ацетилхолина будет оставаться в синапсе.

У больных миастенией гравис количество рецепторов к ацетилхолину в нервно-мышечных синапсах составляет только 20% от нормального. Получены доказательства того, что потеря рецепторов обусловлена выработкой в организме аутоиммунных антител к ацетилхолиновым рецепторам. Однако до настоящего времени неизвестны причины, по которым у человека начинают вырабатываться эти антитела.

Сердечные миопатии. Сердечная мышца, подобно скелетным мышцам, содержит в своем составе вдобавок к актину и миозину множество других белков. Мутации их генов могут приводить к ослаблению стенки сердечной мышцы и благодаря этому расширению сердца. Тяжесть состояния зависит от конкретной мутации (к настоящему времени их известно более 100). Некоторые мутации достаточно опасны, поскольку они могут привести к внезапному развитию тяжелой сердечной недостаточности у молодых людей, которые кажутся здоровыми и активными.

Краткое содержание главы

Различают трофическую (кровь, лимфа) и опорно-трофическую соединительную ткань, соединительную ткань со специальными свойствами (жировая), а также опорную или скелетную соединительную ткань (хрящевая, костная).

Межклеточный матрикс – компонент соединительной ткани. Основные компоненты внеклеточного матрикса включают волокнистые структурные белки (**коллагены**), **протеогликаны**, содержащие длинные цепи гликозаминогликанов, связанных с коровыми (основными) белками, и **адгезивные белки**, обеспечивающие связывание молекул матрикса между собой и с клетками. Коллагены, **эластин** и **ламинин** – основные структурные белки соединительной ткани.

Протеогликаны, **мукопротеины**, **гликопротеины** – классы многоликого семейства **белково-углеводных комплексов** (БУК). Углеводные части белково-углеводных комплексов разрушаются гликозидазами лизосом или цитозоля путем поочередного отщепления моносахаридов. Нарушение распада БУК проявляется в форме болезней, среди которых хорошо изучены мукополисахаридозы.

Адгезивные белки (**фибронектин**, ламинин) внеклеточные гликопротеины, их отдельные домены способны связываться с различными молекулами внеклеточного матрикса и со специфичными рецепторами на поверхности клеток – **интегринами**. Адгезивные белки обеспечивают тесную связь между событиями, протекающими в межклеточном матриксе, и внутриклеточными процессами.

Перемещение клеток по межклеточному матриксу требует постоянного ремоделирования различных компонентов матрикса. Это достигается функционированием множества **матричных металлопротеиназ** (ММП) и их регуляторов.

В составе хрящевой и костной ткани находится значительное количество специфических белков, обеспечивающих

их функции. Важное значение имеют **белки, способные связывать кальций** и участвовать в минерализации. Основу минерального компонента костной ткани составляют **фосфорнокислые соли кальция**, которые представлены **остеоапатитом**, состоящим из кристаллов **карбонатного апатита, фторапатита, гидроксиапатита** и др.

Зубы – сложный орган, состоящий из **эмали, дентина, цемента и пульпы**. Эмаль происходит из эпителиальной ткани. В ее формировании принимают участие специфические белки **энамелины, амелогенины** и др. Дентин и цемент происходят из соединительной ткани.

Ротовая жидкость – это суммарный секрет слюнных желез, детрит полости рта, микрофлора, содержимое десневых карманов, **десневая жидкость**, продукты жизнедеятельности микроорганизмов, локализованных в мягком зубном налете, продукты распада мигрирующих в слюну лейкоцитов, остатки пищи и т.д. Она оказывает значительное влияние на зубы.

Кариес – одно из самых распространенных заболеваний. Развитие его во многом зависит от правильного ухода за полостью рта.

Клинико-лабораторное значение. Соединительная ткань – важнейший компонент в строении органов. Перемещение субстратов к клеткам и выведение продуктов метаболизма проходит через базальные мембраны и межклеточный матрикс, и их состав оказывает существенное влияние на эти важные для клеток паренхимы функции. Способность к быстрой регенерации – важнейшее условие заживления ран и восстановления костей после травматических переломов, а чрезмерное развитие соединительной ткани – причина развития циррозов органов. Изменения соотношения минерализации и деминерализации – основа остеопороза. Довольно часто встречаются врожденные нарушения метаболизма клеток соединительной ткани. Функции органов ротовой полости во многом зависят от метаболических процессов клеток соединительной ткани.

Молекулярные компоненты соединительной ткани. Большинство живых организмов состоят из четырех типов тканей: нервной, эпителиальной, мышечной и соединительной. Отличительной особенностью соединительной ткани является наличие внеклеточного матрикса (ВНМ), который со-

стоит из молекул, секретируемых клетками соединительной и других тканей. Он выполняет важные функции по объединению клеток как путем непосредственной связи между ними, так и путем обеспечения переноса сигнала от одной клетки к другой. Клетки соединительной ткани можно условно разделить на постоянные, несущие основную функцию по образованию внеклеточного матрикса (семейство фибробластов, макрофаги-гистиоциты, тканевые базофилы, адипоциты, мезенхимные клетки, перicytes), и транзиторные клетки, которые мигрируют в соединительную ткань из крови в ответ на специфический стимул. К ним относятся лимфоциты, плазматические клетки, эозинофилы, нейтрофилы, базофилы и др.

В состав межклеточного матрикса входят три основных класса белковых молекул:

- протеогликаны (ПГ) – представлены белками, соединенными с полисахаридами – гликозаминогликанами (ГАГ);
- фибриллярные белки двух функциональных типов: преимущественно структурные (семейства коллагена и эластина) и преимущественно адгезивные (семейства фибронектина или ламинина);
- белки внеклеточного матрикса – часть более широкого класса белков – белково-углеводных комплексов. БУК классифицируются по двум критериям: количеству (доле) углеводов в комплексе; качественному моносахаридному составу. Различают протеогликаны (свыше 95% углеводов), мукопротеины (10–50% углеводов) и гликопротеины (менее 10% углеводов).

В протеогликанах (ПГ) – с молекулами белка ковалентно связаны гликозаминогликаны. Для большинства ГАГ характерны следующие признаки:

- имеют тенденцию состоять из разных дисахаридных единиц, образующих более сложные структуры (табл. 16.1);
- один из двух повторяющихся остатков в составе дисахарида – это аминсахар (N-ацетилглюкозамин или галактозамин), который у большинства ГАГ сульфатирован, второй сахар, как правило, – уроновая кислота (глюкуроновая или идуроновая); имеют короткие олигосахаридные цепи;
- сахара ковалентно связаны с белками в форме протеогликанов, синтезируются внутриклеточно и покидают клетку путем экзоцитоза.

Таблица 16.1. Классификация ГАГ по строению остатков моносахаридов, типу связи между ними, числу и локализации сульфатных групп

	<p>Гиалуроновая кислота: D-глюкуронат + Нацетил-глюкозамин, связь $\beta(1, 3)$</p>
	<p>Дерматансульфат: L-идуруновая кислота (может быть сульфатирована) + N-ацетил-галактозамин-4-сульфат, связь $\alpha(1, 3)$</p>
	<p>Хондроитин- 4- и 6-сульфаты: D-глюкуроновая кислота и N-ацетилгалактозамин-4- или 6-сульфат, связь $\beta(1, 3)$</p>
	<p>Гепарин и гепарансульфат: Идуронат -2-сульфат (D-глюкуро-нат-2-сульфат) и N-сульфо-D-глюкозамин-6-сульфат, связь $\alpha(1, 4)$ (гепараны менее сульфатированы, чем гепарины)</p>
	<p>Кератансульфаты: Галактоза + N-ацетилглюкозамин-6-сульфат, связь $\beta(1, 4)$</p>

Полисахаридные цепи ГАГ – весьма подвижные структуры. В отличие от белков они не могут образовывать компактные глобулы. Благодаря высокой гидрофильности и свободе выбора конформации ГАГ занимают большие объемы, образуя гели при довольно низких концентрациях самого полисахарида. Это свойство ГАГ создает тургор тканей, позволяющий противостоять компрессионным силам. Например, суставной хрящ может противостоять давлению в сотни атмосфер.

Обычно все ГАГ находятся в тканях в составе протеогликанов, где они соединены ковалентно с белками (рис. 16.1).

Синтез протеогликанов. Белковая часть протеогликанов синтезируется на шероховатом эндоплазматическом ретикулу-ме, поступает в полость этой органеллы, где начинаются про-цессы гликозилирования с последующим завершением их в комплексе Гольджи. Этот процесс катализируют гликозил-трансферазы. После присоединения моносахаридов происхо-дит сульфатирование с помощью 3-фосфоаденозин-5-фосфо-сульфата (ФАФС). Эпимеразы катализируют преобразование глюконовой кислоты в идуроновую.

После синтеза протеогликанов выделяются из клетки. Они могут формировать большие агрегаты и взаимодействовать с адгезивным белком – фибронектином, который в свою оче-редь связан с белками мембран – интегринами. Поперечно сшитые волокна коллагена также связываются с этим ком-плексом, формируя внеклеточный матрикс.

Распад протеогликанов. Лизосомальные ферменты разру-шают протеогликанов, которые попали в клетку путем эндоци-тоза. Затем лизосомы сливаются с эндоцитозными пузырька-ми. После этого лизосомальные протеазы гидролизуют белко-вую часть, а углеводная половина разрушается при участии лизосомальных гликозидаз.

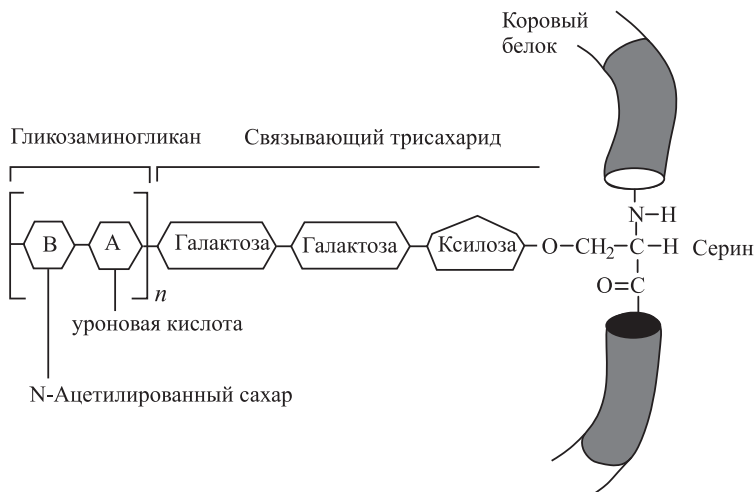


Рис. 16.1. Схема строения протеогликанов

Следствием дефицита лизосомальных гликозидаз является накопление полностью неразрушенных компонентов ПГ. Эти «остаточные тельца» могут вызвать заметное увеличение органа с ухудшением его функции, деформацию скелета, нарушение развития умственных способностей. В настоящее время описано, по меньшей мере, 14 таких заболеваний под названием «мукополисахаридозы».

Функции ПГ в организме. Являясь структурными компонентами внеклеточного матрикса, (1) они специфически взаимодействуют с коллагеном, эластином, фибронектином, ламинином и другими белками. (2) Как полианионы они связывают поликатионы и катионы. (3) ПГ обеспечивают тургор различных тканей, (4) влияют на клеточную миграцию, (5) противостоят компрессионным силам в хрящевой ткани, (6) поддерживают прозрачность роговицы, (7) выполняют структурную роль в склере, (8) действуют как антикоагулянты (9). Участвуя в формировании рецепторов на поверхности клеток, они обеспечивают взаимодействие между клетками. (10) ПГ регулируют фильтрацию в клубочках почек, (11) входят в состав синаптических и других везикул клеток.

Гликопротеины и мукопротеины – это белково-углеводные комплексы с ковалентно присоединенными углеводными цепями. Различия между ними касаются лишь количества углеводов в комплексе. Если у гликопротеинов углеводы составляют до 10% , то у мукопротеинов – до 50% от массы молекулы.

Функции глико- и мукопротеинов:

- являются структурными компонентами мембраны клетки, коллагеновых, эластиновых волокон, костного матрикса;
- защитные свойства: муцины выполняют роль смазочного материала, обуславливая уменьшение трения соприкасающихся поверхностей;
- транспортные молекулы для витаминов, липидов, микроэлементов;
- иммунная защита: иммуноглобулины, антигены гистосовместимости, комплемент, интерферон – вещества гликопротеиновой природы;
- гормоны – гликопротеины: тиреотропин, хорионический гонадотропин;
- ферменты глико- и мукопротеиновой природы: гидролазы, нуклеазы, гликозидазы, факторы свертывания;

- выполняют роль соединительного элемента в межклеточном взаимодействии;

- лектины.

Строение и роль гликопротеинов межклеточного матрикса. Фибриллярные белки. Коллагены – семейство фибриллярных белков, синтезируемых многими типами клеток, но главным образом семейством фибробластов, мышечными клетками и эпителиоцитами. Это хорошо охарактеризованные фибриллярные белки, найденные у всех многоклеточных живых организмов. Они составляет 25% всех белков организма человека. Все коллагены (изоколлагены) функционально можно разделить на несколько групп (табл. 16.2).

Таблица 16.2. Разделение коллагенов по функциям

Фибриллярные коллагены	I, II, III, V, XI, XXIV, XXVII
Фибрилл-ассоциированные коллагены (FACIT)	IX, XII, XIV, XVI, XIX, XX, XXI, XXII
Коллагены, формирующие филаменты-бусины	VI
Сетьобразующие коллагены	IV, VIII, X
Коллаген, формирующий якорные фибриллы	VII
Трансмембранные коллагены	XIII, XVII, XXIII, XXV/CLAC-P
Эндостатин-формирующие коллагены	XV, XVIII
Другие коллагены	XXVIII

Общие принципы организации молекул коллагенов хорошо прослеживаются в наиболее хорошо изученном коллагене кожи (тип I коллагена). На уровне первичной структуры каждую третью позицию в его полипептидной цепи занимает глицин, количество иминокислот (пролина и гидроксипролина) превышает 20%. Наиболее популярной последовательностью аминокислотных остатков является трипептид ГЛИ-X-Y, где положение X и Y могут занимать любые аминокислоты. Чаще встречаются ПРО и гидроксипРО. Кроме того, в этих местах может находиться ЛИЗ или гидроксилиЗ. Водородные связи, характерные для α спиралей, в коллагене не образуются.

Полипептидная цепь молекулы представляет собой левозакрученную спираль с тремя аминокислотными остатками на каждый шаг спирали. Три полипептидные цепи сворачива-

ются в правозавернутую тройную суперспираль, образуя палочковидные молекулы диаметром 1,4 нм и длиной 300 нм. Размеры радикала глицина, самой популярной аминокислоты коллагена, способствуют образованию тройной спирали. Зрелый коллаген характеризуется низким содержанием серусодержащих и ароматических аминокислот.

Индивидуальные цепи коллагена синтезируются (табл. 16.3) на рибосомах и переходят в пространство эндоплазматической сети после удаления сигнального пептида в форме предшественников про- α -цепей, содержащих дополнительные пептиды на N- и C-концах.

Таблица 16.3. Порядок и локализация процессинга проколлагена

Внутриклеточно	Внеклеточно
<ol style="list-style-type: none"> 1. Удаление сигнального пептида 2. Гидроксилирование ПРО и ЛИЗ 3. Гликозилирование гидроксиЛИЗ 4. Образование внутри и межцепочечных S-S связей в дополнительных пептидах 5. Образование тройной спирали 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Удаление дополнительных пептидов 2. Образование коллагеновых волокон с поперечной исчерченностью 3. Окислительное дезаминирование ϵ-аминогрупп ЛИЗ, гидроксиЛИЗ с образованием альдегидных групп 4. Образование поперечных связей в коллагеновых волокнах

Гидроксилирование катализируется специфическими пролин- и лизил-гидроксилазами, кофакторами которых являются аскорбиновая кислота, ионы Fe^{2+} , O_2 и α -кетоглутаровая кислота. Гликозилирование гидроксилизина обеспечивается трансгликозидазами, субстратами которых являются УДФ-глюкоза и УДФ-галактоза.

Дополнительные пептиды богаты цистеином. Они участвуют во внутриклеточном формировании тройных спиралей, тормозят образование фибрилл. Дело в том, что образование фибрилл внутри клетки могло бы быть катастрофой для нее. После секреции фибриллярные проколлагеновые молекулы теряют дополнительные пептиды, образуя молекулы коллагена, которые объединяются в волокна. Удаление дополнительных пептидов катализируют внеклеточные ферменты: проколлаген аминопептидаза и проколлагенкарбоксипептидаза.

Процесс образования волокон основан на том, что растворимость коллагеновых молекул почти в 1000 раз меньше, чем молекул проколлагена. Это свойство обеспечивает их тенден-

цию к самоаггрегации. Фибриллы образуются вблизи клетки, на ее поверхности или, часто, в секретируемых пузырьках, сливающихся с мембраной клетки. Под электронным микроскопом коллагеновые волокна имеют поперечную исчерченность с периодом 67 нм. Причиной такой исчерченности является способ укладки молекул коллагена во время фибрилlogenеза. Каждая соседняя молекула в фибрилле смещена на 1/4 своей длины относительно соседней.

Образование поперечных ковалентных связей обеспечивает одно из важных свойств коллагеновых волокон – их механическую прочность. В качестве примера ферментативного обеспечения образования поперечных связей можно привести работу лизилоксидазы. Она катализирует окислительное дезаминирование ϵ -аминогруппы лизина в составе молекул коллагена. Коферментом этого фермента является пиридоксальфосфат. В проявлении активности его важное место занимают ионы меди. Образующиеся в результате реакции альдегидные группы соседних молекул коллагена соединяются между собой, обеспечивая образование ковалентных связей между молекулами, фибриллами, волокнами.

Описаны многочисленные нарушения (врожденные и связанные с влиянием внешних условий) процессинга коллагена (табл. 16.4).

Таблица 16.4. Заболевания, вызванные нарушением процессинга коллагена

Болезнь	Дефект обмена	Клинические проявления
1	2	3
Несовершенный остеогенез	Голубые склеры, повышенная ломкость и деформация костей	Дефекты генов, кодирующих $\alpha_1(I)$ -цепи. Снижение количества коллагена типа I
Синдром Элерс – Данлоса (тип IV)	Самопроизвольные разрывы артерий, кишечника, матки, легко повреждаемая кожа	Дефекты генов, кодирующих $\alpha_1(III)$ -цепи, нарушение структуры конца цепи коллагена
Синдром Элерс – Данлоса (тип V)	Гиперподвижность суставов	Уменьшение поперечных сшивок
Синдром Элерс – Данлоса (тип VI)	Нарушение роста, ломкость капилляров	Недостаточность лизилгидроксилазы. Уменьшение количества гидроксипролина

1	2	3
Синдром Элерс – Данлоса (тип VII)	Гиперподвижность (разболтанность) суставов, плохое заживление ран	Недостаточность аминопроколлаген пептидазы
Болезнь Менке	Вьющиеся волосы, задержка роста	Недостаточность лизилоксидазы и меди
Синдром Марфана	Аневризмы аорты, деформации скелета	Уменьшение поперечных сшивок
Цинга	Повышена ломкость капилляров, плохое заживление ран	Снижение количества гидроксипролина

Способность соединительнотканых структур восстанавливать форму после механического воздействия связана с сетью эластических волокон, основой которых являются белки семейства эластина.

Эластин – гидрофильный белок, содержащий в своем составе около 750 аминокислот. Подобно коллагену, в его молекулу входит необычно много пролина и глицина. Однако эластин не гликозилирован и содержит мало гидроксипролина и гидроксизина (табл. 16.5).

Таблица 16.5. Отличительные признаки коллагена и эластина

Коллаген	Эластин
Несколько разных генетических типов	Один генетический тип
Тройная спираль	Не образует тройной спирали
(Гли-X-Y) _n повторы в структуре	Нет повторов (Гли-X-Y)
Имеется гидроксипролин	Нет гидроксипролина
Содержит углеводы	Нет углеводов
Внутримолекулярные альдольные поперечные связи	Поперечные связи в форме десмозина
Во время синтеза образуются дополнительные пептиды	Дополнительных пептидов не образуется
Переваривается коллагеназой	Переваривается эластазой

Молекула эластина состоит из двух типов фрагментов, чередующихся вдоль цепи: 1) гидрофобные сегменты, которые ответственны за эластические свойства молекулы; 2) сегмен-

ты, богатые аланином и лизином. Последние сегменты образуют α -спираль и участвуют в формировании поперечных связей между молекулами. По сути дела, в образовании поперечных связей участвуют десмозин (рис. 16.2) или изодесмозин – продукты межмолекулярной конденсации лизинов.

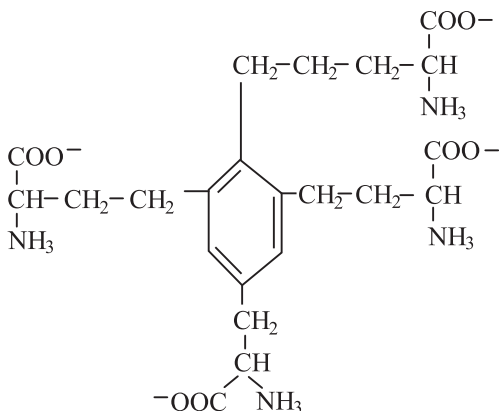


Рис. 16.2. Структура десмозина

В образовании эластических волокон принимают участие большое число белков, объединенных в семейство эластина. Эластиновый остов волокна покрыт слоем микрофибрилл, имеющих диаметр 10 нм. Такие микрофибриллы встречаются в матриксе и без эластина. Они состоят из разных гликопротеинов, выполняющих важную роль в интеграции эластиновых волокон.

Другие белки внеклеточного матрикса. Внеклеточный матрикс содержит большое число адгезивных неколлагеновых белков, структурной особенностью которых является наличие доменов, способных специфически связываться с другими макромолекулами и рецепторами на поверхности клетки. Непременным компонентом доменов, обеспечивающих взаимодействие с клетками, является последовательность аминокислот арг-гли-асп (RGD).

Фибронектин (рис. 16.3) является высокомолекулярным гликопротеином. Он представляет собой димер двух больших субъединиц, соединенных парой дисульфидных связей на С-концах. Домены содержат небольшие модули, каждый из которых многократно повторяется и обычно кодируется от-

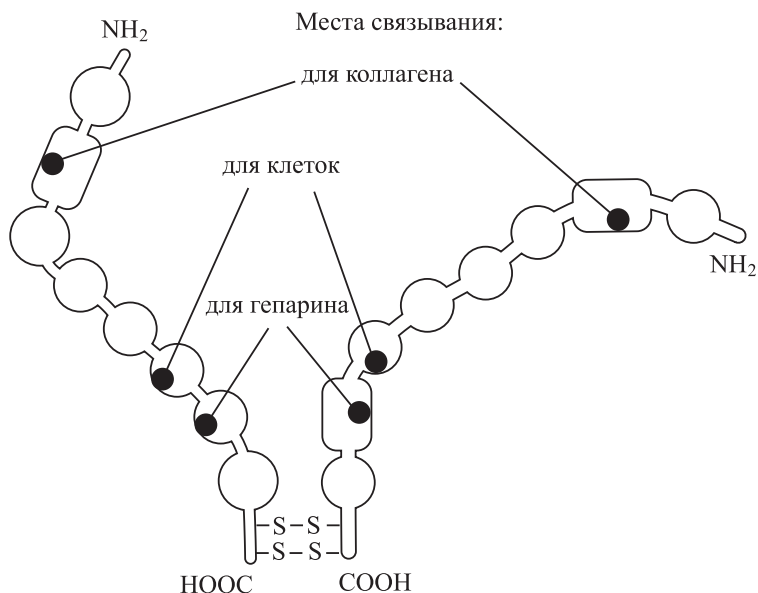


Рис. 16.3. Схематическое изображение молекулы фибронектина:

две полипептидные цепи сходны, но не идентичны. В области С-концевых отделов они соединены дисульфидными связями. В каждой цепи имеется несколько глобулярных доменов, соединенных гибкими полипептидными сегментами. Эти домены могут специфически связываться с другими молекулами или клетками

дельными экзонами. Главный модуль фибронектина, включающий 90 аминокислот, повторяется 15 раз в каждой субъединице.

Фибронектин ускоряет клеточную миграцию, обеспечивая взаимодействие клеток с матриксом. Об этом свидетельствуют опыты, в ходе которых антитела против фибронектина, пептидов с RGD аминокислотными последовательностями и антитела против интегринов, рецепторов фибронектина вызывали торможение миграции мезодермальных клеток в процессе гастрюляции амфибий.

Более распространенным, чем фибронектин (особенно в матриксе эмбриональной ткани) является *тенасцин*. Тенасцин представляет собой высокомолекулярный гликопротеиновый комплекс, состоящий из 6 идентичных пептидных цепей, связанных между собой дисульфидными связями в форме морской звезды. Как и у фибронектина, каждая полипептидная цепь его состоит из нескольких коротких аминокислотных

последовательностей, повторяющихся несколько раз, и имеет несколько разных функционально доменов. Одни из этих доменов связываются с трансмембранным протеогликаном – синдеканом, а другие связывают фибронектин.

В отличие от фибронектина тенасцин может и ускорять, и ингибировать клеточную адгезию в зависимости от типа клеток. Адгезивная и антиадгезивные функции опосредуются разными доменами. Получены доказательства, что антиадгезивное взаимодействие играет важную роль в обеспечении перемещения клеток.

Относительно частым врожденным заболеванием, сопровождающимся поражением соединительной ткани, является синдром Марфана. При нем поражаются глаза (эктопия хрусталика), скелет (у многих больных развиваются длинные пальцы, арахнодактилия, разболтаны суставы) и сердечно-сосудистая система (слабость средней оболочки аорты, ведущая к расширению нисходящей аорты). В большинстве случаев заболевание развивается вследствие мутации гена (хромосома 15), кодирующего белок фибриллин.

Фибриллин – это большой гликопротеин (ММ ~ 350 000), который является структурным компонентом микрофибрилл толщиной 10–20 нм, найденных в ряде тканей. Они обеспечивают образование эластиновых волокон. Фибриллин найден в хрусталике, периосте, он связан с эластиновыми волокнами в аорте. Такое расположение позволяет объяснить те нарушения, которые обнаруживаются при синдроме Марфана. Другой ген фибриллина обнаружен на хромосоме 5. Правда, дефекты в этом участке обнаружены у лиц с врожденной контрактурной арахнодактилией, но не с синдромом Марфана.

Внеклеточный матрикс может образовывать слоистые структуры – *базальные мембраны*. В их создании принимают участие несколько типов специализированных молекул внеклеточного матрикса: коллаген IV типа, гепарансульфат, ламинин и энтактин.

Белки внеклеточного матрикса входят в состав базальной мембраны. Базальная мембрана – это тонкая пластинка толщиной 40–120 нм. Она расположена под слоем эпителиальных клеток и отделяет слой этих клеток от подлежащей соединительной ткани или окружает отдельные мышечные, жировые и швановские клетки, или разделяет два слоя клеток (почки, легкие).

Базальная мембрана (почки) действует как молекулярный фильтр при образовании мочи. Для выполнения этой функции важным является гепарансульфат. Его удаление резко нарушает фильтрующие функции базальной мембраны. Кроме того, базальная мембрана выполняет функцию селективного барьера для движущихся клеток. Она отделяет эпителий от прямого контакта с фибробластами, но не может остановить макрофаги и лимфоциты, проходящие через нее.

Базальная мембрана играет важную роль в регенерации при заживлении ран. При повреждении мышцы, нервов или эпителия базальная мембрана создает «подмости» для мигрирующих клеток, изменяя архитектуру поврежденной ткани. В некоторых случаях (кожа, рога) изменяется химический состав базальной мембраны, например добавлением фибронектина, который ускоряет миграцию клеток для заживления.

В базальной мембране различают (электронная микроскопия) два слоя: электропропускающий слой (*lamina lucida*), прилежащий к базальным участкам мембран эпителиальных клеток, и электронноплотный слой (*lamina densa*), расположенный ниже предыдущего. В отдельных случаях можно выделить и третий слой, содержащий коллагеновые волокна подлежащей соединительной ткани.

В базальной мембране кожи коллаген IV типа образует специальные адгезивные волокна. При тяжелом кожном заболевании, получившем название «пузырчатка», эти волокна отсутствуют и эпидермис легко отделяется от соединительной ткани.

Помимо коллагена IV типа из всех типов базальных мембран выделены гепарансульфатный протеогликан – перлекан и гликопротеины – ламинин и энтактин.

Ламинин – один из первых белков внеклеточного матрикса у развивающегося эмбриона. Молекулярная масса ламинина около 8 500 000 Да. Он состоит из трех полипептидных цепей, организованных в форме крестообразной структуры, содержит несколько функциональных доменов. Один из них связывает коллаген IV типа, другой – гепарансульфат, два или более доменов связываются с поверхностью клеток.

Молекула *энтактина* напоминает по форме гирю, связывается с одной молекулой ламинина в местах соединения длинной и коротких цепей ламинина. Энтактин соединяется также

с молекулой коллагена, образуя дополнительную связь между ламинином и коллагеном.

Образование матрикса, его распад или ремоделирование – все это важные и необходимые процессы, участвующие в перестройке тканей. Они сопутствуют развитию организма, заживлению ран, некрозу опухолей или воспалению. Биологическое время полураспада БУК колеблется от нескольких дней (протеогликаны кожи) до нескольких месяцев (зрелый коллаген кожи).

Ключевыми компонентами катаболизма молекул внеклеточного матрикса и его регуляции являются металлопротеазы матрикса (МППМ) и их ингибиторы (тканевые ингибиторы металлопротеаз матрикса ТИМППМ).

Металлопротеазы матрикса – это группа ферментов, активность которых зависит от цинка. Они катализируют распад молекул внеклеточного матрикса (протеогликаны, гликопротеины и различные типы коллагена). Клетки секретируют МППМ в форме прометаллопротеаз. Механизм их активирования *in vivo* пока не известен. Полагают, что активирование ферментов часто осуществляется путем аутокатализа, результатом которого является удаление N-концевого пептида протеазы.

Белки хрящевой и костной тканей. Основными химическими компонентами хряща являются тип II коллагена и специфический для хряща протеогликан. Конечная функция хряща определяется функцией этих двух основных типов молекул. Коллагеновые волокна, прочные на разрыв, усиливают механические свойства довольно непрочного протеогликана. Ориентация коллагеновых волокон определяется направлением воздействий, которым эта ткань противостоит. Протеогликан образует гель, который в 5 раз больше по объему в воде, чем в окружении коллагена. Причем возможности связывания воды гелем зависят от взаимодействия между этими двумя основными белками хряща. Не исключено, что на это свойство влияют и другие белки хряща.

Главный коллагеновый белок хряща – коллаген II типа $[\alpha_1(\text{II})]_3$. Он состоит из трех одинаковых α -цепей, гомологичных по аминокислотному составу α -цепям коллагена кожи. Коллаген II типа относится к классу главных структурных коллагенов, для которых характерно образование поперечно исчерченных прочных фибрилл. Его волокна разнообразны по диаметру, но, как правило, они тоньше волокон коллагена

I типа и имеют больше поперечных ковалентных связей. Из хряща выделены и другие типы коллагена, которые составляют около 10% от общего количества коллагена в хряще. Эти минорные коллагены отличаются по аминокислотному составу, молекулярной массе и свойствам. Их роль недостаточно хорошо выяснена.

Главный протеогликан хряща занимает 5–10% от влажного веса хряща. К белковому компоненту протеогликана с ММ 210 000 Да присоединяется ковалентными связями несколько типов боковых цепей (кератансульфаты, хондроитинсульфаты).

В хряще можно найти специфические и общие для всех видов соединительной ткани белки. Из хрящевой ткани выделены два типа ПГ, содержащих хондроитинсульфат или дерматансульфат небольшого размера. Белковые цепи этих ПГ гомологичны и содержат последовательности, богатые ЛЕЙ. В частности, такие последовательности содержит белок – фибромодулин. Он обнаружен во многих тканях, что указывает на схожесть их функций. Фибромодулин влияет на фибрилlogenез. Функции других, специфичных для хрящевой ткани белков мало известны.

Внеклеточный матрикс *костной ткани* также отличается рядом специфических белков. Наиболее хорошо изучен *остеокальцин* с ММ 5800 Да. Найден только в костях и зубах, где является преобладающим белком. В его молекуле обнаружены три остатка γ -карбоксиГЛУ, что говорит о его способности связывать кальций. Среди белков костной ткани можно также назвать *костный сиалопротеин*, принимающий участие в образовании костной ткани, *остеопонтин*, обеспечивающий привлечение предшественников остеокластов и связывание их с минеральным матриксом, *костный кислый гликопротеин*, участвующий в минерализации костной ткани, *остеонектин*, *тромбоспондин* и др.

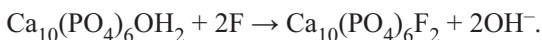
Минеральные соединения специализированных видов соединительной ткани представлены фосфорнокислыми солями кальция. Основу минерального компонента межклеточного матрикса составляют ортофосфаты кальция – соли трехосновной фосфорной кислоты. Они могут быть в форме однозамещенных (H_2PO_4^-), двузамещенных (HPO_4^{2-}) или фосфат-ионов (PO_4^{3-}). В состав тканей зубов, костей и дентина входят соли HPO_4^{3-} или PO_4^{3-} .

Все фосфорнокислые соли кальция представляют собой белые порошки, которые слабо- или не растворимы в воде, но растворяются в разбавленных кислотах. Среди природных форм фосфата кальция можно назвать *монетит* (CaHPO_4) и *брушит* ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Брушит обнаружен в составе дентина, зубных камней, его кристаллы имеют клиновидную форму. При нагревании брушит превращается в монетит. При хранении оба минерала гидролизуются в *гидроксиапатит* $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

Наряду с тем что апатиты являются довольно устойчивыми соединениями, они легко обмениваются с окружающей средой. В результате в их составе могут появляться другие ионы. Преимущественным фактором, определяющим возможность замены, является размер атома. Схожесть в зарядах имеет второстепенное значение. Такой принцип замены носит название изоморфного замещения. Тем не менее в ходе такого замещения поддерживается общее распределение зарядов по принципу: $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$, где $0 < x < 1$. Потеря в Ca^{2+} частично компенсируется потерей OH^- ионов и, частично – H^+ , присоединенных к фосфату.

Карбонатный апатит. Если основная соль кальция фосфата осаждается при комнатной температуре или температуре тела в присутствии карбонат-иона или гидрокарбонат-иона, то образующийся апатит будет содержать в своем составе несколько процентов карбоната или гидрокарбоната. Карбонат уменьшает кристалличность апатита и делает его более аморфным. Такая структура напоминает структуру апатитов костей или эмали.

Фторапатит ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$). Это наиболее стабильный из всех апатитов (температура плавления 1680°C). Кристаллы фторапатита имеют гексагональную форму. В водной среде реакция взаимодействия фтора с фосфатами кальция зависит от концентрации фтора. Если она сравнительно невысока (до 500 мг/л), то образуются кристаллы фторапатита:



Фтор резко уменьшает растворимость гидроксиапатитов в кислой среде. Наоборот, повышение растворимости наблюдается в присутствии ионов цитрата, карбоната, магния.

Стронциевый апатит. Учитывая вышеуказанные замены в кристаллической решетке апатитов, стронций может вытес-

нять или заменять вакантные места для кальция. Это приводит к нарушению структуры кристаллов. В Забайкалье, вдоль берегов небольшой реки Уров, описано заболевание, получившее название уровской болезни. Оно сопровождается короткопалостью у людей и поражением костного скелета у животных. В местности, загрязненной радионуклидами, неблагоприятное значение стронциевого апатита для организма человека связано с возможностью депонирования радиоактивного стронция.

Принципы минерализации. Кристаллы апатитов, образуясь в растворах, могут изменяться за счет обмена с ионами, находящимися в этом растворе. В живых системах это свойство апатитов делает их высокочувствительными к ионному составу крови и межклеточной жидкости, который в свою очередь зависит от характера пищи и состава потребляемой воды. Сам процесс обмена элементов кристаллической решетки протекает в несколько этапов, каждый из которых имеет свою скорость.

Первый этап протекает довольно быстро, в течение нескольких минут. Это обмен между гидратной оболочкой кристалла и подвижной жидкостью, в которую погружен кристалл. Он ведет к повышению концентрации отдельных ионов в непосредственной близости от кристалла. В этом этапе участвуют многие ионы, разные по размерам и свойствам. На втором этапе идет обмен между ионами гидратной оболочки и поверхностью кристаллов. Здесь происходит отрыв элементов с поверхности кристалла и замена их на ионы гидратной оболочки. В этот процесс включаются ионы фосфорной кислоты, кальция, фтора, стронция, натрия и другие равные им по размерам ионы. Продолжительность этапа составляет несколько часов. Наконец, на третьем этапе происходит проникновение ионов вглубь кристаллов. Это медленный процесс. Он может проходить в форме изоморфного замещения или заполнения вакантных мест. Он длится месяцами и годами.

Минерализация широко распространена в животном мире. У позвоночных в основе минерализации костного скелета лежит образование кристаллов с участием фосфата кальция. В патологических условиях свыше 20 других солей могут подвергаться кристаллизации (мочевые, желчные, зубные камни).

Внеклеточная жидкость, из которой происходит осаждение соли, представляет пересыщенный раствор фосфата кальция.

Процесс осаждения можно разделить на две стадии: вначале идет нуклеация, т.е. образование плотного остатка, а затем – рост кристаллов из ядра.

Механические свойства таких сложных структур, как кость и эмаль, состоящих из органических и неорганических компонентов, зависят от величины кристаллов. В отличие от нуклеации, для которой требуется значительное пересыщение ионов в растворе, рост кристаллов требует значительно более низких концентраций участников. При этом используются другие механизмы, которые включают так называемый спиралевидный рост. На образовавшемся ядре возникают спиралевидные структуры, рост которых идет по обычному принципу добавления новых ионов. Шаг такой спирали равен высоте одной структурной единицы кристалла.

Наиболее ранняя теория минерализации тканей была предложена в 1923 г. В соответствии с ней для образования кристаллов в тканях важным является локальное высвобождение фосфата при участии активной щелочной фосфатазы из органических молекул. Когда к 1958 г. было показано, что внеклеточная жидкость пересыщена солями фосфата кальция, стало ясно, что кальцификации должна предшествовать нуклеация. После выяснения важности гетерогенного типа нуклеации первым предполагаемым кандидатом на роль неподвижной фазы стал коллаген, а рост кристаллов гидроксипатита стали представлять по механизму эпитахсиса.

Считается, что не сам коллаген, а молекулы, которые могут связываться с ним, служат инициаторами минерализации. На роль таких молекул претендуют протеогликаны, гликозаминогликаны, белки, содержащие γ -карбоксиглутаминовую кислоту, или фосфопротеины. Например, хондрокальцин является кальцийсвязывающим белком, который локализован в минерализирующемся фронте хряща. Остеонектин – фосфогликопротеин из костной ткани, связывая гидроксипатит и коллаген одновременно, может обеспечивать нуклеацию апатита из раствора фосфата кальция. Другие белки, найденные в кальцифицирующихся тканях и связывающие кальций, также могут иметь отношение к минерализации тканей.

В соответствии с данными электронной микроскопии в зонах минерализации выявляются внеклеточные мембраносвязанные тельца, содержащие кристаллы апатита. Предполагается, что именно эти пузырьки являются зонами нуклеации, а коллагеновые волокна лишь пространственно ориентируют

рост кристаллов. Установлено, что пузырьки содержат липиды и активную фосфатазу. Считают, что фосфатаза увеличивает локальную концентрацию фосфора, катализируя расщепление органических фосфорсодержащих соединений. Однако такие пузырьки не были обнаружены при минерализации эмали, дентина или цемента.

Химия зубов. Зубы представляют довольно сложно устроенный орган, состоящий из разных тканей, отличающихся по строению и происхождению. В состав зубов входят три вида плотных тканей: эмаль, дентин и цемент, а также разновидность рыхлой соединительной ткани, входящей в пульпу зуба (табл. 16.6).

Таблица 16.6. Главные компоненты твердых тканей зуба

Компоненты	Эмаль				Кость	Дентин
	незрелая		зрелая		Вес, %	Вес, %
	Вес, %	Объем, %	Вес, %	Объем, %		
Неорганические вещества	37	16	96	88	70	72
Органические вещества	19	20	0,1	0,3	22	20
Вода	44	64	3,9	11,7	Остатки	Остатки
Основной органический компонент	Амелогенины и энамелины		Нерастворимые белки		Коллаген	Коллаген
Неорганический компонент	Апатитные фосфаты кальция				Апатитные фосфаты кальция	
Плотность, г/см ³	1,45		2,9–3,0		2,01–2,05	2,0–2,30
Размеры кристаллов	Уплощенные гексагоны, около 30 нм в поперечнике, в длину 0,1–5 мкм и более				50 × 20 × 20 нм	

Особенностью эмали является то обстоятельство, что сразу после ее формирования она утрачивает клетки – главные носители жизни. Зрелая эмаль становится объектом воздействия различных факторов. Не имея своих клеток, она поддерживает нормальное состояние в течение длительного времени. Эмаль отличается еще и тем, что это самая твердая ткань. По шкале твердости она приближается к кварцу. В табл. 16.7 представлены основные компоненты зрелой эмали человека.

Таблица 16.7. Основные компоненты зрелой эмали человека

Компонент	Содержание (весовые, %)
Ca	33,6–39,4
P	16,1–18
CO ₂	1,95–3,66
Натрий	0,25–0,90
Магний	0,25–0,56
Хлор	0,19–0,30
Калий	0,05–0,30

Основу зуба составляет дентин. Эта часть зуба менее минерализована. В дентине, в отличие от эмали, имеются клетки, одонтобласты, которые покрывают внутреннюю часть зуба, его полость. Эти клетки позволяют дентину сохранять способность к регенерации в течение всей жизни зуба.

Корень зуба покрыт тонким слоем цемента, который по многим показателям не отличается от костной ткани. Корень зуба прочно вставляется в костную ткань и прикрепляется периодонтальными связками.

До прорезывания зубов эмаль покрыта мембраной, содержащей бесклеточный слой (толщина ~ 1 мкм) и слой (толщина ~ 10 мкм), который состоит из клеток, производивших эмаль. Эта мембрана после прорезывания быстро разрушается, а зубы покрываются кутикулой, состоящей из органической матрицы слюнного происхождения и десквамированного эпителия. На поверхности ее находятся бактерии. Синтезируемые ими продукты и мертвые бактерии создают так называемые бляшки. Бляшки могут кальцифицироваться с образованием зубных камней.

Большую часть зрелой эмали составляют неорганические вещества (96%). В незрелой формирующейся эмали их намного меньше – всего 5%, в эмали молочных зубов – 80%. На долю органических молекул приходится 1,5–2,0%, 18–20% и 20% соответственно.

Вода составляет 2–3% для зрелой и до 20% – для незрелой эмали. Она там находится в связанном состоянии с органическими и минеральными компонентами. Основная масса неорганических компонентов представлена кристаллами гидроксиапатита (75%), карбонатного апатита (12%), фторапатита

(1%) и других форм апатитов. Имеются и аморфные участки неорганического матрикса.

Кроме солей фосфата кальция в составе эмали обнаружены свыше 30 разных элементов. Вторым по частоте встречаемости после кальция является магний (0,3–0,9%). В относительно больших количествах присутствуют цинк (20–25 мг на 100 г сухого остатка), железо (от 2 до 40 мг на 100 г). Минеральный состав эмали может колебаться в зависимости от характера питания, но процентное соотношение кальция, фосфора и карбоната довольно постоянно. Содержание стронция, свинца и некоторых других микроэлементов в эмали колеблется и зависит от количества их в почве данной местности.

Минеральные вещества неравномерно распределены в эмали. Поверхностные слои более плотные. Они содержат меньше воды, карбонатов, больше фтора. Следует заметить, что минеральные компоненты неравномерно распределены и в самом зубе. Их количество уменьшается в направлении от поверхности к зоне перехода эмали в дентин. Наоборот, количество органических компонентов увеличивается в том же направлении, хотя на поверхности эмали их доля несколько выше.

Органические компоненты эмали. В созревающей эмали содержатся разные по свойствам белки. Их можно разделить на две основные группы: амелогенины и энамелины. По мере созревания эмали соотношение этих белков меняется. Если вначале основная масса белков представлена амелогенинами (90%), то впоследствии они разрушаются, и увеличивается доля энамелинов.

Амелогенины содержат в своем составе большое количество остатков ПРО, ЛЕЙ, ГИС, ГЛЮ. В них отсутствуют гидроксипролин и цистеин, характерные для коллагена и кератинов. Молекулярная масса их не превышает 30 000 Да. Они гидрофобны и склонны к агрегации. Белки, выделенные из разных видов животных, имеют схожий аминокислотный состав, что связывают с их участием в механизмах минерализации. В ходе минерализации они, по-видимому, расщепляются, потому что по мере созревания увеличивается доля низкомолекулярных амелогенинов.

В настоящее время путем клонирования генов, кодирующих амелогенины, удалось установить первичную структуру этих белков. Первые 33 аминокислоты на N-конце всех амелогенинов, выделенных из разных видов животных, были оди-

наковыми. В местах обнаруженных отличий сохранялся принцип, когда гидрофобные участки заменялись на неполярные, а полярные – на полярные. Тем самым сохраняются возможности формирования одинаковых пространственных структур, которые обеспечивают процессы минерализации.

Энамелины – группа кислых белков с молекулярной массой 50 000–70 000 Да. Они сильно гликозилированы (много гексозаминов – 4% и нейраминовой кислоты – 4%). Мало известно об их аминокислотном составе и пространственной структуре. Установлено, что вторичная структура энамелинов представлена преимущественно β -структурой.

Помимо белков из созревающей эмали выделены пептиды, липиды, моносахариды. Пептиды эмали, кислые по своим свойствам, по аминокислотному составу напоминают энамелины. Созревание эмали сопровождается значительным снижением содержания органических компонентов. Почти 100–200-кратное снижение содержания белков при созревании сопровождается значительным изменением аминокислотного состава. Предполагается, что процесс созревания сопровождается распадом амелогенинов и задержкой распада энамелинов. Энамелины, при этом, прочно присоединяются к кристаллам апатита.

Наружная поверхность эмали содержит меньше белков, чем внутренняя часть. Белки и пептиды, расположенные снаружи, более растворимы в воде.

Неорганические компоненты эмали. Содержание кальция и фосфора в эмали составляет 33,6–39,4 и 16,1–18,0 весовых процентов соответственно. В направлении от поверхности зуба к дентину их концентрация снижается. Обычно для кальция она снаружи составляет по массе 37,8%, а внутри – 34,5%, для фосфатов – 18 и 15% соответственно. При этом соотношение Ca/P сохраняется постоянным (2,1 и 2,3 – весовое соотношение и 1,62–1,78 – молярное). Такая же закономерность распределения концентрационного градиента в эмали относится к хлоридам. А вот содержание карбонатов, натрия, магния и железа в эмали, наоборот, растет в направлении дентина. Интересно, что подобное распределение обнаружено и в непрорезавшихся зубах. Свинец присутствует в низких концентрациях и также накапливается на поверхности. Медь и стронций распределяются равномерно по всей эмали.

Считается, что основой эмали является белковая матрица. Важное место в ее формировании отводится выделенному

из эмали Са-связывающему белку (Са-СБ) с молекулярной массой 20 000 Да. Трехмерная сеть эмали (рис. 16.4) образуется путем объединения в пространстве молекул Са-СБ с помощью ионов кальция. Эта сеть становится зоной нуклеации для ориентированного роста кристаллов апатита (ГА). Сеть, образованная молекулами Са-СБ, фиксирована на волокнах амелогенинов.

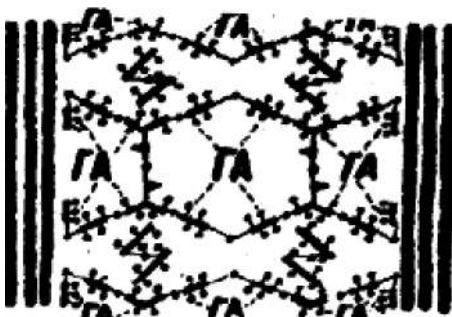


Рис. 16.4. Зона нуклеации для роста кристаллов гидроксиапатита в эмали

Кристаллы апатитов эмали отличаются от кристаллов других плотных тканей своими размерами (1600×400 ангстрем по сравнению с 640×40 ангстрем для костной ткани). В свою очередь кристаллы объединяются в призмы. Межпризматические пространства заполнены органическими молекулами и водой. После удаления минеральных компонентов остается тонкая сеть органической матрицы.

Дентин — основная составная часть зуба. Он содержит до 70% минеральных веществ, 17% органических веществ и 13% воды. Неорганические компоненты представлены кристаллами гидрокси- и фторапатитов, а также аморфным фосфатом кальция.

Являясь разновидностью соединительной ткани, дентин содержит присущий этой ткани органический матрикс. Главными компонентами его являются коллаген и протеогликаны. Коллаген дентина, как и в костях, относится к первому типу.

В отличие от эмали клетки дентина — одонтобласты, функционируют на протяжении всей жизни зуба. Они образуют тонкий слой, выстилающий полость зуба. Отростки клеток пронизывают дентин до сочленения его с эмалью, формируя дентиновые каналы. Дентиновые каналы становятся

проводниками зубного ликвора и выполняют трофическую функцию.

Благодаря жизнедеятельности клеток формирование дентина может продолжаться и после прорезывания зубов. В результате образуется вторичный дентин, который заполняет полость зуба и доставляет неудобства при лечебных вмешательствах. Вторичный дентин менее минерализован и содержит больше коллагена.

Важное место в механизмах образования вторичного дентина отводят неколлагеновым белкам. К ним относят, в частности, протеогликаны. Преимущественным гликозаминогликаном в их составе является хондроитин-4-сульфат. В меньших количествах обнаружены хондроитин-6-сульфат, гиалуроновая кислота и др. Их соотношение варьирует в зависимости от возраста. Содержание протеогликанов выше в предентине, чем в дентине. Это связано с наличием в предентине ферментов, разрушающих протеогликаны.

Еще одним типом неколлагеновых белков дентина являются фосфопротеины. Эти белки богаты серином, аспарагиновой кислотой, эстерифицированным фосфатом, которые придают белкам кислые свойства, тем самым способность связываться с кальцием. Они появляются в предентине перед началом минерализации и располагаются на линии фронта минерализации.

В дентине, по сравнению с костной тканью, содержится значительно меньше белков, содержащих γ -карбоксиглутаминовую кислоту. Что касается других органических соединений, то их содержание довольно низкое. Так, количество липидов составляет 0,1 весового процента. Гистохимически показано присутствие фосфолипидов в зоне кристаллизации, хотя роль их в этом процессе мало известна.

Содержание магния в дентине в 3 раза превышает таковую в костях. Количество карбонатов в дентине выше, чем в эмали. Содержание фтора больше в области, граничащей с пульпой. С возрастом уровень фтора увеличивается.

Несмотря на то что главным минеральным компонентом дентина является гидроксиапатит, суммарный химический состав его не совпадает с формулой гидроксиапатита. Так, отношение Ca/P для апатита составляет 1,667, а в дентине оно колеблется от 1,5 до 1,7. В дентине присутствуют небольшое количество воды и ионы, которых нет в гидроксиапатите. Ни-

чего удивительного в таком несовпадении нет. Дело в том, что в дентине помимо гидроксиапатита присутствует так называемая аморфная (некристаллическая) фаза, включающая фосфат и (или) карбонат кальция. Кроме того, на поверхности кристаллов гидроксиапатита адсорбируются другие ионы. В самой кристаллической решетке возможны замещения и вакансии.

Цемент. По химическому составу является разновидностью плотных форм соединительной ткани. Неорганические соединения, представленные разными формами апатитов, составляют 68–70% его массы. На долю органических молекул: коллагена, протеогликанов, липидов и т.д. приходится 17–20%. Оставшиеся 10–15% составляет вода. Цемент прочно соединен с дентином, неравномерно покрывая его в области корня зуба. Снаружи цемент прочно связан с тканями связочного аппарата зуба.

Пульпа. Представляет разновидность рыхлой соединительной ткани. Она слегка уплотняется по направлению к корневой части зуба. Плотная часть пульпы более устойчива к токсинам и микроорганизмам. Пульпа выполняет важную трофическую функцию, а также принимает участие в защитной и репаративной функциях тканей зуба. В составе пульпы обнаружено около 5% неорганических, 40% органических веществ и около 60% воды.

Химия жидкостей в ротовой полости. В полости рта находится не чистый секрет слюнных желез, а биологическая жидкость, получившая название ротовой жидкости. Это суммарный секрет всех слюнных желез, детрит полости рта, микрофлора, содержимое десневых карманов, десневая жидкость, продукты жизнедеятельности микроорганизмов, локализованных в мягком зубном налете, продукты распада мигрирующих в слюну лейкоцитов, остатки пищи и т.д.

Основные функции ротовой жидкости:

- защитная – защита от внешнего влияния и поддержка гомеостаза ротовой полости;
- минерализующая – минерализация эмали после прорезывания, поддержка оптимального состава эмали и восстановление при повреждении;
- очищающая – механическое и химическое очищение полости рта;
- пищеварительная – участие в переваривании пищи.

Таблица 16.8. Химический состав ротовой жидкости

Вода	98–99%	Альбумины	7–8%
Плотные вещества	1,4–1,5%	α -Глобулины	11–12%
Органические вещества	1%	β -Глобулины	45%
Осадок	70 мг/л	γ -Глобулины	18%
Секреция	0,4 мл/мин	Лизоцим	18–20%
Хлориды	2,5–3,0 г/л	Муцин	3 г/л
Ионы кальция	40–50 мг/л	Гексозамины	100 мг/л
Фосфаты	190–200 мг/л	Фукоза	90 мг/л
Фтор	0,06–1,8 мг/л	Нейраминовая кислота	12 мг/л
Остаточный азот	100–200 мг/л	Общие гексозы	195 мг/л
pH	6,4–7,3	Глюкоза	10–100 мг/л
Белок	2–3 г/л	Амилаза	380 мг/л
Молочная кислота	33 мг/л	Иммуноглобулин А	190 мг/л
Пировиноградная кислота	9 мг/л	Иммуноглобулин G	14 мг/л
Холестерол	80 мг/л	Иммуноглобулин М	2 мг/л
Мочевина	200 мг/л		

Ротовая жидкость содержит большое число молекул разной природы (табл. 16.8). Общее количество плотных веществ в смешанной слюне составляет от 3 до 8 г/л, в среднем 6 г/л. Из этого количества на долю растворенных веществ приходится 80% , а на долю суспендированных веществ – около 20%. Функции большинства молекул достаточно хорошо известны. Белки составляют значительную часть сухого остатка ротовой жидкости и выполняют важные функции, связанные с защитой, процессами минерализации и участием в пищеварении.

Белки ротовой жидкости. Наиболее хорошо известны муцины слюны в составе ротовой жидкости. Это высокомолекулярные белки, обладающие важной защитной функцией. Изучены две формы этих молекул, которые различаются по молекулярной массе. Они придают слюне вязкость благодаря способности связывать большое количество воды, защищают поверхность от бактериального загрязнения и от

растворения фосфата кальция. Бактериальная защита обеспечивается белками иммуноглобулинами, присоединенными к муцину, и некоторыми другими белками. В частности, гликопротеины могут усиливать или ослаблять присоединение бактерий к поверхности зуба.

Защита твердых тканей от растворения достигается благодаря поддержанию состояния пересыщенности ионами. Этому способствует определенная рН слюны. Буферные системы слюны поддерживают рН в пределах от 5,7 до 6,2. Однако при стимуляции секреции слюны рН ее может достигать 8,0. Снижение буферной емкости слюны может быть причиной развития кариеса.

В слюне обнаружен белок лактоферрин. Такое название он получил потому, что впервые был выделен из молока. Он способен связывать ионы железа, лишая бактерии этого важного элемента и ограничивая их рост. Надо отметить, что некоторые бактерии усваивают и такое, связанное с лактоферрином, железо.

Ведущую роль среди защитных факторов слюны играют ферменты различного происхождения – лизоцим, нуклеазы, пероксидаза. В меньшей мере это относится к амилазе – основному ферменту слюны и ротовой жидкости, участвующему в процессах пищеварения. Источником лизоцима в ротовой жидкости являются слюнные железы. Лизоцим синтезируется эпителиальными клетками протоков слюнных желез. Со смешанной слюной в ротовую полость поступает примерно 5,2 мкг лизоцима в минуту. Еще одним источником лизоцима являются нейтрофилы. Они поступают в ротовую полость со скоростью примерно 200 000 клеток в минуту. Исходя из концентрации лизоцима в нейтрофилах, подсчитана скорость поступления его в ротовую полость с этими клетками. Она составляет около 1 мкг/мин.

Бактерицидное действие лизоцима основано на том, что он катализирует гидролиз α -гликозидной связи ($1 \rightarrow 4$) между N-ацетилглюкозамином и N-ацетилмурамовой кислотой в полисахаридах клеточной оболочки микроорганизмов. Наиболее чувствительны к нему грамположительные микроорганизмы и некоторые вирусы. Образование лизоцима снижается при некоторых видах заболеваний полости рта (стоматиты, гингивиты, парадонтоз).

Важную роль в осуществлении защитной функции ротовой жидкости имеют нуклеазы. В смешанной слюне обнару-

жены РНКазы и ДНКазы, отличающиеся разными свойствами. В зависимости от требований к рН среды выделяют кислую и щелочную РНКазу. За сутки в полость рта секретируется примерно 60 мкг кислой и 45 мкг щелочной РНКазы.

ДНКазы слюны представлена также двумя изоферментами. За сутки секретируется примерно 3–4 мкг фермента. При некоторых воспалительных заболеваниях ротовой полости секреция его увеличивается. Основным источником нуклеаз в слюне являются клетки белой крови. В экспериментах показано, что эти ферменты резко замедляют рост и размножение многих микроорганизмов в ротовой полости.

Еще одним ферментом, участвующим в защитной функции ротовой жидкости, является пероксидаза. Различают собственно пероксидазу и йодидпероксидазу. Первый фермент синтезируется полиморфноядерными лейкоцитами (миелопероксидаза), паренхиматозными клетками молочных желез (лактопероксидаза) и слюнных желез. Второй фермент обнаружен в щитовидной железе и слюнных железах. По механизму действия они схожи и различаются лишь субстратной специфичностью. В секрете околоушной железы активность фермента в 3 раза выше, чем подчелюстной.

Обязательным условием действия фермента является присутствие перекиси водорода, поэтому продуцирующие ее микроорганизмы более чувствительны к действию пероксидазы слюны. Повреждающее действие системы пероксидаза – перекись водорода на микроорганизмы опосредуется образованием промежуточных окислителей органической и неорганической природы. Прежде всего необходимо участие одного из анионов: CNS^- , Cl^- , J^- , Br^- . Эти анионы взаимозаменяемы, но для пероксидазы слюны более специфичен CNS^- , а для лейкоцитарной – Cl^- . Результатом взаимодействия системы пероксидаза – H_2O_2 – Cl^- является образование HOCl . Объектом действия последнего являются аминокислоты белков микроорганизмов. Они превращаются в активные альдегиды или другие токсические продукты. Поэтому способность слюнных желез секретировать в значительных количествах ионы тиоцианата, йодиды, бромиды, хлориды следует также отнести к средствам антимикробной защиты.

Из слюны выделены видоспецифические антитела и антигены, соответствующие группам крови человека, причем концентрация групповых антигенов в слюне выше, чем в других

биологических жидкостях. Вместе с тем у каждого пятого человека уровень этих антигенов в ротовой жидкости очень низок или они могут вовсе отсутствовать.

Среди белков слюны, причастных к выполнению защитной функции, следует назвать и иммуноглобулины. Они представлены, в основном, иммуноглобулином А, выполняющим важную роль в защите слизистых оболочек.

Несмотря на то что при рассмотрении белков ротовой жидкости мы уже затрагивали участие некоторых из них в процессах кристаллизации, рассмотрим минерализующую функцию более подробно.

Минерализующая функция. Эта функция слюны включает механизмы, способствующие поступлению минеральных веществ в эмаль, и механизмы, препятствующие обратному их выходу. В зрелых зубах поддерживается подвижное равновесие двух процессов: растворение эмали; ее минерализация. Константа растворимости апатитов эмали в физиологических условиях сдвинута в сторону образования кристаллов. Растворимость их зависит от концентрации ионов, рН среды, ионной силы слюны.

Распределение кальция в слюне имеет свои особенности. Примерно 15% всего кальция связано с белками, около 30 % – с цитратом, фосфатом, карбонатом. Остальное количество – это свободный кальций, уровень которого и определяет в первую очередь направление процесса минерализация – растворение (рис. 16.5).

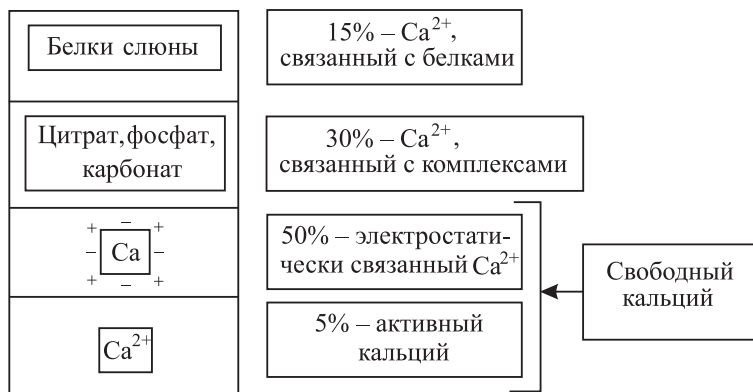


Рис. 16.5. Распределение кальция в ротовой жидкости

Фосфаты слюны представлены пирофосфатами и солями ортофосфорной кислоты в разной степени замещения. Всего в слюне около 200 мг/л фосфатов. Из этого количества 146 мг – однозамещенный и 47 мг – двузамещенный фосфаты. Количество указанных солей зависит, главным образом, от секреции их слюнными железами, причем последние обладают избирательностью в секреции той или иной соли.

Вторым показателем, от которого зависит растворимость солей фосфата кальция, является рН слюны. Она колеблется от 6,5 до 7,5. Значительные изменения рН в слюне встречаются редко даже у людей, склонных к кариесу. Однако в случае, если они происходят, резко изменяется состояние пересыщенности фосфатом кальция.

Следует заметить, что пересыщенность в слюне намного превышает таковую для фосфатов кальция в крови. В то же время в крови, в отличие от слюны, концентрация водородных ионов высоко стабильна благодаря физиологическим и химическим системам регуляции кислотно-щелочного равновесия. В слюне емкость буферных систем небольшая. Поэтому колебания рН слюны могут приводить или к значительному снижению ее минерализующей способности (закисление) или к усилению ее и образованию зубных камней.

Исследования других биологических жидкостей также показывают, что везде там, где имеет место пересыщенность солями фосфата кальция (а оно характерно для большинства биологических жидкостей) и значительные колебания рН (моча, желчь, слюна), возникает угроза локальной минерализации (камни).

На минерализующую функцию оказывает влияние и количество секретируемой слюны. Скорость слюноотделения колеблется в широких пределах – от 0,03 до 2,4 мл/мин и зависит от большого числа факторов. Например, в ночное время количество слюны уменьшается, что способствует проявлению действия так называемых кариесогенных факторов. У людей с низкой секреторной активностью значительно чаще развивается кариес. Необходимо указать, что количество выделяемой слюны определяет очищающую способность в ротовой полости и тем самым вносит определенный вклад в проявление защитной функции. Поэтому снижение секреции всегда оказывает выраженный неблагоприятный эффект на состояние зубов и слизистой ротовой полости.

Десневая жидкость – это жидкое содержимое десневого желобка. Представляет собой физиологическую среду сложного состава. В ней содержатся лейкоциты, эпителий, микроорганизмы, электролиты, белки, ферменты и т.д. За сутки в ротовую полость поступает 0,5–2,5 мл десневой жидкости.

В механизме образования десневой жидкости большое значение принадлежит морфологическим особенностям строения сосудов и эпителия десневого канала. Собственный слой слизистой желобка не имеет сосочков, и граница между эпителием и подлежащими тканями представлена ровной линией. Концевые сосуды в этой области расположены под эпителием и параллельно ему. Это создает удобные условия для транссудации содержимого капилляров в ротовую полость, включая даже некоторые белки крови. Показана возможность и обратного тока некоторых молекул из ротовой полости.

Таким образом, у людей со здоровым парадонтом десневая жидкость представляет собой транссудат сыворотки крови. Поэтому содержание минеральных веществ в десневой жидкости такое же, как и в плазме крови. Микробный состав десневой жидкости подобен таковому у зубного налета. Из десневой жидкости выделены многие ферменты, характерные для крови, эпителия слизистой. Важной особенностью является то, что через десневой желобок в ротовую полость поступают лейкоциты. Это основное место проникновения белой крови в полость рта. Поэтому десневую жидкость следует рассматривать как важную часть антимикробной защиты.

При поражении парадонта десневая жидкость формируется за счет осмотической экссудации. В результате там накапливаются молекулы – продукты метаболизма бактерий и компонентов зубного налета. Воспалительные изменения этой области вызывают серьезные нарушения в ротовой полости. Они могут служить причиной развития аутоиммунных процессов с последующим нарушением связочного аппарата зубов. Такие состояния обычно плохо поддаются лечению.

Зубной ликвор. С биологическими жидкостями ротовой полости тесно связан так называемый зубной ликвор. Это жидкость, заполняющая свободные пространства всех зубных тканей. Именно через нее в зубные ткани поступают необходимые питательные вещества. Состав зубного ликвора наиболее хорошо изучен на примере жидкости дентиновых канальцев, где она составляет до 12% массы.

Установлено, что одонтобласты не причастны к происхождению этой жидкости. Она образуется экстрацеллюлярно и содержит до 92 мг/л кальция, 42 мг/л – фосфатов, 28 мг/л – хлоридов. Белковый состав ее подобен белкам плазмы крови. В ее состав входят и другие органические и неорганические молекулы. Продвигаясь со скоростью 4 мм/ч в сторону эмали, эта жидкость выполняет трофическую функцию. Изменение скорости и направления тока делает эту жидкость элементом сенсорной функции. Ощущение боли, чувство оскотины связаны с изменениями перемещения этой жидкости.

Менее изучен эмалевый ликвор. Кристаллы гидроксиапатита создают в эмали эффект молекулярного сита, через которое в эмалевую жидкость проникают небольшие органические молекулы и ионы минеральных соединений. В поверхностных участках эмали жидкости меньше. С возрастом ее количество уменьшается. В отличие от воды гидратных оболочек кристаллов эмалевая жидкость более подвижна, и ее можно удалить, прогревая зубные ткани при относительно невысокой температуре.

Поверхностные образования зуба и кариес. К поверхностным образованиям зуба относятся пелликула зуба, зубной налет и зубной камень.

Пелликула зуба. Если с поверхности эмали тщательно снять зубной налет, то останется тонкий слой органического материала, содержащего небольшое количество бактерий. Этот слой называют пелликулой. Его можно выделить, если зубы быстро обработать соляной кислотой. Аминокислотный анализ позволил обнаружить в полученном материале низкое содержание цистеина и метионина. Это привело к заключению, что белки пелликулы не относятся к кератинам, продуцируемым эпителиальными клетками (в составе кератинов мало серы и большое количество серина, высокий показатель отношения глицина к аланину). Отсутствие гидроксипролина и гидроксизина отличает эти белки от коллагена.

Белки пелликулы скорее напоминают гликопротеины слюны, модифицированные бактериями ротовой полости путем отщепления нейраминовой кислоты от олигосахаридных цепей. Кислые фосфопротеины слюны, содержащие пролин, также входят в состав пелликулы. Возможность участия микроорганизмов в формировании пелликулы вытекает из того обстоятельства, что на срезе ее под электронным микроскопом наряду с бесструктурным белком выявляются фрагменты

стенок бактерий. Это подтверждается и анализом аминокислотного состава пелликулы.

Зубной налет – это слой бактериальных клеток и органической матрицы, который откладывается на эмали поверх кутикулы. В отличие от пелликулы зубной налет обычно удаляется при чистке зубов. Матрикс зубного налета содержит денатурированные гликопротеины слюны и продукты жизнедеятельности бактерий. Последние представлены небольшими молекулами – конечными продуктами обмена. Такие соединения могут образовываться в больших количествах, но они легко растворяются и поэтому вымываются слюной, составляя небольшую часть налета.

Там же, в зубном налете, содержатся полимерные молекулы бактериальной природы. Они включают ферменты, полисахариды. Известны три типа таких полисахаридов: глюканы, леваны и гетерополисахариды. Их образование зависит от продуктов питания. Если исключить углеводы из рациона питания на одну неделю, то в матриксе налета полисахаридов не будет. Предшественником для синтеза этих полисахаридов является сахароза. Она же стимулирует образование ферментов, катализирующих синтез бактериальных полисахаридов. Таким образом, химический состав зубного налета зависит как от свойств бактерий, так и от состава пищи.

Зубной камень – это твердое образование на поверхности зубов. Оно чаще возникает на поверхности зубного налета язычной стороны зуба, вблизи протоков слюнных желез. Полностью сформированный камень – это безжизненная субстанция. Будучи частично минерализованным, он может содержать бактерии.

Механизм образования камней недостаточно понятен, однако известно, что этому способствует локальное повышение pH ротовой жидкости. Наиболее частой причиной повышения pH является действие уреазы, катализирующей гидролиз мочевины. Слюна выступает в качестве источника кальция и фосфора. В начальные этапы образования камней кристаллы апатита можно увидеть как снаружи, так и внутри бактерий. В составе камней можно обнаружить все типы кристаллов фосфорнокислых солей кальция. Часто камни являются причиной развития болезней парадонта.

Кариес зубов – первичное заболевание зубов множественной этиологии. Только 2% людей устойчивы к кариесу.

Первым проявлением кариеса является белый след на гладкой зубной поверхности. Он обусловлен оптическим эффектом увеличения рассеивания света эмалью из-за повышенной пористости зубов. Пористость вызывает кислота, проникающая в эмаль из зубной бляшки, которая примыкает к поверхности эмали. Процесс продолжается до достижения эмалево-дентинного контакта, а затем деминерализация идет в сторону пульпы и латерально, вокруг места повреждения. На этой стадии эмаль внешне кажется интактной, но по мере деминерализации на поверхности эмали возникает дефект, в который проникают микроорганизмы, продолжая свое разрушительное действие. Если процесс не приостановить, он достигает пульпы.

Дентин и пульпа, в отличие от эмали, имеют клетки, которые реагируют на повреждение. Ответ включает образование вторичного дентина, минерализацию дентиновых канальцев и воспаление пульпы. В результате патологический процесс может остановиться в своем развитии.

При рассмотрении срезов зубов толщиной 20–200 мкм в поляризационном микроскопе удастся проследить этапы развития кариозного процесса. На срезах можно увидеть несколько зон повреждения, которые отличаются пористостью, объемом пространств, доступных растворителям и молекулам разных размеров. При этом более удаленные участки от поверхности эмали сильнее повреждены, чем поверхностная зона толщиной 20–40 нм. Это связано прежде всего с тем, что поверхностная зона более устойчива к кислоте. Как уже отмечалось, она имеет меньше карбонатного апатита и больше фтора. Не менее важными являются физико-химические процессы, протекающие в этом слое эмали. Здесь идет активный противоток ионов кислоты (внутрь эмали) и ионов растворяющейся эмали (на поверхность), что ведет к обогащению поверхностного слоя ионами солей.

К ранним химическим изменениям в зоне повреждения относится потеря карбонатных ионов, ионов магния и кальция. Относительно возрастает количество фтора и органических веществ. Одновременно идет формирование новых кристаллов типа брушита, что свидетельствует о разворачивающихся процессах реминерализации.

Одна из первых теорий кариеса была выдвинута в 1890 г. Миллером. Она известна под названием химико-паразитической теории. С некоторыми дополнениями она доминирует и в настоящее время. Согласно этой теории механизм развития

кариеса состоит в том, что микроорганизмы на поверхности зубов продуцируют органические кислоты, в частности молочную, которая растворяет минеральные компоненты зубов. Среди других точек зрения можно назвать протеолитическую теорию, согласно которой ферменты бактерий растворяют органическую матрицу зубов. В соответствии с еще одной теорией, бактерии образуют хелаторы кальция, которые растворяют минеральные компоненты зубов.

Роль микроорганизмов. Основным источником молочной кислоты в ротовой полости считают лактобактерии – грамположительные бактерии, продуцирующие молочную кислоту. Правда, образовывать молочную кислоту могут и другие микроорганизмы, но лактобактерии устойчивы к таким значениям pH, при которых другие микроорганизмы не растут. Возможно, поэтому их можно встретить в зубных бляшках, где имеются условия для их роста.

При проведении массовых исследований предрасположенности к кариесу используется тест подсчета числа лактобактерий в слюне. Неблагоприятным признаком является превышение 10 000 бактерий/мл. Однако не всякие бактерии кариесогенны. Для этого они должны обладать следующими свойствами:

- используя углеводы, изменять pH до 4–5;
- синтезировать внутриклеточные запасы углеводов, чтобы использовать их при отсутствии углеводов в пище;
- синтезировать внеклеточные углеводы, обеспечивая тем самым прочное соединение клеток с зубной поверхностью.

Наряду с тем что правильное сбалансированное питание оказывает благоприятный эффект на развитие зубов и их обмен, продукты питания могут приводить к повреждению эмали. Это повреждающее действие может быть прямым или опосредованным, через влияние на развитие микрофлоры ротовой полости.

К настоящему времени накоплено больше всего доказательств относительно патогенетической взаимосвязи углеводов пищи и кариеса. К примеру, у эскимосов, питание которых состоит из мяса, рыбы и жиров, довольно редко встречается кариес. Переход их на «цивилизованную» диету приводит к увеличению повреждения зубов кариесом.

Существует параллель между распространением кариеса и количеством потребляемой сахарозы. Так, во время Второй мировой войны, когда количество потребляемой сахарозы

уменьшилось, уменьшилось и поражение кариесом. С другой стороны, у больных с врожденной недостаточностью фруктозо-1-фосфаталядозы (поэтому они не могут потреблять сахар, вызывающий у них диспепсические явления) кариес встречается очень редко.

Как известно, в состав сахарозы входят остатки глюкозы и фруктозы. Именно эти продукты высвобождаются в ходе ферментативного гидролиза сахарозы в ротовой полости.

У бактерий обмен сахарозы имеет свои особенности. У них функционируют два альтернативных пути использования ПВК (рис. 16.6): первый, хорошо известный путь восстановления в молочную кислоту и второй – разрушение ее на уксусную и муравьиную кислоту с помощью пируватформилиазы (ПФЛ).

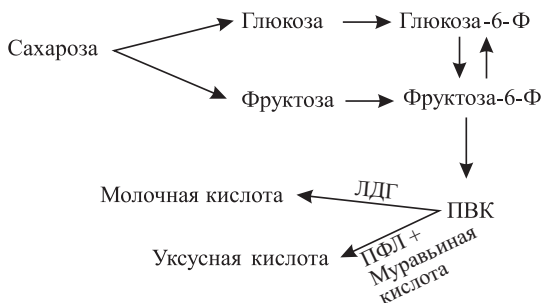


Рис. 16.6. Схема расщепления сахарозы под влиянием ферментов бактерий в полости рта

Лактатдегидрогеназа бактерий активируется высокими концентрациями фруктозо-1-6-дифосфата, а ПФЛ ингибируется высокими концентрациями глицеральдегид-3-фосфата. Это объясняет преимущественный синтез молочной кислоты при избыточном поступлении углеводов. При недостатке углеводов происходит индукция синтеза ПФЛ и ПВК превращается в ацетат и муравьиную кислоту, а не в лактат.

Второй особенностью метаболизма сахарозы бактериями полости рта является способность их синтезировать гликоген. Некоторые бактерии полости рта способны синтезировать гликоген при избытке углеводов. Механизм синтеза и распада гликогена бактериями подобен таковым у животных, за исключением того, что для синтеза используется не УДФ-производные глюкозы, а АДФ-производные.

Наиболее «преуспевают» в этом отношении стрептококки. Такой микроорганизм зубного налета, как *Streptococcus mitis*, может синтезировать гликоген в количестве до 37% от своей сухой массы. Гликоген используется этими бактериями для поддержки жизнеобеспечения в отсутствие углеводов.

Бактерии зубного налета могут использовать сахарозу и для синтеза внеклеточных полисахаридов. К примеру, фермент трансглюкозидаза (декстрансахараза) катализирует синтез декстрана (линейный полисахарид, состоящий из остатков глюкозы, связанных 1-6-гликозидными связями) путем переноса остатков глюкозы от сахарозы. Другой фермент, левансахараза, образует полисахарид леван из фруктозы (связывание посредством 1–2 гликозидных связей). Леваны легко растворимы и долго не задерживаются в зубном налете, а декстраны, особенно разветвленные, более устойчивы и составляют основу зубного налета. Эти полисахариды помогают бактериям занять определенное место в зубном налете и обеспечивают их адгезию к эмали. Поэтому уменьшение адгезии бактерий является важным средством борьбы с кариесом.

Предполагается, что ионы кальция обеспечивают связь поверхности апатитов эмали с полисахаридами бактерий. Это подтверждается тем, что ЭДТА, комплексон кальция, может вызывать дезагрегацию зубного налета. Не исключается также и участие водородных связей в процессах адгезии бактерий к поверхности зуба.

Существуют и другие способы взаимодействия бактерий с поверхностью зуба. Белки, ответственные за такое взаимодействие, получили название адгезинов. На присоединение бактерий к эмали зуба большое влияние оказывают белки слюны. Бактерии в ротовой полости покрыты мукопротеинами слюны. Например, белок MG₂ (68% углеводов) из слюны подчелюстной железы обладает способностью взаимодействовать со стрептококками и оксиапатитом.

Промывание зубного налета 5% раствором глюкозы вызывает падение pH уже в считанные минуты, создавая локальные условия для деминерализации. Минимум достигается через 10–12 мин после промывания. На восстановление pH требуется больше 1 ч времени. Надо сказать, что динамика изменения pH у разных людей различна. Она служит своеобразным тестом для разделения их на устойчивых и неустойчивых к кариесу.

Во всем мире сейчас выпускается большое количество разных веществ со сладким вкусом, что позволяет исключить из продуктов питания сахарозу. Чаще всего в качестве заменителя сахарозы используется сорбит и ксилоза.

Сорбит содержится во фруктах в малых количествах и синтезируется в тканях организма из глюкозы. Сорбит не вызывает значительного снижения pH в зубном налете. В то время как моносахариды подвергаются всасыванию в кишечнике путем активного транспорта, спирты всасываются пассивно и поэтому не полностью. Невсосавшийся сорбит (30%) оказывает осмотический послабляющий эффект. Максимально рекомендуемый прием сорбита составляет 150 мг/кг массы тела в день. Он используется как добавка в шоколад для диабетиков и для защиты зубов – в жевательной резинке. Адсорбированный сорбит превращается в сорбит-6-фосфат, а затем – во фруктозу-6-фосфат. Его энергетический эквивалент составляет 4 ккал/г.

Ксилит. Хотя этот сахар входит в состав овощей и фруктов, его производят путем каталитического превращения ксилозы, получаемой из ксиланов. Он подвергается незначительному превращению под действием бактерий зубного налета. Поэтому промывание зубного налета ксилитом, в отличие от глюкозы, не вызывает существенного падения pH, а у людей, потребляющих продукты с добавкой ксилита, отмечена меньшая заболеваемость кариесом. В ряде стран ксилит вытеснил сахарозу как сладкую добавку в напитках, мороженом и т.д. Подобно сорбиту, ксилит вызывает осмотическую диарею. Единственным ограничением к широкому использованию ксилита является его цена. Он в 10 раз дороже сахарозы.

Микроэлементы оказывают влияние на устойчивость зубов к кариесу. Так, фтор, например, имеет многоплановое действие. Кристаллы, содержащие фтор, более устойчивы к кислоте. Фтор ускоряет процессы реминерализации, обладает ингибирующим действием на рост бактерий. Молибден, ванадий также усиливают устойчивость зубов к кариесу, а селен, наоборот, снижает.

ГЛАВА 17

БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Краткое содержание главы

Клетки мозга отделены от прямого контакта с остальной частью тела **гистогематическими барьерами**. Среди них важнейшую роль в поддержании гомеостаза в нервной системе играет гематоэнцефалический барьер. Благодаря специфическому избирательному переносу молекул регулируется поступление субстратов для метаболизма в клетках мозга, для синтеза молекул-переносчиков информации и удаляются продукты метаболизма, а мозг ограждается от соединений, которые могли бы быть токсичны или влиять на передачу нервных импульсов.

Среди молекул – переносчиков информации наиболее хорошо изучены процессы метаболизма и функции «классических» **нейромедиаторов**. Они синтезируются в пресинаптическом пространстве из аминокислот и промежуточных субстратов гликолиза, цикла Кребса и хранятся в везикулах до поступления нервного импульса. Катехоламины (дофамин, норадреналин и адреналин) образуются из тирозина. Серотонин синтезируется из триптофана, а ацетилхолин – из ацетил-КоА и активной формы холина. Глутамат и его производное γ -аминомасляная кислота (ГАМК) синтезируются из α -кетоглутарата. Глицин в мозге образуется из серина. Большое количество кофакторов необходимо для синтеза нейромедиаторов, поэтому дефицит приридоксальфосфата, тиаминпирофосфата, витамина B_{12} , фолиевой кислоты может быть причиной неврологических дисфункций.

Метаболизм нервной ткани отличается высокой потребностью в глюкозе и кислороде. Их дефицит – причина функциональных нарушений мозга, поскольку уменьшается образование АТФ и поставка предшественников для синтеза нейромедиаторов. Ишемия является причиной повышения глутаматной эксайтотоксичности. Генерация оксида азота нарушает функции мозга и может привести к инсульту. Накопление свободных радикалов и изменение образо-

вания оксида азота — важные компоненты патогенеза многих нейродегенеративных заболеваний.

В клетках мозга синтезируется большинство собственных липидов. Туда проникают только поступающие с пищей незаменимые жирные кислоты. Оборот липидов в синаптической мембране отличается большой скоростью, поскольку нейрон должен заменять липиды, потерянные во время экзоцитоза.

Глиальные клетки формируют миелиновую оболочку, которая состоит в основном из липидов. Учитывая особенности синтеза липидов в мозге, этот орган чувствителен к нарушениям функции пероксисом (болезнь Рефзума) и лизосом (гликолипидозы и мукополисахаридозы).

Механизмы, ответственные за гибель нейронов при гипогликемической энцефалопатии, включают участие глутаматной эксайтотоксичности.

В основе развития болезни Альцгеймера лежит накопление β -амилоида и гиперфосфорилирование τ -белка.

При болезни Паркинсона нарушены механизмы защиты клеток от неправильно уложенных белков.

Увеличение образования цАМФ в нейронах является важным механизмом развития устойчивости к наркотикам и зависимости от них.

Клинико-лабораторное значение. Нервная система занимает лидирующие позиции в механизмах адаптации организма к изменению факторов внешней среды, обеспечивая адекватные изменения гомеостаза. Многие молекулярные процессы, протекающие в отдельных нейронах, уже достаточно хорошо изучены, что позволяет целенаправленно создавать лекарственные препараты, избирательно действующие на группы нейронов. Достигнуты определенные успехи в понимании патогенеза некоторых распространенных болезней нервной системы (болезнь Альцгеймера, паркинсонизм). Изучение процессов метаболизма наркотиков приблизило нас к пониманию механизмов патогенеза наркоманий. Делаются первые шаги к пониманию молекулярных основ когнитивных функций ЦНС.

Нервная система обеспечивает *восприятие, обработку и реализацию* полученной информации из внешней и внутренней среды, что способствует *адаптации* к постоянно меняющимся условиям. Она представляет иерархически организованную нервную ткань, которая пронизывает весь организм и связывает его в единое целое.

Основной структурно-функциональной единицей нервной системы является нейрон. Как правило, нейроны функционируют в составе сложных межнейрональных комплексов. Функциональная активность таких комплексов нейронов поддерживается другими клетками нервной системы – **глиальными клетками**: астроцитами и олигодендроцитами в центральной нервной системе, клетками Шванна в периферической нервной системе. Они обеспечивают механическую поддержку нейронов, поставляют им питательные вещества и синтезируют защитную миелиновую оболочку, которая окружает аксоны, отходящие от нейронов. Для обмена информацией между нейронами используются молекулы – переносчики информации. Выделяют несколько групп таких молекул: «классические» нейромедиаторы, регуляторные пептиды и нейротрофины.

Гистогематические барьеры мозга. ЦНС защищена от резких изменений внешней среды двумя основными барьерами: гематоэнцефалическим и гематоликворным. Кроме того, существует барьер, образованный эпителием паутинной оболочки, расположенной под твердой мозговой оболочкой. Площадь поверхности этого барьера значительно уступает по размерам площади поверхности других барьеров. Барьеры между кровеносными капиллярами и тканью мозга поддерживают выполнение клетками мозга многих важных функций. Основная роль в этом принадлежит гематоэнцефалическому барьеру. У него наибольшая площадь (10–20 м²). Практически каждый нейрон обслуживается своим собственным кровеносным сосудом.

Гематоэнцефалический барьер – полупроницаемый барьер между кровью и нервной тканью, препятствующий проникновению в мозг из крови крупных или полярных молекул и клеток и обеспечивающий специфический перенос молекул, поддерживающий гомеостаз мозга. Основной элемент структуры гематоэнцефалического барьера – эндотелиальные клетки. Особенностью церебральных сосудов является наличие плотных контактов между эндотелиальными клетками, которые формируют физический барьер. Кроме того, ферменты и транспортеры, встроенные в мембрану, вносят свой вклад в перенос молекул через мембрану.

Гематоэнцефалический барьер обеспечивает поддержание градиента ионов Na⁺ и K⁺, необходимых для проведения нервных импульсов и работы синапсов. Относительно не-

большие запасы субстратов, используемых в качестве источников энергии в нервной ткани, требует постоянной их доставки через гематоэнцефалический барьер. Многие компоненты крови могут оказывать неблагоприятный эффект на нейроны, и барьер не пропускает такие соединения. Например, содержание ионов K^+ , глутамата, глицина и других молекул, которые могли бы оказать токсическое действие на нейроны, в спинномозговой жидкости намного ниже (табл. 17.1).

Таблица 17.1. Концентрация в плазме и уровень в спинномозговой жидкости некоторых ионов и молекул у человека

Вещества	Единицы измерения	Плазма	Цереброспинальная жидкость	Соотношение
Na^+	mM	140	141	1
K^+	mM	4,6	2,9	0,63
Ca^{2+}	mM	5	2,5	0,5
Mg^{2+}	mM	1,7	2,4	1,4
Cl^-	mM	101	124	1,23
Глюкоза	mM	5	3	0,6
Аминокислоты				
Глутамат	μM	83	1,8–14,7	0,02–0,18
Глицин	μM	249	4,7–8,5	0,012–0,034
Таурин	μM	78	5,3–6,8	0,07–0,09
Аланин	μM	330	23,2–37,8	0,07–0,1
Белки				
Альбумин	мг/мл	42	0,192	0,005
Трансферрин	мг/мл	2,6	0,014	0,005
Фибриноген	мг/мл	325	0,00275	0,000008
Иммуноглобулины	мг/мл	9,87	0,012	0,001
α_2 -Макроглобулин	мг/мл	3	0,0046	0,0015

Плотные контакты, которыми соединены между собой клетки эндотелия, резко ограничивают перенос молекул. В структуре мембран, обращенных в просвет капилляра (люминальная поверхность) и базолатеральных мембран (обращенных к базальной мембране), функционирует большое чис-

ло специфических переносчиков, позволяющих клеткам, формирующим барьеры, выполнять их функции. Так, Na^+ -зависимые переносчики аминокислот удаляют аминокислоты из мозга, предотвращая их чрезмерное накопление. Облегченная диффузия обеспечивает поступление незаменимых аминокислот и глюкозы в мозг и удаление некоторых аминокислот в кровь. Причем в мозге транспорт глюкозы осуществляет белок – переносчик Глют1. Из спинномозговой жидкости глюкоза поступает в нейрон при участии другого переносчика – Глют3. В микроглии для этих целей синтезируется Глют5. Ионные транспортеры регулируют распределение ионов K^+ и Na^+ вне клеток и внутриклеточный pH. Опосредуемый рецепторами транспорт обеспечивает поступление необходимых белков и сигнальных молекул в мозг (например, инсулиновый рецептор, рецептор трансферрина). При физиологических значениях pH гликокаликс люминальной мембраны приобретает отрицательный заряд, что способствует поступлению катионов в клетки путем неспецифического транцитоза.

Одноосновные карбоновые кислоты – L-лактат, ацетат, пируват, кетоновые тела (ацетоацетат и β -гидроксибутират) транспортируются отдельной специфической системой, которая работает медленнее, чем транспортная система для глюкозы. Во время голодания, когда уровень кетоновых тел в крови повышается, их перенос активизируется. Кетоновые тела – важный источник энергии для мозга у новорожденных и у взрослых во время длительного голодания (более 48 ч).

Синтез и судьба нейромедиаторов. В работе нейрона важная роль отводится обмену информацией между клетками. Как правило, такой перенос обеспечивается специфическими молекулами. Выделяют несколько групп таких молекул:

- «классические» нейромедиаторы;
- регуляторные пептиды;
- нейротрофины.

Нейромедиаторы – наиболее хорошо изученная группа молекул, с помощью которых происходит обмен информацией между нейронами или между нейронами и клетками-мишенями. К ним относятся глутамат, γ -аминомасляная кислота (ГАМК), глицин, ацетилхолин, дофамин, норадреналин, серотонин, гистамин, адреналин, аспартат и оксид азота.

Регуляторные пептиды – самая многочисленная группа молекул, участвующих в переносе информации. Нейропептиды синтезируются нервными клетками. Некоторые из них дей-

ствуют в пределах ЦНС, например эндорфины, опиоидные пептиды, блокирующие сигналы боли, тогда как другие попадают в кровоток и действуют на расстоянии, выполняя функции гормонов (гормон роста, тиреотропный гормон, вазопрессин). Большинство нейропептидов синтезируются в виде молекул-предшественников, которые подвергаются ограниченному протеолизу с образованием функционально активной молекулы.

Большинство нейромедиаторов синтезируется из аминокислот, метаболитов гликолиза и цикла Кребса в цитозоле пресинаптической клетки. Некоторые нейромедиаторы помимо нейронов синтезируются другими клетками (например, адреналин, серотонин, гистамин). Скорость синтеза определяется скоростью его использования. Общая схема этапов передачи информации с одного нейрона на другой или на другую клетку при участии нейромедиатора показана на рис. 17.1. Деполаризация мембраны, связанная с потенциалом действия, вызывает открытие потенциалзависимых кальциевых каналов. Ионы кальция входят в пресинаптический отдел аксона и запускают механизм слияния синаптических пузырьков с мембраной. Содержимое синаптического пузырька поступает в синаптическую щель, и нейромедиатор связывается с белками – рецепторами постсинаптической мембраны. Если такими являются ионные каналы, то эффектом действия медиатора будет изменение мембранного потенциала постсинаптической мембраны и передача нервного импульса по другому нейрону. В случае метаботропного рецептора запускается механизм внутриклеточной трансдукции сигнала. Действие медиатора кратковременно. Он может разрушаться специфическими ферментами, связываться и перемещаться при участии белков-переносчиков через постсинаптическую мембрану (прямой захват) и/или в обратном направлении через пресинаптическую мембрану (обратный захват). Часть молекул медиатора переходит в нейроглиальные клетки.

Дофамин, норадреналин и адреналин. Эти три нейромедиатора синтезируются по одному общему пути из L-тирозина. Тирозин поставляется с пищей или синтезируется в печени из незаменимой аминокислоты фенилаланина под действием гидроксилазы фенилаланина.

Первым и, одновременно, лимитирующим скорость всего процесса этапом синтеза этих нейромедиаторов является гидроксилирование кольца тирозина гидроксилазой тирозина.

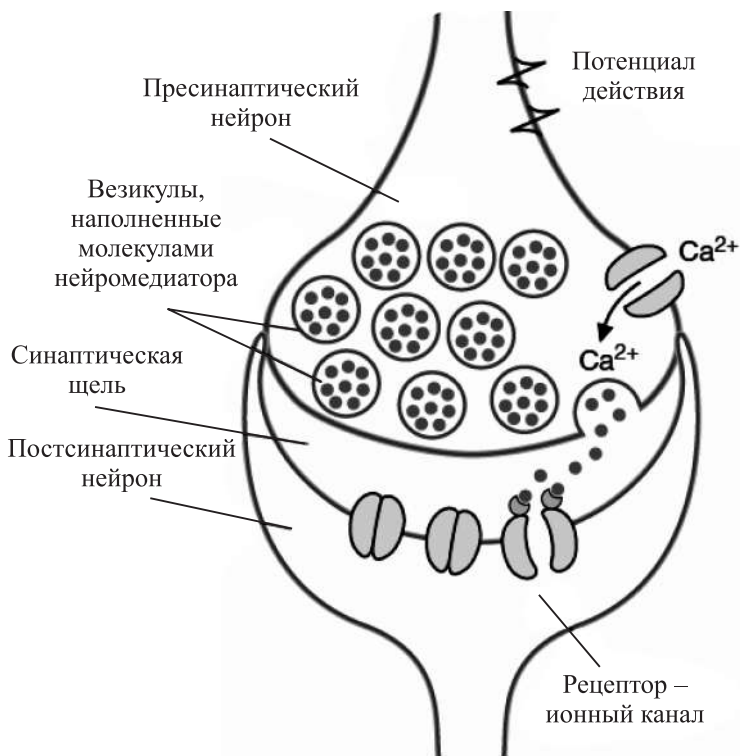


Рис. 17.1. Схема строения синапса

Продукт реакции – дигидроксифенилаланин (ДОФА) (рис. 17.2). Фенольное кольцо с двумя смежными ОН группами называют катехолом, поэтому дофамин, норадреналин и адреналин называют катехоламинами. Второй шаг в синтезе катехоламина – декарбоксилирование ДОФА с образованием дофамина. Коферментом этой декарбоксилазы является пиридоксальфосфат. В дофаминергических нейронах (нейроны, использующие дофамин как нейромедиатор) процесс на этом завершается, поскольку в них отсутствуют ферменты для последующих этапов превращений.

Нейроны, в которых образуется норадреналин, синтезируют его из дофамина путем гидроксилирования при участии β -гидроксилазы дофамина (см. рис. 17.2). Донором электронов в этом ферменте выступает аскорбиновая кислота (вита-

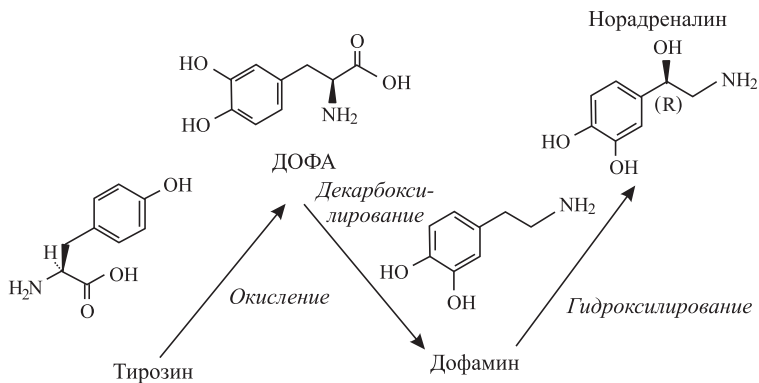


Рис. 17.2. Реакции синтеза катехоламинов

мин С), а ионы меди (Cu^{2+}) служат в качестве их промежуточного переносчика.

Хотя главным местом синтеза адреналина является мозговое вещество надпочечников, он также синтезируется некоторыми нейронами. В них имеются все вышеупомянутые ферменты для синтеза норадреналина, а также фермент, катализирующий перенос метильной группы S-аденозилметионина (SAM) на норадреналин с образованием адреналина. Для прохождения этой реакции необходимы витамины B_{12} и фолиевая кислота.

Превращение тирозина в L-ДОФА и затем в дофамин протекает в цитозоле. Затем катехоламины транспортируются в везикулы при участии специального белка-переносчика (VMAT-2) (рис. 17.3). Там происходит заключительная реакция β -гидроксилирования. Везикулы являются местом хранения катехоламинов. Механизм, который обеспечивает их концентрацию там, включает АТФ-зависимый протонный насос (вторичный активный транспорт). Протоны закачиваются в везикулы и обмениваются на положительно заряженный катехоламин. В пузырьках катехоламины образуют комплекс с АТФ и кислыми белками – хромогранинами.

Когда потенциал действия достигает нервного окончания, открываются кальциевые каналы, и поступающий Ca^{2+} способствует слиянию везикул с пресинаптической мембраной. Везикулы высвобождают свое содержимое (нейромедиаторы, АТФ, хромогранины и β -гидроксилазу дофамина) во внешнюю среду путем экзоцитоза и таким образом передают сигнал другим нейронам.

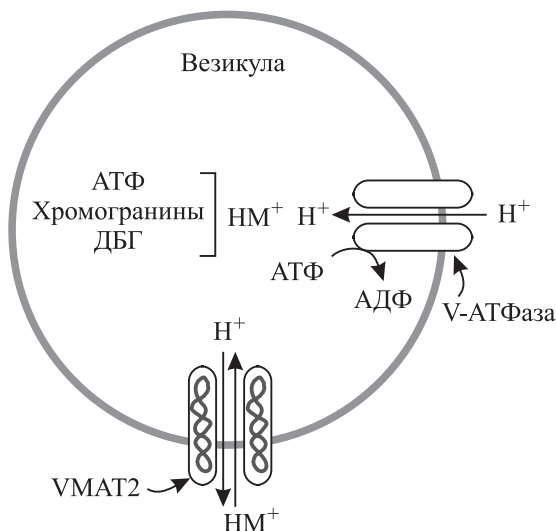


Рис. 17.3. Поступление катехоламинов в везикулы:

VMAT-2 – белок – переносчик катехоламинов; ДБГ – β -гидроксилаза дофамина;
 НМ^+ – нейромедиатор

Завершение действия катехоламинов обеспечивается обратным захватом в пресинаптическую мембрану. Там и в прилежащих клетках (глиальных, эндотелиальных) находятся ферменты, разрушающие катехоламины (рис. 17.4).

Действие MAO и КОМТ может проходить в любом порядке и приводит к образованию большого количества продуктов распада и промежуточных метаболитов, многие из которых выделяются с мочой. Цереброспинальная гомованилилиндаловая кислота служит индикатором распада дофамина. Ее концентрация снижается у больных с болезнью Паркинсона.

Регуляция синтеза катехоламинов осуществляется путем скоординированной с деполяризацией нервного окончания регуляцией активности гидроксилазы тирозина, ключевого фермента этого процесса. Он ингибируется свободными цитозольными катехоламинами, которые конкурируют на связывающем участке фермента за кофактор птерин (тетрагидробиоптерин). Деполяризация нервного окончания, наоборот, активирует гидроксилазу тирозина. Сначала активируются протеинкиназы C, A и Ca^{2+} -кальмомодулинзависимые киназы. Они катализируют фосфорилирование гидроксилазы тирозина.

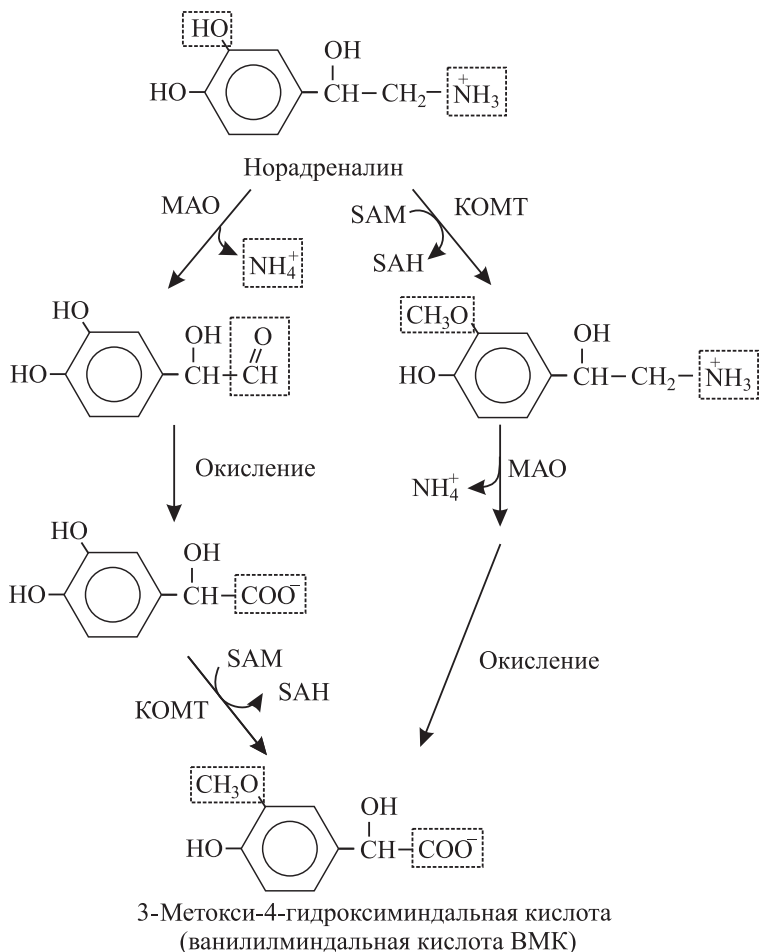


Рис. 17.4. Пути распада катехоламинов:
 MAO – моноаминоксидаза; KOMT – катехол-О-метилтрансфераза; SAM – S-аденозилметинин

Долговременная регуляция включает изменение количества гидроксилазы тирозина и дофамин- β -гидроксилазы в нервных окончаниях. Когда симпатическая нейронная активность увеличена в течение длительного периода времени, количество мРНК, кодирующей гидроксилазу тирозина и дофамин- β -гидроксилазу, увеличивается. Вновь синтезируемые

ферменты затем транспортируются вниз по аксону к нервным окончаниям.

Метаболизм серотонина. Путь синтеза серотонина из триптофана подобен синтезу норадреналина из тирозина (рис. 17.5). Первый фермент процесса, гидроксилаза триптофана, использует ферментативный механизм, подобный тирозингидроксилазе. Второй этап – реакция декарбоксилирования, катализируется тем же ферментом, который декарбоксилирует ДОФА. Серотонин, как и катехоламины, инактивируется MAO.

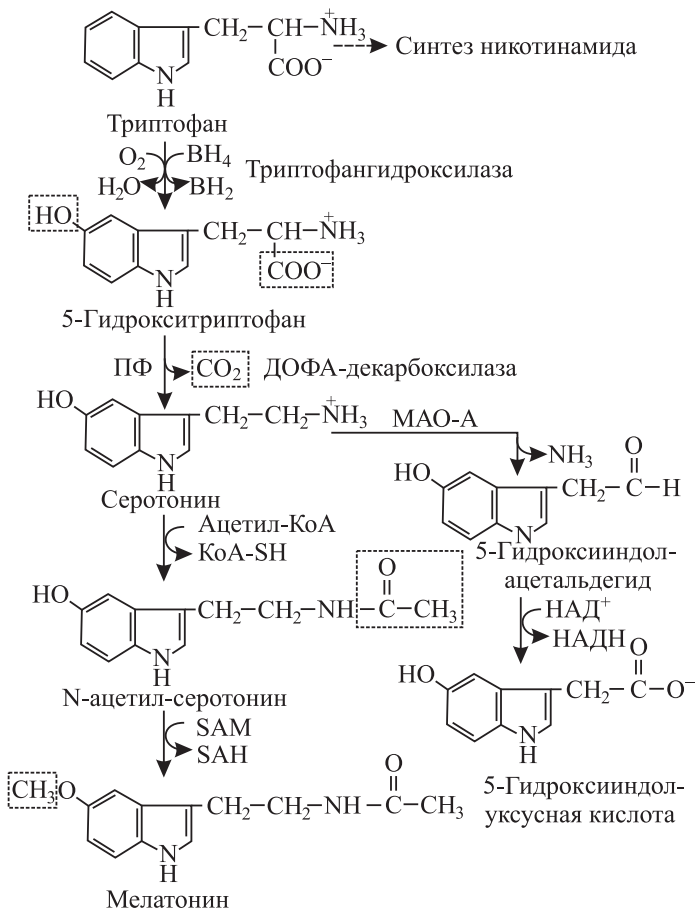


Рис. 17.5. Синтез и распад серотонина

В эпифизе серотонин может ацетилироваться и затем, после метилирования N-ацетил-серотонина образуется мелатонин – соединение с широким спектром действия (см. рис. 17.5).

Метаболизм гистамина. В образовании гистамина в ЦНС участвуют тучные клетки и некоторые нейроны. В частности, гистаминергические нейроны у человека найдены в одном из ядер гипоталамуса.

Гистамин синтезируется из гистидина с помощью декарбоксилазы гистидина, пиридоксальфосфат-зависимого фермента (рис. 17.6). Как и другие нейромедиаторы, синтезированный нейронами гистамин запасается в везикулах нервных

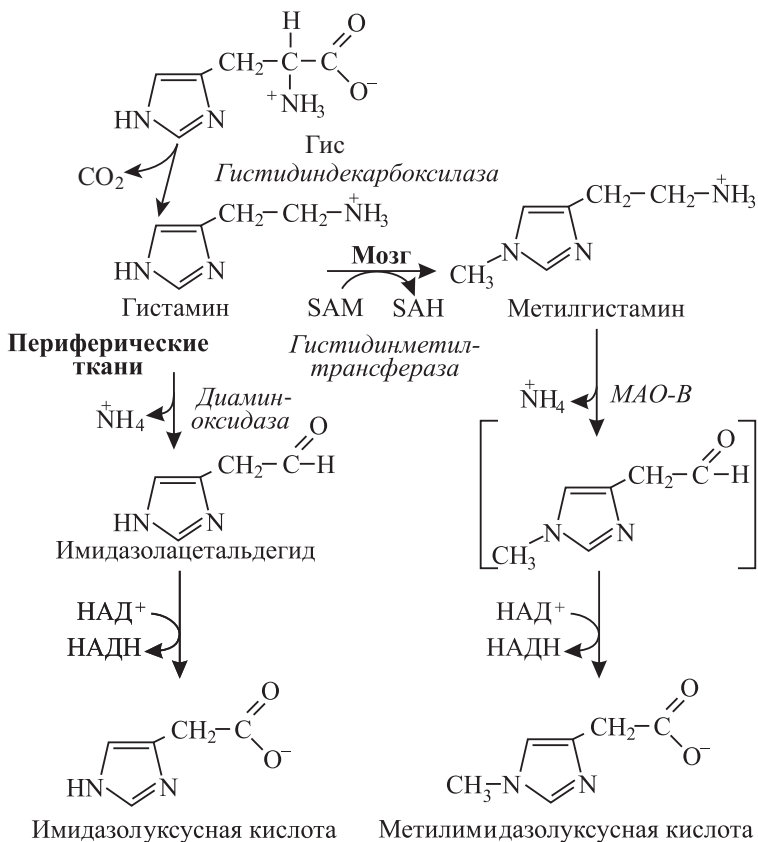


Рис. 17.6. Реакции синтеза и распада гистамина

окончаний. Высвобождение его оттуда происходит таким же механизмом, как и катехоламинов.

Секретируемый нейронами гистамин, как полагают, активирует постсинаптические и пресинаптические рецепторы. В отличие от других нейромедиаторов гистамин, по-видимому, не захватывается обратно в пресинаптическую мембрану. Однако у астроцитов обнаружена специфическая высокоаффинная система захвата гистамина. Предполагается, что эти клетки могут быть главным местом инактивации и распада этого моноамина.

Первый шаг на пути инактивации гистамина в мозге – метилирование (см. рис. 17.6). Фермент метилтрансфераза гистамина переносит метильную группу от SAM на атом азота в гетероцикле гистамина, образуя метилгистамин. Второй этап – окисление под действием фермента – МАО-В.

Ацетилхолин. Синтез ацетилхолина из ацетилКоА и холина катализируется холинацетилтрансферазой (рис. 17.7). Эта реакция протекает в пресинаптической мембране. Продукт запасается в везикулах и затем выделяется с помощью кальций-

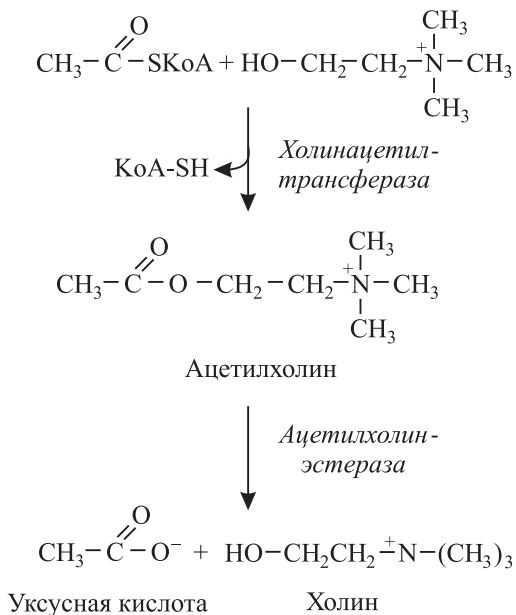


Рис. 17.7. Реакции синтеза и распада ацетилхолина

зависимого экзоцитоза. Холин поступает в пресинаптический терминал из крови при участии низкоаффинной транспортной системы (высокие значения K_m) и из синаптической щели механизмом высокоаффинного транспорта (низкие значения K_m).

Единственный путь образования холина в организме человека — это последовательное присоединение трех метильных групп, донором которых является SAM, к фосфатидилхолину. Впоследствии фосфатидилхолин гидролизуются с образованием холина или фосфохолина. Эндогенно образуемый холин не может полностью удовлетворить потребность в нем. Поэтому его относят к относительно незаменимым факторам питания.

Ацетильная группа для синтеза ацетилхолина образуется преимущественно при окислении глюкозы до пирувата и последующем окислительном декарбоксилировании его с образованием ацетил-КоА. Пируватдегидрогеназный комплекс ферментов, который катализирует этот процесс, локализован в митохондриях. Оттуда ацетильный остаток транспортируется в цитозоль в составе цитрата. В цитозоле цитрат распадается с образованием ацетил-КоА и оксалоацетата.

Разрушается ацетилхолин с помощью ацетилхолинэстеразы. Фермент ингибируется многими фармакологическими препаратами и нейротоксинами. Ацетилхолин — главный нейромедиатор нервно-мышечной передачи. Результатом неспособности разрушить эту молекулу является постоянная активация нервно-мышечных синапсов, что может привести к развитию паралича.

Глутамат и ГАМК. Глутаминовая кислота является нейромедиатором ЦНС. Ее поступление в клетки ЦНС ограничивается гематоэнцефалическим барьером, и нейроны синтезируют ее de novo из α -кетоглутаровой кислоты или глутамина.

Глутамат образуется непосредственно из α -кетоглутаровой кислоты, являющейся метаболитом цикла Кребса (рис. 17.8). Это может происходить несколькими путями. Во-первых, α -кетоглутарат восстанавливается с помощью глутаматдегидрогеназы и одновременно аминирован, используя свободный аммиак. Источником аммиака для этого служит распад аминокислот или нейромедиаторов. Аммиак также диффундирует через гематоэнцефалический барьер. Во-вторых, глутамат образуется путем переаминирования, при котором аминокислотная группа переносится от других аминокислот на α -кетоглутарат.

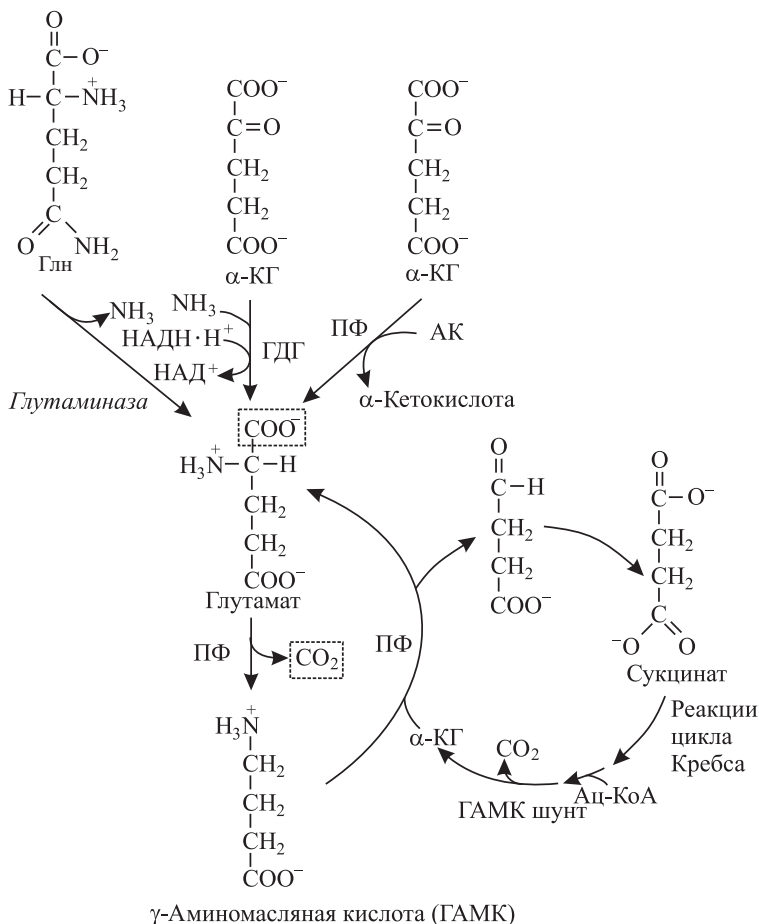


Рис. 17.8. Реакции обмена глутаминовой кислоты в нервной ткани

В-третьих, глутамат может синтезироваться из глутамина. Эту реакцию катализирует глутаминаза.

Использование α -кетоглутаровой кислоты на синтез глутамата сопряжено с расходом и затруднением работы цикла Кребса. В этих условиях для обеспечения бесперебойного функционирования цикла действуют два анаплеротических механизма, которые восполняют фонд оксалоацетата. (1) Благодаря пируваткарбоксилазной реакции ЩУК образуется из пирувата, а (2) распад аминокислот с разветвленной цепью

(валина и изолейцина) служит источником сукцинил-КоА, который под влиянием ферментов цикла Кребса превращается в ЦУК.

Подобно другим нейромедиаторам, глутамат запасается в везикулах, и его высвобождение регулируется ионами Ca^{2+} . Удаляется он из синаптической щели высокоаффинной системой захвата, функционирующей в нервных окончаниях и глиальных клетках.

При декарбоксилировании глутамата образуется ГАМК (γ -аминомасляная кислота) – главный нейромедиатор торможения в ЦНС. Реакцию катализирует декарбоксилаза глутаминовой кислоты (ДГК). Фонд ГАМК и ее предшественника, глутаминовой кислоты, поддерживается в ЦНС благодаря системе химических превращений, названных шунтом ГАМК (см. рис. 17.8). Суть их сводится к взаимодействию ГАМК с α -кетоглутаратом, в ходе которого образуются глутамат и альдегид янтарной кислоты. Альдегид затем превращается в янтарную кислоту, а та – в α -кетоглутарат. Поскольку основное количество ГАМК поглощается глиальными клетками, именно там образуется глутамат, который превращается в глутамин. Глиальные клетки лишены глутаматдекарбоксилазы и не могут синтезировать ГАМК. Поэтому глутамин транспортируется из глиальных клеток в нейроны, где он вновь превращается в глутамат, из которого образуется ГАМК.

Другие нейромедиаторы. Аспартат, подобно глутамату, является нейромедиатором, но функционирует он в гораздо меньшем количестве нейронов. Он синтезируется из метаболита цикла Кребса – оксалоацетата путем переаминирования. Потери оксалоацетата в цикле Кребса возмещаются при участии анаплеротических реакций. Аспартат не проходит через гематоэнцефалический барьер.

Глицин – главный медиатор торможения в спинном мозге. Его образование в нервных окончаниях протекает *de novo*, из серина, при участии серингидроксиметилтрансферазы. Коферментом является активная форма фолиевой кислоты. Аминокислота серин в свою очередь образуется из метаболита гликолиза-3-фосфоглицерата.

Оксид азота (NO) – биологический посредник множества физиологических реакций, включая передачу нервного импульса. NO образуется из аргинина в реакции, катализируемой NO синтазой.

В клетках-мишенях NO активирует растворимую гуанилатциклазу, которая способствует увеличению уровня цГМФ. В гладкомышечных клетках цГМФ активизирует одну или более протеинкиназ, которые ответственны за расслабление гладких мышц и последующее расширение сосудов (рис. 17.9). Именно этот механизм лежит в основе стимулирующего действия NO на эрекцию. Наполнение кровью кавернозных тел происходит в результате гладкомышечного расслабления.

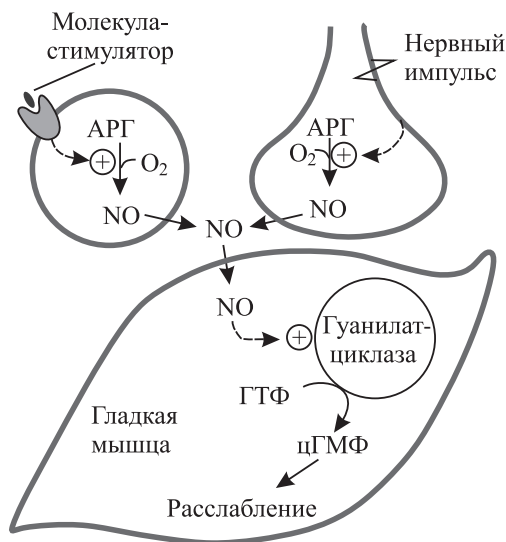


Рис. 17.9. Роль NO в нейронах

Метаболические энцефалопатии и невропатии. Мозг абсолютно зависим от доставки кровью кислорода и глюкозы. Он потребляет почти 20% поступающего в организм кислорода, 0,3–0,35 мкмоль глюкозы/г · мин. Даже во время длительного ограничения пищи, когда в качестве источника энергии могут использоваться кетоновые тела, они не могут полностью заменить глюкозу. Запасы глюкозы в мозге составляют 2,0–3,5 мкмоль/г, а гликогена (хранится в астроцитах) – 2,5–5,5 мкмоль/г. Мозг взрослого человека потребляет до 70% глюкозы, выделяемой печенью. Анаэробный гликолиз с его энергетическим выходом не может удовлетворить потребности мозга в АТФ. Этого можно достигнуть только путем пол-

ного окисления глюкозы до CO_2 (Глюкоза \rightarrow Пируват \rightarrow Ацетил-КоА \rightarrow Цикл Кребса).

Гипогликемическая энцефалопатия является результатом продолжительной гипогликемии, которая развивается, например, при наличии опухоли, клетки которой продуцируют инсулин или инсулиноподобные факторы роста, а также при хроническом алкоголизме. Клинически это состояние проявляется повышенным потоотделением, учащенным пульсом, беспокойством и ощущением голода. При прогрессировании возникает коматозное состояние. Снижение синтеза нейромедиаторов при умеренной гипогликемии или умеренной гипоксии способствует развитию симптомов, свойственных дефициту АТФ (рис. 17.10).

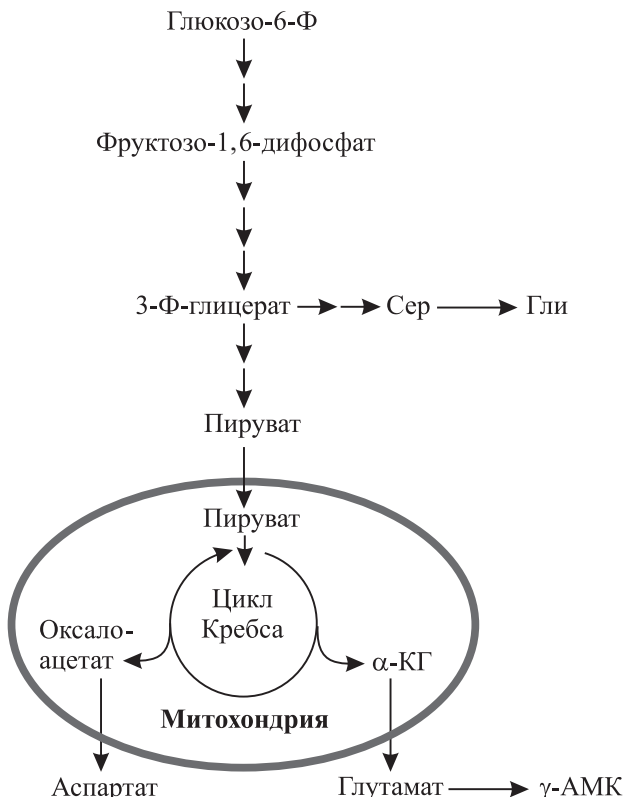


Рис. 17.10. Связь между обменом глюкозы и основных нейромедиаторов

Продолжительная гипогликемия может привести к необратимому повреждению головного мозга. При снижении концентрации глюкозы в плазме крови ниже 2,5 ммоль/л использование глутамата и метаболитов цикла Кребса в качестве источника энергии частично компенсирует имеющийся дефицит. Однако количество этих соединений незначительно, и они быстро расходуются. Если уровень глюкозы крови продолжает падать до 1 ммоль/л и ниже, запасы АТФ полностью исчезают, и наступает гибель нейронов. Наиболее уязвимы гипокамп и корковые структуры. Патофизиологические механизмы, ответственные за нейронную смерть клетки при гипогликемии, включают участие глутаматной эксайтотоксичности.

Это явление развивается, когда исчерпаны запасы энергии и страдает механизм энергозависимого обратного захвата медиаторов. В результате нарастает уровень глутамата в синаптической щели, что приводит к чрезмерной стимуляции постсинаптических глутаматных рецепторов. Это в свою очередь сопровождается длительным открытием ионных каналов и поступлением в клетку большого количества Ca^{2+} , который активирует цитотоксические пути в постсинаптическом нейроне. С такого рода молекулярными событиями связывают патогенез рассеянного склероза, болезни Альцгеймера, амиотрофического латерального склероза, болезни Паркинсона, болезни Гентингтона.

Гипоксическая энцефалопатия. В результате экспериментальных исследований, проведенных на добровольцах, было установлено, что дисфункция познавательной деятельности страдает даже в условиях мягкой гипоксии (PaO_2 – 25–40 мм рт. ст.). Примечательно, что при этом парциальном давлении кислорода еще отсутствуют нарушения энергетического обмена мозга. Снижение познавательной функции связывают с ослаблением синтеза нейромедиаторов. В основе лежит накопление в нейронах $\text{НАДН} \cdot \text{H}^+$, поскольку он не может полноценно окисляться ферментами цепи тканевого дыхания (для этого требуется кислород). В результате ингибируется пируватдегидрогеназный комплекс и закономерно снижается синтез ацетилхолина. Ингибируются также ферменты цикла Кребса, в результате страдает синтез глутамата и ГАМК. Снижение образования катехоламинов происходит вследствие того, что для обеспечения работы ключевого фермента этого процесса – тирозингидроксилазы также требуется кислород.

Липиды и белки в клетках нервной системы. Синтез и распад липидов в клетках нервной системы имеет ряд особенностей по сравнению с большинством других тканей. В пресинаптической мембране состав липидов очень быстро изменяется, так как везикулы, содержащие нейромедиатор, сливаясь с ней, приносят сюда липиды. С другой стороны, части мембраны теряются в форме эндоцитозных пузырьков. В постсинаптической мембране содержится много фосфатидилинозитола.

Еще одна важная особенность состоит в том, что гематоэнцефалический барьер ограничивает поступление в мозг извне заменимых жирных кислот, таких как пальмитат. Наоборот, незаменимые жирные кислоты (линолевая и линоленовая) проникают в клетки мозга, где они удлиняются или десатурируются. Такое избирательное поступление жирных кислот в ЦНС недостаточно для удовлетворения энергетических потребностей нервных клеток, следствием чего стратегическую значимость приобретает аэробный метаболизм глюкозы.

В клетках нервной системы развиты пути синтеза собственных липидов (холестерола, жирных кислот, гликофинголипидов, фосфолипидов). В нейронах могут синтезироваться длинноцепочечные жирные кислоты (больше 20 углеродов), играющие главную роль в формировании миелина. Поэтому для мозга представляет особую значимость β -окисление жирных кислот с длинным углеводородным радикалом в пероксисомах. Отсюда становится понятно, почему болезнь Рефзума, для которой характерно нарушение биогенеза пероксисом и неспособность метаболизировать длинноцепочечные жирные кислоты и жирные кислоты с разветвленной цепью, проявляется неврологической симптоматикой, указывающей на поражение клеток мозга.

Для обеспечения нейронной передачи сигналов глиальные клетки бесперебойно образуют миелин. Миелин представляет собой многослойную мембрану, которая окружает аксоны нейронов. В ПНС миелинизацию аксона обеспечивает клетка Шванна. Многократно обертываясь вокруг одного аксона, она образует многослойную мембранную оболочку. В ЦНС миелинизацию осуществляют олигодендроциты. В отличие от клетки Шванна, олигодендроциты могут миелинизировать участки многих аксонов (до 40).

Чтобы поддерживать структуру миелина, в олигодендроците за сутки синтезируется количество липидов, которое в 4 ра-

за превышает его собственную массу. Цереброзиды составляют приблизительно 16% общих липидов миелина и почти полностью отсутствуют в других типах мембран клетки. Преобладающий цереброзид, галактозилцереброзид, содержит остаток моносахарида, связанный с гидроксильной группой сфингозина. Белое вещество мозга содержит значительно больше миелина, чем серое вещество; наличие миелиновых оболочек ответственно за характерные различия в цвете, которые существуют между двумя типами мозговой ткани. Миелин организован в плотно упакованную структуру благодаря гидрофобному взаимодействию между липидами и белками.

Белки миелина центральной и периферической нервных систем различаются. В ЦНС два белка составляют от 60 до 80% всех белков миелина: так называемые протеолипид миелина и основные белки миелина. Протеолипид миелина – гидрофобный белок с молекулярной массой 30 000 дальтон. Он формирует большие агрегаты в водном растворе и относительно устойчив к расщеплению. Его аминокислотная последовательность схожа у разных видов животных, а основная функция, как предполагают, состоит в стабилизации многослойной структуры миелина.

Основные белки миелина – это целое семейство растворимых в воде белков, которые расположены на цитоплазматической поверхности миелиновых мембран. Антитела к этим белкам вызывают развитие экспериментального аллергического энцефаломиелимита, который используется в качестве модельной системы для изучения одного из демиелинизирующих заболеваний – рассеянного склероза.

В миелине периферической нервной системы наибольшую долю (около 50%) занимает белок Р₀ – гликопротеин, подобный протеолипиду миелина ЦНС. Основные белки миелина также найдены в структуре миелина периферической нервной системы.

Болезнь Альцгеймера. Болезнь Альцгеймера – тяжелое нейродегенеративное заболевание, сопровождающееся быстро прогрессирующей деменцией вплоть до полной потери памяти (в основном, краткосрочной) и неспособностью ориентироваться в окружающем мире. Характерный признак болезни – образование плотных внеклеточных отложений («сенильные бляшки»), расположенных вдоль аксонов и в стенках кровеносных капилляров.

Основным компонентом бляшек является агрегированный β -амилоидный пептид (40–42 аминокислоты), который составляет до 25% сухого веса бляшки. Он высвобождается в результате протеолиза белка-предшественника (APP) и способен к образованию крупных не растворимых в воде агрегатов.

APP – это трансмембранный белок, состоящий из 770 аминокислотных остатков. Он может распадаться двумя путями (рис. 17.11). Первый включает α -секретазу, действие которой приводит к образованию растворимых в воде пептидов, и они удаляются из мембраны. По второму пути, играющему относительно небольшую роль в норме, происходит образование амилоидного β A-белка или пептидов, содержащих в своем составе полную аминокислотную последовательность β A-белка. Пептиды образуются в небольших количествах и могут разрушаться, не формируя агрегатов. Однако при определенных условиях этот путь усиливается, и тогда возможно образование агрегатов этого белка. Такими условиями могут быть генетическая предрасположенность (мутации гена, кодирующего APP, наличие аллеля e-4 гена аполипопротеина E), эпигенетические факторы (травмы головного мозга, гипоксия мозга).

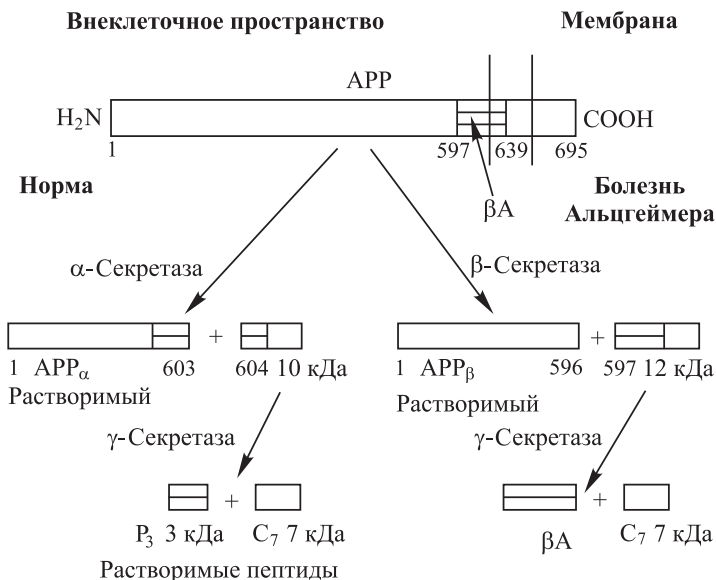


Рис. 17.11. Распад белка – предшественника (APP) β -амилоидного пептида (β A)

Накопление βА-белка или фрагментов, содержащих этот белок, нарушает внутриклеточный гомеостаз Ca^{2+} в нейронах. Это может быть следствием изменения работы потенциал-зависимых кальциевых каналов и рецепторов глутамата. Повышение активности калмодулин-зависимых протеинкиназ, вызванное высоким уровнем ионов Ca^{2+} внутри клеток, способствует фосфорилированию одного из белков цитоскелета – тау-белка (τ-белка) и образованию внутриклеточных фибриллярных сплетений. Многолетнее накопление βА и нейрофибриллярных сплетений с участием τ-белка может быть основой образования бляшек, характерных для болезни Альцгеймера, которые нарушают функции нейронов и могут вызывать их гибель.

Болезнь Паркинсона («дрожательный паралич»). Это широко распространенное нейродегенеративное заболевание впервые было описано в 1817 г. английским врачом Джеймсом Паркинсоном. По данным ООН, паркинсонизмом страдают свыше 4 млн людей. Как и другие нейродегенеративные расстройства, паркинсонизм встречается не только у людей пожилого возраста. Почти у 50% больных симптомы паркинсонизма появились задолго до 60 лет.

Характерными признаками паркинсонизма являются двигательные расстройства: дрожание (тремор) пальцев рук, нижней челюсти и языка, головы и век, замедленность движений, скованность туловища, затрудненность в начале и остановке движения, нарушение координации и пр. У некоторых больных возникают проблемы с речью, сном, мочеиспусканием. Такие явления связаны с гибелью нервных клеток, в первую очередь нейронов черной субстанции, вырабатывающих дофамин. Эти нейроны служат основным компонентом базальных ганглиев, сложных структур в глубине головного мозга, отвечающих за координацию и тонкую регуляцию движений. Больше всего страдают те клетки черной субстанции, которые контролируют произвольные движения и настроение.

Вначале последствия гибели нейронов в этой области компенсируют другие нейроны, но когда доля утраченных клеток достигает 50–80%, незатронутые области головного мозга не справляются с перегрузкой. С этого момента части головного мозга, тоже вовлеченные в регуляцию двигательной активности, в том числе остальная часть базального ганглия, таламус и кора головного мозга, перестают работать согласованно, и движения становятся неконтролируемыми.

Несмотря на то что от описания болезни прошло уже почти два века, успехи в лечении или предотвращении этого заболевания невелики. Правда, за последние 10 лет появились данные, позволяющие с оптимизмом смотреть в будущее. Этому способствовало открытие белков, связанных с развитием паркинсонизма. Хотя паркинсонизм является в основном спорадическим заболеванием, проведенные наблюдения за наследуемыми его формами (а таких всего около 5%) позволили открыть белки, причастные к его развитию.

При исследовании клеток черного тела у людей, умерших от паркинсонизма, в них обнаруживаются белковые включения (тельца Леви). Впервые они были описаны немецким патологоанатомом Леви в 1912 г.

В 1997 г. в США сотрудник Национального центра здоровья Михаэль Полимеропулос (Mihael H. Polymeropoulos) при обследовании членов итальянских и греческих семей, страдавших наследственной формой паркинсонизма, обнаружил мутацию в гене, кодирующем белок α -синуклеин. Мутация наследовалась по аутосомно-доминантному типу. Оказалось, что нормальная и мутантная формы этого белка обладали способностью легко образовывать агрегаты и входили в состав телец Леви в дофаминпродуцирующих клетках черной субстанции при болезни Паркинсона.

α -Синуклеин – небольшой белок, состоящий из 144 аминокислот. Его функция недостаточно изучена. Предполагается, что он участвует в обмене сигналами между нейронами. Мутации в его гене приводят к минимальным изменениям в аминокислотной последовательности белка. В настоящее время идентифицированы несколько таких мутаций, две из них приводят к единичным аминокислотным заменам. Экспериментально на моделях показано, что если мутантный α -синуклеин образуется в нейронах черной субстанции в больших количествах, то происходит их дегенерация и возникают двигательные расстройства. Мутантные формы α -синуклеина неспособны формировать нативную пространственную структуру и образуют агрегаты – тельца Леви (рис. 17.12). Кроме того, такие белки ингибируют активность убиквитин-протеасомной системы и не разрушаются. Более того, избыточное образование α -синуклеина также проявляется симптомами, характерными для болезни Паркинсона.

Аутосомно-рецессивная форма болезни Паркинсона может быть следствием мутации в гене, кодирующем другой белок –

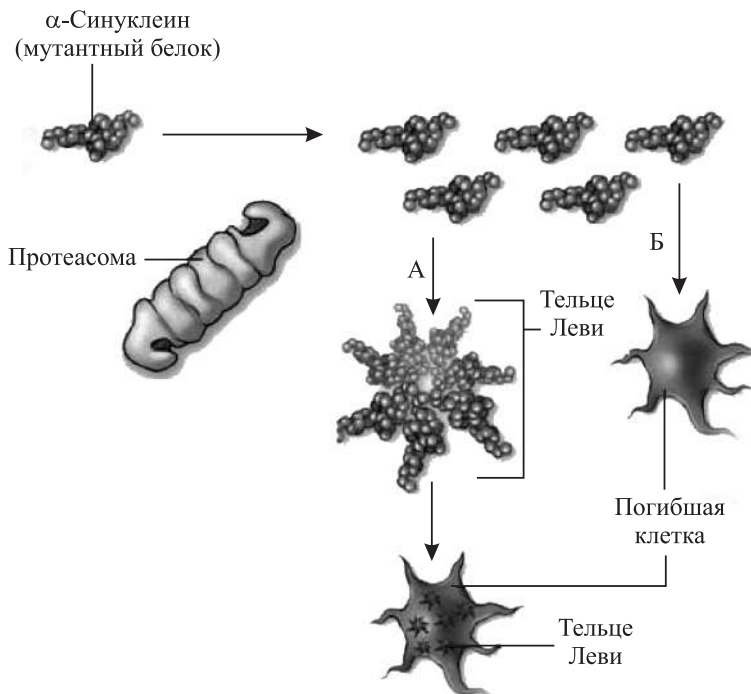


Рис. 17.12. Влияние α -синуклеина на нейрон:

мутантный белок может оказывать двойное действие на нейрон: А – синуклеин формирует агрегаты, из которых образуются тельца Леви. Это может оказывать защитный эффект от (Б) прямого повреждающего действия самого синуклеина. Однако при избыточном накоплении телец Леви нейрон также может погибнуть

паркин (рис. 17.13). Мутации в гене, кодирующем этот белок, обнаруживаются у молодых людей, страдающих паркинсонизмом. Паркин способствует присоединению убиквитина к аномальным белкам. При мутации паркина этот механизм нарушается.

За последние годы выделено еще несколько белков, причастных к развитию паркинсонизма. Так, в 2002 г. Винченцо Бонифати (Vincenzo Bonifati) из Медицинского центра Эразма в Роттердаме обнаружил мутацию в гене DJ-1 у членов нескольких голландских и итальянских семей. Как и мутация в гене паркина, она ответственна за возникновение аутосомно-рецессивной формы болезни Паркинсона. DJ-1 действует как чувствительный к окислительно-восстановительному по-

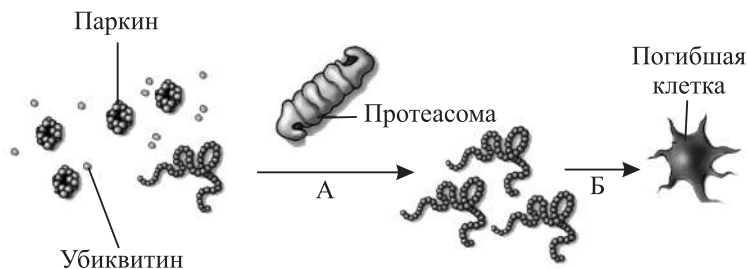


Рис. 17.13. Механизм действия паркина:

паркин способствует убиквитинизации неправильно уложенных белков; при его мутации нарушается удаление таких белков протеасомной системой (А). Неправильно уложенные белки накапливаются в нейроне и вызывают его гибель (Б)

тенциалу шаперон, который защищает α -синуклеин от нарушения укладки. Окисленные и нерастворимые формы белка накапливаются в мозге при болезни Паркинсона.

Приведенная информация позволяет прийти к заключению, что при паркинсонизме, подобно другим нейродегенеративным заболеваниям, нарушены системы защиты клеток от белков с аномальной конформацией. Когда таких белков становится слишком много и клетка не справляется с их удалением, накопление их может привести к гибели нейронов.

Молекулярные механизмы наркомании. Использование веществ, вызывающих изменение настроения или сознания, имеет тысячелетнюю историю. Этанол употребляют, по крайней мере, в течение 8000 лет. Частично это объясняется тем обстоятельством, что он служил относительно безопасным заменителем загрязненной питьевой воды. Обычай жевать листья коки известен более 1200 лет. Использование конопли (марижуана) существует в Азии тысячи лет. Ее использовали и древние греки. Подобная же история (часто связанная с религиозными церемониями) относится к употреблению опия, мескалинов¹ (пейота), табака и других биологически активных веществ центрального действия.

Наркоманию определяют как хроническое рецидивирующее заболевание, для которого характерно навязчивое состоя-

¹ Мескал – кактус, растущий на севере Мексики и на юге Техаса (США); мескалин – наркотическое вещество, получаемое из мескала.

ние поиска и приема наркотического вещества, несмотря на серьезные негативные последствия. Наркотические вещества первоначально вызывают ощущение эйфории или облегчения стресса. Продолжительное их потребление вызывает адаптивные изменения в центральной нервной системе, которые ведут к привыканию, физической зависимости, возбуждению, непреодолимой тяге и рецидивам (табл. 17.2). В настоящее время круг наркотических соединений достаточно широк. В частности, к ним относятся опиоиды, каннабиноиды, этанол и другие спирты, кокаин, амфетамины и никотин.

Таблица 17.2. Острое действие некоторых наркотиков

Наркотик	Действие	Проведение сигнала от рецептора
Опиаты	Агонисты опиоидных рецепторов	G_i
Кокаин	Непрямой агонист дофаминовых рецепторов за счет ингибирования переносчиков дофамина	G_i и G_s^*
Амфетамин	Непрямой агонист дофаминовых рецепторов за счет стимуляции высвобождения дофамина	G_i и G_s
Этанол	Усиливает функцию ГАМК _A рецептора и ингибирует функцию N-метил-D-аспартатного рецептора	Лиганд-зависимые каналы
Никотин	Агонист холинорецепторов	Лиганд-зависимые каналы
Каннабиноиды	Агонист каннабиноидных рецепторов	G_i
Фенциклидин	Антагонист глутаматных рецепторов	Лиганд-зависимые каналы
Галлюциногены	Частичный агонист серотониновых рецепторов	G_q^{**}

* G_i обеспечивает работу D_2 -подобных дофаминовых рецепторов, а G_s – D_1 -подобных дофаминовых рецепторов. Оба они важны для стимулирующих эффектов дофамина.

** G_q – агонист серотониновых рецепторов.

Генетические факторы. Генетические факторы, которые оказывают влияние на метаболизм и действие наркотиков, причастны и к формированию зависимости от них. Мужчина, родители которого были алкоголиками, имел более сильную склонность к алкоголизму, даже если сразу после

рождения он был усыновлен и рос в семье неалкоголиков. Ген альдегиддегидрогеназы, который кодирует изофермент с низкой активностью, снижает вероятность развития алкоголизма. В этом случае в организме повышен уровень уксусного альдегида, который ответствен за формирование отвращения к алкоголю. Полиморфизм гена, кодирующего нейрпептид Y, коррелирует со склонностью к злоупотреблению алкоголем, а однонуклеотидный полиморфизм гена, кодирующего μ опиоидный рецептор, связан с повышенной склонностью к злоупотреблению героином. При дефиците гена, кодирующего цитохром P-450, блокируется ферментативное превращение кодеина в морфин. Тем самым создается препятствие для развития кодеиновой зависимости. У людей с дефектом генов, кодирующих цитохром P-450 2A6 в разных аллелях, разобщается метаболизм никотина. Они выкуривают меньше сигарет и испытывают меньшее влечение к курению, чем люди с гомозиготными аллелями.

Однонуклеотидный полиморфизм гена, кодирующего гидролазу амидов жирных кислот (это основной фермент, инактивирующий каннабиноиды в организме), как оказалось, связан с повышенным влечением к использованию наркотиков. Установлено, что малая (A_1) аллель гена, кодирующего дофаминовый рецептор, связана с развитием тяжелого алкоголизма, злоупотреблением или зависимостью от психостимуляторов.

Эффекты наркотиков и обобщенный механизм их действия. Ионотропный механизм действия наркотиков. Наркотики обычно являются агонистами эндогенных нейромедиаторов, взаимодействующих с двумя различными типами мембранных рецепторов: ионотропных и метаботропных. Ионотропные рецепторы (лиганд-зависимые ионные каналы) опосредуют быструю синаптическую передачу. Нейромедиатор или наркотик присоединяется к рецептору, который претерпевает при этом конформационные изменения. В результате открывается канал, и ионы проходят в цитозоль. Происходит деполяризация или поляризация мембраны и активация различных белков. Никотин связывается с никотиновыми холинергическими рецепторами, содержащими Na^+ -канал. Бензодиазепины, барбитураты и этанол связываются с типом A рецепторов для γ -аминомасляной кислоты (ГАМК), облегчая поступление в клетку хлоридов. Этанол и фенициклидин ингибируют глутаматные рецепторы, чувствительные к N-метил-D-аспартату. Эти рецепторы сопряжены с Ca^{2+} и Na^+ -каналами.

Метаботропный механизм действия препаратов, вызывающих зависимость. Опиоиды связываются с опиоидными рецепторами, а каннабиноиды связываются с каннабиноидными рецепторами. Классические галлюциногены являются частичными агонистами серотониновых рецепторов. Амфетамины и кокаин оказывают не прямое действие на рецепторы, увеличивая уровень дофамина, норадреналина и серотонина в синапсах (за счет облегченного высвобождения и замедления повторного захвата соответственно). Эти нейромедиаторы активируют различные подтипы дофаминергических, адренергических и серотонинергических механизмов действия наркотических соединений. Метаботропные (связанные с G-белком) рецепторы опосредуют медленную синаптическую передачу. Взаимодействие с агонистом активирует близлежащий G-белок. В результате образуются вторичные посредники, такие как цАМФ, цГМФ, инозитолтрифосфат и диацилглицерол. Протеинкиназы индуцируют фармакологические эффекты и вызывают изменение факторов транскрипции.

Молекулярно-клеточные события после повторного введения наркотика в организм. Чтобы понять наркоманию, необходимо представить, как действие наркотического вещества при однократном введении перерастает в стабильные молекулярно-клеточные изменения после повторного введения. Хотя наркотики различаются по химической структуре и первоначальному действию, развивающаяся к ним привязанность имеет много важных общих черт. Это объясняется тем обстоятельством, что действие каждого наркотика в мозге, несмотря на специфичность, в конечном счете сводится к общим эффектам. Одним из них является активация мезолимбической дофаминовой системы.

Мезолимбическая дофаминовая система и ее мишени в переднем мозге, с эволюционной точки зрения, очень стары и являются частью мотивационной системы, которая регулирует ответ на естественные радости, такие как пища, питье, секс, социальное общение. Наркотики воздействуют на этот путь с силой и постоянством, несоизмеримо большим, чем естественные радости. Повторная стимуляция этих нейронов приводит к изменению механизмов усиления сигнала и мотивационного состояния. Развиваются *толерантность* (ответственна за потребность в повышении дозы наркотика во время развития наркотической зависимости), *зависимость* (ответственна за угнетенное состояние и высокую вероятность

рецидива в ранний период воздержания от приема наркотика), *сенситизация* (ответственна за повышенный риск рецидива спустя значительный период воздержания).

Самым известным событием в механизме молекулярной адаптации к хроническому воздействию наркотика является активация образования 3',5'-цАМФ. Острое воздействие опиатов ингибирует образование цАМФ во многих типах нейронов мозга. При хроническом воздействии опиаты приводят к компенсаторной активации образования цАМФ, по меньшей мере в некоторых из этих нейронов. Когда опиаты покидают организм, функциональные последствия увеличенного образования цАМФ становятся ответственными за развитие зависимости и синдрома отмены.

В настоящее время предпринимаются попытки выяснить, каким образом стимулированное образование цАМФ связано с поведенческими аспектами наркотического действия. Гены опиоидных пептидов, ферментов синтеза нейромедиаторов, сигнальных белков и других факторов транскрипции содержат так называемые CRE участки (специфические последовательности ДНК, на которые действует CREB¹). CREB присоединяется к CRE участку в виде димера и активирует транскрипцию. Для этого обе субъединицы его должны содержать фосфорилированный серин в 133 положениях. Обусловлено это тем обстоятельством, что только фосфорилированный CREB может взаимодействовать с адапторным белком CBP (англ. CREB-binding protein). Образовавшийся комплекс и стимулирует транскрипцию.

Фосфорилирование остатков серина в CREB катализирует ПКА, Ca²⁺/кальмодулин-зависимую протеинкиназу IV, т.е. те протеинкиназы, активность которых регулируется фактором роста через RAS-белки². Здесь находится точка перекреста, в которой различные внутриклеточные посредники могут регулировать экспрессию CRE-содержащих генов.

Изменение интенсивности процессов фосфорилирования/дефосфорилирования CREB приводит к нарушению взаимодействия CREB с CRE зонами и, следовательно, к изменению синтеза опиоидных пептидов, других нейромедиаторов и белков, от которых зависит реализация действия наркотика

¹ CREB (англ. – cAMP response element-binding protein) – транскрипционный фактор, связывающий цАМФ-реактивный элемент.

² RAS-белки – группа небольших G-белков, которые вовлекаются в рост, дифференцировку и проведение сигнала в клетке. Для перехода в активное состояние им требуется ГТФ.

на клетку. В частности, с увеличенным образованием цАМФ и CREB в прилежащем ядре связано повышение концентрации опиоидного пептида – динорфина. Экспрессия его осуществляется одним из подтипов медиаспинальных нейронов прилежащего ядра. Динорфин вызывает угнетенное состояние за счет снижения выделения дофамина в прилежащем ядре. Он связывается с к-опиоидными рецепторами, которые локализованы на пресинаптических дофамин-содержащих нервных окончаниях в этой области. Предполагают, что CREB здесь и в прилежащих участках полосатого тела опосредует индуцированную экспрессию динорфина.

Вызванное приемом наркотика воздействие на образование цАМФ, CREB и динорфина продолжается недолго. Через несколько дней после его отмены система возвращается в исходное состояние. Поэтому данные механизмы могут быть ответственными за негативное эмоциональное состояние лишь в ранний период воздержания.

Таким образом, в то время как в нейронах увеличивается уровень CREB, за счет взаимодействия опиатов с рецепторами сохраняется низкий уровень цАМФ. Поскольку опиаты при однократном воздействии ингибируют аденилатциклазу через G_i -сопряженные рецепторы, активация пути образования цАМФ представляется компенсаторным гомеостатическим ответом клеток на это ингибирование.

Предполагается, что CREB подобным образом опосредует и различные другие формы нервной и поведенческой перестройки в разных отделах мозга. Повторное поступление в организм опиатов ведет к увеличению уровня цАМФ в этих отделах, в частности в ГАМК-ергических нейронах, которые иннервируют дофаминергические и серотонинергические клетки. При абстинентном синдроме подъем цАМФ приводит к увеличению высвобождения ГАМК. Тем самым уменьшается скорость проведения импульса по дофаминергическим и серотонинергическим нейронам. Первые из них ответственны за снижение проведения импульсов из тегментальной области в прилежащее ядро, что имеет место в ранний период абстиненции и причастно к развитию аверсивного состояния (состояния отвращения). Вторые ответственны за соматические и мотивационные аспекты абстиненции посредством ингибирования функционирования серотонинергических нейронов спинного мозга. Такой же подъем уровня цАМФ может происходить в клетках коры мозга и гиппокампа.

Адаптационные механизмы сопряжения рецептора с G- белком. Решающее значение в остром действии опиатов и кокаина принадлежит опиоидным и дофаминовым рецепторам. Действие этих рецепторов осуществляется через G-белки (см. табл. 17.2). Известно, что после кратковременного действия рецепторного агониста в комплексе рецептора с G-белком происходит потеря чувствительности и снижение функциональной активности. До сих пор нет ответа на вопрос, принимают ли участие эти же процессы в долговременных изменениях чувствительности рецептора (таких как устойчивость или сенситизация), которые наблюдаются после повторного попадания наркотика в организм.

Одним из предполагаемых механизмов кратковременной десенситизации опиоидных и дофаминовых рецепторов является их фосфорилирование. Согласно этой модели опиоидные и дофаминовые рецепторы функционируют подобно β -адренергическим рецепторам. Их фосфорилирование происходит под влиянием различных типов протеинкиназ. Фосфорилированный рецептор поступает внутрь клетки, тем самым уменьшается его сопряжение с G-белком. В одних случаях в подобное фосфорилирование вовлекаются G-белок-рецепторные киназы (ГРК), которые катализируют фосфорилирование только рецептора, связанного с агонистом. Тогда рядом расположенные (ассоциированные) белки, получившие название аррестинов¹, связывают и, очевидно, изолируют фосфорилированный рецептор. Опытами *in vitro* было показано, что опиоидные и дофаминовые рецепторы фосфорилируются под влиянием ГРК и других протеинкиназ. В результате этого в некоторых случаях происходит поступление рецепторов внутрь клетки и десенситизация.

Другой вероятный механизм адаптации опиоидных и дофаминовых рецепторов к хроническому поступлению в организм наркотиков включает изменение сопряжения рецептора с G-белком в результате упомянутых выше процессов фосфорилирования или насыщения околорецепторного пространства G-белками с различным субъединичным составом. Из-

¹ Аррестины – белки, связывающиеся с фосфорилированными рецепторами и блокирующие взаимодействие рецепторов с G-белками. В результате останавливается процесс проведения сигнала в клетке. К примеру, β -аррестин связывается с фосфорилированными β -адренергическими рецепторами и ингибирует их способность активировать G_s -белок.

вестно, к примеру, что хроническое поступление в организм опиатов или кокаина приводит к снижению экспрессии генов, кодирующих α -субъединицу в $G_{i/o}$ -белках. Благодаря этой субъединице обеспечивается функционирование опиоидных и D_2 -подобных дофаминовых рецепторов в определенных участках мозга. В настоящее время ведется интенсивный поиск других белков (β - и γ -субъединицы G-белков; фосдуцин, регулирующий связывание β - и γ -субъединиц с α -субъединицей; регуляторы сигнализирования G-белками – RGS белки¹), которые способны регулировать функцию α -субъединицы.

Долговременные молекулярно-клеточные адаптационные механизмы. Транскрипция. В управлении экспрессией генов ключевое значение принадлежит факторам транскрипции. Ранее уже упоминалась роль CREB и CRE. Также интенсивно в плане действия наркотиков изучаются факторы транскрипции из семейств Fos и Jun. Некоторые из них возникают быстро, но на короткий период времени в прилежащем ядре и в других зонах полосатого тела после однократного введения в организм стимулятора, опиатов или никотина. В то же время хроническое воздействие наркотика прекращает образование этих белков. Вместо них постепенно накапливаются другие Fos-подобные белки.

Δ FosB – это член целого семейства факторов транскрипции, объединенных в семейство Fos. Вместе с представителями семейства Jun они образуют димер. В результате формируются комплексы транскрипционных факторов, получившие название «активаторный белок-1» (AP-1, от англ. Activator protein-1). AP-1 затем связывается с AP-1 участками (консенсусная последовательность, TGAЦ/ГТЦА), имеющимися в составе регуляторной части многих генов.

Острое действие различных типов наркотиков вызывает в течение 1–4 ч индукцию различных представителей семейства Fos (к примеру, c-Fos, FosB, Fra-1, Fra-2) в прилежащем ядре и дорзальной части полосатого тела. Индукция эта преходящая; она прекращается спустя 4–12 ч после введения в организм наркотического вещества вследствие нестабильности самих белков и их иРНК. Противоположно этому индукция биохимически модифицированных изоформ Δ FosB при

¹ RGS белки регулируют функцию α -субъединицы путем стимуляции ее ГТФазной активности. В настоящее время в клетках мозга известно более 18 изоформ RGS белков.

остром действии наркотического препарата слабая. Зато они накапливаются при повторном введении его в организм вследствие их высокой стабильности и постепенно становятся преобладающим белком семейства Fos в этих нейронах. Причем стабилен сам белок, а не его иРНК. В результате Δ FosB присутствует в мозге достаточно продолжительный период времени.

Тем не менее через 1–2 мес. после отказа от наркотика Δ FosB подвергается протеолизу и опускается до нормального уровня. Это означает, что он не может служить непосредственной причиной более продолжительных изменений в мозге и поведенческих реакций, присущих наркомании. Предполагается, что Δ FosB вызывает другие изменения в мозге, которые сами по себе еще более постоянны.

Посттранскрипционные механизмы. Изменения транскрипции гена – это только один из возможных механизмов изменения уровня белка в клетке. Другие механизмы включают изменение трансляции иРНК и процесса протеолиза, направленной доставки белка к месту его функционирования внутри нейрона.

Как уже упоминалось ранее, увеличение образования цАМФ в нейронах является важным механизмом развития устойчивости к наркотику и зависимости от него. В результате индукции синтеза регуляторной и каталитической субъединиц ПКА в клетках увеличивается количество этого фермента. Получены доказательства, что причиной такого повышения является также ослабленное расщепление фермента. Ингибирование аденилатциклазы опиатами вызывает снижение количества цАМФ. Поэтому растет количество молекул ПКА в неактивной холоферментной форме, менее подверженной расщеплению в протеосомах. После отмены опиатов, т.е. прекращения ингибирования аденилатциклазы, нарастает количество цАМФ. Это приводит к активации избытка ПКА в клетках.

Другим примером посттранскрипционного механизма, ответственного за наркотическую зависимость, в особенности за развитие устойчивости к наркотику, является регуляция чувствительности рецептора. В основе ее лежит фосфорилирование рецепторов с последующим включением их в клетку. Связывание лиганда с β -адренергическим, дофаминовым, опиоидным или каннабиноидным рецептором приводит

к фосфорилированию G-белок-рецепторных киназ. Затем фосфорилированный рецептор ассоциируется с аррестином и подвергается эндоцитозу. Какой-то период времени рецептор остается в клетке. Постепенно он дефосфорилируется и возвращается в плазматическую мембрану или распадается под влиянием протеаз. После удаления агониста вся система приходит в первоначальное положение. Однако в процессе неоднократных воздействий наркотика наступает адаптация (к примеру, изменяется уровень G-белок-рецепторных киназ или аррестинов), которая изменяет цикл существования рецептора в клетке и обеспечивает более устойчивые поведенческие признаки наркомании.

Регуляция синаптической структуры. Повторное введение в организм наркотика вызывает структурные изменения некоторых нейронов. Так, воздействие опиатов уменьшает размер и диаметр отростков и сомы дофаминовых нейронов в сегментальной зоне, прилежащей к черной субстанции. С другой стороны, повторное воздействие кокаина и амфетамина усиливает ветвление дендритов и количество шиповидных выростов на них в составе дофаминовых нейронов, локализованных в области прилежащего ядра и медиальной префронтальной коры (рис. 17.14). Эти изменения сохраняются, по меньшей мере, в течение месяца после прекращения введения наркотика. С ними связывают развитие явлений дисфории¹, синдрома отмены и повышенной чувствительности к наркотику.

В основе подобной перестройки дендритной структуры лежит увеличение активности циклин-зависимой киназы ⁵2 в нейронах прилежащего ядра и рядом расположенных участках полосатого тела. В активации этого фермента принимает участие Δ FosB.

Приведенные сведения о молекулярных механизмах проведения сигнала в клетку, вызванного попаданием в организм наркотического вещества, еще не дают четкой картины последовательного развития событий в адаптации организма. Найти ключ к эффективному лечению и преодолению наркомании

¹ Угнетенное эмоциональное состояние, обычно сочетающееся с чувством тревоги и депрессией.

² Циклин-зависимая киназа 5 — член семейства циклин-зависимых киназ. Этот фермент распространен в клетках головного мозга. Для его активации требуется другой белок, получивший название p35. Активный фермент вовлекается в регуляцию роста и выживания нервных клеток.

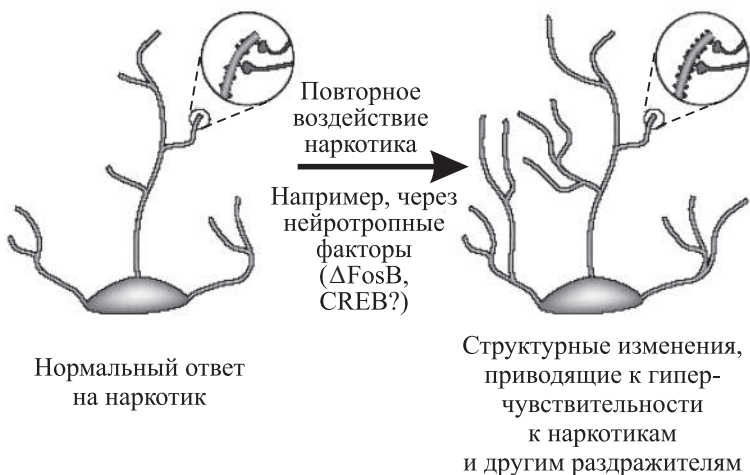


Рис. 17.14. Разрастание дендритного дерева после хронического воздействия наркотика в нейронах прилежащего ядра и префронтальной коры: под увеличением видно повышение количества дендритных шиповидных выростов. Такие изменения структуры отростков могут служить причиной долговременных эффектов на чувствительность к наркотикам, на поведенческие реакции

возможно будет лишь тогда, когда будут установлены причинно-следственные связи между молекулярными и клеточными событиями, проведением нервного импульса и поведенческими реакциями. Они должны составить базу для понимания изменчивости нервного и поведенческого статуса организма.

ГЛАВА 18

ОСНОВНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И МОЧИ И ИХ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Основные биохимические показатели крови и мочи и их клинико-лабораторное значение приведем в виде таблицы.

Показатель, нормальное значение, единица измерения	Краткое клиническое значение
1	2
Кровь	
Калий сыворотки крови, 3,5–5,5 ммоль/л	<p>Калий является внутриклеточным веществом. Концентрация его в плазме примерно в 25 раз ниже, чем в клетках.</p> <p>Сывороточная концентрация калия обусловлена:</p> <ul style="list-style-type: none">• общим количеством калия в организме;• величиной рН плазмы;• действием регуляторных механизмов. <p>Гипокалиемия может наблюдаться при синдроме Конна (первичный альдостеронизм), при недостатке его поступления с пищей и при избыточном его выведении (заболевания ЖКТ, почек, кровотечения).</p> <p>Гиперкалиемия может наблюдаться при почечной недостаточности, усиленном распаде тканей, при избыточном введении калия.</p> <p>Нарушения концентрации калия приводят к изменениям на ЭКГ, которые необходимо дифференцировать от ишемических нарушений. В этих случаях методом выбора является экспресс-анализ с использованием «сухой химии».</p>
Натрий сыворотки крови, 130–150 ммоль/л	<p>Натрий в организме содержится в основном во внеклеточной жидкости. Более того, ее объем прямо зависит от общего содержания натрия в организме. Большинство клеточных мембран плохо проницаемо для натрия. Поступление натрия в организм и его выведение строго сбалансированы. Натриевый баланс поддерживается путем регуляции экскреции натрия почками. Выведение зависит:</p> <ul style="list-style-type: none">• от скорости гломерулярной фильтрации;

1	2
	<ul style="list-style-type: none"> • канальцевой реабсорбции, которая зависит от концентрации выделяемого альдостерона в ответ на активацию ренин-ангиотензиновой системы и концентрации натрийуретического гормона (НУГ). <p>Альдостерон стимулирует реабсорбцию натрия, а НУГ действует двояко: угнетает реабсорбцию и снижает секрецию ренина (и, соответственно, альдостерона).</p> <p>Клинические проявления гипонатриемии – преимущественно следствие снижения объема внеклеточной жидкости.</p> <p>Причины гипонатриемии:</p> <ul style="list-style-type: none"> • чрезмерные потери натрия (через почки – острый некроз почечных канальцев, лечение диуретиками, недостаточность минералокортикостероидов; кожу – муковисцидоз, сильное потоотделение, ожоги, генерализованный дерматит; кишечник – рвота, понос, кишечная непроходимость); • неадекватное поступление натрия (оно развивается, только если имеются его избыточные потери); • задержка воды в организме. <p><i>Гипернатриемия</i> может возникать:</p> <ul style="list-style-type: none"> • при потере воды (несахарный диабет, неадекватное питье); • потере воды и натрия (сахарный диабет, чрезмерное потоотделение, диарея, особенно у детей); • увеличении поступления натрия; • накоплении натрия во внеклеточной жидкости (первичный гиперальдостеронизм (с-м Конна)). <p>Гипернатриемия встречается гораздо реже, чем гипонатриемия.</p>
Кальций сыворотки крови, 2–3 ммоль/л	<p>В плазме кальций представлен тремя формами:</p> <ul style="list-style-type: none"> • связанный с белками (в основном с альбумином); • в комплексе с фосфатом и цитратом; • в виде свободных ионов. Эта форма является физиологически активной. <p>Концентрация кальция поддерживается в узких пределах с помощью контролирующей системы, в состав которой входят паратиреоидный гормон и кальцитриол. Паратиреоидный гормон секретируется паращитовидными железами в ответ на снижение концентрации кальция в крови. То есть действие паратиреоидного гормона направлено на повышение концентрации кальция и снижение содержания фосфата в крови.</p> <p>Кальцитриол также увеличивает концентрацию кальция в крови: в кишечнике он стимулирует абсорбцию кальция и фосфатов из пищи, стимулирует синтез в эн-</p>

1	2
	<p>тероцитах кальцийсвязывающего белка; в костях – стимулирует резорбцию костной ткани остеокластами; в почках – ингибирует свой синтез и незначительно стимулирует реабсорбцию кальция.</p> <p>Причины <i>гиперкальциемии</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> • первичный гиперпаратиреоз; • злокачественные опухоли с метастазами в кости или без них. <p>Эти две причины составляют 90% всех гиперкальциемий.</p> <p>Значительно реже: тиреотоксикоз, прием тиазидовых диуретиков, интоксикация витамином D, надпочечниковая недостаточность и т.д.</p> <p><i>Гипокальциемия</i> обусловлена: дефицитом или нарушением метаболизма витамина D; почечной недостаточностью, гипопаратиреозом и гипомагниемией.</p> <p>Следует помнить, что транспортной формой кальция является комплекс альбумин – кальций. Поэтому из-за гипоальбуминемии отмечается скрытый дефицит кальция даже при определении в крови нормальной концентрации кальция.</p>
<p>Аланинамино- трансфераза (АлАт), 0,10– 0,68 ммоль/ (ч · л) до 40 Е/л</p>	<p><i>Аланинаминотрансфераза (АлАт)</i>, другое название глутаматпируваттрансаминаза (GPT), переносит аминоксигруппы с аланина на α-кетоглутарат с образованием глутамата и пировиноградной кислоты.</p> <p>Механизм увеличения активности – повреждение клеток.</p> <p>Основной источник АлАт в сыворотке: печень, сердце, скелетные мышцы, почки и нервная ткань.</p> <p>Обычно при большинстве заболеваний, связанных с повышением активности аминотрансфераз, наблюдается одновременное увеличение активности обеих трансаминаз. Однако при одних заболеваниях преимущественно увеличивается активность АлАт, а при других – АсАт. Активность АлАт превышает активность АсАт при гепатитах и других заболеваниях печени, желчевыводящих путей. При вирусном гепатите активность АлАт в сыворотке может повышаться за 1–4 недели до клинических проявлений заболевания и за 7–10 дней до увеличения концентрации билирубина.</p> <p>Причины увеличения активности АлАт:</p> <ul style="list-style-type: none"> • превышение нормы более чем в 10 раз: <ul style="list-style-type: none"> – острый гепатит и некроз печени; – тяжелый синдром сдавления; – тяжелая гипоксия тканей; • превышение нормы в 5–10 раз: <ul style="list-style-type: none"> – инфаркт миокарда;

1	2
	<ul style="list-style-type: none"> – после хирургических вмешательств; – заболевания скелетных мышц; – холестаз; – хронический гепатит; • превышение нормы менее чем в 5 раз: <ul style="list-style-type: none"> – физиологическое – у новорожденных; – другие заболевания печени; – панкреатит; – гемолиз (in vivo и in vitro).
<p>Аспаратамино- трансфераза (АсАт) 0,10– 0,45 ммоль/(ч · л) до 40 Е/л</p>	<p><i>Аспаратаминотрансфераза</i> (АсАт), другое название глутамат-оксалоацетаттрансаминаза (GOT), переносит аминогруппы с аспарагиновой кислоты на α-кетоглутарат с образованием глутамата и щавелевоуксусной кислоты.</p> <p>Механизм увеличения активности – повреждение клеток. Основной источник АсАт в сыворотке: сердце, печень, скелетные мышцы, почки и нервная ткань.</p> <p>Причины увеличения активности АсАт:</p> <ul style="list-style-type: none"> • превышение нормы более чем в 10 раз: <ul style="list-style-type: none"> – острый гепатит и некроз печени; – тяжелый синдром сдавления; – тяжелая гипоксия тканей; • превышение нормы в 5–10 раз: <ul style="list-style-type: none"> – инфаркт миокарда; – после хирургических вмешательств; – заболевания скелетных мышц; – холестаз; – хронический гепатит; • превышение нормы менее чем в 5 раз: <ul style="list-style-type: none"> – физиологическое – у новорожденных; – другие заболевания печени; – панкреатит; – гемолиз (in vivo и in vitro). <p>АсАт в сыворотке крови представлена двумя изоферментами: митохондриальной и растворимой в цитозоле. В клинике, как правило, идентификация этих изоформ не проводится. Если есть возможность измерять только одну из трансаминаз, то следует определять активность АсАт. Иногда активность АсАт повышена у пациентов без клинических проявлений повреждения тканей. В этих случаях обычно подозревают употребление алкоголя. Если все другие показатели нормальные и нет никаких очевидных причин такого повышения, анализ обычно повторяют через 1–2 недели. Повышение активности АсАт является также чувствительным индикатором отторжения трансплантата при пересадке печени.</p>

1	2
<p>Амилаза (α-амилаза), 16–30 г/л · ч</p>	<p>Это секреторный, а не внутриклеточный фермент, осуществляет гидролитическое расщепление полисахаридов.</p> <p>Богаты амилазой поджелудочная железа, слюнные железы, секретируется также фаллопиевыми трубами, кишечником, почками, печенью, легкими, жировой тканью.</p> <p>Основной источник амилазы в крови: поджелудочная железа (Р-амилаза) и слюнные железы (S-амилаза). С мочой выделяется в основном панкреатическая амилаза. У здоровых людей содержание S-амилазы и Р-амилазы в крови приблизительно одинаково, а в моче уровень Р-амилазы в 2 раза выше.</p> <p>Клиническое значение определения амилазы связано с дифференциальной диагностикой «острого живота», т.е. острых абдоминальных болей.</p> <p>Причины увеличения активности амилазы:</p> <ul style="list-style-type: none"> • превышение нормы более чем в 10 раз: <ul style="list-style-type: none"> – острый панкреатит; • превышение нормы в 5–10 раз: <ul style="list-style-type: none"> – прободная дуоденальная язва; – кишечная непроходимость; – другая острая хирургическая патология брюшной полости; – острая почечная недостаточность с олигурией; – диабетический кетоацидоз; • превышение нормы менее чем в 5 раз: <ul style="list-style-type: none"> – поражение слюнных желез (камни и паротиты, в том числе и эпидемический паротит); – хроническая почечная недостаточность; – введение морфина, адреналина, гистамина; фуросемида и др. <p>При диагностике острого панкреатита степень увеличения активности амилазы не всегда говорит о тяжести процесса, например уровень амилазы при панкреонекрозе значительно ниже, чем при отечной форме острого панкреатита.</p> <p>После приступа панкреатита, когда активность амилазы крови возвращается к норме, в моче она может оставаться повышенной еще до 7 суток.</p>
<p>Альбумин, 35–52 г/л</p>	<p>Причины гипоальбуминемии:</p> <ul style="list-style-type: none"> • снижение синтеза вследствие недостаточного питания, дефектов пищеварения, нарушения абсорбции, заболеваний печени. Печень является местом синтеза альбумина, поэтому снижение его концентрации может служить тестом для оценки ее функционального состо-

1	2
	<p>яния, например гипоальбуминемия при хроническом гепатите и циррозе имеет неблагоприятное прогностическое значение;</p> <ul style="list-style-type: none"> • увеличение потери альбумина при кровотечениях, анафилактическом шоке, альбуминурии (т.е. выделении с мочой), при образовании выпотов в серозные полости, при хронических поносах. Особое внимание следует обратить на гипоальбуминемию при хронических заболеваниях почек, например при нефротическом синдроме, когда концентрация альбумина в крови может достигать 5 г/л при уровне общего белка 25–30 г/л. В хирургической практике гипоальбуминемия наблюдается при так называемых болезнях оперированного желудка (после гастрэктомии или резекции 2/3 желудка), при кишечной непроходимости, остром панкреатите, холецистите, острых флегмонах, абсцессах легких. Выраженная гипоальбуминемия или ее усугубление в динамике при тяжело протекающих хирургических заболеваниях расценивается как крайне неблагоприятный прогностический фактор. Это объясняется двумя причинами: <ul style="list-style-type: none"> – уровень альбумина служит показателем эндогенной интоксикации, и чем выраженнее интоксикация, тем ниже уровень альбумина; – гипоальбуминемия приводит к снижению биологической доступности и длительности нахождения в кровеносном русле используемых фармацевтических препаратов, в частности антибиотиков, гормонов, сульфаниламидов и некоторых других; – усиление катаболизма альбуминов наблюдается у больных гипертиреозом, гиперкортизолиемией, длительной лихорадкой, обширными травмами. <p>Чаще всего изменения содержания альбумина в плазме бывают вторичными, т.е. причиной являются какие-либо заболевания. Первичные нарушения очень редки и представляют собой наследственные заболевания. К ним относится анальбуминемия (т.е. отсутствие альбумина) и двойная альбуминемия. Абсолютная гиперальбуминемия практически не встречается. Относительная связана с гипо- или дегидратацией, т.е. когда наблюдается снижение объема циркулирующей жидкости.</p>
Белок общий, 65–85 г/л	<p>Причинами гипопроteinемии являются:</p> <ul style="list-style-type: none"> • алиментарный фактор (т.е. недостаточное поступление белка с пищей): голодание, недоедание, связанные как со всевозможными диетами, так и такими заболеваниями, как стеноз пищевода, стеноз пилорического отдела желудка;

1	2
	<ul style="list-style-type: none"> • неусваивание белка вследствие различных заболеваний желудочно-кишечного тракта, например хронические энтериты; • нарушение биосинтеза белка: гепатиты, циррозы, выраженные интоксикации, врожденные нарушения синтеза отдельных белков – анальбуминемия, болезнь Вильсона – Коновалова; • потеря белка с кровью (острые и хронические кровотечения) и мочой (нефротический синдром); • перемещение белка в другие ткани – это образование отеков, переход в так называемое третье пространство (выпоты в серозные полости, в просвет кишечника, на ожоговую поверхность); • повышение распада белка в организме: опухоли, повышенная функция щитовидной железы, всегда имеет место при кишечной непроходимости; • физиологическое снижение концентрации белка, например в последние месяцы беременности и в период лактации. <p>Относительное снижение концентрации общего белка может наблюдаться при увеличении объема циркулирующей жидкости: большое введение жидкостей внутривенно капельно, прекращении или резком уменьшении диуреза; гиперпродукции антидиуретического гормона гипоталамуса, сердечной декомпенсации.</p> <p>Гиперпротеинемия встречается редко. Абсолютная гиперпротеинемия (т.е. не связанная с нарушением водного баланса) наблюдается при миеломной болезни, хронических полиартритах, длительно протекающих воспалительных процессах. Относительная (т.е. вызванная снижением объема циркулирующей жидкости) – при тяжелых ожогах, перитоните, неукротимой рвоте и поносе, несахарном диабете, непроходимости кишечника, хронической почечной недостаточности, усиленном потоотделении.</p> <p>Следует помнить, что при некоторых заболеваниях, в частности кишечной непроходимости, разлитом перитоните, возникающая относительная гиперпротеинемия, обнаруживаемая в биохимическом анализе крови, маскирует характерный для этой патологии дефицит белка.</p> <p>Гипопротеинемия почти всегда связана с гипоальбуминемией, а гиперпротеинемия – почти всегда с гиперглобулинемией.</p>

1	2
<p>Белковые фракции:</p> <p>альбумины, 53–66%</p> <p>глобулины:</p> <ul style="list-style-type: none"> • α_1 – 2,0–5,5% 	<p>См. в строке «Клиническое значение альбумина»</p> <p>Представлены в основном следующими белками:</p> <ul style="list-style-type: none"> • α_1-серомукоидами (синонимы: орозомукоид, α_1 кислый гликопротеин) – роль их неясна; • α_1-антитрипсином – ингибирует трипсин и химо-трипсин. <p>Количество их повышается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – при патологических процессах, связанных со значительным распадом клеток (инфекционные, гнойные, некротические процессы); – злокачественных новообразований; – воспалительных процессах. <p>Снижение отмечается:</p> <ul style="list-style-type: none"> – при заболеваниях печени (вирусный гепатит А, портальный цирроз, токсические гепатиты, при отравлении грибами); – гломерулонефритах и нефрозах, за исключением амилоидоза, что можно использовать для дифференциальной диагностики; – эндокринных заболеваниях (гипофизарная и надпочечниковая недостаточность); – врожденной недостаточности α_1-антитрипсина. <p>Клинически проявляется симптомами диффузной прогрессирующей эмфиземы, поражающей в основном нижние доли легкого, хроническим бронхитом, бронхоэктазиями. Диагноз подтверждается определением α_1-антитрипсина в крови. Это редкое аутосомно-рецессивное заболевание;</p> <ul style="list-style-type: none"> • α-фетопротеином. Это первый α-глобулин, появляющийся в крови млекопитающих. По своим физико-химическим свойствам близок к альбумину. <p>Биологическая роль до конца не выяснена. Но предполагают, что в крови молодого эмбриона замещает альбумин и поддерживает осмотическое давление. Способен избирательно связываться с эстрогенами. В крови здоровых доношенных новорожденных не определяется.</p> <p>Появляется в крови:</p> <ul style="list-style-type: none"> – при первичных карциномах печени; – тератомах; – тяжелых заболеваниях печени, когда после де-струкции происходит регенерация.

1	2
<p>• α_2 – 6,0–12,0%</p>	<p>С фракцией α_1-глобулинов движутся также α-липопротеины (более богатые апопротеином AI).</p> <p><i>Гаптоглобины.</i> Участвуют в деполяризации гликопротеинов в основном в веществе соединительной ткани – обратная зависимость от гиалуронидазы. Определяя гаптоглобин, можно судить о процессах, происходящих в соединительной ткани. Считается, что из биологических показателей, указывающих на тяжелое повреждение соединительной ткани в период выздоровления, гаптоглобин приходит в норму наиболее поздно. Гаптоглобин способен соединяться со свободным гемоглобином сыворотки крови. Комплекс гаптоглобин – гемоглобин имеет большие размеры и не может проходить через почечный фильтр. Гемоглобин не выделяется с мочой, пока весь гаптоглобин не будет насыщен, т.е. предупреждается потеря железа организмом.</p> <p>Повышается:</p> <ul style="list-style-type: none"> • при воспалительных процессах; • коллагенозах; • сепсисе; • некрозах тканей; • новообразованиях. <p>Понижается:</p> <ul style="list-style-type: none"> • у новорожденных; • при гемолизе; • поражении печени (синтезируется печенью). <p>α_2-макроглобулин. Является одним из основных компонентов α_2-глобулинов. Ингибитор плазмينا и трипсина, связывает инсулин и другие низкомолекулярные вещества. Участвует в развитии воспаления. Физиологическое значение около 3,5 г/л.</p> <p>Повышается:</p> <ul style="list-style-type: none"> • при острых и хронических воспалительных процессах; • нефротическом синдроме; • сахарном диабете; • эмфиземе; • синдроме Дауна; • фибринолитической терапии; • беременности. <p>Понижается:</p> <ul style="list-style-type: none"> • при миеломной болезни; • ревматоидном артрите. <p><i>Церулоплазмин.</i> Связывает и участвует в транспорте меди, обеспечивает ее нормальную концентрацию в тканях. Окисляет аскорбиновую кислоту, адреналин и др.</p>

1	2
<p>Билирубин:</p> <ul style="list-style-type: none"> • общий, 3,5–20,5 мкмоль/л • конъюгированный (связанный), 2,2–5,1 мкмоль/л • свободный билирубин (неконъюгированный), 1,7–17,1 мкмоль/л 	<ul style="list-style-type: none"> • лечении цитостатиками; • синдроме иммунодефицита; • у пожилых. <p>Билирубин образуется главным образом из гема, который высвобождается из гемоглобина, когда старые эритроциты выводятся ретикулоэндотелиальной системой из кровотока. Железо гема реутилизируется, а тетрапиррольное кольцо разлагается до билирубина. Другими источниками билирубина являются миоглобин и цитохромы.</p> <p>Ежедневно образуется примерно 300 мг билирубина, здоровая печень способна метаболизировать и экскретировать в 10 раз больше.</p> <p>Гипербилирубинемия сопровождается, как правило, появлением желтухи – желтого окрашивания кожи и слизистых, которое развивается при уровне билирубина в крови 27–34 мкмоль/л и более.</p> <p>Тяжесть желтухи обычно соответствует уровню билирубина:</p> <ul style="list-style-type: none"> • легкая форма – уровень билирубина до 85 мкмоль/л; • среднетяжелая форма – уровень билирубина 86–169 мкмоль/л; • тяжелая форма – уровень билирубина свыше 170 мкмоль/л. <p>Повышение концентрации связанного билирубина возникает при утечке его в кровяной ток из гепатоцитов или желчевыводящих путей, когда нормальные пути экскреции заблокированы (желчекаменная болезнь, опухоли, в том числе и экстрагепатобилиарные). Растворимый в воде конъюгированный билирубин, поступающий в системное кровообращение, экскретируется с мочой, придавая ей насыщенную оранжево-коричневую окраску. При полной обструкции желчевыводящих путей билирубин не поступает в кишечник, уробилин не образуется и цвет фекалий становится бледным.</p> <p>Увеличение уровня неконъюгированного билирубина обуславливается: гемолизом; наследственным дефектом метаболизма билирубина; паренхиматозным поражением печени. При <i>гемолизе</i> гипербилирубинемия возникает вследствие повышенной продукции билирубина, которая превышает способность печени конъюгировать и выводить пигмент. При <i>наследственном дефекте метаболизма</i> билирубина концентрация свободного билирубина может быть преобладающей, незна-</p>

1	2
	<p>чительно повышенной (с-м Жильбера) и тяжелой, выраженной, сочетающейся с печеночной энцефалопатией (с-м Криглера – Найяра). При <i>паренхиматозном поражении печени</i> вследствие угнетения конъюгационных и/или выделительных механизмов снижается способность печени метаболизировать синтезируемый в нормальных количествах билирубин, вследствие чего происходит накопление обеих фракций билирубина. Неконъюгированный билирубин является нейротоксичным и может вызывать устойчивое повреждение мозга (особенно это опасно у новорожденных с гемолитической желтухой).</p>
<p>γ-Глютамилтрансфераза (ГГТ), ж. – 7–32, м. – 11–50 Е/л</p>	<p>Другое название γ-глутамилтранспептидаза (ГГТП). Катализирует перенос γ-глутамильных групп. Это мембраносвязанный гликопротеин, катализирующий перенос аминокислот через клеточную мембрану. Механизмы увеличения активности:</p> <ul style="list-style-type: none"> • повреждение тканей и высвобождение фермента; • индукция синтеза фермента (в частности, фармацевтическими препаратами и алкоголем). <p>Фермент содержится не только в наружной мембране, цитоплазме, но и в лизосомах и микросомах клеток. ГГТ содержится в мембранах тех клеток, которые обладают высокой секреторной, экскреторной или реабсорбционной способностью. Это эпителиальные клетки, выстилающие желчные пути, печеночные каналцы, проксимальные каналцы нефрона, клетки экзокринных желез, ворсинчатые клетки тонкого кишечника.</p> <p>Основной источник ГГТ в сыворотке: гепатобиллиарное дерево, почки, поджелудочная железа.</p> <p>Причины увеличения активности ГГТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> • превышение нормы более чем в 10 раз: <ul style="list-style-type: none"> – холестаз; – алкогольное поражение печени; • превышение нормы в 5–10 раз: <ul style="list-style-type: none"> – гепатит (острый и хронический); – цирроз (без холестаза); – другие заболевания печени; – панкреатит; – ушибы головного мозга с повреждением ЦНС; • превышение нормы менее чем в 5 раз: <ul style="list-style-type: none"> – злоупотребление алкоголем; – прием препаратов, вызывающих индукцию ферментов (фенобарбитал, противосудорожные, рифампицин, бензодиазепины и др.);

1	2
	<ul style="list-style-type: none"> – застойная сердечная недостаточность; – хронические гломерулонефриты, пиелонефриты.
<p>Гемоглобин, ж. – 120–150 г/л; м. – 130–170 г/л</p>	<p>Гемоглобин – пигмент крови, транспортирующий кислород. Состоит из белка глобина и четырех молекул гема. Глобин состоит из двух пар полипептидных цепей (основной гемоглобин взрослых – гемоглобин А (HbA) включает 2 α- и 2 β-цепи). Возможны количественные и качественные изменения гемоглобина. Количественное определение гемоглобина входит в понятие общего анализа крови.</p> <p>Повышение концентрации гемоглобина может наблюдаться при эритремии, симптоматических эритроцитозах, снижении объема плазмы – гемоконцентрации (например, при ожогах), у новорожденных (физиологическое повышение), у здоровых людей, проживающих в высокогорных районах.</p> <p>Понижение концентрации гемоглобина является одним из основных лабораторных симптомов различных анемий:</p> <ul style="list-style-type: none"> • постгеморрагических; • железодефицитных; • сидеробластных; • при повышении объема плазмы (гемодилюции) и др. <p>Обнаружение сниженного уровня гемоглобина является показанием для тщательного обследования пациента с целью установления причины.</p>
<p>Глюкоза, 3,65– 6,11 ммоль/л</p>	<p>Различают две основных группы гипергликемий:</p> <ul style="list-style-type: none"> • инсулярные – связанные с недостаточным содержанием в организме инсулина или обусловленные неэффективностью его действия (сахарном диабете, панкреонекрозе); • экстраинсулярные – не зависящие от влияния инсулина: <ul style="list-style-type: none"> – повышенная гормональная функция щитовидной железы (гипертиреоз), надпочечников (феохромоцитома), гипофиза; – диффузные поражения печени; – механическое и токсическое поражение ЦНС; – травмы и опухоли мозга; – эпилепсия; – сильный эмоциональный стресс; – отравления окисью углерода, стрихнином и другими веществами. <p>Наиболее существенное значение в формировании экстраинсулярных гипергликемий имеют следующие механизмы:</p> <ul style="list-style-type: none"> • усиленный распад гликогена;

1	2
	<ul style="list-style-type: none"> • повышенный глюконеогенез; • торможение синтеза гликогена; • снижение утилизации глюкозы под влиянием гормонов – антагонистов инсулина. <p><i>Гипогликемия.</i> Опасна тем, что глюкоза является жизненно важным энергетическим сырьем для головного мозга.</p> <p>Причины гипогликемии по механизму развития можно разделить на три группы:</p> <ul style="list-style-type: none"> • сниженный выход глюкозы; • увеличение утилизации глюкозы; • сниженный выход и увеличение утилизации глюкозы. <p>На практике чаще всего наблюдается:</p> <ul style="list-style-type: none"> • при передозировке инсулина или других сахароснижающих препаратов; • гипотиреозе, надпочечниковой недостаточности; • гиперфункции островков Лангерганса поджелудочной железы (аденомы, гиперплазии, гипертрофии); • алиментарной гипогликемии (голодание, длительные перерывы между приемами пищи).
<p>Креатинин, м. – 44– 115 мкмоль/л; ж. – 44– 97 мкмоль/л</p>	<p>Креатинин происходит в основном из креатинфосфата мышц, и его суточная продукция относительно постоянна и в норме зависит только от общей мышечной массы.</p> <p>При получении высоких (> 130 мкмоль/л) результатов у асимптомных больных возможны следующие клинические ситуации:</p> <ul style="list-style-type: none"> • у молодых и худощавых, без хорошо развитой мускулатуры (у девушек и астеничных юношей) – это может свидетельствовать об аномалиях развития и требует исключения заболевания почек; • у мужчин с хорошо развитой мускулатурой – это ожидаемый результат; • у пожилых – это отражает физиологическое (возрастное) снижение СКФ. <p>Если гиперкреатининемия не объясняется указанными выше причинами, возможны заболевания почек (часто протекают без выраженной клинической картины).</p> <p>Для того чтобы концентрация креатинина возросла до 200 мкмоль/л, скорость клубочковой фильтрации должна снизиться в 2 раза. Обнаружение нормальной концентрации не говорит об отсутствии патологии, а повышенная концентрация креатинина свидетельствует в большинстве случаев о патологии почек.</p>

1	2
	<p>Следует помнить, что изменение концентрации креатинина может происходить независимо от состояния почек при изменении мышечной массы. Так, концентрация креатинина снижается:</p> <ul style="list-style-type: none"> • при голодании; • после хирургических операций (ампутация); • при лечении кортикостероидами.
<p>Креатинкиназа, (КК, КФК), м. – 25–200; ж. – 25–175 Е/л</p>	<p>Катализирует фосфорилирование креатина в мышцах. Содержится в мышцах, головном мозге, миокарде, щитовидной железе, легких.</p> <p>Механизм увеличения активности – повреждение тканей. Основной источник КФК в сыворотке: скелетная мускулатура, миокард, мозг.</p> <p>Причины увеличения активности КФК:</p> <ul style="list-style-type: none"> • превышение нормы более чем в 10 раз: <ul style="list-style-type: none"> – инфаркт миокарда; – острый некроз скелетных мышц; • превышение нормы в 5–10 раз: <ul style="list-style-type: none"> – последствия хирургических вмешательств; – травмы скелетных мышц; – тяжелая физическая нагрузка; – эпилепсия; – миозит; – миодистрофия; – ревматоидный артрит; • превышение нормы менее чем в 5 раз: <ul style="list-style-type: none"> – физиологическое – у новорожденных; – гипотиреоз. <p>В соответствии с Международным консенсусом (2000 г.) активность общей КФК является достоверным диагностическим критерием инфаркта миокарда, если ее значение в 2 раза превышает допустимый уровень.</p>
<p>МВ-фракция креатинкиназы (МВ-КФК), до 24 Е/л</p>	<p>Активная молекула КФК представляет собой димер, т.е. состоит из двух субъединиц. Два мономера М и В образуют три изофермента: ВВ – локализована преимущественно в головном мозге; ММ – локализована преимущественно в скелетных мышцах; МВ – локализована преимущественно в миокарде. Определение изоформ КФК имеет большое клиническое значение в диагностике инфаркта миокарда и инсульта. Если активность МВ-КФК и общей КФК повышены, а активность МВ-КФК составляет от 6 до 25% от общей, то вероятность инфаркта миокарда очень велика. Иногда ложное увеличение активности МВ-КФК наблюдается при новообразованиях почек, яичников, молочной железы, когда в крови появляется ВВ-КФК.</p>

1	2
	<p>В соответствии с Международным консенсусом (2000 г.) активность МВ-КФК является достоверным диагностическим критерием инфаркта миокарда, если максимальное значение КК-МВ превышает установленный уровень в двух последующих определениях или однократное значение превышает верхнюю границу нормы в 2 раза в течение первых часов после начала клинического события. Уровень КК-МВ должен повышаться, а затем снижаться, уровень КК-МВ, остающийся без изменения, с ИМ не связан.</p>
<p>Лактатдегидрогеназа, 225–450 Е/л</p>	<p>Обратимо катализирует окисление лактата в пировиноградную кислоту. Содержится в цитозоле клетки. Очень широко распространена в организме. По степени убывания активности фермента органы и ткани можно расположить в следующем порядке: почки, сердце, скелетные мышцы, поджелудочная железа, селезенка, печень, легкие, сыворотка крови. Поэтому определение только общей ЛДГ не имеет большого клинического значения.</p> <p>ЛДГ сыворотки представлена пятью изоферментами. Это количество обусловлено наличием двух генетических локусов, которые кодируют синтез двух олигомеров – субъединицы М (muscle) и субъединицы Н (heart). Эти две субъединицы, комплексуясь в тетрамеры, образуют пять изоформ: ЛДГ₁ (НННН), ЛДГ₂ (НННМ), ЛДГ₃ (ННММ), ЛДГ₄ (НМММ), ЛДГ₅ (ММММ).</p> <p>Так как ЛДГ₁ имеет большую каталитическую активность в отношении α-гидроксibuтирата, а не лактата, то этот фермент принято называть α-гидроксibuтиратдегидрогеназа.</p> <p>Механизм увеличения активности – повреждение тканей.</p> <p>Основной источник сывороточной ЛДГ: считается, что ЛДГ₁ происходит в основном из сердечной мышцы, а ЛДГ₅ – из печени.</p> <p>Определение ЛДГ и α-гидроксibuтиратдегидрогеназы имеет наибольшее диагностическое значение для диагностики инфаркта миокарда.</p>
<p>Мочевая кислота, м. – 0,20–0,415; ж. – 0,12–0,34 ммоль/л</p>	<p>Мочевая кислота у человека является конечным продуктом распада пуринов. Повышение концентрации мочевой кислоты в крови называется гиперурикемией. Мочевая кислота и ее соли (ураты) плохо растворимы в воде, поэтому при повышении концентрации быстро кристаллизуются и агрегируют, следствием чего являются подагра, нефролитиаз и нефропатия.</p>

1	2
	<p>К повышению концентрации мочевой кислоты приводят как многие состояния и заболевания, так и наследственный дефект пуринового обмена. Следовательно, различают гиперурикемию первичную и вторичную.</p> <p><i>Первичная гиперурикемия</i> может быть обусловлена:</p> <ul style="list-style-type: none"> • снижением экскреции почками – имеется в виду идиопатическая первичная гиперурикемия; • увеличением продукции: идиопатическая первичная гиперурикемия; дефицит ферментов: глюкозо-6-фосфатазы (гликогеноз I типа) и гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы (синдром Леша – Нихана). <p><i>Вторичная гиперурикемия</i> развивается вследствие:</p> <ul style="list-style-type: none"> • снижения экскреции почками – почечная недостаточность, усиление канальцевой реабсорбции (дегидратация, прием диуретиков), угнетение механизмов канальцевой секреции (кетацидоз, лактоацидоз, прием салицилатов); • увеличения продукции – усиленное пищевое поступление (мясо, бобы, помидоры, щавель и др.); усиленный обмен нуклеиновых кислот (миело- и лимфопролиферативные состояния); увеличенное расщепление АТФ (этанолиндуцированная гиперурикемия, желобольные пациенты). <p>При беременности концентрация мочевой кислоты в сыворотке снижается, однако при снижении ренального клиренса (такие гестозы, как эклампсия и преэклампсия) – повышается. В настоящее время установлена корреляционная связь гиперурикемии у беременных и с перинатальной смертностью.</p> <p>В случае, когда кристаллы мочевой кислоты и уратов откладываются в синовиальной жидкости суставов и возникают периодически повторяющиеся приступы острого артрита, говорят о таком заболевании, как подагра. Не у всех больных с гиперурикемией развивается подагра, но у всех больных подагрой обнаруживается гиперурикемия.</p>
Мочевина, 2,50–8,32 ммоль/л	<p>Мочевина синтезируется в печени главным образом как продукт общего обезвреживания аммиака. Ее выделение с мочой – главный путь экскреции азота. Определение содержания мочевины имеет наибольшее значение для диагностики заболеваний почек. Хотя в норме азот мочевины составляет около 50% остаточного азота сыворотки крови, при почечной патологии содержание мочевины растет быстрее других компонентов и может увеличиться до 90%.</p>

1	2
	<p>Повышение уровня мочевины в сыворотке крови наблюдается чаще всего при заболеваниях почек: при почечной недостаточности, нефритах, рефлексной анурии, почечнокаменной болезни и др. Однако увеличение концентрации мочевины может быть обусловлено целым рядом причин, не связанных с заболеваниями почек:</p> <ul style="list-style-type: none"> • увеличение образования мочевины: <ul style="list-style-type: none"> – потребление большого количества белка; – усиление катаболизма; • усиление реабсорбции: <ul style="list-style-type: none"> – при значительном обезвоживании. <p>Следует отметить такие заболевания, как болезнь Аддисона, тяжелые инфекционные заболевания, сопровождающиеся интенсивным распадом белков, ожоги, перитониты.</p> <p>Уменьшение содержания мочевины в крови наблюдается при нарушении мочевинообразовательной функции печени в результате паренхиматозной желтухи, острой дистрофии органа, декомпенсированного цирроза.</p>
Триацилглицерины, 0,5–1,8 ммоль/л	<p><i>Гипертриацилглицеринемия</i> может быть первичной, семейной, обусловленной генетической предрасположенностью (например, из-за отсутствия или недостатка липопротеинлипазы) или преобладанием в рационе некоторых продуктов (простые углеводы, алкоголь, животные жиры и др.).</p> <p>Но значительно чаще встречается вторичная гипертриацилглицеринемия, т.е. обусловленная различными заболеваниями. Наиболее часто гипертриацилглицеринемия наблюдается при сахарном диабете, ожирении, заболеваниях почек (нефротический синдром и хроническая почечная недостаточность), приеме некоторых лекарственных препаратов (пероральные контрацептивы, мочегонные, β-блокаторы и др.).</p> <p><i>Гипотриацилглицеринемия</i>, т.е. снижение концентрации менее 0,5 ммоль/л (у взрослых), имеет значительно меньшее клинико-диагностическое значение и наблюдается при голодании, злокачественных новообразованиях, тяжелых заболеваниях печени и т.д.</p>
Фосфатаза щелочная, до 117 Е/л	<p>Содержится в печени, костях, кишечнике, плаценте, почках.</p> <p>Основной источник сывороточной ЩФ – гепатобилиарное дерево и кости.</p> <p>Механизм повышения активности ЩФ связан:</p> <ul style="list-style-type: none"> • с индукцией фермента в печени вследствие холестаза;

1	2
	<ul style="list-style-type: none"> • увеличением секреции фермента некоторыми клетками, например остеобластами. <p>Причины увеличения активности ЩФ:</p> <ul style="list-style-type: none"> • физиологические: <ul style="list-style-type: none"> – беременность – за счет синтеза фермента микроворсинками трофобласта. Во втором и третьем триместре беременности может увеличиваться в 2 раза; – детский возраст – за счет роста костей. При рождении активность высока, затем быстро падает, но продолжает превышать норму взрослых в 2–3 раза. В подростковом возрасте снова значительно увеличивается; • патологические: <ul style="list-style-type: none"> • превышение нормы более чем в 5 раз: <ul style="list-style-type: none"> – болезнь Педжета; – остеомалация и рахит; – холестаз (особенно экстрагепатобиллиарный); – цирроз; • превышение нормы менее чем в 5 раз: <ul style="list-style-type: none"> – опухоли кости (первичные и метастазы); – почечная остеодистрофия; – гиперпаратиреоз; – заживающие переломы; – остеомиелит; – объемные поражения печени; – гепатиты; – ревматоидный артрит; – язвенный колит; – карцинома бронхов, легких и молочной железы; – гипернефрома. <p>Считается, что при злокачественных новообразованиях увеличение активности ЩФ связано с тем, что многие опухолевые клетки способны сами синтезировать щелочную фосфатазу. Иногда у пожилых людей определяется повышенная активность ЩФ без каких-либо клинических проявлений, в этих случаях предполагают скрытый остеопороз.</p>
Холестерин общий, 3,65–5,2 ммоль/л	<p>Повышенная концентрация холестерина крови (<i>гиперхолестеринемия</i>) – это один из главных факторов риска развития атеросклероза. При оценке зависимости смертности от ИБС и концентрации холестерина установлено, что смертность удваивается при увеличении концентрации холестерина с 5,2 до 6,5 ммоль/л и увеличивается в 4 раза при концентрации холестерина 7,8 ммоль/л.</p> <p><i>Гиперхолестеринемия</i> может быть первичной, семейной, обусловленной генетической предрасположенно-</p>

1	2
	<p>стью (например, из-за отсутствия или недостатка рецепторов к ЛПНП) или преобладанием в рационе продуктов, богатых холестерином (животные жиры, яйца, твердые сыры и др.).</p> <p>Но значительно чаще встречается вторичная гиперхолестеринемия, т.е. обусловленная различными заболеваниями. Наиболее часто гиперхолестеринемия наблюдается при гипотиреозе, холестазах, ожирении, заболеваниях почек, сахарном диабете, приеме некоторых лекарственных препаратов (пероральные контрацептивы, гипотензивные препараты и др.).</p> <p><i>Гипохолестеринемия</i>, т.е. снижение концентрации менее 3,65 ммоль/л (у взрослых), имеет значительно меньшее клинико-диагностическое значение, наблюдается при голодании, злокачественных новообразованиях, гипертиреозе, тяжелых заболеваниях печени и т.д.</p>
<p>Холестерин-ЛПВП (α-холестерин), м. – 0,9–1,9; ж. – 1,0–2,0 ммоль/л</p>	<p>ЛПВП представляют собой антиатерогенный класс липопротеинов. Синтезируются ЛПВП в гепатоцитах, энтероцитах и внутрисосудистом пространстве. ЛПВП представляет собой гетерогенный класс липопротеинов.</p> <p>В настоящее время признано, что высокий уровень холестерина ЛПВП является самостоятельным анти-риск-фактором развития атеросклероза.</p> <p>Факторы, обуславливающие низкий уровень ХС-ЛПВП:</p> <ul style="list-style-type: none"> • принадлежность к мужскому полу; • прогестины; • ожирение; • гипертриглицеридемия; • высокое потребление углеводов; • сахарный диабет у взрослых; • низкая физическая активность; • курение. <p><i>Гипо-α-липопротеинемия</i> может наблюдаться при следующих патологических процессах: острый гепатит, цирроз печени, острый холецистит, сахарный диабет, нефротический синдром, острые бактериальные и вирусные инфекции, воспалительные заболевания легких, врожденная гипо-α-липопротеинемия (Танжерская болезнь), прием прогестинов, пробукола, гидроклортиазида, лимфогранулематоз, общие тяжелые состояния, хронические энтероколиты.</p> <p>Гипо-α-липопротеинемия особое значение имеет у больных ИБС на фоне нормального уровня общего холестерина и триацилглицеринов. В этом случае уровень ХС-ЛПВП как предиктор несет даже большую</p>

1	2
	<p>информацию, чем уровень общего ХС или ХС-ЛПНП. Факторы, обуславливающие высокий уровень ХС-ЛПВП:</p> <ul style="list-style-type: none"> • принадлежность к женскому полу; • эстрогены; • высокая физическая активность; • снижение массы тела; • употребление алкоголя. <p><i>Гипер-α-липопротеинемия</i> может наблюдаться при следующих патологических состояниях: злоупотребление алкоголем (увеличение уровня ХС-ЛПВП одновременно с увеличением уровня ТГ и активности γ-ГТ являются патогномичным для злоупотребления алкоголем), длительный прием эстрогенов, воздействие пестицидов, токсические гепатиты, нарушения функции щитовидной железы, прием противосудорожных препаратов.</p> <p>Гиперальфахолестеринемия может быть семейной. Этот синдром связан, как правило, с низкой частотой развития ИБС и не требует специальной терапии.</p>
Моча	
Белок, г/л (или г/сут), нет	<p>В моче здорового человека содержится 0,005–0,008 г/л белка, это количество не определяется применяемыми методами исследования. В норме могут определяться следы белка – 0,025–0,1 г/л. Наличие белка в моче называется <i>протеинурией</i>. Потеря белка свыше 3 г/л считается массивной.</p> <p>Протеинурия бывает функциональной (или физиологической), при этом содержание белка в моче, как правило, не превышает 0,3 г/л, и патологической, т.е. возникающей при различных заболеваниях.</p> <p>Физиологическая протеинурия – это временное появление белка в моче, не связанное с заболеванием. Может наблюдаться:</p> <ul style="list-style-type: none"> • после значительной физической нагрузки; • переохлаждения; • сильного стресса; • при обильном приеме сырого яичного белка; • ортостатическая юношеская протеинурия (т.е. у молодых людей утром при сборе мочи в положении лежа белка нет, а при сборе в вертикальном положении появляется белок в моче); • попадании в мочу крови или спермы. <p>Обычно при физиологической протеинурии белок в моче обнаруживается только в утренней порции.</p>

1	2
	<p>Патологическая протеинурия по механизму возникновения подразделяется:</p> <ul style="list-style-type: none"> • на ренальную: <ul style="list-style-type: none"> – клубочковую – связана с повышенной проницаемостью почечных клубочков, это наблюдается при гломерулонефритах, артериальной гипертензии и т.д.; – канальцевую (тубулярную) – связана с неспособностью канальцев реабсорбировать белки, наблюдается при амилоидозе, интерстициальном нефрите и др.; • преренальную – когда усилен распад белка тканей (обычно это белок Бенс-Джонса, миоглобин или гемоглобин), наблюдается при лейкозах, миеломной болезни, наследственных заболеваниях мышц, гемолизе эритроцитов и др.; • постренальную – при поражении мочевыводящих путей и половых органов (при циститах, уретритах и т.д.). <p>Протеинурию всегда следует рассматривать как симптом, который встречается при большом количестве заболеваний и не имеет самостоятельного прогностического значения.</p>
Глюкоза, ммоль/сут, нет	<p>Моча здорового человека содержит минимальное количество глюкозы, которое обычными методами не определяется, поэтому принято считать, что в норме глюкозы в моче нет. Обнаружение глюкозы в моче называется <i>глюкозурией</i>. При превышении почечного порога (это 7,8–9,99 ммоль/л в крови) глюкоза появляется в моче.</p> <p><i>Почечный порог выделения</i> – это концентрация вещества в крови, превышение которой ведет к прекращению его реабсорбции в почечных канальцах.</p> <p>Почечный порог глюкозы может увеличиваться – при атеросклеротическом поражении сосудов почек, а также уменьшаться – при так называемом почечном диабете (эссенциальная почечная глюкозурия – аутосомно-рецессивное заболевание), когда глюкозурия появляется при нормальной концентрации глюкозы в крови.</p> <p>Глюкозурия может быть:</p> <ul style="list-style-type: none"> • физиологическая – при стрессах, повышенном приеме углеводов пожилыми людьми; • экстраренальная, т.е. не связанная с заболеваниями почек. Она встречается при сахарном диабете, панкреатитах, феохромоцитомах, гипертиреозе, инсультах, отравлениях окисью углерода, морфием, хлороформом и т.д.; • ренальная – почечный диабет, хронические нефриты, острая почечная недостаточность, гестозы беременных, отравления фосфором.

1	2
Билирубин, нет	В норме присутствующий в плазме билирубин по большей части (примерно 95%) не конъюгирован, и, поскольку он связан с белками, не фильтруется почечными клубочками и в моче здоровых людей не обнаруживается. Билирубинурия отражает повышение концентрации конъюгированного билирубина в плазме, и это всегда — признак патологии. Наблюдается при паренхиматозной и обтурационной желтухах.
Уробилиноген, 0,08–4,23 мкмоль/сут	В кишечнике билирубин под действием бактерий превращается в бесцветный уробилиноген, некоторое количество уробилиногена всасывается в кишечнике и попадает в портальную кровь. Печень поглощает его не полностью, и небольшое количество уробилиногена попадает в системную циркуляцию и выводится с мочой. При гемолитической и паренхиматозной желтухах повышается. Полное отсутствие говорит о полном нарушении поступления желчи в кишечник.
Ванилил-миндальная кислота (ВМК), 0,7–3,8 мг/сут, или 2,5–38,0 мкмоль/сут	ВМК является одним из конечных продуктов обмена катехоламинов. Конечные продукты образуются в результате оксиметилирования и окислительного дезаминирования катехоламинов. Небольшое преходящее повышение свидетельствует о повышении функциональной активности симпатoadреналовой системы, стойкое повышение наблюдается при феохромоцитоме. Кроме того, увеличение концентрации ВМК в моче наблюдается при гипертонических кризах, остром инфаркте миокарда, обострении язвенной болезни, а также под влиянием курения, выраженной физической нагрузки и стрессах. Снижение экскреции ВМК наблюдается при болезни Аддисона, коллагенозах, лейкозах, острых инфекционных заболеваниях, когда имеет место подавление деятельности хромоаффинных клеток мозгового вещества надпочечников.
α -Амилаза, 28–160 г/л · ч	С мочой выделяется в основном панкреатическая амилаза. У здоровых людей содержание Р-амилазы в моче в 2 раза выше, чем S-амилазы. Поэтому наибольшее значение увеличение амилазы мочи имеет для диагностики острого панкреатита. После приступа панкреатита, после того как активность амилазы крови возвращается к норме, в моче она может оставаться повышенной еще до 7 суток. При исследовании амилазы в моче следует помнить, что исследование ее разовой порции менее информативно, чем исследование амилазы в суточной моче.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Опухоли устойчиво занимают второе место после сердечно-сосудистых заболеваний в печальном рейтинге причин смерти людей в развитых странах, и пока так же устойчиво держат первое место по ужасу, который вызывает этот диагноз у человека. Это связано со сложившимся мнением о неизлечимости опухолевых заболеваний. Последние два десятилетия внесли много нового в представления о причинах возникновения и развития рака, и успехи таких исследований начинают постепенно вселять уверенность в возможности победы над этой сложной патологией.

Важность изучения клеточной биологии рака обусловлена тем, что в основе опухолевых заболеваний лежат нарушения наиболее фундаментальных законов поведения клеток в многоклеточном организме. Понимание основных закономерностей биологии самой клетки и правил ее жизни в организованном сообществе клеток – организме и есть путь к решению проблемы рака. Именно по этой причине фундаментальные исследования канцерогенеза позволили значительно расширить наши представления о жизни нормальной клетки и разработать новые эффективные методы исследования, которые определили успехи молекулярной биологии клетки последних лет. Полученные данные дали также возможность искать новые подходы к терапии рака. Приведенные здесь данные не претендуют на охват всех проблем молекулярной онкологии и отражают лишь некоторые из них.

В основе злокачественного роста лежит преобразование нормальных клеток. Канцерогенез определяют как преобразование нормальных клеток, которые адекватно реагируют на сигналы, регулирующие гомеостаз организма, в клетки, которые способны к автономному росту, инвазии в окружающую ткань и метастазированию. У взрослого человека примерно 10^{15} клеток. Многие клетки делятся и дифференцируются. Например, каждые 10 дней происходит смена клеток эпителиального слоя кишечника, некоторые формы лейкоцитов меняются каждые 24 ч, эритроциты – 112 дней. Клетки, способные восполнять эти потери, называют стволовыми. За сутки происходит до 10^{12} делений стволовых клеток. Несмотря на такую огромную продукцию новых клеток, масса и форма человеческого тела не меняется в течение многих десятилетий. Постоянное число кле-

ток поддерживается благодаря тонким специальным механизмам регуляции процессов деления и смерти. Любой фактор, который изменяет баланс между рождением и смертью, при отсутствии механизма защиты изменяет общее количество клеток в специфическом органе или ткани. В случае преобладания деления над смертью после нескольких клеточных генераций увеличенное число клеток проявится как новообразование. Поскольку механизмы регуляции деления и смерти клеток генетически детерминированы, общепризнанно, что случайные мутации в генах, продукты экспрессии которых регулируют деление и смерть клетки, ответственны за возникновение опухолей. «Успех» такой клетки недолговечен и определяется продолжительностью жизни организма-хозяина, хотя хорошо известен факт, когда такие клетки намного пережили своего хозяина. Генриетта Лакс (Henrietta Lacks) умерла от рака шейки матки в 1951 г. в возрасте 31 года в университетской клинике Джона Гопкинса в Балтиморе (штат Мэриленд, США). Клетки, полученные из биоптата этой опухоли (HeLa клетки), используются до сих пор в лабораториях многих стран мира. Большинство мутаций, которые вызывают рак, не наследуются. Они возникают спонтанно как следствие химического или вирусного повреждения ДНК, вызывающего изменение функции критических генов.

Известно, что мутация – это изменение нуклеотидной последовательности гена, однако в контексте канцерогенеза будет использоваться более широкое толкование этого термина. Мутация будет рассматриваться как любое изменение в геноме специфической клетки. Это понятие будет включать:

- точечные мутации, которые вызывают замену аминокислот в белке;
- мутации со сдвигом рамки или мутации терминирующих кодонов, которые при экспрессии изменяют последовательность аминокислот в белках;
- изменение структуры хромосом, приводящее к амплификации, сверхэкспрессии или другой измененной экспрессии специфических генов;
- потерю гена или его слияние с другим геном в результате перестройки хромосом, что приводит к возникновению химерных белков с измененной функцией;
- эпигенетические модификации ДНК, среди которых наиболее важным является метилирование цитозина в местах нахождения нуклеотидных пар Ц – Г. Это ведет к угнетению функции (сайленсингу) гена.

Основную роль в возникновении раковых клеток играют мутации, следствием которых могут быть два типа изменений. К одному из них относятся мутации, которые ведут к увеличению активности белков, экспрессируемых мутировавшим геном. Этот класс генов называют онкогенами. К другому типу относятся мутации, которые

инактивируют функцию гена. Такие гены называют генами – супрессорами опухоли. Следует особо подчеркнуть, что и в первом, и втором случае механизмы повреждения генома, вызвавшие эти мутации, идентичны.

Мутации требуют пролиферации. Непосредственное повреждение ДНК – это еще не мутация. Для преобразования повреждения ДНК в наследуемое изменение этой молекулы, которое и является мутацией, необходима репликация ДНК и последующее деление клетки. Тем самым пролиферация становится важным фактором в формировании мутаций и в создании клонов клеток, несущих эти мутации. Однако для этого стволовой клетке с поврежденной молекулой ДНК следует преодолеть значительное число проверок, которые направлены на предупреждение нежелательного деления клетки с поврежденной ДНК.

За немногими исключениями, злокачественные клетки должны накопить несколько мутаций в соответствующих генах, которые обеспечивают автономную репликацию и инвазию. Однако мутация в специфическом генетическом локусе – довольно редкий случай. Даже в условиях преднамеренного химического повреждения клетки в лабораторных условиях частота мутаций в специфических участках генома составляет 10^{-6} , т.е. происходит мутация в одной из миллиона клеток. Частота мутаций в стволовых клетках человека в обычных условиях еще ниже и составляет 10^{-10} на одно деление клетки. Однако у взрослого человека, как предполагается, содержится много мутировавших клеток вследствие большого количества пролиферирующих стволовых клеток. К счастью, для приобретения свойств, присущих злокачественной клетке, необходимо иметь мутации по крайней мере в пяти генах.

Поскольку вероятность появления клетки, в которой одновременно возникли бы все пять мутаций, чрезвычайно мала, процесс их появления можно представить следующим образом. Клетки, несущие начальную мутацию, так называемые иницирующие клетки, должны создать клон из нескольких миллионов клеток. В этом клоне вероятность второй мутации в соответствующем гене у одной клетки снова нарастает. Возникновение новой мутации в клоне иницирующих клеток требует возникновения нового клона клетки с двумя мутациями и т.д, пока не будет накоплено достаточное количество мутаций для появления автономно делящихся клеток. Этот процесс клинически проявляется как прогрессия болезни и характеризуется увеличением скорости роста, появлением способности вторжения в соседнюю ткань и метастазирования, ангиогенеза и постепенного развития устойчивости к применяемым химиотерапевтическим средствам.

ДНК – объект химического повреждения. Хотя природа придала молекуле ДНК важные функции, это обычная молекула, чьи хи-

мические связи повинуются тем же законам, что и другие молекулы. Поэтому в течение своей жизни она подвержена воздействиям многих факторов окружающей среды, которые влияют на ее структуру прямо или косвенно через систему участников ее синтеза. Показано, что около 70% случаев возникновения рака в Европе связано с питанием и образом жизни. Здесь в первую очередь следует отметить нехватку ряда питательных веществ, преимущественно локализованных в плодах и овощах. Они выполняют защитную роль в возникновении рака.

Повреждение ДНК может быть следствием воздействия физических или химических факторов окружающей среды. В ряде случаев опухоль возникает без какой-либо видимой причины. При обследовании больного не удается установить контакта с канцерогенами из окружающей среды, вирусами; отсутствует влияние физических факторов или генетическая предрасположенность. Это свидетельствует о том, что существует вероятность спонтанного повреждения ДНК.

Спонтанные мутации ДНК происходят в результате ошибок ДНК-полимеразы во время репликации или в результате копирования поврежденной молекулы ДНК. Эволюция выработала высокоэффективные механизмы копирования ДНК, к которым относятся способность самой полимеразы проверять и исправлять свои ошибки, а также специальная система ферментов репарации, проверяющих целостность ДНК и исправляющих обнаруживаемые ошибки. Благодаря этим системам частота ошибок при нормальной репликации ДНК имеет величину порядка $1,3 \cdot 10^{-10}$ мутаций/пара оснований/клеточное деление. В геноме человека около $3 \cdot 10^9$ пар азотистых оснований. Таким образом, в отдельной исходной клетке одна ошибка, нарушающая кодирование, приходилась бы на каждые 10 делений.

Учитывая, что 97% ДНК не кодирует информации о структуре белков или пептидов вследствие избыточности генетического материала, многие изменения азотистых оснований не сказываются на последовательности аминокислот в белках и пептидах. Из этого следует, что функциональная частота мутаций должна быть на несколько порядков ниже фактической. Однако существует вероятность увеличения числа мутаций. К примеру, химическое повреждение ДНК может повысить скорость мутаций за счет повреждения генов, ответственных за точность копирования ДНК (так называемый мутаторный фенотип).

Спонтанные повреждения ДНК, связанные с неустойчивостью самой молекулы ДНК, встречаются довольно часто. Депуринаяция путем расщепления N-гликозидной связи, соединяющей пурины с дезоксирибозой, встречается с частотой 10^4 /клетка/сут. Апуриновые сайты могут при репликации способствовать случайным вставкам азотистых оснований. Дезаминирование цитозинрибозиды в ури-

дин происходит с частотой 20/клетка/сут. Образовавшийся уридин в составе ДНК приведет к мутации в виде появления комплементарной пары Г – Т. Полагают, что самым частым спонтанным мутагенным повреждением ДНК является дезаминирование метилцитозина с образованием тимина. В этом случае происходит транзición Ц → Т. Такая мутация часто наблюдается при раке у человека.

В дополнение к таким спонтанным заменам повреждение ДНК нередко вызывается активными продуктами окисления. Например, образование 8-гидроксидезоксигуанозина, возможно наиболее опасного из мутагенных продуктов, встречается с частотой до $2 \cdot 10^4 - 2 \cdot 10^5$ /клетка/сут. Но накоплению такого повреждения противостоит система ферментов репарации ДНК, которые быстро восстанавливают нарушенную последовательность.

Индукция повреждения ДНК экзогенными агентами. *Химические канцерогенные вещества.* Помимо указанных выше примеров спонтанного нарушения структуры ДНК эта молекула является объектом повреждающего действия экзогенных химических и физических факторов, получивших название «экологические канцерогены». Наиболее частой химической реакцией, вызывающей повреждение ДНК при их участии, является электрофильная атака на тканевые нуклеофилы, и в первую очередь на гуанин. Последующие химические изменения структуры ДНК закрепляются репликацией.

Самый ранний пример экологического карциногенеза относится к 1775 г., когда обратили внимание на большую частоту возникновения опухолей у рабочих, работающих с битумом. Это позволило в последующем идентифицировать в битуме ароматический полициклический углеводород, 3,4-бензпирен, и другие полициклические углеводороды. В экспериментах на лабораторных животных была доказана их способность вызывать рак кожи. Позже исследование причин частого возникновения рака мочевого пузыря у рабочих химической промышленности привело к выявлению еще одной группы канцерогенов – 2-нафтиламинов.

По мере роста представлений о том, что некоторые формы рака у человека имеют экологическое происхождение, обусловленное контактом с химическими веществами, список канцерогенных соединений быстро расширялся. Разнообразные химические соединения в нем отличались высокой химической устойчивостью. Объяснить их способность вызвать глубокие изменения в поведении клеток удалось в конце 60-х – начале 70-х гг. XX в., когда было показано, что эти стабильные химические канцерогены превращались в организме человека при участии ферментов в активные химические соединения. Они обладали свойствами электрофилов, которые обычно участвуют в обезвреживании ксенобиотиков.

Попытаемся воспроизвести последовательность событий, которые могут привести к изменению структуры ДНК и последующему возникновению опухоли, на примере одного из самых простых химических канцерогенов – диметилнитрозамина. Это вещество широко

ко использовалось как химический растворитель. Его канцерогенное действие было обнаружено случайно, когда у животных, которые выжили после острого отравления этим соединением, в последующем развился рак печени. Случайное наблюдение открыло новый класс канцерогенных веществ – N-нитрозаминов, которые широко распространены в разных источниках, от пива и табачного дыма до косметических препаратов. Оказалось, нитрозамины могут образовываться в кислой среде желудка из потребляемых с пищей первичных и вторичных аминов (в высокой концентрации содержатся в рыбе) и азотистокислого натрия (добавлялся в соленую рыбу для ее сохранения). Это позволило объяснить особенно высокую частоту рака желудка в Исландии, где засаливаемая рыба – главный продукт питания.

Из диметилнитрозамина в ходе метаболических превращений образовывался активный электрофил – ион метилкарбония, который взаимодействовал с ДНК (рис. П1.1). Продукт реакции – O⁶-метилгуанин при условии нарушения репарации ДНК способствовал образованию точечных мутаций, которые были потенциально канцерогенны.

Важную роль в понимании того, что канцерогены вызывают образование мутагенно измененных молекул ДНК, сыграли предложенные методы обнаружения экологических мутагенов *in vitro*. Первым среди них был тест Эймса. Он проводился на бактериях и позволял быстро, полуколичественно определить мутагенную способность исследуемых веществ. Несмотря на видовую и органную специфичность метаболизма канцерогенов, результатом этого и других тестов было растущее понимание наличия потенциальных канцерогенов в пищевых продуктах и окружающей среде. Развитие адекватных методов исследования химических соединений на канцерогенность у человека остается актуальной проблемой здравоохранения.

Особое место среди химических канцерогенов занимают противоопухолевые химиотерапевтические средства. Многие из них взаимодействуют с ДНК (алкилирующие вещества типа циклофосфамида или антибиотики) подобно описанным выше механизмам. Установлено, что риск заболеть любым вторичным раком после лечения злокачественного новообразования составляет 17,6% против 2,6% в общей популяции. Причем наиболее быстро развивающимися опухолями были лейкозы. Пик их возникновения наблюдается приблизительно через восемь лет. Солидные опухоли начинают появляться через десять лет, и возникновение их увеличивается со временем. Результатом этих наблюдений явилось осознание необходимости создания такой специфической терапии, которая не увеличивала бы риск развития рака.

Физические канцерогены. Канцерогенный потенциал ионизирующей радиации и ультрафиолетового излучения достаточно хорошо

Диметилнитрозамин

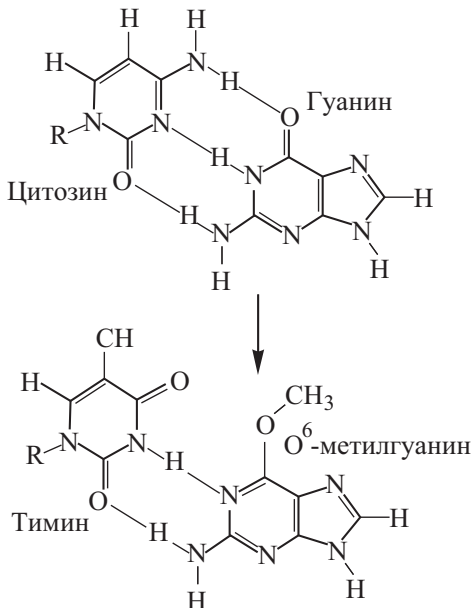
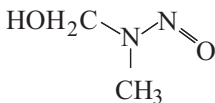
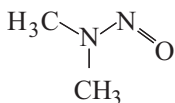


Рис. III.1. Метаболическая активация диметилнитрозамина и продукты реакции с ДНК:

метаболическая активация с участием цитохрома P_{450} происходит, главным образом, в печени и приводит к формированию потенциально мутагенного производного O^6 -метилгуанина. Если это изменение не удалось исправить при репаративной репликации, O^6 -метилгуанин образует комплементарную пару с тиминном вместо цитозина во время репликации ДНК, формируя точечную мутацию

известен. Ионизирующая радиация может оказать прямое повреждающее воздействие на ДНК, вызывая одно- и двухцепочечные разрывы спирали ДНК, и косвенное вследствие радиолитиза воды с образованием свободных радикалов. Ультрафиолетовые лучи из-за недостаточности энергии не обладают ионизирующим действием, однако поглощаются азотистыми основаниями ДНК и способны вызвать химические реакции. Одна из наиболее хорошо изученных реакций происходит между двумя смежными тиминами в спирали ДНК и приводит к образованию димера тимина. Димеры нарушают нормальное комплементарное связывание оснований и создают препятствие ДНК-полимеразе. При условии нарушения механизма репарации на этом участке ДНК могут возникать мутации.

Почти 90% рака кожи у людей возникают на участках тела, облучаемых солнцем. Редкая наследственная болезнь, пигментная ксеродермия, сопровождается высокой чувствительностью к ультрафиолете

товым лучам. Она характеризуется частым возникновением рака кожи и является результатом дефекта в генах, ответственных за удаление и репарацию тиминовых димеров. Открытие того, что ультрафиолетовое излучение вызывает повреждение ДНК, а нарушение репарации этого повреждения ведет к канцерогенезу, было первым четким доказательством значения повреждения ДНК в возникновении рака у человека.

Большинство повреждений ДНК поддается репарации. Хотя данные о повреждающем действии химических веществ и ионизирующей радиации получены сравнительно недавно, с самого начала существования жизни на Земле геном постоянно подвергался действию эндо- и экзогенных факторов. В ходе эволюции образовались специальные гены, единственная цель которых состоит в том, чтобы следить за состоянием генома и сигнализировать о его повреждении. Кроме того, возникли гены, основной функцией которых является устранение ошибок, возникающих в процессе репликации.

Механизмы репарации различны и зависят от типа повреждения. Например, удаление димеров тимина включает удаление целого отрезка ДНК с последующим ресинтезом. При этом в качестве матрицы используется комплементарная неповрежденная цепь. Алкилируемые основания типа O^6 -метилгуанина могут быть удалены без нарушения дезоксирибозофосфатного остова цепи. Разрывы одной из цепей в молекуле ДНК, вызванные ионизирующей радиацией, могут устраняться непосредственно.

По-видимому, только один тип повреждения ДНК не поддается репарации – двухцепочечные разрывы молекулы ДНК, поскольку при этом клетка не имеет неповрежденной матрицы, которая могла бы обеспечить информацию, необходимую для воссоздания поврежденной цепи. В зависимости от места двунитиевого разрыва этот тип повреждения может привести к смерти клетки, или, что важно для канцерогенеза, к распаду хромосомы и рекомбинации с последующим активированием или дезактивированием соответствующих генов.

Врожденные нарушения функции ферментов репарации значительно повышают вероятность развития опухолей. Известно несколько таких наследственных заболеваний, среди которых можно назвать атаксию-телеангиоэктазию и упомянутую выше пигментную ксеродермию.

Контрольные пункты клеточного цикла ограничивают репликацию поврежденной ДНК. Как уже упоминалось выше, повреждение ДНК не является мутацией до тех пор, пока оно не пройдет этап репликации, поэтому чрезвычайно важно не допустить вступления такой поврежденной ДНК в процесс репликации без исправления повреждения. В процессе эволюции созданы соответствующие механизмы, обеспечивающие жесткий контроль деления клетки.

Митотическое деление клетки представляет собой циклический процесс, состоящий из нескольких фаз: фазы G1, в которой идет под-

готовка к синтезу ДНК; фазы S – периода репликации ДНК; фазы G2, в которой идет подготовка к митозу, и, наконец, собственно митоз – процесс деления клетки на две новые. Образовавшиеся дочерние клетки могут сразу войти в новый митотический цикл или временно выйти из него в фазу G0 – стадию покоя. Движущей силой клеточного цикла является последовательное активирование сменяющих друг друга специфических ферментов, названных циклинзависимыми протеинкиназами. Циклинзависимая киназа состоит из собственно каталитической субъединицы (Cdk) и регуляторной субъединицы – циклина. Связывание с циклином увеличивает киназную активность Cdk, определяет ее локализацию и субстратную специфичность.

В определенные фазы клеточного цикла уровень экспрессии каждого из циклинов (в меньшей степени Cdk) направленно изменяется (рис. П1.2). Так, выход клетки из стадии покоя и вход в фазу G1 определяется образованием комплексов циклинов D (D1 – D3) с Cdk4 или Cdk6 (в зависимости от типа клеток). Переход из G1 в S связан с образованием комплексов циклина E с Cdk2, и т.д. Вход в митоз обусловлен образованием комплексов Cdk1 (другое более распространенное название – Cdc2) с циклином B.

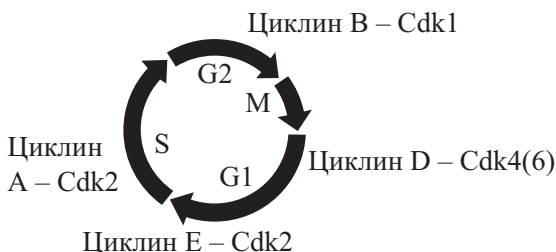


Рис. П1.2. Участие циклинов и циклинзависимых киназ в регуляции клеточного цикла

Активность Cdk регулируется также путем ковалентной модификации их аминокислотных остатков. В этом механизме участвуют протеинкиназы САК, Wee1, которые фосфорилируют ферменты, и фосфатаза Cdc25, которая их дефосфорилирует. Наконец, активность Cdk регулируется путем связывания ингибиторов, называемых CKI.

CKI – группа белков, состоящая из двух семейств. Представители семейства Cip/Kip (p21^{WAF1/CIP1}, p27^{KIP1} и p57^{KIP2}) ингибируют различные комплексы Cdk2, ответственные за реализацию S фазы. В меньшей степени они подавляют активность комплексов циклин B – Cdc2, ответственных за вход в митоз. С другой стороны, они не ингибируют, а даже активируют комплексы циклин D – Cdk4(6),

оперирующие в ранней G1 фазе. Члены семейства Ink4 (p16^{INK4a}, p15^{INK4b}, p18^{INK4c}, p19^{INK4d}) непосредственно взаимодействуют с Cdk4(6). При этом, связывая Cdk4(6), находящиеся в составе активных комплексов, с циклином D и белками Cip/Kip, они вытесняют белки Cip/Kip, направляя их на связывание с Cdk2.

Выход покоящейся клетки из фазы G0 и вступление ее в митотический цикл инициируется в первую очередь секретируемыми цитокинами из группы факторов роста. Кроме того, для деления большинства типов нормальных клеток необходимо также взаимодействие специфических рецепторов клетки, интегринов, с определенными белками внеклеточного матрикса (фибронектином, коллагеном и др.). Связывание рецепторов со своими лигандами, ростовыми факторами и белками внеклеточного матрикса, индуцирует аутофосфорилирование внутриклеточных доменов рецепторов и дальнейшее их взаимодействие со многими сигнальными белками. Следствием этого является стимуляция пересекающихся сигнальных путей и активация так называемых MAP (Mitogen Activated Protein) киназных каскадов. Конечные продукты этих каскадов, серин-треониновые киназы ERK1/2, JNK и p38, поступают из цитоплазмы в ядро, где они фосфорилируют множество субстратов, что в конечном итоге приводит к активации циклинзависимых киназ, инициирующих вход в фазу S.

Действие большинства рост-ингибирующих факторов (цитокинов типа фактора некроза опухолей b, фактора контактного торможения при установлении межклеточных контактов, повреждении ДНК и других внутриклеточных нарушений) основано на активации ингибиторов циклинзависимых киназ (CKI) семейств Ink4 и Cip/Kip, что приводит к остановке клеточного цикла в так называемых контрольных точках (checkpoints) (рис. П1.3). В зависимости от типа рост-ингибирующего воздействия и молекул, вовлеченных в его распознавание, наблюдается остановка клеточного цикла в G1, S, G2 фазах или в митозе.

Один из важнейших контрольных пунктов расположен в поздней фазе G1. От него зависит вход в фазу S, что является своеобразным посвящением клетки в деление. Если устранить действие факторов роста, деление клетки задерживается в этом пункте. Чтобы перейти к фазе S, следует сформировать активный G1 комплекс, который состоит из Cdk4, PCNA (ядерный антиген пролиферирующей клетки) и циклина D. Cdk4 в составе этого комплекса фосфорилирует белок, названный pRb, который обычно прочно связан с фактором транскрипции E2F. Фосфорилирование вызывает диссоциацию комплекса pRb – E2F, и высвободившийся E2F инициирует транскрипцию двух главных классов генов. К ним относятся гены, кодирующие тимидинкиназу, дигидрофолатредуктазу, тимидилатсинтазу и ДНК-полимеразу (необходимые для синтеза ДНК), и гены, кодирующие циклин E и Cdk2 (поддерживают фосфорилированную форму pRb и обеспечивают независимый от митогенов проход через фазу S цик-

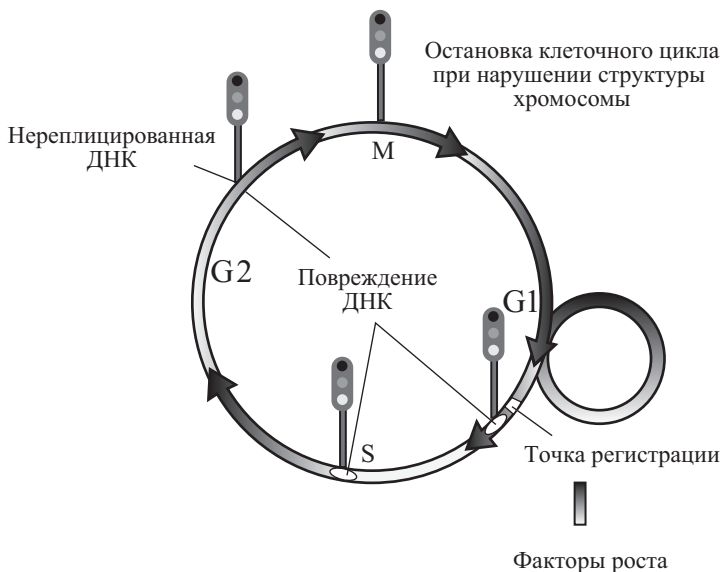


Рис. П1.3. Контрольные пункты в клеточном цикле:

пункт в поздней фазе G1 при отсутствии сигналов со стороны факторов роста, несколько точек при повреждении ДНК (фазы S и G2) и контрольный пункт в фазе M при нарушении формирования хромосом

ла). Таким образом, фосфорилирование pRb – молекулярная основа контрольного пункта этой фазы.

При повреждении ДНК в действие вступает независимый путь, ингибирующий переход в фазу S. Ведущим в этом пути является ген p53, который в ответ на повреждение ДНК инициирует экспрессию фактора транскрипции. Фактор транскрипции в свою очередь индуцирует экспрессию ряда ингибиторов Cdk – p21, p27 и p57. Эти ингибиторы тормозят фосфорилирование pRb даже в случае действия митогенных сигналов. Задержка входа в фазу S обеспечивает время для репарации повреждения. Как только клетка восстановит свою поврежденную ДНК, включается механизм репликации. Если репарация оказалась невозможной, включается механизм апоптоза.

Молекулярный путь к опухолевой болезни. Выше был представлен краткий обзор значения мутаций в канцерогенезе, основных принципов их возникновения и возможностей восстановления целостности генома. Ниже будут приведены несколько примеров роли мутаций некоторых ключевых генов в развитии раковой клетки. Эти примеры предназначены для иллюстрации существования множества путей, используемых раковыми клетками для достижения неограниченной репликации (рис. П1.4).

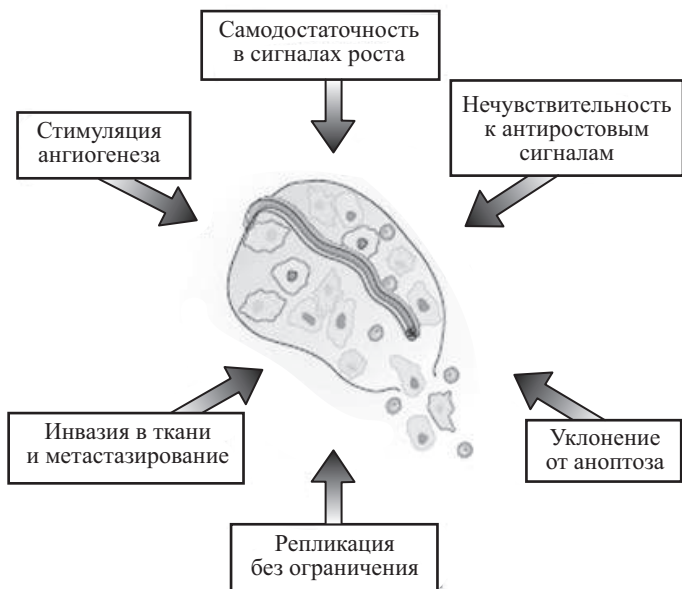


Рис. П1.4. Основные отличительные свойства опухолевой клетки

Упрощенно можно выделить шесть главных отличий опухолевой клетки от нормальной: независимость от ростстимулирующих сигналов; невосприимчивость к ростингибирующим сигналам; уклонение от программируемой смерти клетки, т.е., от апоптоза; безграничная пролиферативная способность, т.е. преодоление клеточного старения, «иммортализации»; способность формировать кровеносные сосуды и капилляры; инвазивный рост и метастазирование (рис. П1.5).

Клетки зависимы от сигналов роста. Пролиферация клеток млекопитающих регулируется сложной смесью гормонов, объединенных в понятие «факторы роста». При отсутствии факторов роста нормальные клетки останавливают клеточный цикл, не вступая в фазу S. Добавление фактора роста инициирует ряд событий, которые завершаются репликацией ДНК. Связь между этими событиями не является прямой. Многие из подключаемых механизмов уже известны. Они зависят от типа клетки, ее предшествующего состояния и состояния в момент действия фактора, типа фактора роста и других причин.

Факторы роста можно сгруппировать в семейства. Факторы роста отличается своей структурой, структурой своих рецепторов и клеточной специфичностью, что позволяет их разделить на ряд семейств.

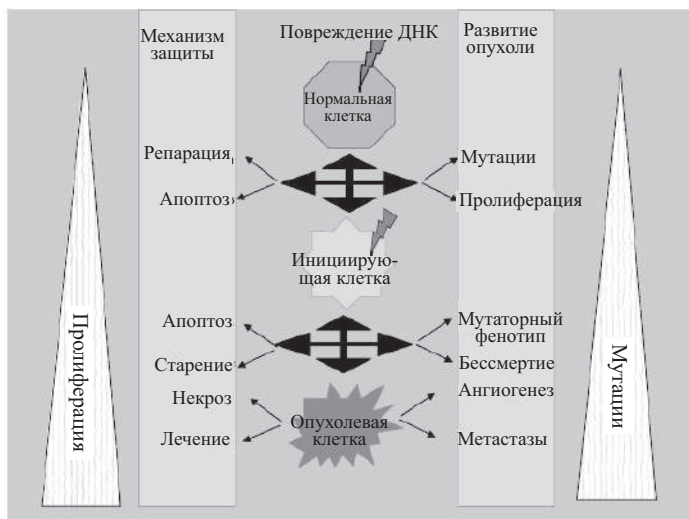


Рис. III.5. Пути, ведущие к опухолевому росту

• Класс IA: ЭФР (англ. – EGF) – эпидермальные факторы роста. Были первыми среди обнаруженных и изолированных факторов роста. Главная форма имеет молекулярную массу 6 кДа, хотя известны и молекулы с более высокой массой. ЭФР стимулируют пролиферацию эпителиальных, мезенхимальных и глиальных клеток.

• Класс IB: ФРФ – фактор роста фибробластов. Есть два ФРФ – кислый и основной, 16 и 17 кДа соответственно. Они идентичны по аминокислотному составу на 55%. Белки ФРФ обычно связаны с внеклеточным матриксом и стимулируют пролиферацию эндотелиальных, эпителиальных, мезенхимальных и нервных клеток.

• Класс II: ИФР – инсулиноподобные факторы роста (ИФР). Это белки с ММ 7 кДа, различают ИФР-1 и ИФР-2. По структуре они похожи на проинсулин. В высокой концентрации активируют инсулиновый рецептор. ИФР-1 образуется главным образом в печени. ИФР-2 синтезируется многими клетками, включая опухолевые клетки. По крови они транспортируются в комплексе со специфическими связывающими белками. Вдобавок к действию на обмен глюкозы (подобно инсулину) они стимулируют пролиферацию и ингибируют апоптоз.

• Класс IIIA: ФРТ – фактор роста тромбоцитов. Эти митогенные факторы роста встречаются как димеры А (ММ 17 кДа) и В (ММ 16 кДа) цепей. Оба гетеродимера (АВ) и гомодимера (АА, ВВ) обладают разной биологической активностью. ФРТ образуется главным образом тромбоцитами и эндотелием, а также может секретироваться

из плаценты. Он стимулирует пролиферацию мезенхимальных, глиальных и гладкомышечных клеток.

- Класс IIIВ: Цитокины/Гормон роста. Интерлейкины (IL1 – IL16), эритропоэтин и гормон роста не являются классическими факторами роста. Они более известны как цитокины и регулируют дифференцировку. Подобно ФРТ, они существуют как гомо- или гетеродимеры. В отличие от ФРТ они активируют совершенно иные типы рецепторов, которые не обладают тирозинкиназной активностью.

В связи с тем что клетка накапливает канцерогенные мутации, опухоль развивается через пренеопластические стадии. Им присущи свойства или признаки, перечисленные под названием «развитие опухоли». На каждой стадии клетка должна преодолеть контрольные механизмы, перечисленные под названием «защита». Эти механизмы направлены на удаление измененной клетки. Лечение опухолей становится все более специфическим по мере выявления тех признаков, которые отличают раковые клетки от нормальных.

Факторы роста взаимодействуют со специфическими рецепторами. Рецепторы факторов роста обладают тирозинкиназной активностью – рецепторные тирозинкиназы (РТК) (рис. П1.6). Известны три семейства РТК. Все они активны в димерной форме. Типы I (ЭФР-R) и III (ФРТ-R) являются мономерами в своем нативном (несвязанном с фактором) состоянии, тогда как тип II (ИФР-R) – димер в его нативной форме.

Димеризация необходима для активации рецептора и приводит к перекрестному фосфорилированию одного мономера другим. Образующиеся фосфотирозины обеспечивают связывание белков, со-

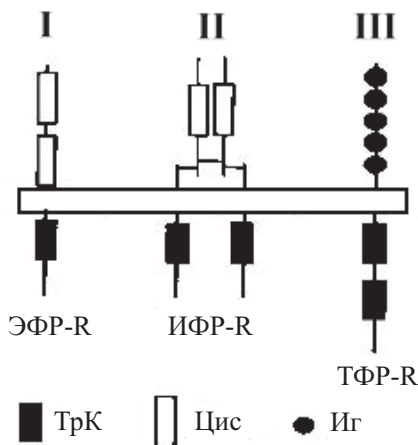


Рис. П1.6. Схема строения семейств РТК

державших SH2-домены (англ. Src homology regions 2). Этим названием обозначают домен белка, гомологичный по строению областям цитоплазматической тирозинкиназы c-src. Класс II фосфорилирует вначале ИРС 1 (субстрат инсулинового рецептора), к которому затем присоединяются белки с SH2-доменами.

Типы I и II имеют по одному домену Трк на цепь, тогда как тип III имеет два таких домена. Незаполненные прямоугольники в типах I и II представляют домены, богатые цистеином. Заполненные кружки в типе III – повторы аминокислотной последовательности, подобные иммуноглобулину.

Дальнейшие события, которые развиваются после образования фосфотирозинов, можно проиллюстрировать на примере *ras* и *raf* сигнального пути. Белок Shc, содержащий и SH2-домены, и фосфотирозиновые остатки, служит для присоединения белка GRB-2 к активному рецептору. GRB2 (белок, связывающийся с рецептором фактора роста), является SH2-содержащим белком, который активирует еще одного участника – белок *sos* (англ. son-of-sevenless). *Sos* способствует замене ГДФ на ГТФ на белке *ras*. *Ras* относится к семейству низкомолекулярных G-белков, обладающих ГТФазной активностью. После обмена нуклеотидов *ras* белок активирует цитоплазматическую серин-треониновую киназу – *raf*. Она в свою очередь подключает каскад MAP-киназ, активность которых поддерживается до гидролиза ГТФ белком *gas*.

MAP (англ. mitogen activated protein) киназы – ряд серин-треониновых киназ, которые фосфорилируют друг друга по каскадному механизму. Это служит усилению сигнала аналогично каскаду протеаз в процессе свертывания крови. MAP-киназы являются местом интеграции действия многих сигналов, действующих на клетку. В конце MAP-киназного каскада происходит фосфорилирование ядерных факторов транскрипции (например, Elk-1, Jun), которые индуцируют транскрипцию генов, участвующих в пролиферации.

Сведения о многих описанных выше участниках передачи сигнала от рецептора к ядру в нормальных клетках были получены при исследовании особенностей жизни опухолевых клеток. Все началось с выделения гена из вируса куриной саркомы в конце 70-х гг. XX в. Этот ген называли *src*. Оказалось, что введение такого гена (онкогена) без вируса в нормальную клетку делало ее злокачественной. Вслед за этим геном вскоре выделили и другие вирусные онкогены: *myc*, *gas*, *abl* и др. Стало ясно, что опухолевые вирусы вызывают опухоли не сами по себе, а внося в генетический аппарат клетки онкоген и закрепляя его в геноме клетки. Если онкоген удалить из генетического аппарата вируса, то вирус, не лишаясь способности размножаться и интегрироваться в геном клетки, утрачивал способность трансформировать клетки.

Последующие исследования показали, что во всех нормальных клетках есть гены, очень близкие по структуре к вирусным онкогенам, они были названы протоонкогенами. Эти гены регулируют

нормальное поведение клетки: ее ответы на ростовые факторы, на гормоны, на темп деления клеток. К настоящему времени уже накопилось большое количество данных об онкогенах. В табл. П1.1 и П1.2 приводятся некоторые сведения о классах онкогенов.

Таблица П1.1. Классы онкогенов

Классы	Тип	Примеры онкогенов (в скобках даны названия протоонкогенов)
1	Факторы роста	sis (ФРТ-В), ТФР α (ЭФР), int-2 (ФРФ), hst (ФРФ)
2	Рецепторы факторов роста	Erb-B (ЭФР-R), fms (CSF-1R), trk (ФРН-R), kit (рецептор стволовых клеток), HER-2/neu (ЭФР-R подтип 2).
3	Цитоплазматические тирозинкиназы	src, fes, abl, yes, fgr, lck
4	G-белки	ras, gsp (Gs), gip (Gi), rab
5	Растворимые серин-треониновые киназы	mos (цитостатический фактор), raf, pim-1
6	Ядерные факторы транскрипции	myc, myb, lyl-1, fos, jun

Таблица П1.2. Онкогены человека и связанные с ними опухоли

Онкоген	Тип опухоли
ERBB2 (Her-2/neu)	Мозг, грудная железа, легкие, яичники, желудок
KRAS	Толстый кишечник, легкие, поджелудочная железа
HRAS	Мочевой пузырь, почки, щитовидная железа
NRAS	Лейкоз, щитовидная железа
BRAF	Толстый кишечник, меланома, яичники, щитовидная железа
SRC	Толстый кишечник
BCR-ABL	Хронический миелоидный лейкоз
C-MYC	Грудная железа, лимфома Буркитта, легкие
L-MYC	Мелкоклеточный рак легкого
N-MYC	Легкие, нейробластома
CYCD1	Грудная железа, лимфомы
CDK4	Глиобластома, меланома, саркомы
BCL2	Лимфомы
MDM2	Саркома

Для раковых клеток характерен неадекватный синтез факторов роста. Основной регулятор пролиферации мезенхимных клеток – фактор роста тромбоцитов. Однако сами клетки его не производят. При их малигнизации возникают саркомы, менингиомы, глиомы и другие опухоли соединительной ткани, во многих из которых идет экспрессия онкогена *sis* (гомолог фактора роста тромбоцитов) и трансформирующего фактора роста α – ТФР α (гомолог ЭФР). В то время как ТФР α секретируется многими клетками (это аутокринный фактор роста), *sis* выделяется клетками лишь группы сарком, стимулирует и поддерживает пролиферацию опухолевых клеток. Рост сарком, секретирующих *sis*, *in vivo* можно полностью подавить нейтрализующими антителами против белка *sis*. Это означает, что секреция и активность этого онкогена являются необходимыми и достаточными для нерегулируемого роста клеток.

Erb-B. В настоящее время хорошо изучена роль гиперпродукции рецептора для герегулина (*heregulin*), локализованного в плазматической мембране. Этот онкоген обозначается *erbB/her2-neu* и является аналогом ЭФР. Повышенный синтез этого рецептора обнаружен в 30% случаев рака грудной железы. Он связан с плохим клиническим прогнозом. В большинстве случаев чрезмерная экспрессия этого онкогена – следствие амплификации, т.е. увеличения числа копий, образующихся путем многократной репликации этого гена в одном и том же месте хромосомы 17q12.

При взаимодействии со своим лигандом *erb-B* становится активной тирозинкиназой, которая включает передачу сигнала, завершающегося активацией митоза. В дополнение к митогенному действию чрезмерная экспрессия *erb-B* клетками рака грудной железы вызывает повышение секреции сосудистого эндотелиального фактора роста (*VEGF*), который стимулирует ангиогенез, необходимый для прогрессивного роста опухоли. Следует заметить, что протоонкоген *ras*, (см. ниже), который редко изменяется при раке грудной железы, резко активируется в присутствии большого количества *erb-b*, усиливая конечный митогенный эффект.

Пока неясно, почему одна чрезмерная экспрессия в отсутствие лигандов вызывает активирование рецептора. Однако недавно удалось показать, что одновременно с повышенной экспрессией рецептора клетки грудной железы активно секретируют пролактин, который может быть ответственным за активацию рецептора. В случае подтверждения этих данных образование комплекса гормон (пролактин) – рецептор (*erb-B*) могло бы стать объектом терапевтического воздействия при раке грудной железы. Уже получены моноклональные антитела против *erb-B* (*herceptin*) и проводятся клинические испытания использования этого препарата для лечения рака грудной железы.

c-abl. Развитие хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) связывают с образованием так называемой Филадельфийской хромосомы, возникающей путем транслокации участка гена *bcr* хромосомы 22

с геном *abl* хромосомы 9. В результате образуется химерный ген *bcr/abl*. В норме ген *abl* кодирует цитоплазматическую тирозинкиназу, участвующую в передаче сигналов внутри клетки. Ген *bcr* кодирует сериновую киназу. Объединение генов приводит к резкому увеличению тирозинкиназной активности белка *abl* за счет фосфорилирования серина этого фермента. В результате усиливаются митогенный и антиапоптотический сигналы, опосредуемые *Ras* белками, а также увеличивается синтез интегринов, обеспечивающих лучшее прикрепление к внеклеточному матриксу и торможение апоптогенной активности *abl*.

Подобная транслокация происходит и во многих случаях острого лимфоцитарного лейкоза (ОЛЛ). При этом переносится несколько меньший участок гена *bcr*, а вклад *abl* гена остается прежним. Пока неясно, что является субстратом *abl* и какие последующие события приводят к aberrантной пролиферации. Показано, что белок *abl* способствует экспрессии многих факторов роста клетками крови больного ХМЛ. Обнаружение *bcr-abl* транскрипта является чувствительным индикатором состояния заболевания. Использование ПЦР для измерения его экспрессии в клетках крови позволяет без аспирации костного мозга быстро диагностировать ход болезни или реакцию на химиотерапию. Центральная роль тирозинкиназы *abl* в патогенезе ХМЛ побудила исследователей синтезировать ее ингибиторы. Уже успешно прошли их клинические испытания для лечения этого заболевания.

ras. Этот ген кодирует семейство молекул белков, связанных с плазматической мембраной. Они стоят в начале многих каскадов внутриклеточной передачи сигналов с многочисленными функциями, включая и стимуляцию пролиферации. Белок *gas* – это фермент с ГТФ азными свойствами. Он связан с мембраной с помощью производного изопрена – фарнезила. При взаимодействии с активными рецепторами *gas* обменивает присоединенный к нему ГДФ на ГТФ. В таком состоянии он приобретает способность активировать другие белки нисходящих сигнальных путей. После гидролиза ГТФ эта его способность теряется. Тем самым белок служит своеобразным выключателем передачи сигналов. Если мутация гена приводит к ингибированию ГТФазной активности, он становится инициатором постоянно действующих сигналов. *Ras* был первым онкогеном, обнаруженным в опухолевых клетках человека. Это неудивительно, так как он наиболее часто активируется при опухолях клеток разных тканей (в 90% случаев рака поджелудочной железы, в 50% случаев рака ободочной кишки, в 30% случаев рака легкого и при большинстве других солидных опухолей).

Были обнаружены участки гена *gas*, где мутации встречаются наиболее часто. К ним относятся кодоны 12, 13 и 61. После выяснения пространственной структуры стало понятно, что аминокислоты, кодируемые триплетами 12 и 13, в *gas* белке обеспечивают связыва-

ние ГТФ, а аминокислота, кодируемая триплетом 61, включается в реакцию гидролиза ГТФ. Это означает, что подвергающиеся мутации участки *gas* белка активно включаются или в связывание, или в гидролиз ГТФ. Тем самым становится понятной потеря ГТФазной активности этого белка при канцерогенезе.

В кодоне 12 чаще происходит Г/Т трансверсия, которая вызывает замену в белке глицина на валин. Она возникает в самом начале канцерогенного процесса. Например, в легком в 39% случаев гиперпластических поражений (рассматриваются как предстадия рака) и в 42% аденокарцином имелась мутация кодона 12. Наличие ее рассматривается в качестве чувствительного индикатора рака ободочной кишки при исследовании клеток, выделяемых кишечником вместе с калом, рака легкого – при исследовании клеток бронхиального смыва, рака поджелудочной железы – при исследовании клеток дуоденального содержимого.

Последствия действия активного *gas* белка весьма многообразны. Установлено, что *gas* связывается еще с одной ГТФазой, которая получила название *p120GAP*. Присоединение к ней также зависит от аминокислот, кодируемых триплетами 12 и 61. Трансформация *gas* зависит еще и от третьего белка *Rho*, который является членом другого большого семейства ГТФаз. Члены семейства *Rho* являются регуляторами актина цитоскелета, активируют каскады киназ и регулируют генную экспрессию, что делает их важными участниками общей регуляции гомеостаза клетки. Есть и еще одна ГТФаза, *RAC*, которая также участвует в передаче сигналов *gas*.

Из-за очевидной центральной роли мутаций гена *gas* в развитии солидных опухолей усилия ученых сосредоточены на разработке средств, влияющих на активность этого онкогена. Наиболее перспективными из них оказались средства, которые замедляют связывание *gas* с плазматической мембраной. Связывание обеспечивается присоединением фарнезила в реакции, катализируемой фарнезилтрансферазой. Синтезированные на сегодняшний день ингибиторы этого фермента обладают недопустимым побочным действием, обусловленным, в том числе, ингибированием функции *Rho*, что не позволяет использовать их в клинике.

Онкогены класса 6 – ядерные факторы транскрипции. Описанные выше онкогены – это участники сигнальных путей, ведущих к активированию факторов транскрипции, типа циклина D, часто путем их фосфорилирования или путем увеличения их синтеза. В опухолевых клетках в результате мутаций возникли механизмы, способствующие резкому усилению экспрессии факторов или образованию факторов с измененной функцией.

Ядерные протоонкогены связываются со специфическими элементами промотора в ДНК, вызывая транскрипцию специфических семейств генных продуктов. В онкогенной форме эти факторы или теряют свою регуляторную способность, или активируют транскрипцию патологического набора генов. Лучше изучен ядерный про-

тоонкоген – тус. Трансформирующий агент вируса птичьего миеломатоза МС29 – v-тус. В большинстве клеточных линий различные митогенные агенты индуцируют экспрессию с-тус. Тус относится к семейству факторов транскрипции, имеющих конформацию спираль – петля – спираль и участки «лейциновой застежки-молнии». В них каждый седьмой остаток лейцина прилежит к домену, содержащему много диаминомонокарбоновых аминокислот. Такие участки типичны для белков, формирующих димеры. Перед связыванием с ДНК тус димеризируется с другим белком – тах. Предполагается, что тус включается в регуляцию апоптоза.

Неадекватная экспрессия фактора транскрипции с-тус. Участником многих функций клеток, включая репликацию, рост, метаболизм и дифференцировку, является с-тус. Он – фактор транскрипции, экспрессия которого идет только в фазу S клеточного цикла и четко регулируется в нормальных клетках. Во многих типах опухолей у человека этот ритм экспрессии нарушается и продукция с-тус бесконтрольно увеличивается на протяжении всего цикла, что вызывает непрерывную пролиферацию клеток. Если такая неадекватная экспрессия происходит в эпителиоцитах и является единственным генетическим дефектом, то при участии генов-супрессоров происходит ограничение пролиферации, а клетки подвергаются апоптозу. Однако если мутация происходит и в генах-супрессорах, пролиферация продолжается. Напротив, в кроветворных клетках, пролиферация которых контролируется менее жестко, неадекватная экспрессия с-тус может стать онкогенной. При некоторых опухолях происходит повышенная продукция других факторов транскрипции этого семейства: в нейробластоме – n-тус, при мелкоклеточном раке легкого – l-тус.

Лимфома Беркитта – один из самых интересных примеров роли нарушения регуляции экспрессии с-тус в развитии болезни. При этом заболевании благодаря хромосомной транслокации ген с-тус на хромосоме 8q24 соединяется с определенными локусами генов иммуноглобулина на хромосомах 14q23, 2p12 и 22q11. Тогда экспрессия с-тус выходит из-под контроля обычных регуляторов клеточного цикла. Она начинает регулироваться генами, транскрипцию которых активирует вирусная инфекция. Показана тесная связь между предшествующим инфицированием вирусом Эпштейн-Барра (EBV) и лимфомой Беркитта. Белки EBV увеличивают скорость транслокации с-тус и транскрипцию сайтов иммуноглобулина.

С другим фактором транскрипции с-тус может образовать гетеродимер – тах. И хотя нет сомнений в том, что они вместе способствуют малигнизации, точная последовательность событий остается неизученной.

Одна из важных и малопонятных особенностей чрезмерной экспрессии с-тус во многих клетках заключается в усилении апоптоза. Полагают, что при этом увеличивается транскрипция циклинзависи-

мой киназы – cdc25A, которая способствует апоптозу. По-видимому, опухолевые клетки преодолевают это действие с-тус благодаря другим мутациям. Так, в большинстве случаев рака молочной железы клетки усиленно продуцирует с-тус, и это повышает способность erb-B стимулировать пролиферацию. Предполагается, что стимулирующее действие эстрогенов на опухоли грудной железы частично связано со способностью рецептора эстрогенов вызывать увеличенную транскрипцию с-тус гена, а также теломераз. Теломеразы требуются для предотвращения программируемой гибели клетки.

Мутация ядерного рецептора гормонов приводит к блокаде дифференцировки. Вторым примером того, как транслокация хромосомы может дать начало химерному белку с измененной функцией, является транслокация ядерного рецептора для алл-трансретиноевой кислоты (RAR- α) и места его связывания с хромосомой. В результате появляется ядерный рецептор с измененными сигнальными свойствами. Существенно увеличивается его активность в качестве репрессора транскрипции, что приводит к остановке дифференцировки.

В 70-х гг. XX в. к исследованиям ретиноидов стали проявлять повышенный интерес. Заинтересовались естественными и синтетическими производными локально образующегося гормона, ретиноевой кислоты, которые могли быть использованы в качестве средств, предупреждающих развитие опухоли. Успешное применение ретиноидов в модельной системе дифференцировки промиелотической линии лейкозных клеток, HL-60, позволило китайским врачам использовать алл-трансретиноевую кислоту для индукции ремиссии у больных промиелолейкозом, ПМЛ.

Благодаря молекулярным и цитогенетическим исследованиям было обнаружено, что в основе ПМЛ лежит хромосомная транслокация, обязательным участником которой является фрагмент ДНК, кодирующий структуру рецептора ретиноевой кислоты (RAR). Транслокация этого участка с участком другой хромосомы приводила к образованию химерных белков: PML-RAR и PLZF-RAR. Клетки ПМЛ, не содержащие такой транслокации, были чувствительны к фармакологическим дозам ретиноевой кислоты, тогда как клетки с химерным белком, PLZF-RAR, были к ней устойчивы.

Ядерные рецепторы ретиноевой кислоты действуют и как сайленсеры транскрипции, и как усилители транскрипции в зависимости от состояния. В отсутствие лиганда RAR связывается в форме гетеродимера с RXR – другим похожим рецептором и снижает транскрипцию генов. Это связано с тем, что комплекс RAR/RXR взаимодействует с белком, обладающим деацетилазной активностью по отношению к гистонам. Белок удаляет ацетильные группы у основных гистонов и поддерживает прочное связывание с ними ДНК, предотвращая доступ факторов транскрипции к ДНК.

Связывание ретиноевой кислоты с RAR вызывает изменение конформации, которое приводит к отщеплению репрессора от промотора и присоединению к промотору белков с транскрипционной активностью. Такие факторы транскрипции могут ацетилировать коровые гистоны, отделяя их от ДНК. Тем самым облегчается доступ к транскрипционному комплексу. Очень важной находкой при исследовании химерных белков PML было обнаружение того, что PML-RAR, в присутствии высоких доз ретиноевой кислоты вызывает отщепление репрессора от промотора на молекуле ДНК. В то же время химерный белок PLZL-RAR обладает дополнительным сайтом для взаимодействия. Благодаря этому предотвращается отщепление репрессора.

В присутствии ингибитора гистондеацетилазы даже клетки ПМЛ с химерным белком PLZL-RAR восстанавливали чувствительность к ретиноевой кислоте и дифференцировались в конечную форму. Эти исследования иллюстрируют, как благодаря лабораторным исследованиям создаются перспективные подходы к эффективной терапии такого плохо поддающегося лечению заболевания, как ПМЛ.

Раковые клетки рефрактерны к ростподавляющим сигналам. Открытие генов – супрессоров опухолей. Открытие способности онкогенов индуцировать опухолевую трансформацию клеток первоначально казалось исчерпывающим ответом на многие основные вопросы о молекулярном происхождении рака. Однако вскоре стало ясно, что существуют гены, продукты экспрессии которых могут замедлить или остановить такую трансформацию.

Большинство исследований, демонстрирующих активность онкогенов, было выполнено на линии клеток NIH/3T3. Клетки этой линии бессмертны. Они легко подвергаются трансфекции и отличаются выраженной нестабильностью генома. Эти особенности оказались весьма существенны. Когда онкоген *ras* был введен в клетки хомяка, которые не обладали вышеуказанными особенностями, опухолевой трансформации не произошло. Только после спонтанной иммортализации (приобретения бессмертия) клеток в культуре *ras* стал способен индуцировать трансформацию. Это означало, что *ras* действовал не один.

К такому заключению приводили и исследования на гибридных клетках, полученных путем слияния нормальных клеток со злокачественными. Гибриды часто теряли онкогенность, что указывало на возможность влияния генов нормальных клеток на клеточный цикл опухолевых. Эти данные были подтверждены и в экспериментах с переносом отдельных хромосом нормальных клеток в опухолевые, которые показали возможность супрессии опухолевого фенотипа хромосомами нормальных клеток. Таким образом, постепенно накапливались данные для идентификации генов-супрессоров опухолей.

Ген ретинобластомы Rb. В отличие от мутагенной активации онкогенов, которая является доминирующей и достаточной (даже

если это происходит в одном аллеле), чтобы индуцировать злокачественный рост, онкогенные мутации в генах-супрессорах опухолей в пределах одного аллеля лишь придают носителям этих генов предрасположенность к развитию опухоли. Потеря функции в данном случае возможна только при повреждении обоих генов.

Первым идентифицированным геном-супрессором был ген Rb, врожденные мутации которого вызывали развитие ретинобластом. Было замечено, что около 40% ретинобластом возникает в младенческом возрасте (около 14 месяцев). Эти опухоли, как правило, поражают сетчатку обоих глаз и часто являются множественными (в среднем 3 опухоли у одного пациента). Если таких пациентов удавалось излечить от ретинобластомы, у многих из них в юношеском возрасте развивались остеосаркомы, а в зрелом возрасте – меланомы кожи. В большинстве случаев отмечался наследственный характер заболевания. Полученные данные позволили предположить, что если дети наследуют мутантную копию аллеля гена Rb, то вторая мутация этого же гена, происходящая уже в клетках сетчатки, ведет к возникновению опухоли. Это довольно частое явление (происходит примерно у 95% пациентов с ретинобластомой), что доказывает чрезвычайно высокую предрасположенность к развитию опухоли у таких пациентов.

Дети, у которых ретинобластомы возникают в более позднем возрасте (частота таких опухолей невелика – 1 на 30 000 индивидуумов), не наследуют мутантного аллеля гена Rb. Вместо этого у них происходят две независимые мутации обоих аллелей этого гена в одном из ретинобластов, что и приводит затем к развитию опухоли. Следовательно, у пациентов младенческого возраста имеется одна врожденная и одна приобретенная мутации, тогда как у второй группы (более старший возраст) больных обе мутации приобретенные.

Ген «предрасположенности к ретинобластоме» (Rb) локализуется на длинном плече хромосомы 13 (13q14). Мутация гена Rb была обнаружена не только в ретинобластомах, но и в клетках некоторых других, ненаследуемых новообразований: практически во всех случаях мелкоклеточного рака легкого, части случаев (20–40%) острого лейкоза, остеосаркомы, рака мочевого пузыря, простаты и др. Восстановление экспрессии этого гена в культивируемых *in vitro* клетках ретинобластомы и остеосаркомы приводило к торможению роста опухоли. Закономерности, выявленные при исследовании гена Rb, в частности ассоциация с наследственными формами опухолей и необходимость мутации в обоих аллелях (рецессивный характер проявления мутаций), стали использоваться в качестве критериев при поиске и идентификации других опухолевых супрессоров.

Rb задерживает вступление в фазу S. Ген Rb кодирует ядерный белок, pRb, который контролирует вступление клетки в клеточный цикл. Ядерный белок pRb обычно не фосфорилирован и связан с фактором транскрипции E2F. Этот комплекс поддерживает основные гистоны в неацетилированной форме и ограничивает доступ

к ДНК факторам транскрипции. После митогенной стимуляции циклин D/cdk4 фосфорилирует pRb в С-концевой области, что вызывает диссоциацию комплекса и высвобождение его компонентов; pRb становится доступным для комплекса E/cdk2, который дополнительно его фосфорилирует и тем самым ингибирует связывание с E2F. Фактор E2F стимулирует транскрипцию генов, обеспечивающих синтез ДНК в фазе S.

После завершения S фазы pRb переходит в дефосфорилированное состояние, в котором он блокирует активность E2F и вход в следующую S фазу (для ее инициации необходим новый митогенный стимул, способный активировать комплекс циклин D/cdk4). Таким образом, модулируя активность E2F и регулируемых им генов, pRb играет ключевую роль в контроле последовательности событий, обеспечивающих переход клетки из G0/G1 в S фазу и ее успешное завершение.

Значительная часть мутаций гена Rb, обнаруживаемых в различных опухолях, заключается либо в делеции гена, либо в сдвиге кодирующей рамки, либо в ее преждевременной терминации, либо в нарушении сплайсинга мРНК. Все это приводит или к полной потере экспрессии белкового продукта, или к экспрессии неполноценных и нестабильных белков pRb. В части случаев наблюдаются миссенс-мутации, вызывающие замену одного из аминокислотных остатков. Такие мутации поражают домен, ответственный за связывание pRb с рядом клеточных белков. По-видимому, нарушение функции именно этого домена вследствие мутаций или связывания его с вирусными онкобелками является критическим для подавления супрессорной активности pRb.

При мутациях обоих аллелей гена Rb в результате отсутствия в клетке белка pRb или экспрессии его функционально неактивной формы транскрипционный фактор E2F перманентно находится в активированном состоянии. Это, во-первых, уменьшает зависимость размножения клеток от ростовых факторов, а во-вторых, отменяет негативную регуляцию клеточной пролиферации при рост-ингибирующих сигналах. Кроме того, потеря функции pRb нарушает процессы клеточной дифференцировки. Все это резко увеличивает вероятность появления постоянно пролиферирующих клонов клеток, в которых будут накапливаться и другие онкогенные мутации, ведущие к злокачественной трансформации.

Пока остается неясным, почему при врожденной инактивации одного из аллельных генов Rb во всех клетках организма в юном возрасте развивается именно ретинобластома, а не какие-то другие новообразования. Интересно, что у трансгенных мышей с инактивацией одного из аллелей гена Rb (инактивация обоих аллелей несовместима с жизнью эмбрионов из-за нарушений эритропоэза и нейрогенеза) возникает не ретинобластома, а медуллярный рак щитовидной железы или аденома средней доли гипофиза из меланофоров (в отличие от мышей у человека эта ткань в гипофизе атрофирована).

на). Ретинобластома не развивается и у химерных мышей, у которых во всех клетках сетчатки инактивированы оба аллельных гена Rb. Все это заставляет думать, что для развития ретинобластомы необходимы какие-то дополнительные факторы. В частности, предполагается существование других генов, которые могут заменить Rb. Два таких гена были недавно обнаружены. Они обозначаются p107 и p130 и обладают схожими функциями с pRb.

Данные о генетических дефектах, лежащих в основе развития ретинобластом, открывают возможность использования генотерапии путем введения в клетки одной или более копий поврежденного гена. Попытки такого введения в экспериментах на культивируемых опухолевых клетках уже предприняты и оказались успешными.

p53. Ген p53 занимает важное место в регуляции деления клеток в стрессовых состояниях (рис. П1.7). Он активируется при гипоксии, недостатке нуклеотидов для синтеза ДНК, при нарушении структуры ДНК и обеспечивает остановку деления для проведения репарации или включает механизмы апоптоза. В последнее время показана роль этого гена в контроле длины теломеров и, следовательно, в старении клетки.

Учитывая многогранную деятельность этого гена, его назвали «опекун генома». Центральная роль p53 в контроле состояния генома подтверждается и его участием в онкогенезе. При опухолях у человека более чем в 70% случаев обнаружены дефекты в этом гене и почти в 100% случаев – дефекты в путях передачи сигнала с участием p53. Как и в случае Rb, была изучена склонность к развитию опухоли в семьях с выявленными мутациями гена p53. Даже при изменении одного из аллелей (синдром Li-Fraumani) вероятность возникновения опухоли составляла 100%.

Мутации p53. Анализ мутаций гена p53 позволил выявить специфические участки (горячие точки) в его структуре. Они располага-

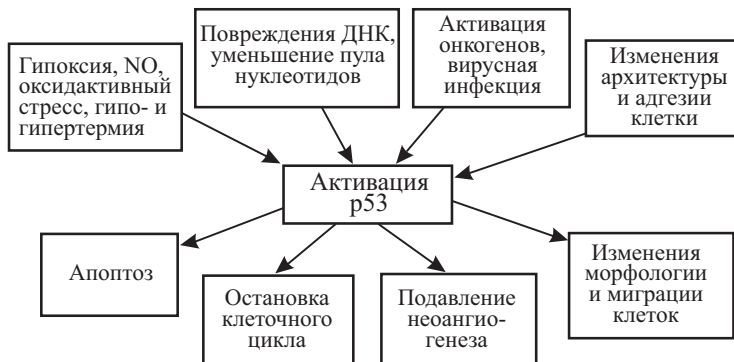


Рис. П1.7. Роль p53 в механизмах контроля состояния генома

лись в эволюционно консервативных областях, что указывало на важность их для функционирования белка – продукта гена p53. Мутации затрагивали места связывания этого белка с ДНК или другими факторами транскрипции.

Высокая частота, с которой обнаруживаются мутации гена p53 в опухолях человека, позволила проанализировать их в идентичных опухолях, но возникших при разных обстоятельствах. Это привело к созданию специальной дисциплины – молекулярной эпидемиологии рака. Было установлено, к примеру, что опухоли печени в Китае отличаются своим спектром мутаций p53 от таких же опухолей в Японии или в странах Западной Европы. Возможную причину связывают с загрязнением пищи в Китае афлатоксином. Для рака легкого, возникшего у некурящих людей в областях с загрязнением воздуха, оказались характерными мутации p53, подобные мутациям в опухолях, вызванных контактом с канцерогенными углеводородами. Спектр мутаций при раке легкого, возникшем у работающих с хромом, отличается от того, который обнаруживается в опухолях, причиной которых явился контакт с углеводородами.

Ген p53 контролирует экспрессию генома. В нормальных клетках p53 является тетрамером и обычно легко образует комплекс с белком Mdm2. Образовавшийся комплекс обладает активностью убиквитин-лигазы, т.е. стимулирует присоединение убиквитина и последующую деградацию белка p53 в протеасоме. В норме уровень экспрессии p53 очень невелик, а время его жизни составляет около 30 мин. Кроме того, Mdm2 связывается с N-концевым участком p53 в районе домена, взаимодействующего с факторами транскрипции, подавляя способность p53 влиять на гены-мишени. В ответ на действие стрессовых факторов p53 подвергается посттрансляционной модификации сначала путем фосфорилирования, а позже – ацетилирования. После этого Mdm-2 высвобождается из состава комплекса. В результате увеличивается период полураспада p53, и он активируется как фактор транскрипции. Продукт мутировавшего гена p53 также имеет повышенный период полураспада, что приводит к его накоплению в клетках.

Мало известно о механизмах, позволяющих активировать p53 в ответ на повреждение ДНК. Роль активатора может выполнять циклинзависимая киназа Chk2/hCds1, которая при контакте с поврежденной ДНК активируется и фосфорилирует остаток серина в 20-м положении белка p53. В результате комплекс p53 с Mdm2 диссоциирует.

Ген p53 – фактор транскрипции. Активный p53 стимулирует транскрипцию нескольких генов, продукты которых включаются в репарацию ДНК, остановку деления в фазе G1 и апоптоз. Так, транскрипция гена GADD45 активным p53 приводит к синтезу белка, который распознает состояние хроматина и вызывает дестабилизацию взаимодействия гистонов с молекулой ДНК. В результате повышается доступность поврежденной ДНК для белков, участвующих в механизмах репарации. Роль GADD45 в механизмах репарации

ДНК была подтверждена исследованиями на мышах, у которых был удален этот ген. У них увеличивалась неустойчивость генома и повышалась вероятность развития рака. В клетках таких животных ДНК, поврежденная ультрафиолетовым излучением, теряла способность к репарации. GADD45, по-видимому, участвует и в механизме остановки деления клетки, поскольку он может взаимодействовать с комплексом Cdc2 – циклин B1, вызывая его диссоциацию в результате прямого взаимодействия между GADD45 и белками Cdc2.

Ген p53 также активирует экспрессию p21, который связывается с множеством cyclin/Cdk киназ, замедляя их фосфорилирование белком Rb и таким образом замедляя переход из G1 в S-фазу. Следовательно, активирование p53 индуцирует гены, которые вызывают остановку цикла клетки и модифицируют состояние хроматина (рис. П1.8). Тем самым увеличивается время и доступ ферментов для репарации ДНК.

Механизмы, с помощью которых p53 запускает апоптоз, изучены пока недостаточно. Одни из них требуют участия транскрипции, другие независимы от транскрипции. Апоптоз опосредован изменением митохондриальной мембраны и высвобождением в результате цитохрома с, кальция и других факторов. В начале p53-зависимого апоптоза p53 действительно располагается у митохондрий. Однако затем его там не обнаруживают.

Показана активация p53 в ответ на повреждение ДНК и его роль в транскрипции генов типа GADD45 и p21, которые облегчают ре-

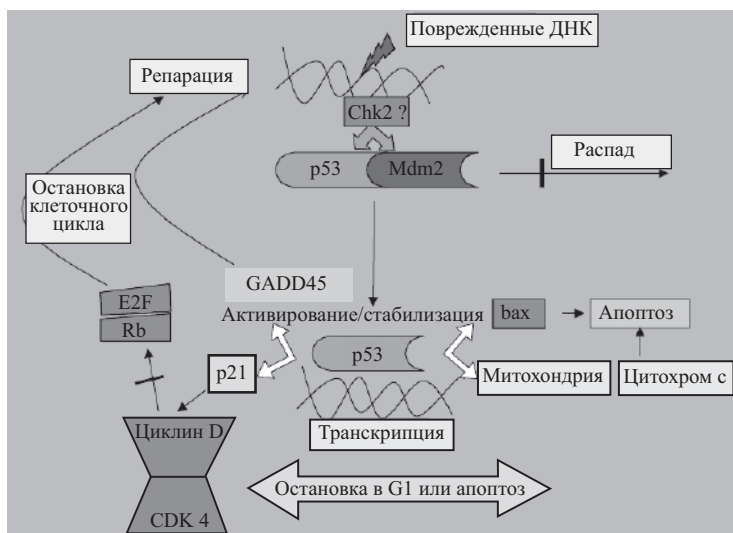


Рис. П1.8. Пути, которыми p53 вызывает остановку клеточного цикла или апоптоз

парацию ДНК и ингибируют вступление в фазу S или индуцируют каскад событий, ведущих к апоптозу.

Генотерапия p53. Потеря нормальной функции p53 в большинстве случаев рака у людей и возникающая в результате устойчивость к апоптозу делают восстановление p53 привлекательной целью для генотерапии. Экспериментальное введение гена p53 в клетки предстательной железы и опухоли легкого, содержащих до этого мутантный p53, приводило к апоптозу. Когда в опухоли иммуносупрессивных мышей вводили векторы, несущие ген p53, рост опухолей снижался. В настоящее время интенсивно ведутся и клинические исследования в данном направлении. При этом приходится решать две основные проблемы. Первая проблема заключается в присутствии мутантного p53, который может замедлять действие нормального белка. Вторая – в эффективной доставке достаточного количества копий p53 к клеткам-мишеням.

Вирус папилломы человека (HPV) может инактивировать p53 и Rb. В противоположность медленному накоплению мутаций в онкогенах и генах – супрессорах опухоли, которое сдерживает появление большинства эпителиальных опухолей в молодом возрасте, рак шейки матки имеет быстрое и раннее начало. Приблизительно 95% случаев рака шейки матки в странах Европы обусловлены вирусом папилломы человека HPV. Вызванные HPV опухоли, в отличие от других эпителиальных опухолей, редко сопровождаются мутациями гена p53. Это объясняется наличием в геноме HPV генов, белковые продукты которых (Е6 и Е7) связываются с p53 и Rb и ингибируют их. Таким образом, инактивируя эти два регулятора клеточного цикла, вирус HPV создает клоны эпителиоцитов с увеличенной скоростью пролиферации, резистентных к апоптозу. Ингибирование p53 и Rb усиливает репликационную способность HPV и вероятность его распространения. По-видимому, канцерогенный эффект инфекции HPV является неудачным побочным эффектом этой стратегии, связанной с усилением репликации вируса.

У раковых клеток нарушена межклеточная связь, опосредованная щелевыми контактами. Большинство эпителиальных клеток обмениваются сигналами со своими соседями через небольшие, заполненные водой поры, которые непосредственно связывают цитоплазму одной клетки с цитоплазмой другой. Эти поры называют щелевыми контактами или коннексами. Они формируются шестью трансмембранными белками-коннексинами, образующими пору. Диаметр поры достаточен для переноса низкомолекулярных (менее 1000 дальтон) водорастворимых субстратов, конечных продуктов метаболизма, межклеточных посредников (цАМФ) и ионов (кальций).

Принято считать, что сигналы, подавляющие рост, проходят через щелевые контакты при нормальной регуляции деления клетки. На этом основании предполагают, что гены, кодирующие коннексыны, одновременно являются супрессорами опухоли. Одной из функ-

ций ретиноевой кислоты как профилактического средства рака шейки матки является регуляция коммуникации через щелевые контакты в эпителиоцитах. Снижение коммуникации наблюдается при дисплазии эпителия шейки матки и рассматривается как ранний признак канцерогенеза. Введение гена коннексина восстанавливало нарушенную коммуникативную связь через щелевые контакты в раковых клетках шейки матки. При этом они теряли способность расти подобно опухолевым клеткам. Незрешенным вопросом остается природа сигнала, тормозящего рост и передаваемого по щелевым контактам.

Раковые клетки уклоняются от апоптоза. Запрограммированная гибель клетки – апоптоз (от греч. *apoptosis* – опадание) возникла в эволюции с появлением многоклеточных организмов. Благодаря апоптозу обеспечивается регуляция численности клеток и устанавливаются определенные взаимоотношения между отдельными клетками в целостном организме. Он играет жизненно важную роль в процессах эмбрионального и онтогенетического развития. Апоптоз протекает при различных морфогенетических процессах, например при развитии глаза млекопитающих, сердца, нервной системы. Нарушение апоптоза в эмбриогенезе может приводить к внутриутробной гибели плода, врожденным уродствам или различным заболеваниям.

У взрослого апоптоз встречается как в медленно пролиферирующей популяции клеток (гепатоциты, клетки эпителия коры надпочечников), так и в быстро пролиферирующих. В первом случае он выполняет функцию регулятора оптимального объема ткани. Во втором случае роль апоптоза в основном связана с дифференцировкой. При патологии включение апоптоза является результатом действия различных факторов. Они могут быть неспецифическими, такими как температура, токсические агенты, оксиданты, свободные радикалы, гамма- и УФ-излучение, бактериальные токсины и др.

Учитывая, что апоптоз – физиологическое явление, важно иметь надежные регуляторы этого процесса, которые бы обладали способностью тормозить этот процесс, чтобы предотвратить случайное самоубийство клетки, или, наоборот, инициировать апоптоз в случае необходимости.

Независимо от начального стимула все пути апоптоза приводят к активированию семейства внутриклеточных протеаз, названных каспазами (рис. П1.9). Их функция заключается в быстром разрушении клеточных органелл и хроматина. Важным участником большинства путей апоптоза является цитохром с, для выхода которого из митохондрий необходимо изменение их структуры.

Клетки защищены от апоптоза специальными факторами. К ним относятся белки семейства Bcl-2, которые тормозят выход цитохрома с из митохондрий; белки теплового шока типа hsp70, которые связывают белок Araf1 – основной компонент апоптосомы; ингибитор белков апоптоза (IAP), который непосредственно ингибирует каспазы.

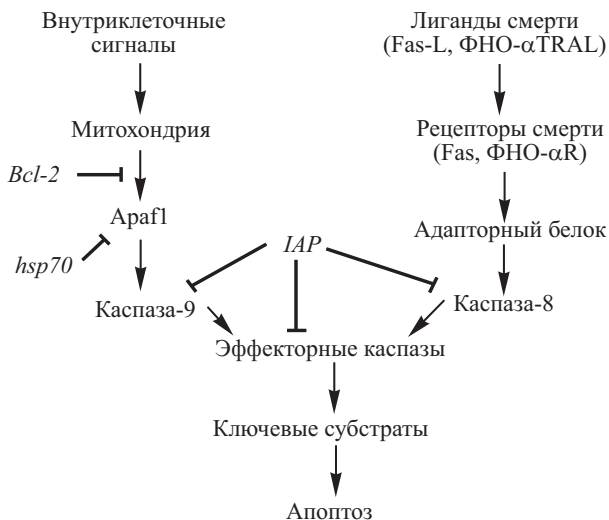


Рис. П1.9. Схематическое изображение путей, ведущих к апоптозу

Чрезмерная экспрессия Bcl-2 защищает клетки лимфомы от апоптоза. Первые доказательства важности апоптоза в механизмах развития опухоли были получены при исследовании фолликулярной лимфомы. Это заболевание во многом подобно лимфоме Беркитта. Оно также возникает вследствие транслокации участка хромосомы, в котором содержится информация о структуре тяжелой цепи иммуноглобулина, но не к участку с-тус, как в лимфоме Беркитта, а к гену хромосомы 18, обозначенному Bcl-2. Если экспрессия такого химерного гена активно протекала в клетках В-лимфоцитарного ряда, они выживали в условиях, когда нормальные клетки разрушались путем апоптоза. Доказательством центральной роли Bcl-2 в развитии фолликулярной лимфомы послужили исследования с использованием антисмысловой РНК против Bcl-2. Она подавляла экспрессию этого гена, следствием чего был массивный апоптоз клеток.

Опухолевые клетки уклоняются от апоптоза модификацией взаимодействия Fas и Fas-L. Среди внешних сигналов, вызывающих апоптоз, особое место занимают цитокины. Это обширная группа белков, регулирующих пролиферацию и дифференцировку клеток при связывании со специфическими рецепторами на клетках-мишенях. В отличие от гормонов, цитокины действуют в основном на пара- и аутокринном уровне. Цитокины подразделяются на три большие группы (в зависимости от структуры и функции): факторы роста (колониестимулирующие факторы, эпидермальный фактор роста, инсулиноподобный фактор роста и т.д.), семейство фактора не-

кроза опухоли (ФНО) и специальные цитокины (интерлейкины, интерфероны). Эффект цитокинов на клетки также неоднозначен. Для одних клеток они выступают в роли индуктора апоптоза, для других – в роли его ингибитора. Это зависит от типа клетки, стадии ее дифференцировки, функционального состояния.

Цитокины оказывают свое влияние на клетку через специфические рецепторы, которые получили название рецепторов смерти. Рецепторы смерти принадлежат к суперсемейству рецепторов фактора некроза опухолей (ФНО-R)/рецептора фактора роста нервов (ФРН-R). Отличительной чертой членов этого суперсемейства является наличие внеклеточного домена, содержащего повторы, богатые цистеином, CRD (англ. *cystein rich domain*). CRD формирует поверхность, к которой присоединяется лиганд.

Цитоплазматическая часть рецепторов смерти содержит домен (70–80 аминокислот), ответственный за взаимодействие с внутриклеточной системой передачи сигналов, индуцирующих апоптоз. Его называли DD (англ. *death domain*) или доменом смерти.

Наиболее изученными рецепторами смерти являются CD95 (он же Apo1 и Fas) и рецептор фактора некроза опухолей-1 (ФНО-R1, он же p55). К рецепторам смерти относятся также рецептор смерти-3 (DR3, он же Apo3, WSL-1, TRAMP и LARD), рецептор смерти-5 (DR5, он же Apo2, TRAIL-R2, TRICK2 и KILLER), рецепторы смерти – 4, 6 (DR4 и DR6). Рецептор фактора роста нервов p75 также содержит домен смерти.

Наиболее хорошо изучена последовательность событий, приводящих клетку к апоптозу в результате взаимодействия белков системы Fas/Fas-L. Взаимодействие Fas с Fas-L (лиганд) или с моноклональными антителами приводит к апоптозу клетки. Оказалось, что на поверхности клеток многих типов (тимоцитов, лимфобластоидных клеточных линий, активированных Т- и В-лимфоцитов, фибробластов, гепатоцитов, кератиноцитов, миелоидных клеток) идет постоянная экспрессия Fas. У человека Fas представляет собой 1TMC рецептор (325 аминокислотных остатков), в структуре которого имеется внеклеточный, трансмембранный и цитоплазматический домены. Его ген локализован в длинном плече хромосомы 10 и состоит из девяти экзонов.

Fas-L является цитокином и относится к семейству ФНО. Экспрессия его идет в активированных Т-лимфоцитах и натуральных киллерах, в клетках Сертоли и паренхимных клетках передней камеры глаза. Такие клетки способны убивать любую клетку, в которой синтезируется Fas, в том числе активированный Т-лимфоцит. Fas-L существует в двух формах – нерастворимой, или мембраносвязанной, и растворимой. Растворимая форма Fas-L в клетках человека отщепляется от мембраны с помощью металлопротеиназы и сохраняет при этом свою активность. Подобно другим лигандам рецепторов семейства ФНО, Fas-L – гомотример, с которым связывается 3 молекулы Fas.

Вслед за связыванием лиганда с рецептором происходит олигомеризация цитоплазматических белков. DD рецептор при участии специального адапторного белка FADD (Fas-ассоциированный домен смерти), содержащего DED (эффекторный домен смерти), связывается с прокаспазой-8. В результате прокаспазы-8 превращается в каспазу-8. Каспаза-8 является ферментом, обладающим протеолитической активностью. Она активизирует другие каспазы, запускающие процессы, характерные для апоптоза. Мутации в гене Fas или в гене Fas-L приводят к развитию аутоиммунных заболеваний. Подобным механизмом действует и другие системы с участием рецепторов смерти.

Другие причины уклонения опухолевых клеток от апоптоза. Нарушение системы лиганд – рецептор смерти играет важную роль в канцерогенезе. Достаточно сказать, что некоторые опухолевые клетки синтезируют рецепторы-приманки, с которыми связываются лиганды. В результате не запускается механизм апоптоза.

Эпителиальные клетки, потерявшие способность связываться с базальной мембраной, также становятся объектом апоптоза. Обычно инициатором сигналов о контакте с базальной мембраной служат интегрины. Эти белки являются структурным компонентом фокальных контактов¹ между плазматической мембраной клетки и базальной мембраной. Компоненты фокальных контактов регулируют активность специфических фокальных адгезионных киназ (FAK). FAK-опосредованная передача сигналов необходима для контроля за адгезией клеток и для независимой от адгезии жизни клеток. Нарушение функции FAK включает механизм апоптоза с участием каспазы-8. В отсутствие фокальных контактов нормальные клетки подвергаются запрограммированной смерти, которую называли апоікіс (греч. потеря дома). Апоптоз в этом случае представляет дополнительный механизм, предотвращающий пролиферацию эпителиальных клеток, которые потеряли контакт с базальной мембраной.

А вот развитие опухоли характеризует способность эпителиоцитов к репликации независимо от контакта с другими клетками (отсутствие контактного торможения). Это свойство даже используется как индикатор неоплазии. Частью этого механизма предполагают чрезмерную экспрессию FAK, которая обнаруживается в опухолевых клетках. В опытах на изолированных клетках рака грудной железы было показано, что ингибирование активности FAK вызывало апоптоз.

В механизмах апоптоза важное место принадлежит прямому или опосредованному действию p53. Показано, что клетки с нативным p53 подвергаются уничтожению посредством образования комплек-

¹ Прикрепление (адгезия) клеток к базальной мембране происходит не всей поверхностью плазматической мембраны, а лишь небольшими дискретными ее участками. Эти участки названы фокальными контактами.

са Fas – FasL, тогда как клетки, в которых p53 был удален или инактивирован, были защищены от такого уничтожения.

Выше уже упоминалось, что Bcl-2 тормозит апоптоз, стабилизируя митохондриальную мембрану. Другой член этого семейства белков, белок Вах, образуя гетеродимеры с Bcl-2, стимулирует апоптоз (рис. П1.10). Установлено, что его синтез индуцирует активный p53. В ряде опухолей экспрессия Вах значительно угнетена, что дает возможность клеткам уклониться от апоптотических сигналов.

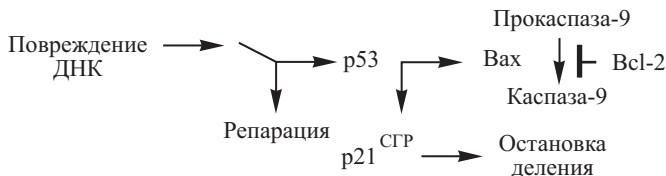


Рис. П1.10. Роль Вах и Bcl-2 в механизме активирования каспазы-9

Индукция апоптоза – важная цель в терапии рака. Индукция апоптоза химиотерапией и лучевой терапией – важный механизм, с помощью которого происходит разрушение опухолевых клеток. К сожалению, эти методы лечения вызывают апоптоз и нормальных клеток, что является основной причиной токсических реакций (к примеру, облысение). Тем не менее активирование апоптоза опухолевых клеток – привлекательная цель для исследователей, разрабатывающих методы лечения опухолей. Повышение экспрессии Вах в опухолевых клетках увеличивает их чувствительность к обычной химиотерапии и уменьшает темп их роста. Другой подход, позволивший увеличить степень апоптоза в культуре инфицированных вирусом клеток глиомы, заключался в трансфекции p53 и системы, осуществлявшей экспрессию Fas-L. Повысить интенсивность апоптоза клеток крови при остром миелолейкозе (HL-60) удалось с помощью препаратов, специфически связывающих Bcl-2.

Раковые клетки должны избежать старения и достигнуть бессмертия. Роль теломер. Если нормальные клетки человека выращивать *in vitro*, последовательно пересекая, то после примерно 50–100 генераций клетки прекращают делиться и вступают в фазу так называемого репликационного старения. Этого можно избежать, если инактивировать гены p53 и Rb. Однако по мере образования дальнейших генераций происходит постепенное накопление нарушений структуры хромосом, и клетки погибают. Напротив, если выращивать в тех же условиях опухолевые клетки, они способны к неограниченному числу репликаций.

Основным событием, ограничивающим продолжительность жизни нормальных клеток, является прогрессирующее укорочение кон-

цов хромосом, которые обычно заканчиваются теломерами, повторяющимися последовательностями в шесть пар азотистых оснований (у млекопитающих – TTAGGG). Укорочение концов – следствие однонаправленной 5' → 3' репликации ДНК. Участок ДНК, занятый РНК-затравкой, необходимой для инициации синтеза ДНК, на 5'-конце отстающей цепи не может копироваться, и дочерняя молекула ДНК постоянно укорачивается при каждом репликационном цикле. В половых клетках, которые должны сохранить свои репликационные способности, и в определенных стволовых клетках, особенно кроветворной системы, происходит синтез фермента – теломеразы, который способен поддерживать нормальную длину молекул ДНК. Однако теломераза не синтезируется в большинстве соматических клеток, что приводит к постепенной потере теломер. Длину теломера проверяет p53. В случае достижения критической степени укорочения этот белок вызывает остановку цикла клетки или апоптоз.

Теломераза – необычный фермент. Она представляет обратную транскриптазу, которая содержит отрезок РНК, используемый в качестве матрицы для синтеза теломер в молекуле ДНК.

Многие опухолевые клетки реактивируют теломеразу. Как указывалось выше, для прогрессирования опухоли необходима постоянная пролиферация клеток, которая обеспечивает накопление мутаций. Кроме того, после терапии цитостатическими препаратами оставшиеся клетки опухоли нуждаются в продолжительной пролиферации, чтобы вновь стать опасными для жизни. Выполнение этого условия невозможно без механизма восстановления длины теломер. Эту функцию выполняет активная теломераза, которая образуется в клетках большинства злокачественных опухолей человека. Она и поддерживает длину теломер.

Обнаружена положительная корреляция тяжести заболевания и активности теломераз. В 98% случаев мелкоклеточного рака легкого и гораздо реже при менее агрессивных опухолях клетки были способны синтезировать теломеразу. Экспрессия теломеразы наблюдалась в 100% случаев рака грудной железы и только в 70% случаев рака протоков. При меланоме и раке ободочной кишки увеличение активности фермента происходило в более агрессивных опухолях.

Раковые клетки требуют адекватных поставок питательных веществ и стимулируют ангиогенез. Эволюция раковой клетки придала ей способность к пролиферации, устойчивость к действию регуляторов пролиферации, позволила избегать программируемой смерти и, наконец, наделила бессмертием. Осталась еще одна задача. Необходимо обеспечить себя достаточным количеством питательных веществ для непрерывного роста и иметь возможность удалять токсичные продукты метаболизма, которые могут быть для нее смертельными. Есть два способа решения этих проблем. Один

из них – рост во взвешенном состоянии, подобно клеткам крови или клеткам асцитической жидкости в брюшной полости. Другой способ используется большинством клеток. Он заключается в обеспечении себя сетью сосудов и капилляров и приспособлении метаболических путей к новым условиям существования. Сеть сосудов должна быть обширной, поскольку уже на расстоянии в 150 мкм от капилляра возникают гипоксия и недостаток глюкозы, несовместимые с жизнью клетки (рис. П1.11).

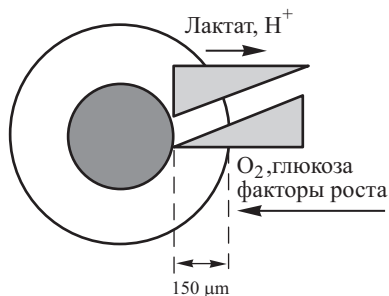


Рис. П1.11. Схематическое изображение среза многоклеточного сфероиды: светлая зона обозначает слой живых клеток, окружающих зону мертвых клеток (темная зона). Показаны градиенты метаболитов для поддержания жизнеспособности клеток

Исключением из этого правила являются клетки, формирующие оптически прозрачные роговицу и хрусталик глаза. Они используют щелевые контакты для транспорта питательных веществ и продуктов жизнедеятельности.

Участок 5'-CACGTG-3' – основная часть консенсусной последовательности углеводного респонсивного элемента (УРЭ), перекрывающегося с местами связывания фактора, индуцируемого гипоксией (hif-1); myc-max и usf. myc и hif-1 связываются непосредственно, в то время как v-src и активный ras повышают активность hif-1 и других факторов, которые связываются с УРЭ и стимулируют гликолиз.

В нормальной ткани ответом на гипоксию является синтез фактора транскрипции, индуцируемого гипоксией, hif-1. Это белок, который состоит из двух субъединиц: hif-1a и hif-1b. Домен белка, обеспечивающий взаимодействие с ДНК, устроен по типу «спираль – петля – спираль». hif-1 известен также под названием углеводородного рецептора ядерного транслокатора (ARNT). Он связывается с последовательностью 5'-RCGTG-3' (рис. П1.12). Эта последовательность является частью промотора генов, кодирующих гликолитические ферменты (альдозазу, енолазу, лактат дегидрогеназу, фос-

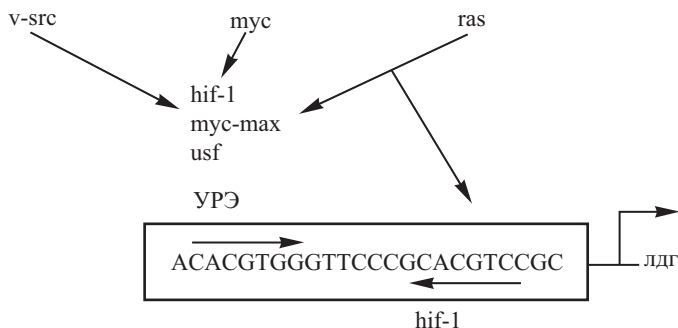


Рис. П1.12. Места связывания факторов транскрипции с проксимальной частью промотора гена лактатдегидрогеназы (ЛДГ)

фофруктокиназу, фосфоглицераткиназу, пируваткиназу) и сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF). Последний обеспечивает образование сосудов и важен для регенерации тканей.

Изменение концентрации глюкозы также активирует многие гены гликолитических ферментов. Это происходит при участии углеводного респонсивного элемента на молекуле ДНК (УРЭ). Он имеет консенсусную последовательность 5'-CACGTG-3', совпадающую с аналогичными последовательностями участков связывания белков мус и hif-1. Впоследствии стало известно, что с 5'-CACGTG-3' участком связывается и фактор транскрипции usf-2. Его домен, узнающий ДНК, имеет структуру лейциновой застежки-молнии. Предполагается, что активирование путей, опосредованных hif-1 или usf, является частью адаптивных реакций на гипоксию и гипогликемию в опухолевых клетках (рис. П1.13). Равновероятен и другой механизм, когда активация онкогенов или потеря супрессоров за счет соматической мутации в опухоли приводит к изменениям клеточного метаболизма. Тем самым клетка получает преимущество в неблагоприятном метаболическом окружении.

Показан транспорт глюкозы с помощью белков – переносчиков глюкозы (Глут1 и Глут3) и последующий ее катаболизм до лактата. Указаны места регуляции супрессорами опухоли: p53, белком von Hippel-Lindau (pVHL), а также онкогеном мус и фактором транскрипции 1, индуцируемым гипоксией (hif-1). Пока не известно, регулирует ли мус транскрипцию других генов гликолитических ферментов. v-src вызывает экспрессию hif-1, тогда как механизм, посредством которого ras стимулирует гликолиз, пока не определен.

Более 70 лет прошло с той поры, когда немецкий биохимик О. Варбург показал, что опухолевые клетки во много раз активнее,

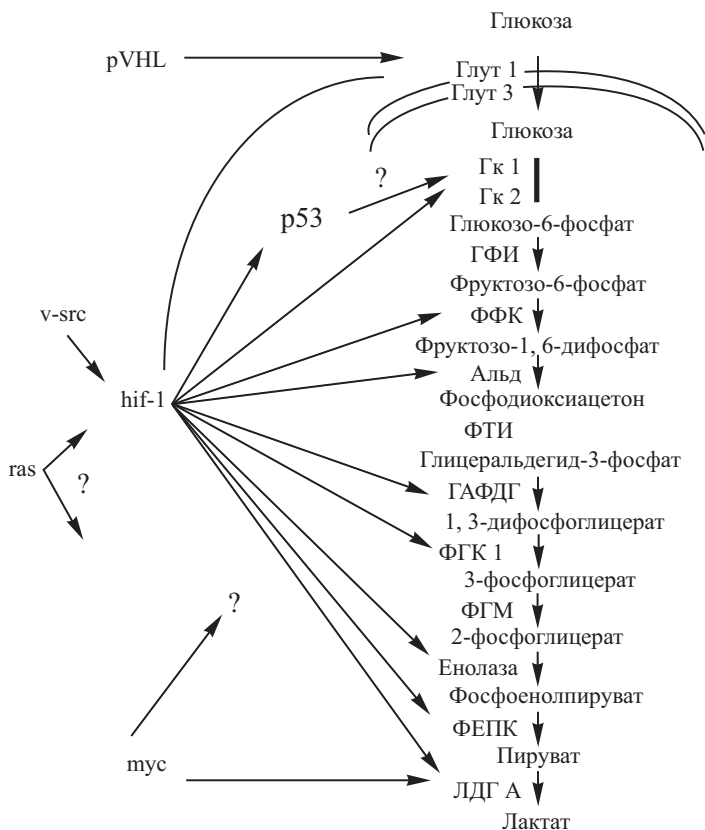


Рис. П1.13. Регуляция транскрипции ферментов гликолиза и ее модуляция онкогенами и генами-супрессорами опухоли

чем нормальные, потребляли глюкозу. Для ее окисления используются гликолитические ферменты и пируват в качестве акцептора водородов даже в присутствии кислорода (аэробный гликолиз) (рис. П1.14). Это явление получило название эффекта Варбурга. Полученные в последнее время данные позволили дать ему объяснение (табл. П1.3).

Нормальные клетки окисляют глюкозу до CO_2 и H_2O , используя механизм окислительного фосфорилирования для синтеза АТФ. В анаэробных условиях они переходят на механизм субстратного фосфорилирования, используя пируват в качестве конечного акцептора водородов. Опухолевые клетки полагаются на этот механизм даже в присутствии кислорода.

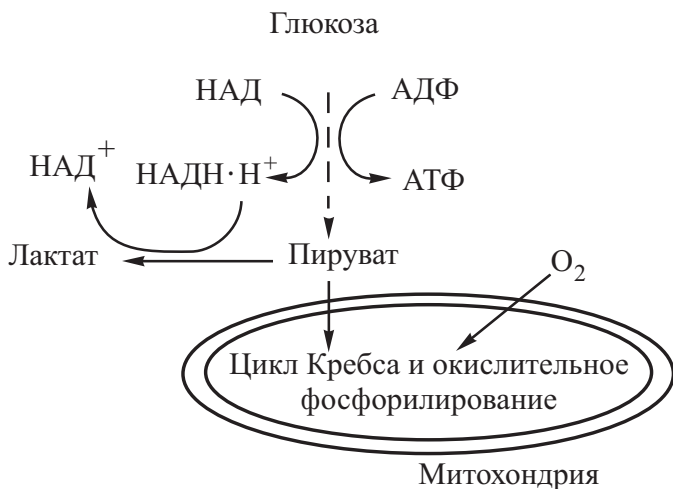


Рис. П1.14. Использование глюкозы в аэробных условиях

Таблица П1.3. Предполагаемые эффекторы аэробного гликолиза в опухолевых клетках

Молекула	Функция	Активность при раке	Эффект
1	2	3	4
hif-1	Фактор транскрипции, индуцируемый гипоксией	Адаптивная или конститутивная экспрессия	Увеличивает экспрессию генов, кодирующих ферменты гликолиза, фактор роста сосудов (VEGF) и другие белки адаптации к гипоксии
myc	Онкогенный фактор транскрипции	Конститутивная экспрессия, усиление функции	Усиливает экспрессию ЛДГ-1, гликолиз и образование лактата
ras	Онкогенный ГТФ-связывающий белок	Активируется в результате мутаций, усиление функции	Усиливает гликолиз и экспрессию VEGF
v-src	Онкогенная нерцепторная тирозинкиназа	Трансдуцированный ген ретровируса. Онкоген, усиление функции	Усиливает гликолиз, индуцирует енолазу и экспрессию иРНК для VEGF при участии HIF-1

1	2	3	4
p53	Фактор транскрипции. Супрессор опухоли	Мутант, потеря функции	Стабилизируется HIF-1a, активирует гексокиназу II, индуцирует апоптоз при гипоксии и ацидозе
pVHL	Модулятор стабильности иРНК, супрессор опухоли	Мутант, потеря функции	Дестабилизирует иРНК для VEGF и GLUT1, образование которых обусловлено гипоксией

Примечание. Условные сокращения: VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста; pVHL – белок – супрессор опухоли von Hippel-Lindau.

Многие онкогены и супрессоры опухолей, описанные ранее как участники процессов малигнизации, ответственны и за перестройку метаболических путей опухолевой клетки. Она направлена на выживание клетки в неблагоприятных условиях. Гипоксия и недостаточность глюкозы стимулируют образование факторов, способствующих ангиогенезу. Внеклеточные сигнальные молекулы, среди которых наиболее известны сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и факторы роста фибробластов (FGF-1 и FGF-2), вызывают размножение и инвазию эндотелиальных клеток сосудов. Активность этих факторов сдерживается ингибиторами ангиогенеза, такими, например, как тромбоспондин. Опухолевые клетки приобрели способность усиливать экспрессию проангиогенных факторов и сдерживать негативные регуляторы. Онкогены и гены – супрессоры опухоли являются непосредственными участниками обоих этих процессов. Например, экспрессия тромбоспондина усиливается p53. При синдроме Li-Fraumani вследствие мутации второго аллеля p53 в клетках, в которых один аллель p53 уже был изменен, происходит резкое снижение экспрессии тромбоспондина. Последующая мутация *gas* с образованием онкогенной формы этого белка приводит к увеличению секреции VEGF. Тот в свою очередь стимулирует миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток. В конечном счете усиливается пролиферация и опухолевых клеток, и эндотелиальных. Последние внедряются в растущую массу опухоли, обеспечивая образование сосудов. В настоящее время одним из подходов к торможению развития опухоли рассматривают возможность вмешательства в сложные взаимодействия сигнальных молекул, управляющих ангиогенезом.

Ингибиторы ангиогенеза проявляют мощную противоопухолевую активность. Исходя из того факта, что опухолевые клетки практически никогда не вторгаются в ткани, богатые коллагеном, группа исследователей во главе с Д. Фолкманом (США) в течение почти 30 лет исследовала антиангиогенные свойства коллагена. Их исследова-

ния успешно завершились выделением эндостатина – небольшой фракции коллагена XVII с молекулярной массой 20 кДа. К настоящему времени описано более 30 различных ингибиторов ангиогенеза, но эндостатин остается самым эффективным средством, резко снижающим рост опухоли и ее массу. При проведении нескольких циклов такой терапии опухоль теряла способность увеличиваться в размерах. Отличительной и привлекательной особенностью терапии ангиостатиками является то, что они действуют не на опухолевые клетки, а на здоровые эндотелиальные клетки со стабильными генами. Такие клетки не способны быстро приобрести устойчивость к применяемому препарату.

В качестве своеобразного заключения стоит упомянуть, что при сравнительном анализе экспрессии генов в опухолевых и здоровых клетках было выявлено более 80 различий. Но схожие различия имели место и при обычном заживлении раны. Это свидетельствует о том, что процесс осмысления канцерогенеза еще в пути.

Приложение 2

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ И РЕЗОРБЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ, ОСТЕОПОРОЗ

«Безмолвная» эпидемия – так называют остеопороз (ОП) за его медленное незаметное течение. Подчас его диагностируют уже при появлении осложнений – переломов шейки бедра, компрессионных переломов позвонков, переломов костей предплечья. *Остеопороз* – системное заболевание скелета, характеризующееся снижением массы костной ткани и микронарушениями в архитектонике костной ткани, приводящее к увеличению хрупкости костей и возможности их переломов (рис. П2.1). В последнее десятилетие остеопороз устойчиво занимает четвертое место по смертности среди неинфекционных заболеваний после сердечно-сосудистых заболеваний, опухолей и диабета.

На примере США, где хорошо организована статистика учета ОП, отчетливо видны масштабы этой «безмолвной» эпидемии: ОП страдают более 28 млн жителей США, а экономические затраты в связи с этим составляют свыше 15 млрд дол. в год. По некоторым данным, ОП встречается примерно у 30% женщин старше 50 лет, при этом у каждой четвертой отмечается деформация хотя бы одного позвонка. Увеличение народонаселения и продолжительности жизни до 80 лет может привести к середине XXI в. к троекратному возрастанию частоты переломов, в частности бедренной кости – с 1,66 млн в 1990 г. до 6,25 млн в 2050 г. Вероятность преждевременной смерти

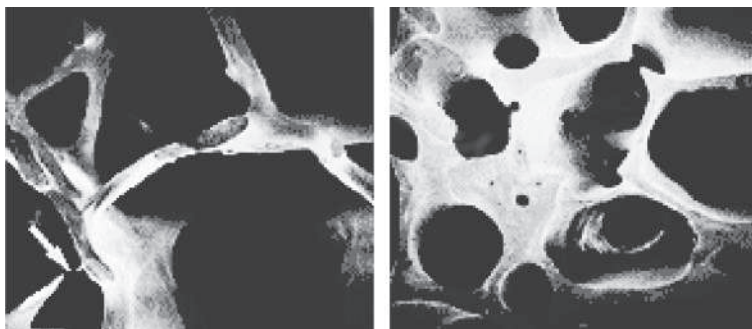


Рис. П2.1. Строение трабекул губчатой кости в норме и при остеопорозе

у женщин в период менопаузы вследствие перелома шейки бедренной кости в четыре раза выше, чем от рака эндометрия.

История остеопороза начинается с начала XIX в., когда Асли Купер (Astley Cooper), выдающийся английский хирург, отметил, что «белизну и мягкость кости приобретают в более поздних стадиях жизни» и что «это состояние кости... способствует более частым переломам». Термин «остеопороз» был введен Джоханном Лобстайном (Johann Lobstein) примерно в то же время, но в приложении к заболеванию «несовершенный остеогенез». В 1940 г. врач и эндокринолог Ф. Олбрайт описал климактерический остеопороз и впервые предположил, что это заболевание является следствием ослабленного остеогенеза из-за дефицита эстрогенов. Впоследствии было предложено выделять две формы остеопороза. Одна связана с дефицитом эстрогенов в период менопаузы, другая – с дефицитом кальция и старением скелета. В соответствии с имеющейся концепцией, остеопороз рассматривается как многофакторное заболевание, в котором сходятся многие патогенетические механизмы, вызывающие потерю костной массы и нарушение микроархитектуры скелета. Эти факторы вместе с увеличенной вероятностью падений вносят свой вклад в высокую частоту переломов у больных остеопорозом.

Остеопороз рассматривается как одна из разновидностей заболеваний скелета, общим признаком которых является нарушение метаболизма костной ткани, приводящее к снижению плотности и прочности кости с последующим увеличением риска возникновения переломов. Среди таких заболеваний выделяют:

- остеопороз, проявляющийся прежде всего снижением костной массы;
- остеомалация, связанная с нарушением минерализации костной ткани;
- остеосклероз, являющийся результатом увеличения костной массы;

- остеопороз, при котором происходит замещение костной ткани волокнистой соединительной.

Этиопатогенетическая классификация ОП, предложенная Российской ассоциацией изучения ОП (1997), выглядит следующим образом:

- первичный остеопороз:
 - постменопаузальный (I типа);
 - сенильный (II типа);
 - ювенильный;
 - идиопатический;
- вторичный остеопороз:
 - заболевания эндокринной системы (болезнь и синдром Иценко – Кушинга – эндогенный гиперкортицизм, тиреотоксикоз, гипогонадизм, гиперпаратиреоз, сахарный диабет, гипопитуитаризм);
 - ревматические заболевания (ревматоидный артрит, СКВ, болезнь Бехтерева);
 - заболевания органов пищеварения (мальабсорбция, хронические заболевания печени, резецированные участки кишечника);
 - заболевания почек (хроническая почечная недостаточность, синдром Фанкони);
 - заболевания крови (миеломная болезнь, талассемии, системный мастоцитоз, лейкозы, лимфомы);
 - другие заболевания и состояния (иммобилизация, овариоэктомия, хроническая обструктивная болезнь легких, алкоголизм и др.);
 - генетические нарушения (несовершенный остеогенез, синдром Марфана, синдром Энлерса – Данлоса и др.);
 - медикаменты (кортикостероиды, иммунодепрессанты, агонисты гонадолиберина, алюминийсодержащие антациды).

Согласно Международной классификации болезней X пересмотра различают ОП с патологическими переломами и без переломов. По морфологическим критериям в зависимости от преимущественной зоны остеопении различают трабекулярную, кортикальную и смешанную формы ОП. По интенсивности метаболических процессов, происходящих в костной ткани, выделяют ОП с высокой, низкой и нормальной интенсивностью ремоделирования в зависимости от уровня маркеров костной резорбции.

К настоящему времени наиболее подробно изучены первичные формы ОП и иммобилизационный ОП.

Приведенные выше данные показывают, что выяснение механизмов развития и коррекции ОП является актуальной и во многом нерешенной проблемой современной медицины, с которой сталкиваются в своей профессиональной деятельности многие специалисты – ревматологи, гериатры, гинекологи, травматологи и др.

Поскольку основные события развиваются в костной ткани, предлагается познакомиться с особенностями строения костной ткани, метаболизма и механизмов остеогенеза.

Костная ткань – разновидность соединительной ткани. Организм животных построен из четырех типов тканей: эпителиальной, мышечной, нервной и соединительной.

Различают несколько разновидностей соединительной ткани:

- волокнистые соединительные ткани (рыхлые, плотные);
- кровь и лимфа;
- скелетные ткани (костная, хрящевая ткани, дентин);
- соединительные ткани со специальными свойствами (жировая, пигментная и др.).

Выделяют три типа костной ткани: дентиноидную, ретикулофиброзную (грубоволокнистую) и пластинчатую. *Дентиноидная* костная ткань представлена клетками-одонтобластами, которые окружены внеклеточным матриксом, состоящим из коллагеновых волокон и минерализованного основного аморфного вещества. Основу внеклеточного матрикса *ретикулофиброзной* костной ткани составляют мощные пучки коллагеновых волокон, имеющие различное направление. Без определенной ориентации располагаются в матриксе

и остециты. У высших позвоночных во взрослом состоянии ретикулофиброзная костная ткань встречается в местах зарастания черепных швов и прикрепления сухожилий к костям. Большая часть скелета взрослого человека представлена *пластинчатой* костной тканью. Она состоит из костных пластинок, образованных костными клетками, и внеклеточного минерализованного матрикса с коллагеновыми волокнами, ориентированными в определенном направлении. В соседних пластинках волокна имеют разное направление, что обеспечивает большую прочность пластинчатой костной ткани. Пластинчатая костная ткань представлена двумя формами: компактной и губчатой.

Кость – орган скелетной системы. Строение длинной трубчатой кости показано на рис. П2.2.

Компактная костная ткань, формирующая диафизы трубчатых костей, состоит из костных пластинок (рис. П2.3), которые

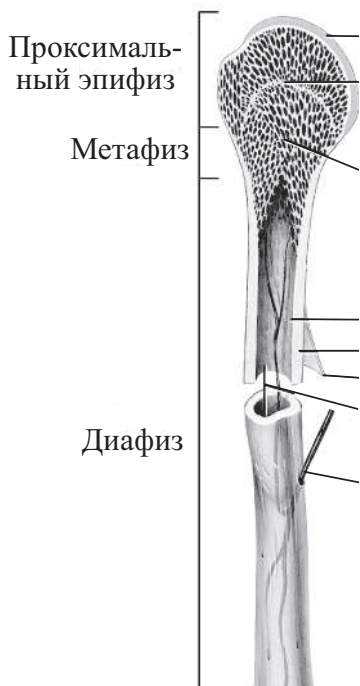
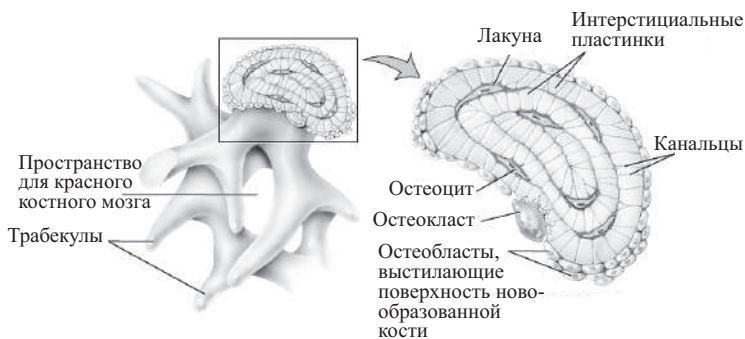


Рис. П2.2. Строение трубчатой кости

располагаются в определенном порядке, образуют сложные системы. Диафиз трубчатой кости состоит из трех слоев – слоя *наружных генеральных пластин*, слоя *гаверсовых систем (остеонов)*, слоя *внутренних генеральных пластин*. Наружные генеральные пластины располагаются под надкостницей, внутренние – со стороны костного мозга. Эти пластины охватывают кость целиком, образуя концентрическую слоистость. Через генеральные пластины внутрь кости проходят каналы, в которых идут кровеносные сосуды. Каждая пластина состоит из основного вещества, в котором параллельными рядами идут пучки коллагеновых волокон. Остеоциты лежат между пластинами.

Кость как орган скелетной системы состоит из четырех типов тканей: хрящевой, костной, красного костного мозга, периоста и эндоста.

В среднем слое костные пластинки располагаются концентрически вокруг канала, где проходят кровеносные сосуды, образуя остеон (гаверсову систему). Остеон представляет собой систему цилиндров, вставленных один в другой. Такая конструкция придает кости чрезвычайную прочность. В двух смежных пластинках пучки коллагеновых волокон идут в различных направлениях. Между остеонами располагаются вставочные (промежуточные) пластинки. Это части бывших остеонов. Губчатая кость (рис. П2.4) как разновидность пластинчатой костной ткани формирует плоские кости и эпифизы трубчатых костей. Ее пластинки образуют камеры (ячейки), в которых находится красный костный мозг. Надкостница (периост) имеет два слоя: наружный (волокнистый) и внутренний (клеточный), содержащий остеобласты и остеокласты. Через надкостницу проходят сосуды и нервы, питающие кость; они принимают участие в трофике, развитии, росте и регенерации кости.



Детали строения среза трабекулы

Рис. П2.4. Строение трабекул

Функции образования костной ткани и ее разрушения принадлежат разным клеткам. Если основные клетки рыхлой, плотной оформленной или хрящевой тканей ответственны за образование и распад межклеточного матрикса, то в костной ткани клетки функционально разделяются на образующие межклеточный матрикс (остеобластический ряд) и остеокласты, выполняющие резорбтивные функции (рис. П2.5).

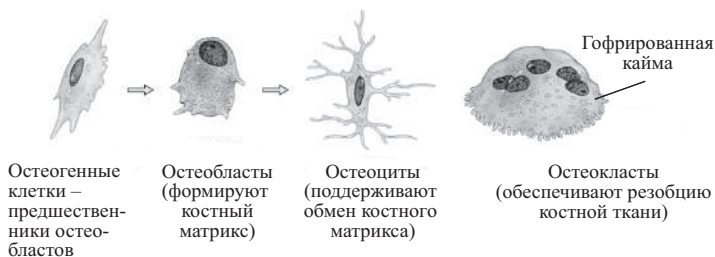


Рис. П2.5. Основные клетки костной ткани

Предшественниками остеобластов у взрослого человека являются стволовые стромальные клетки (ССК). Они представляют собой малодифференцированные клетки мезенхимного происхождения, способные при определенных условиях дифференцироваться по остеобластическому пути, и тем самым составляют клеточный резерв костной ткани, который используется в физиологических условиях или при посттравматическом восстановлении. У взрослого эти клетки способны дифференцироваться не только в костные и хрящевые клетки, но и в другие клетки – фибробласты, адипоциты и гладкомышечные клетки. Дифференцировка сопряжена со снижением транскрипции генов, кодирующих белки, которые принимают участие в пролиферации и адгезии, и повышением транскрипции генов остеобласт-специфических белков. Процесс сопровождается образованием межклеточного матрикса, богатого коллагенами II, III и IX типов, с последующим, по мере дифференцировки, переходом на X тип и затем на синтез основного белка матрикса костной ткани – коллагена I типа. Остеогенные клетки синтезируют также ряд неколлагеновых белков матрикса – остеокальцин, остеопонтин, костный сиалопротеин, остеонектин, костные морфогенетические белки, щелочную фосфатазу.

Популяция остеогенных клеток неоднородна. Выделяют два типа клеток – детерминированные и индуцибельные остеогенные клетки-предшественники. Первые реализуют свои остеогенные функции без участия каких-либо индукторов, вторые для проявления своих функций нуждаются в специальных индукторах. К индуцибельным остеогенным предшественникам относят периваскулоциты, окружающие

кровеносные сосуды микроциркуляторного русла, а также клетки, локализованные в надкостнице и во внескелетных органах. Детерминированные остеогенные клетки располагаются в костях скелета.

Промежуточными формами на пути дифференцировки остеогенных клеток являются преостеобласты. Это клетки – предшественники остеобластов, составляющие фонд дифференцирующихся клеток. Остеобласты – наиболее активные клеточные элементы при остеогенезе. Эти клетки имеют кубическую или призматическую форму. Ядро расположено эксцентрично. По своему фенотипу остеобласты – типичные активно синтезирующие и секретирующие клетки, причем секреция синтезированных веществ может осуществляться всей поверхностью клетки. В остеобластах имеется хорошо развитая гранулярная эндоплазматическая сеть, заполняющая практически всю цитоплазму, множество свободных рибосом и полисом, что свидетельствует об активных синтетических процессах, происходящих в клетке. Остеобласты секретируют подавляющее большинство компонентов органического костного матрикса – коллаген I типа, щелочную фосфатазу, остеокальцин, костный сиалопротеин, остеопонтин, костные морфогенетические белки, трансформирующие факторы роста, тромбоспондин, остеонектин, коллагеназу и др. По мере дальнейшей дифференцировки секреция новосинтезированных белков постепенно снижается, теряется пролиферативная активность. Остеобластам принадлежит ведущая роль и в минерализации органического матрикса.

К концу продуктивного периода остеобласты, выстилающие кость со стороны костномозгового канала, изменяют свою форму, теряют органеллы, становятся плоскими и входят в состав эндоста. Эти клетки так и называют – «выстилающие клетки». Они тесно контактируют между собой и с остеоцитами с помощью отростков, проникающих в костный матрикс. Им принадлежит важная роль в регуляции диффузии ионов Ca^{2+} из кости в костномозговой канал, а также в обеспечении дифференцировки кроветворных клеток.

Остеоциты – финальная стадия дифференцировки остеобластов. В их цитоплазме обнаруживаются отдельные элементы шероховатого эндоплазматического ретикулума, комплекса Гольджи, единичные митохондрии и свободные рибосомы. Ультраструктура этих клеток зависит от стадии жизненного цикла, действия на организм экзо- и эндогенных факторов. Остеоциты способны синтезировать белки и полисахариды межклеточного матрикса, принимают участие в регуляции минерализации костной ткани, остеоцитарном остеоллизе и обеспечении ответа на механические стимулы. Совместно с выстилающими клетками остеоциты воспринимают любые изменения упругого напряжения костной ткани и, трансформируя механические стимулы в биохимические сигналы, инициируют процессы ремоделирования. Остеоциты имеют длинные отростки (50–60 мкм при среднем размере тела клетки 15–45 мкм), расположенные в костных каналцах. Посредством щелевых контактов они связаны

между собой, с выстилающими клетками и остеобластами. Остеобластам отводят роль посредников сигналов в костной резорбции. Щелевые контакты обеспечивают переход некоторых молекул (Ca^{2+} , цАМФ) из клетки в клетку, а также координированный ответ клеток на локальный механический или химический сигнал.

На другой тип клеток, остеокласты, возложена иная функция – резорбция костной ткани. Остеокласты – крупный (150–180 мкм) многоядерный симпласт, образовавшийся в результате слияния нескольких клеток-предшественников. Совместно с остеобластами они обеспечивают ремоделирование костной ткани в эмбриональном, постнатальном и регенерационном остеогенезе. Хорошо доказано гемопоэтическое происхождение этих клеток. Моноциты, макрофаги и остеокласты имеют схожую природу и объединяются в единую фагоцитарную систему, хотя непосредственные предшественники этих клеток различны. Предшественниками остеокластов являются циркулирующие в крови мононуклеарные клетки, которые, достигая участков резорбции, сливаются друг с другом и дают начало остеокластам. Важную роль в дифференцировке предшественников остеокластов играют клетки микроокружения, и прежде всего ССК.

Структура остеокластов характеризуется выраженной специализацией отдельных его компартментов. В самом большом отделе клетки, базальной зоне, расположены многочисленные (5–20) ядра. Светлая зона, расположенная по периметру клетки, обеспечивает контакт с костным матриксом, создавая изолированное пространство между клеткой и поверхностью минерализованного матрикса.

Кроме указанных клеток костная ткань находится в динамическом взаимодействии с клетками сосудов, крови, костного мозга – эндотелиоцитами, лейкоцитами, фибробластами, ретикулоцитами, адипоцитами, клетками гемопоэза и др., а также с элементами других скелетных тканей – хондробластами и хондроцитами.

Состояние межклеточного матрикса – основная забота остеобластов и остеокластов. Межклеточный матрикс костной ткани состоит из органической (25%), неорганической (50%) частей и воды (25%) (рис. П2.6).

90–95% *органической части* межклеточного матрикса состоит из коллагена I типа, а остальную часть занимают неколлагеновые белки. Известно 19 типов коллагеновых белков. Изоформы коллагена различаются по аминокислотному составу составляющих их цепей, иммунологическим, хроматографическим свойствам, макромолекулярной организации и распределении в тканях. Изоформы коллагенов подразделяют на фибриллярные коллагены (I, II, III, V типов), которые формируют крупные фибриллы; фибриллассоциированные коллагены (VI, IX), образующие сети коллагены (IV, VII, XV), трансмембранные коллагены (XIII, XVII). Коллагеноподобные домены обнаружены в ряде белков, выполняющих защитные функции (табл. П2.1). Для костной ткани наиболее характерен коллаген I типа.

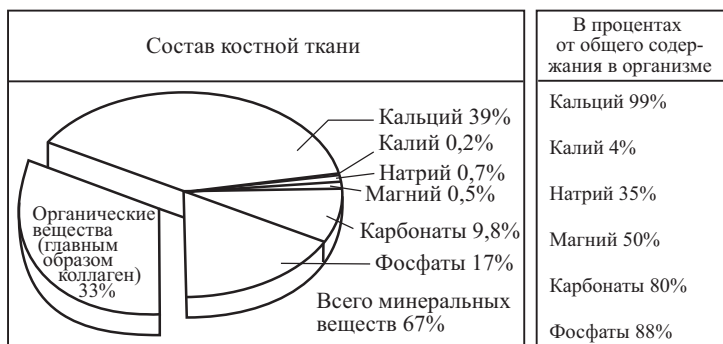


Рис. П2.6. Состав плотных компонентов костной ткани (без воды)

Молекула коллагена I типа имеет молекулярную массу около 300 кДа и длину 280–300 нм. Она состоит из двух α_1 -цепей и одной α_2 -цепи I типа, обвитых одна вокруг другой и образующих правовращающую спираль. Каждая цепь молекулы коллагена состоит из многократно повторяющегося трипептида гли-Х-У, где Х – чаще всего пролин или гидроксипролин, У – другие аминокислоты. Такая структура позволяет получить плотно упакованную и «прочную» молекулу.

Образование коллагена включает два этапа. На первом происходит внутриклеточный синтез остеобластами полипептидных цепей предшественника коллагена – проколлагена. Синтезированная на рибосомах цепь подвергается внутриклеточной посттрансляционной модификации. Отдельные молекулы пролина и лизина в составе полипептидной цепи гидроксилируются (гидроксилазы пролина и лизина требуют для своей работы кофакторы – аскорбиновую кислоту, Fe^{2+} , O_2 и α -кетоглутаровую кислоту), а затем молекулы гидроксилизина дополнительно гликозилируются. Сборка проколлагена начинается с образования дисульфидных связей в С-концевых доменах полипептидных цепей с последующим сворачиванием трех цепей и формированием тройной спирали. Внутриклеточное образование фибрилл тормозится дополнительными пептидами на N-конце (PINP) и С-конце (PICP) проколлагена. Во время секреции коллагена эти дополнительные пептиды удаляются специфическими пептидазами.

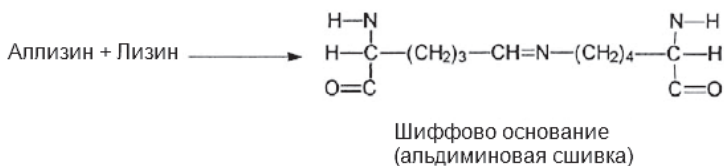
В межклеточном пространстве молекулы коллагена вступают в процесс фибриллогенеза. Они подвергаются поперечной и продольной агрегации, при этом направление образования фибрилл диктуется механическими силами, действующими в местах фибриллогенеза. Волокна укрепляются межмолекулярными сшивками, в образовании которых важную роль играет внеклеточная лизилоксидаза, катализирующая окислительное дезаминирование лизина. Образующиеся в результате реакции альдегидные группы активно взаимо-

Таблица П2.1. Классификация коллагенов

Коллагены			
1	2	3	4
Фибриллярные			
I	$[\alpha_1(\text{I})]_2[\alpha_2(\text{I})]$	Фибриллы длиной 300 нм	Кожа, сухожилия, кость, связки, дентин, интерстициальные ткани
II	$[\alpha_1(\text{II})]_3$	Фибриллы длиной 300 нм	Хрящ, стекловидное тело
III	$[\alpha_1(\text{III})]_3$	Фибриллы длиной 300 нм	Часто с типом I. Кожа, мышцы, сосуды
V	$[\alpha_1(\text{V})_2 \alpha_2(\text{V})], [\alpha_1(\text{V})_3]$	Фибриллы длиной 390 нм с глобулярной N-концевой частью; часто с типом I	Роговица, зубы, кость плацента, кожа, smooth muscle
Фибриллассоциированные			
VI	$[\alpha_1(\text{VI})]_2[\alpha_2(\text{VI})]$	Боковой поверхностью ассоциирован с типом I; периодически расположенные глобулярные домены	Многие интерстициальные ткани
IX	$[\alpha_1(\text{IX})][\alpha_2(\text{IX})][\alpha_3(\text{IX})]$	Боковой поверхностью ассоциирован с типом II; N-концевой глобулярный домен; связывание ГАГ	Хрящ, стекловидное тело
Сетьобразующие			
IV	$[\alpha_1(\text{IV})]_2[\alpha_2(\text{IV})]$	Двумерная сеть	Базальные мембраны
VII	$[\alpha_1(\text{VII})]_3$	Длинные фибриллы	Базальная мембрана кожи

1	2	3	4
XV	$[\alpha_1(\text{XV})]_3$	Коровый белок ХДС	Широко распространен в мышечной ткани, связан с базальными протеогликановыми мембранами
Трансmemбранные			
XIII	$[\alpha_1(\text{XIII})]_3$	Интегральный мембранный белок	Полудесмосомы в коже
XVII	$[\alpha_1(\text{XVII})]_3$	То же	Полудесмосомы в коже
Коллагены защитных систем			
Коллектины		Домены тройных спиралей; домены лектинов	Кровь, альвеолярные пространства
C1q		Домены тройных спиралей	Кровь (комплемент)
Класс А рецепторов-«мусорщиков»		Гомотримерные мембранные белки	Макрофаги

действуют с аминокруппами лизинов соседних цепочек, формируя альдиминовые связи, которые после восстановления формируют прочные ковалентные межмолекулярные сшивки:



Второй тип ковалентных поперечных сшивок, характерных для коллагеновых волокон костной ткани, – пиридинолиновые ковалентные сшивки (рис. П2.7). Различают пиридинолиновые и дезоксипиридинолиновые сшивки. Они образуются с участием трех остатков аминокислот, принадлежащих разным полипептидным цепям.

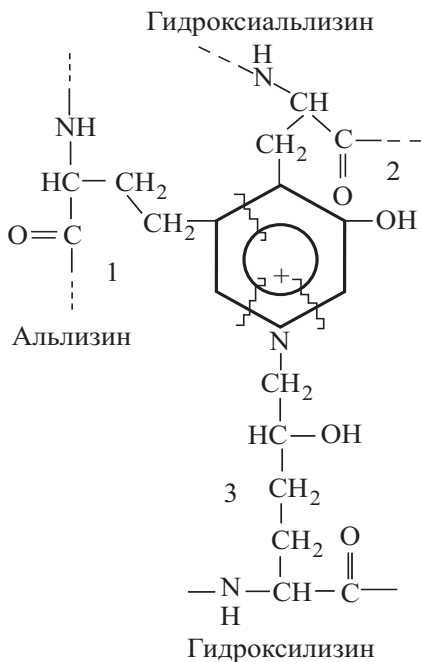


Рис. П2.7. Образование пиридинолиновых ковалентных сшивок

На рисунке показано образование такой сшивки с участием гидроксиальлизина, альлизина и гидроксизина. Гидроксиальлизин и альлизин – продукты дезаминирования гидроксизина и лизина. По степени высвобождения дополнительных концевых пептидов PINP и PICP можно косвенно судить о способности остеобластов синтезировать коллаген I типа, поскольку из одной молекулы проколлагена образуется по одной молекуле коллагена и по одному N- и C- терминальному пептиду. Для количественного определения PINP и PICP разработаны методы радиоиммунного и иммуноферментного анализа.

Кроме коллагена остеобласты синтезируют разнообразные неколлаговые белки. Функционально их можно разделить:

- на белки, обеспечивающие локальную регуляцию остеогенеза. К ним относится ряд факторов роста (фактор роста фибробластов, трансформирующие факторы роста, костные морфогенетические белки), которые представляют собой цитокины, депонируемые матриксом;

- белки, обеспечивающие адгезию клеток к межклеточному матриксу. Они имеют RGD (Арг-Гли-Асп) домен, который специфически узнается мембранными рецепторами (интегринами). К этой группе белков относятся фибронектин, остеопонтин, костный сиалопротеин. Эти же белки способны интенсивно связываться с кальцием и участвовать в минерализации костной ткани;

- γ -карбоксилированные (gla) белки (остеокальцин, gla-белок матрикса (MGP), протеин S). Эти белки в своем составе имеют γ -карбоксиглутаминовую кислоту, которая образуется в пострибосомальную фазу их синтеза путем карбоксилирования глутаминовой кислоты с участием витамина К. Наличие γ -карбоксиглутаминовой кислоты придает этим белкам способность связывать ионы кальция;

- гликопротеины (щелочная фосфатаза, остеонектин) – активные участники минерализации костной ткани;

- протеогликаны – белково-углеводные комплексы, содержащие в своем составе гликозаминогликаны (хондроитинсульфат, гепарансульфат). Обеспечивают связывание ионов, регулируют активность клеток костной ткани.

Неорганический компонент межклеточного матрикса в значительной части содержит кальций (35%) и фосфор (50%), образующие кристаллы гидроксиапатита – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ размером $20 \times 5 \times 1,5$ нм и соединяющиеся с молекулами коллагена посредством неколлаговых белков матрикса. Гидроксиапатит – не единственная форма ассоциации кальция и фосфора в костной ткани. Кость содержит окта-, ди-, трикальций фосфаты, аморфный фосфат кальция. Кроме этого, в состав неорганического матрикса входят бикарбонаты, цитраты, фториды, соли магния, калия, натрия и др.

Кость является ведущим депо минеральных веществ для всего организма, что является одной из причин постоянного ремоделирования костной ткани.

Образование костной ткани – многоступенчатый процесс.

В эмбриональном периоде развитие костной ткани из мезенхимы протекает двумя способами:

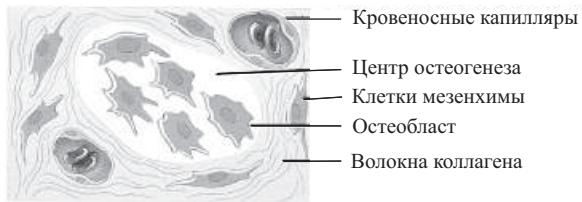
- прямым остеогенезом (непосредственное образование из мезенхимы);
- косвенным остеогенезом (образование из мезенхимы после предварительного формирования хрящевой модели кости).

Прямой остеогенез (рис. П2.8) лежит в основе развития грубоволокнистой (ретикулофиброзной) костной ткани при образовании плоских костей (например, покровных костей черепа). Стадии прямого остеогенеза: 1) образование клеточного остеогенного островка – происходит очаговое размножение мезенхимных клеток и формирование в этом очаге сосудов (васкуляризация); 2) остеонидная дифференцировка из мезенхимных клеток остеобластов, располагающихся по поверхности островка, и остеоцитов – в глубине островка. Остеобласты образуют оксифильный межклеточный матрикс с коллагеновыми фибриллами; 3) минерализация (кальцификация) межклеточного вещества с образованием костных перекладин, или балок; 4) перестройка грубоволокнистой костной ткани в пластинчатую, связанную с ростом капилляров и образованием остеона.

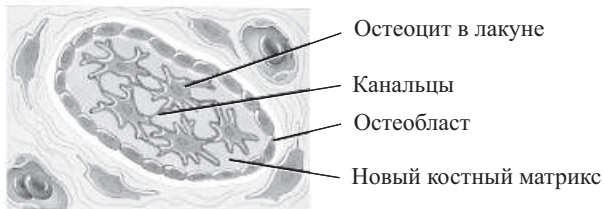
Косвенный остеогенез – основной способ развития костей скелета. На втором месяце эмбриогенеза из мезенхимы (через стадии образования хондрогенного островка и минерализации) формируется хрящевая модель будущей кости (гиалиновый хрящ, покрытый надхрящницей).

Развитие кости на месте хряща начинается с перестройки в области диафиза, связанной с прикреплением к нему развивающихся поперечно-полосатых скелетных мышц. В надхрящнице при усилении механических воздействий на нее разрастаются кровеносные сосуды, улучшается ее питание, что приводит к тому, что мезенхимные клетки дифференцируются не в хондробласты, приспособленные к плохому питанию, а в остеобласты, а на месте надхрящницы образуется надкостница.

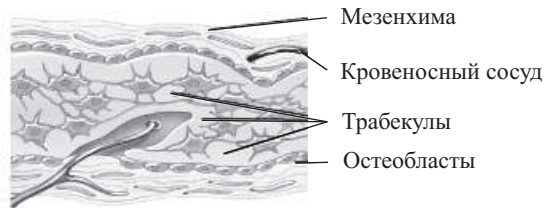
Остеобласты формируют сначала ретикулофиброзную костную ткань в виде манжетки (перихондральное окостенение), которая затем перестраивается в пластинчатую костную ткань. Костная манжетка нарушает питание лежащего глубже хряща, в нем возникают дистрофические изменения. Хондроциты вакуолизируются (появляется зона пузырчатых хондроцитов). Выше, на границе эпифиза и диафиза, неизменные хондроциты продолжают свой рост, размножаются и выстраиваются в колонки (мешает костная манжетка по краям). Кровеносные сосуды с мезенхимой, остеобластами и остеокластами врастают через отверстия костной манжетки в диафизарный хрящ, остеокласты его разрушают, а остеобласты с остеоцитами формируют костную ткань (эндохондральное окостенение). В последующем две зоны окостенения – перихондральная и энхон-



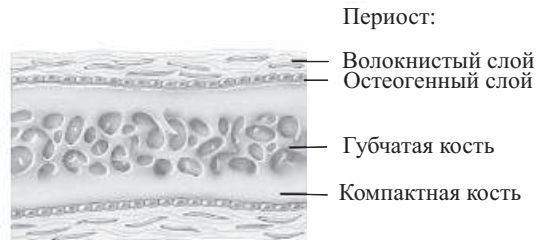
1 Образование центра остеогенеза



2 Остеоциты формируют костный матрикс



3 Образование трабекул



4 Образование периоста, губчатой и компактной костной ткани

Рис. П2.8. Основные этапы прямого остеогенеза

дральная сливаются вместе. Внутри диафиза формируется костномозговая полость, которая заселяется миелоидной тканью. Вслед за диафизом центры окостенения появляются в эпифизах, что сопровождается вращением в эпифиз сосудов.

Независимо от механизма остеогенеза процессы биологической минерализации протекают, по-видимому, одинаково.

Хотя в процессе минерализации основную роль играют физико-химические факторы, процесс регулируется клеткой. Основную работу по формированию межклеточного матрикса выполняют остеобласты (рис. П2.9). Биологическая минерализация начинается с секреции остеобластами белков – инициаторов минерализации. Остеокальцин и другие сиалопротеины связывают внеклеточные ионы кальция, повышая их локальную концентрацию. Это служит сигналом, стимулирующим высвобождение небольших (50–200 нм) матричных пузырьков, содержащих щелочную фосфатазу и пирофосфатазу. Эти ферменты катализируют высвобождение фосфата из органических субстратов в межклеточном пространстве, который, связываясь с кальцием, формирует первичный фосфат кальция. Последний выполняет роль затравки, которая стимулирует образование кристаллов гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Образующиеся кристаллы постепенно окружают остеобласты и сливаются с кристаллами, образующимися вокруг других клеток.

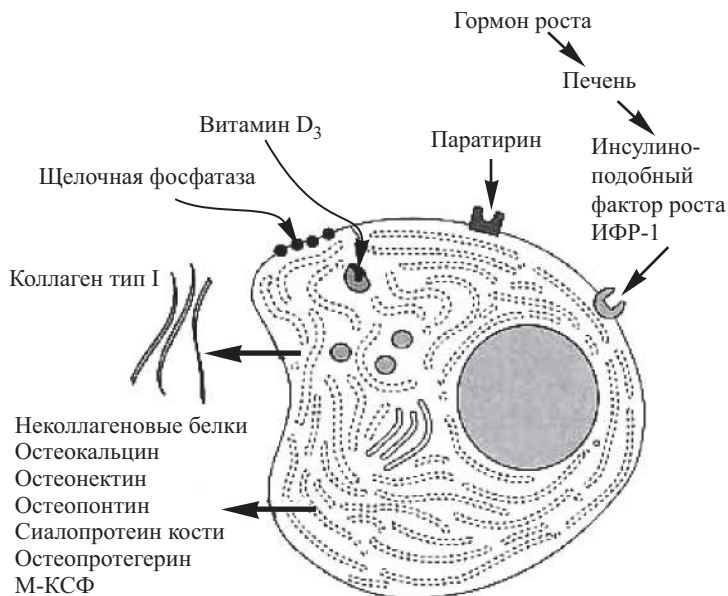


Рис. П2.9. Схематическое изображение остеобласта

Параллельно с формированием костной ткани постоянно протекает и другой процесс – ее резорбция. Он выполняет ряд важных функций, среди которых следует отметить восстановление возможных повреждений костной ткани и высвобождение минеральных соединений, необходимых для жизнедеятельности других клеток. Примерно 10% всей костной ткани remodelируется в течение года. До 30-летнего возраста у человека процессы формирования костной ткани преобладают над ее резорбцией. Наибольшее значение костной массы в ходе онтогенеза определяется как пиковая костная масса (рис. П2.10). Затем до 35–40 лет поддерживается нулевой баланс – период относительного равновесия, который сменяется периодом потери костной массы. У мужчин ежегодно она составляет 0,5–2% в год, у женщин – 2–3% с преимущественным ускорением в течение 5–10 лет после менопаузы.

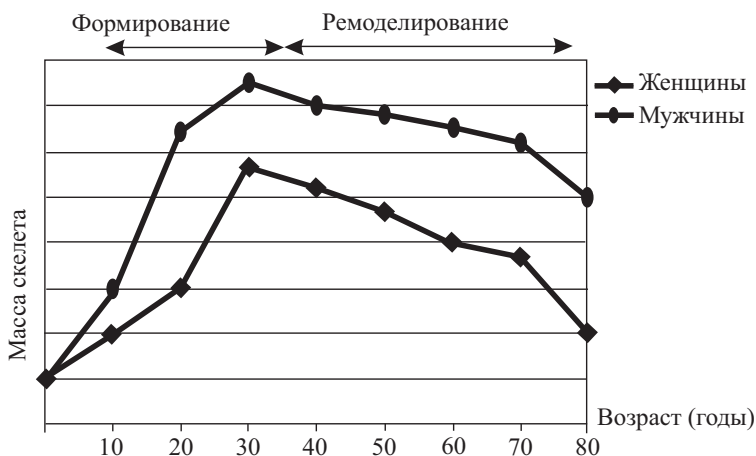


Рис. П2.10. Изменения плотности костной ткани в зависимости от возраста мужчин и женщин

Значение пиковой массы костной ткани представляет важную точку отсчета, используемую для оценки степени потери костной массы и диагностики остеопороза. В 1994 г. рабочая группа по заболеваниям костной ткани Всемирной организации здравоохранения установила нормы плотности кости, основанные на величине Т-критерия, определяемого как число допустимых стандартных отклонений (SD), на которое плотность кости выше или ниже среднего значения у референтной популяции (рис. П2.11).

Значение Т от 0 до –1 считается нормой; от –1 до –2,5 – является показателем остеопении; а –2,5 или ниже указывает на остеопороз.

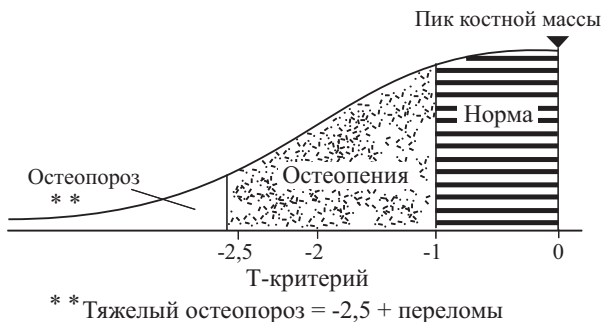


Рис. П2.11. Возможные варианты нарушений при снижении плотности костной ткани

Введение категорий остеопении и остеопороза связано с тем, что появление переломов костей нельзя считать исключительно признаком остеопороза. Остеопения и остеопороз – это разные степени риска наступления переломов. При остеопении, особенно при условии наличия дополнительных факторов риска, также могут возникать переломы, но самый высокий риск переломов отмечается у пациентов с остеопорозом.

Резорбция костной ткани – функция остеокластов. Как упоминалось выше, активный остеокласт образуется путем слияния нескольких клеток предшественников и обладает всеми необходимыми функциями, позволяющими «растворять» костный межклеточный матрикс (рис. П2.12).

Этому способствуют:

- прочная адгезия клетки к костной ткани. Прикрепление клетки происходит не по всей поверхности соприкосновения, а только по краям, где образуется зона замыкания. В ее формировании принимают участие со стороны костной поверхности белки с RGD последовательностью (остеопонтин), которые связываются с интегрином $\alpha\beta3$ мембраны остеокласта, который в свою очередь при участии двух белков (виникулина и талина) связывается с цитоскелетом клетки (рис. П2.13). Клетка прочно прикрепляется к поверхности по периметру соприкосновения, образуя непроницаемую для молекул границу. Остальная часть мембраны остеокласта внутри зоны замыкания резко увеличивает поверхность, формируя складки (гофрированная каемка);

- система ферментов и каналов, позволяющая внутри зоны замыкания создать высокую концентрацию протонов, необходимых для растворения гидроксиапатита, катализировать гидролиз макромолекул матрикса и удалять из этой зоны продукты гидролиза и компоненты кристаллов гидроксиапатита.

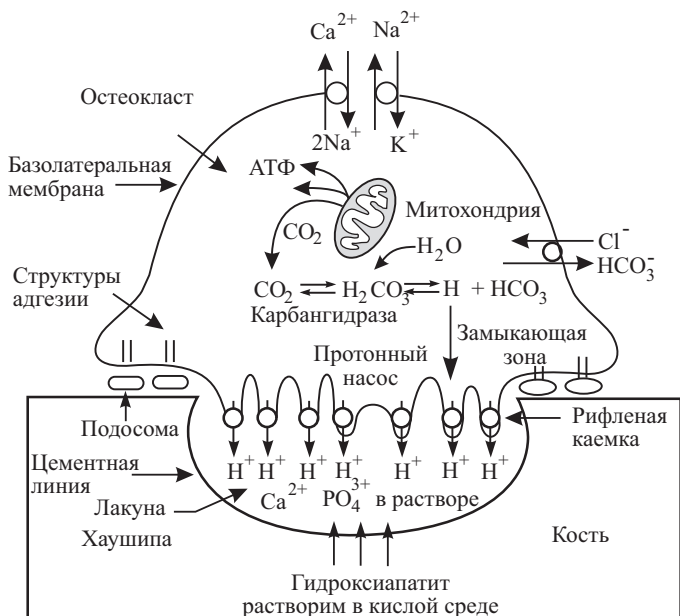


Рис. П2.12. Схема строения остеокласта

Высокая концентрация протонов поддерживается работой H⁺-АТФазы V типа (протонного насоса), расположенного в складках плазматической мембраны остеокласта, обращенной к костной по-

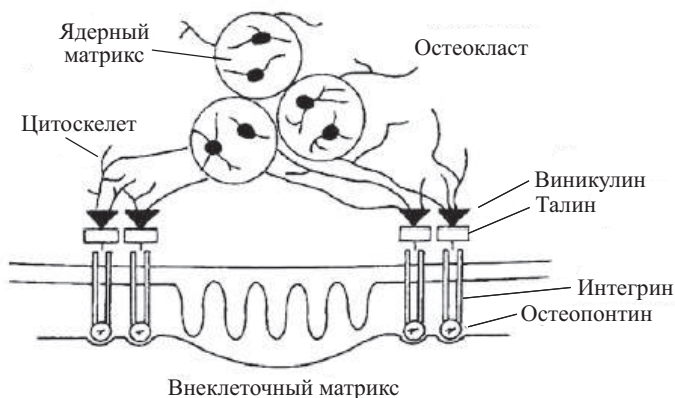


Рис. П2.13. Схема строения зоны контакта остеокласта с поверхностью кости

верхности. Этот насос подобен H^+ -АТФазе обкладочных клеток желудка, участвующих в образовании HCl. Ферменты лизосом, катализирующие гидролиз макромолекул матрикса, секретируются путем экзоцитоза. Продукты растворения гидроксиапатита поступают в клетку и активно удаляются в межклеточное пространство при участии Na^+ , K^+ - АТФазы и Ca^{2+} , Na^+ -АТФазы.

Результатом работы остеокласта становится так называемая лакуна Ховшипа. Спустя определенный период времени остеокласты погибают путем апоптоза и сформированная ими полость заполняется остеобластами, которые формируют межклеточный матрикс с последующей его минерализацией.

Процессы формирования и резорбции кости – сопряженные процессы. Процессы ремоделирования костной ткани обеспечиваются так называемой базовой многоклеточной единицей (БМЕ), состоящей из системы клеток остеобластов и остеокластов, тесно взаимодействующих между собой.

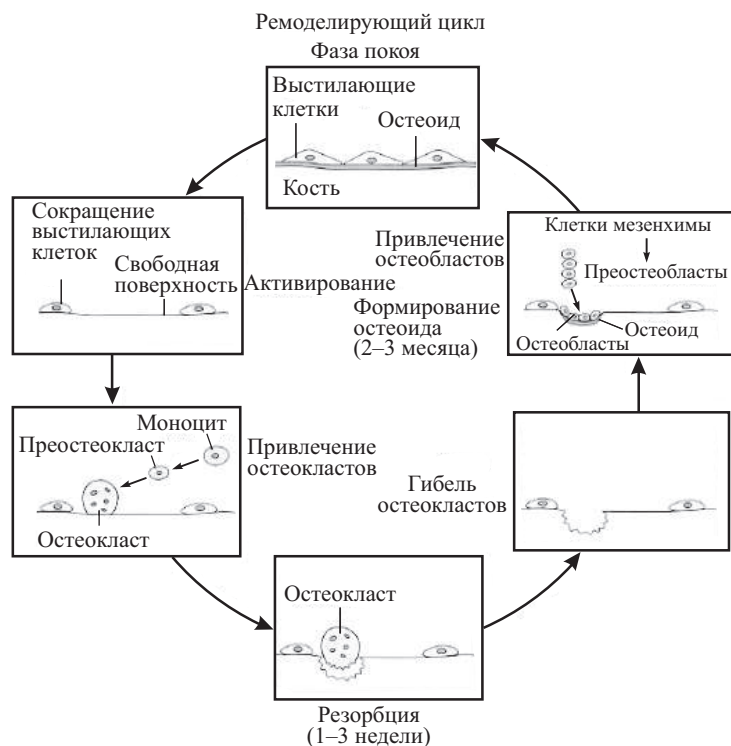


Рис. П2.14. Фазы цикла ремоделирования костной ткани

Время от времени в отдельных участках костной ткани под влиянием факторов регуляции формируется БМЕ. В каждый данный момент времени в костной системе человека функционирует $(2-3) \cdot 10^6$ таких БМЕ. Работа их протекает циклически (рис. П2.14). В определенном месте клетки, выстилающие его, сокращаются, обнажая небольшой участок кости, свободный от клеток. К этому участку присоединяются остеокласты, которые обеспечивают резорбцию части кости (процесс длится 1–3 недели). Затем они подвергаются апоптозу, и в образовавшуюся полость поступают остеобласты, которые секретируют молекулы органического матрикса. Вслед за этим матрикс подвергается минерализации.

Процесс формирования нового остеоида намного продолжительнее и занимает 2–3 месяца. Часть остеобластов превращается в остециты, а остальные становятся выстилающими клетками. Более подробное описание последовательности процессов ремоделирования приведено в табл. П2.2.

В регуляции сопряжения процессов резорбции костной ткани и ее формирования задействовано большое число участников (табл. П2.2). Плотность костной ткани – результирующая производная взаимодействия этих регуляторов (рис. П2.15).

Гетерогенность возникновения остеопороза может быть связана не только с различиями в образовании системных и местных регуляторов, но также и с изменениями структуры их рецепторов, участников механизмов внутриклеточной передачи сигналов, ядерных факторов транскрипции, и ферментов, которые участвуют в образовании или инактивировании локальных регуляторов. Со времени первых исследований, в ходе которых выяснялась роль полиморфизма гена рецептора витамина D в развитии остеопороза, стало известно более

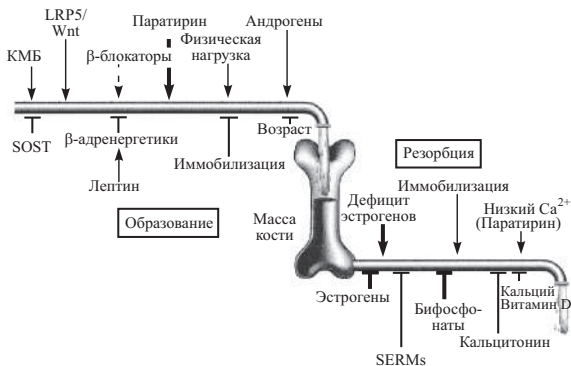


Рис. П2.15. Плотность костной ткани – результат взаимодействия регуляторов, действующих на разных участках ремоделирования:

SOST – ген, кодирующий белок склеростин; SERM (Selective Estrogen Receptor Modulator) – селективный модулятор эстрогеновых рецепторов

Таблица П2.2. Последовательность ремоделирования

Фаза	Факторы	Описание
1	2	3
Активирование	(+) ПТГ, ИФР, ИЛ-1, ИЛ-6, ПГЕ, ФНО, кальцитриол, NO, (–) эстроген	После микроповреждений кости, механического стресса, воздействия некоторых цитокинов или спонтанно активируется БМЕ. Выстилающие клетки при этом из плоских превращаются в кубовидные
Привлечение остеокластов	(+) RANKL, М-КСФ, (–) остеопротегерин (OPG), ГМ-КСФ	Выстилающие клетки, активированные ИЛ-1, ПТГ, кальцитриолом и т.д. (но не ИЛ-6), и предшественники остеобластов синтезируют RANKL, который экспонируется на их плазматической мембране. Рецептор этого лиганда RANK расположен на мембране преостеокластов. После взаимодействия RANKL-RANK активируются процессы слияния преостеокластов с образованием зрелых многоядерных остеокластов, которые образуют гофрированную кайму и резорбируют кость
Резорбция	(+) Интегрины, некоторые интерлейкины, ацидоз, витамин А, (–) эстроген, кальциферон, интерферон, ТФР, другие интерлейкины	Зрелые остеокласты резорбируют кость. Поскольку БМЕ создаются одновременно в разных местах, новые остеокласты непрерывно активируются и затем начинают резорбцию. В любом участке поверхности кости резорбция длится приблизительно две недели. Остеокласты затем подвергаются апоптозу, который замедляется в условиях дефицита эстрогенов
Привлечение остеобластов	(+) Wnt, КМБ, ИФР, ФРФ, ФРТ, КСФ, ПТГ, кальцитриол, Runx2, RANK-L, ТФР-β, (–) ? лептин	Остеобласты образуются из клеток стромы костного мозга, которые могут дифференцироваться или в адипоциты или в остеобласты; фактор транскрипции Runx2/Cbfa1 необходим для дифференцировки в остеобласты, при этом важную роль играют белки Wnt и КМБ
Образование остеоида	(+) ТФР-β, КМБ, ИФР (–) ФРФ, ТФР, глюкокортикоиды	Активные, секретирующие ОБ медленно заполняют полость резорбции, формируя слой остеоида. Они также секретируют факторы роста, остеопонтин, остеокальцин и другие белки

1	2	3
Минерализация	(+) Кальций, фосфаты, (-) пирофосфаты	Когда толщина остеоида достигает около 6 мкм начинается процесс минерализации его, который регулируется остеобластами
Организация кристаллов	Другие ионы	В течение многих месяцев после того, как полость была заполнена костью, кристаллы минеральной части матрикса упаковываются более плотно и плотность новой кости увеличивается.
Состояние покоя		Остеобласты превращаются в выстилающие клетки, которые участвуют в постоянном высвобождении кальция из костей. Некоторые из остеобластов становятся остеоцитами. Они остаются «замурованными» в кости, связываясь длинными отростками, которые могут служить сенсорами механических напряжений, действующих на кость.

Примечание. Условные обозначения: ПТГ – паратирин; ИФР-инсулиноподобный фактор роста; ИЛ-1, ИЛ-6 – интерлейкины; ПГЕ – простагландин Е; ФНО – фактор некроза опухолей; RANKL – лиганд RANK; М-КСФ – моноцитарный колониестимулирующий фактор; ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; КМБ – костный морфогенный белок; ФРФ – фактор роста фибробластов; ТФР – тромбоцитарный фактор роста; ТФР-β – трансформирующий фактор роста; (+) – стимулирует; (–) – угнетает.

30 генов, продукты экспрессии которых причастны к этому заболеванию. Таким образом, идентифицированы многие участники механизмов развития остеопороза (табл. П2.3). Более подробная информация о некоторых из них будет приведена ниже.

Таблица П2.3. Цитокины и факторы роста – регуляторы ремоделирования кости

Цитокин/фактор роста	Сокращение
Стимуляторы резорбции	
Интерлейкины-1, -6, -8, -11	ИЛ-1, -6, -8, -11
Факторы некроза опухолей	ФНОs
Эпидермальный фактор роста	ЭФР
Фактор роста тромбоцитов	ФРТ
Факторы роста фибробластов	ФРФ
Лейкоз-ингибирующий фактор	ЛИФ
Макрофагальный колониестимулирующий фактор	М-КСФ
Гранулоцитомакрофагальный колониестимулирующий фактор	ГМ-КСФ
Ингибиторы резорбции	
Интерферон- γ	ИФ- γ
Интерлейкин-4	ИЛ-4
Стимуляции формирования кости	
Инсулиноподобные факторы роста	ИФР
Трансформирующий фактор роста β	ТФР- β
Факторы роста фибробластов	ФРФ
Факторы роста тромбоцитов	ФРТ
Костные морфогенетические белки	КМБ

Предшественники остеокластов для своего активирования вступают в контакт с остеобластами. Предположение о том, что стимуляция резорбции костной ткани требует взаимодействия между клетками остеобластической и остеокластической линий, было выдвинуто много лет назад. Однако его молекулярный механизм был идентифицирован относительно недавно с открытием новых членов семейства фактора некроза опухоли, его лигандов и рецепторов, которые играют ключевую роль в формировании, дифференцировке и проявлении активности остеокластов и могут выступать молекулярными посредниками многих регуляторов.

Молекулярная основа межклеточного взаимодействия может быть представлена, как показано на рис. П2.16 (табл. П2.4). RANKL

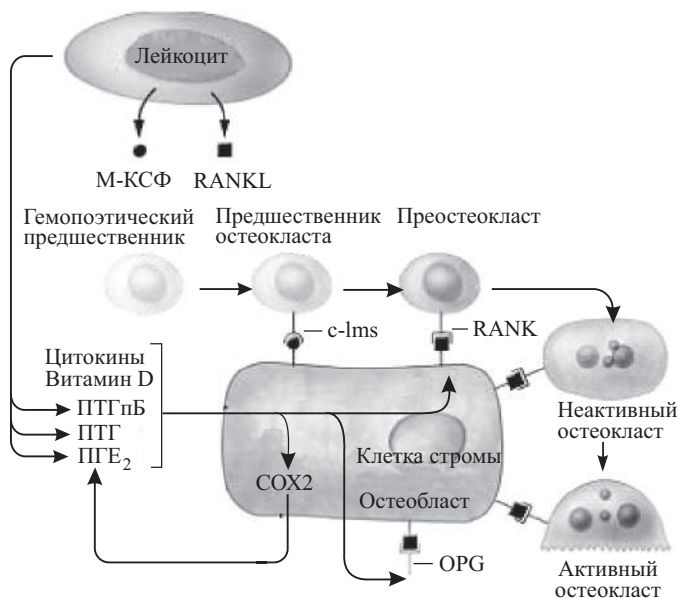


Рис. П2.16. Регуляция образования остеокласта и его активности

(receptor activation of NF-kappa B ligand) – трансмембранный лиганд, экспрессируемый на поверхности остеобластов, связывается с RANK-рецептором, экспрессированным на гемопоэтических клетках – предшественниках остеокластов, и индуцирует процесс дифференцировки и созревания остеокластов. RANKL абсолютно необходим для развития остеокластов. При нарушении экспрессии RANKL возникает дефект в ранней дифференцировке Т и В лимфоцитов, что свидетельствует о взаимодействии процессов, протекающих в костной ткани и иммунной системе.

Таблица П2.4. Влияние некоторых биологически активных веществ на экспрессию RANK и OPG

	Стимулирует	Ингибирует
RANKL	Дексаметазон $1\alpha,25-(\text{OH})_2 \text{D}_3$ ПТГ ПГЕ ₂	17β -эстрадиол
OPG	17β -эстрадиол	Гидрокортизон $1\alpha,25-(\text{OH})_2 \text{D}_3$ ПТГ ПГЕ ₂

Остеопротегерин (OPG) также секретируется остеобластами. Он является мощным ингибитором костной резорбции. OPG действует как «мнимый» лиганд, «приманка» для рецептора, блокирует взаимодействие RANKL с RANK и таким образом ингибирует формирование зрелых остеокластов, нарушая процесс остеокластогенеза и резорбцию костной ткани. Баланс между RANKL и OPG фактически определяет интенсивность резорбции кости. Отсутствие гена OPG у мышей приводило к развитию раннего ОП, переломам позвонков у взрослых особей. Мыши погибали от костных аномалий, кальцификации аорты и почечных артерий. По-видимому, OPG может предотвращать и кальцификацию крупных артерий. Наоборот, суперэкспрессия OPG вызывает петрификацию.

Недавно показано, что введение моноклональных антител против RANKL вызывало длительное ингибирование резорбции кости у женщин, страдающих остеопорозом.

Введение овариоэктомированным крысам остеопротегерина полностью предотвращало потерю костной ткани. На модели адьювантного артрита у крыс введение OPG в начале болезни блокировало RANKL и предотвращало потерю кости и хряща, но не влияло на воспалительный процесс в суставе. Были получены данные, что Т-клетки принимают участие в регуляции костного метаболизма. После экспериментальной индукции интерлейкина-17 (ИЛ-17) наблюдалось повышение в остеобластах экспрессии RANKL и циклоксигеназы-2 (COX-2), синтезирующей простагландин E2.

Количество RANKL увеличивается на поверхности клеток костного мозга в начале развития остеопороза у женщин с дефицитом эстрогенов в период постменопаузы. Уровень OPG увеличивается с возрастом. Это явление рассматривают как гомеостатическую реакцию, направленную на снижение потерь костной ткани, в ответ на увеличение других резорбирующих кость факторов. Мутации гена OPG связаны с типичными для остеопороза переломами и изменением массы костной ткани. Отмечена также их взаимосвязь с поражением коронарных артерий. Недавно стало известно, что RANKL/RANK/OPG система связана и с процессами обызвествления сосудов.

Таким образом, взаимодействие RANKL/RANK является ключевым и для дифференцировки, и для поддержания активности остеокластов. По сути дела, им заканчивается действие любого патогенетического фактора, увеличивающего резорбцию костной ткани. Предполагается, что клетки стромально-osteобластического происхождения продуцируют RANKL для регуляции физиологического ремоделирования кости. В патологических состояниях источником RANKL могут стать также другие клетки. Например, образование его Т-лимфоцитами может играть определенную роль и в остеопорозе, и при потере костной массы в результате воспаления. Ниже приводятся примеры влияния на образование RANKL и OPG некоторых биологически активных соединений.

В условиях физиологического ремоделирования активация резорбции кости требует контакта между клетками остеокластической и остеобластической линий. М-КСФ, который может быть или мембраносвязанным или секретируемым, взаимодействует со своим рецептором, *c-fms*, стимулируя дифференцировку и пролиферацию гемопоэтических клеток-предшественников, которые, превращаясь в преостеокласты, экспрессируют RANK. Дифференцировка остеокласта и его активность стимулируются взаимодействием RANK/RANKL, и это взаимодействие может быть заблокировано OPG. Факторы, стимулирующие резорбцию костной ткани, могут также активировать COX-2. Этот фермент в свою очередь за счет синтеза простагландинов, усиливает влияние на RANKL и OPG. В патологических состояниях воспалительные и злокачественные клетки могут стимулировать остеокластогенез, синтезируя растворимый или мембраносвязанный М-КСФ и RANKL, ПТГ-подобный белок (ПТГпБ), цитокины и простагландины.

Недавно была открыта еще одна система влияния на взаимодействие между остеобластами и остеокластами. Она включает мембранный адаптер DNAX-активирующего белка 12 и Fc- γ -рецептор (рецептор, связывающийся с Fc-участком иммуноглобулинов, содержащих тяжелую цепь γ). Нарушение экспрессии этих молекул приводит к тяжелому остеопорозу у мышей. Молекулы включаются в передачу сигналов через ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif). Взаимосвязь между RANKL и сигнальным путем с участием ITAM может быть важна для остеокластов, для которых ядерный фактор активированных Т-лимфоцитов (NF AT) является ведущим фактором транскрипции.

Дифференцировка остеобластов мало зависит от взаимодействия с остеокластами.

За последнее время достигнуты значительные успехи в исследовании ключевых сигнальных путей и факторов транскрипции, обеспечивающих механизмы дифференцировки и функций остеобластов. Они открыли новые подходы к пониманию патогенеза остеопороза (рис. П2.17).

Особый интерес в этом плане представляет путь внутриклеточной передачи сигналов, инициируемый белком Wnt (см. рис. П2.15). Он играет ведущую роль в механизмах развития эмбриона, органогенезе, развитии мозга и т.д. В самом общем виде этот путь включает рецептор Frz (от англ. *frizzled* – завитой) для Wnt, напоминающий завитки 7TMC рецептора, корецептор LRP5 (low density lipoprotein receptor-related protein 5) и белок – β -катенин, способный проникать в ядро клетки и стимулировать ряд факторов транскрипции.

Взаимодействию Wnt со своим рецептором могут «мешать» ряд специфических белков, связывающихся или с рецептором, или с его корецептором. К ним относятся белки DKK (англ. – *Dickkopf*, ингибитор LRP5) и SFRP (англ. – *secreted frizzled-related protein*). В этом

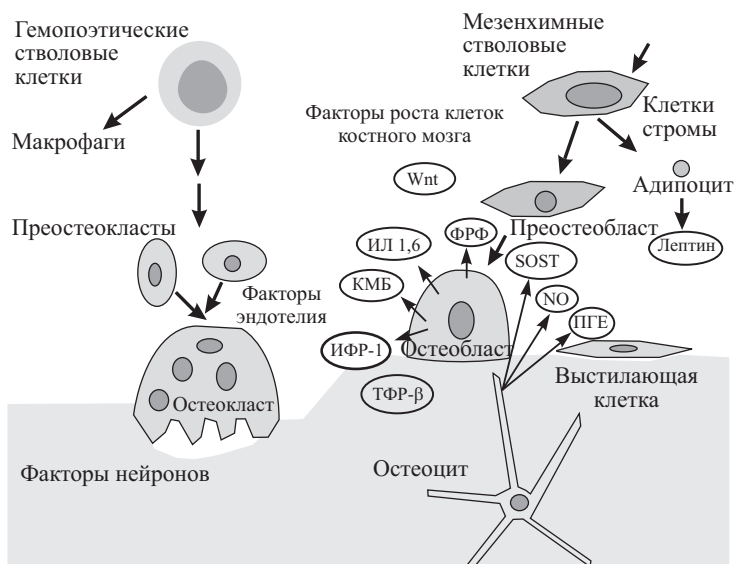


Рис. П2.17. Роль остеобластов в механизмах регуляции остеогенеза

случае β -катенин после фосфорилирования захватывается протеасомой и разрушается. В случае включения передачи сигнала β -катенин не разрушается, а поступает в ядро и активирует синтез ряда белков, среди которых можно назвать КМБ2, активирующий дифференцировку клеток остеобластической линии. Мутация LRP5, которая вызывает его конститутивную активацию, приводит к увеличению плотности кости. Носители фенотипа, обладающего повышенной экспрессией LRP5, значительно различаются между собой, хотя у всех отсутствует склонность к переломам и многие имеют нормальное строение скелета, однако в ряде случаев отмечены нарушения, проявляющиеся в форме увеличения размеров костей. С другой стороны, отсутствие экспрессии LRP5 приводит к тяжелому остеопорозу, который сопровождается патологическим развитием глаз. У нескольких больных с идиопатическим ювенильным остеопорозом были обнаружены мутации гена, кодирующего LRP5.

Дифференцировка остеобластов зависит от активности Wnt и КМБ путей. Обязательным компонентом передачи сигналов Wnt является взаимодействие LRP5 с рецептором Frz, которому препятствуют белок DKK и белок SFRP. Антагонисты типа склеростина могут блокировать передачу сигналов и по Wnt, и по КМБ сигнальным путям. Медиатор основного сигнального пути с участием Wnt, β -катенин, может действовать совместно с BMP2, способствуя дифференцировке остеобласта и формированию костной ткани. Это под-

тверждается наблюдениями, что высокая масса кости может быть результатом мутаций, активирующих пути с участием Wnt, и делеций гена, кодирующего склеростин.

Эксперименты на животных и исследования *in vitro* указывают, что Wnt сигнальный путь является ключевым для дифференцировки остеобластов и их функций, особенно в реакции остеобластов на действие механической нагрузки на кость. В то же время этот путь оказывает существенное влияние на формирование пиковой массы костной ткани. Ингибирующее влияние глюкокортикоидов на скелетный рост может быть опосредовано их влиянием на передачу сигналов по Wnt пути.

Точные механизмы, которыми передача сигналов по Wnt пути изменяет функцию остеобласта, не изучены до конца. Существует ряд доказательств, что путь с участием β -катенина включает взаимодействие с костными морфогенными белками 2 (КМБ2) (рис. П2.18). Известны ингибиторы, которые взаимодействуют и с BMP2, и с Wnt сигнальными путями. Один из них, склеростин, – продукт гена SOST. Инактивирующие мутации этого гена вызывают склеростеоз (болезнь Ван Букема), который проявляется высокими значениями костной массы. Другим потенциальным ингибитором является белок SFRP, синтезируемый остеобластами.

На рис. П2.19 представлен предполагаемый механизм остеоиндукции при участии КМБ.

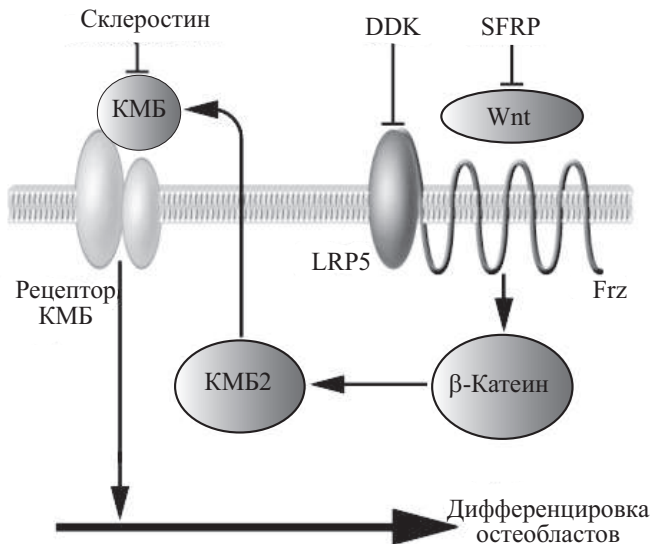


Рис. П2.18. Взаимодействие путей регуляции Wnt, КМБ и склеростина

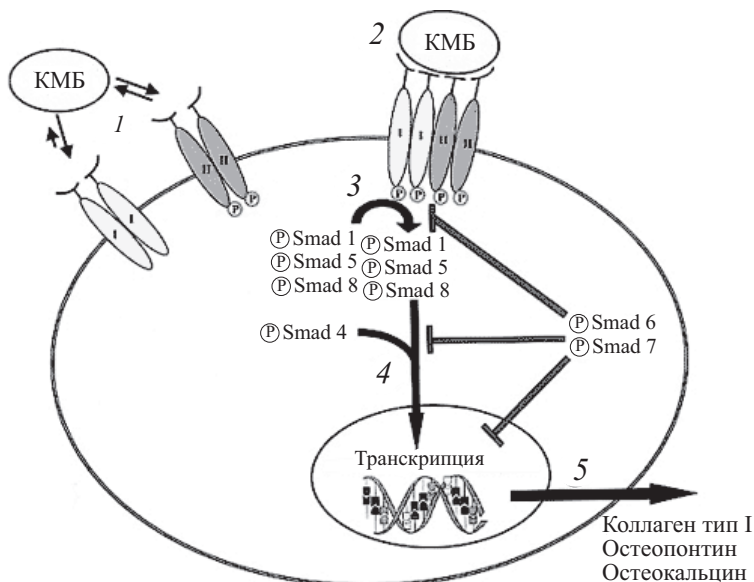


Рис. П2.19. Схематическое изображение механизма остеиндукции при участии КМБ в мезенхимальной стволовой клетке костного мозга:

1 – гомодимеры типа I и типа II рецепторов КМБ существуют независимо в мембране клетки. Тип I рецептора имеет большее сродство к КМБ, чем тип II. Последний обычно находится в фосфорилированной форме. Оба типа рецепторов – серин-треониновые протекиназы; 2 – оптимальная активация наблюдается при образовании комплекса рецепторов КМБ, включающего оба типа рецепторов. После присоединения КМБ к комплексу тип II рецептора фосфорилирует рецептор типа I; 3 – фосфорилированный рецептор типа I вызывает фосфорилирование внутриклеточных посредников (Smad) и тем самым превращение их в активные формы. В зависимости от типа КМБ и специфичности типа I рецептора активируются различные субстраты рецептора, белки Smad. Остеоиндукцию обеспечивают прежде всего Smad 1, 5, и 8; 4 – активированные белки Smad проходят через ядерную мембрану после ассоциации с активированным Smad 4, ключевым кофактором этого пути; 5 – в пределах ядра белки Smad вызывают экспрессию специфических генов. Различные гены транскрибируются в зависимости от типа активированного белка Smad. В мезенхимных клетках костного мозга КМБ-2 вызывает экспрессию коллагена типа I, остеопонтина и остеокальцина. Хотя весь процесс обратной связи изучен недостаточно, известно об ингибирующих белках Smad, которые также активируются фосфорилированием. Smad 6 и Smad 7 конкурентно ингибируют фосфорилирование рецепторных субстратов Smad. Они также конкурируют со Smad 4, что ведет к торможению транскрипции, вызванной Smad

Изменение синтеза и активности локальных факторов влияет на остеогенез. Дисбаланс между резорбцией и формированием костной ткани за счет ослабления последнего является существенным компонентом патогенеза остеопороза. Частично это может быть связано с возрастными изменениями способности остеобластов к ре-

пликации и дифференцировке. Однако наиболее вероятной причиной являются специфические дефекты в синтезе или активности локальных факторов роста, регулирующих функцию остеобластов. Хорошо известна связь полиморфизма генов, кодирующих КМБ, с низкими значениями костной массы и ростом вероятности переломов. Подобная корреляция обнаружена и в случаях полиморфизмов генов, кодирующих ИФР-1 и ТФР- β . Ингибирование продукции ИФР-1 имеет важное значение в происхождении остеопороза, вызванного глюкокортикоидами, так же как и в задержке роста в детском возрасте.

Свою долю в регуляцию плотности костной ткани вносят и изменения образования и распада цитокинов, простагландинов, NO и лейкотриенов. О том, что цитокины (ИЛ-1) и простагландины (ПГ E₂) могут влиять на состояние костной ткани, известно уже свыше 30 лет. За последующие годы открыто много различных цитокинов, способных влиять на резорбцию кости и ее формирование. Среди простагландинов особое место занимает ПГ E₂, который образуется остеобластами при участии индуцируемой циклооксигеназы 2 (COX-2). COX-2 индуцируется большинством факторов, стимулирующих резорбцию костной ткани. Ингибиторы COX находят применение в медицинской практике для улучшения реакции костной ткани на механическую нагрузку.

В остеобластах также синтезируется NO, который является кофактором для анаболической реакции на механическую нагрузку. В отличие от простагландинов NO ингибирует резорбцию кости, стимулируя образование OPG, что может способствовать увеличению плотности костной ткани. К такому выводу пришли в результате наблюдения за больными людьми, у которых применяли изосорбид мононитрат и другие активаторы образования NO.

Лейкотриены, которые образуются под влиянием липооксигеназы, стимулируют резорбцию и ингибируют формирование костной ткани. Недавно было показано, что арахидонат 15 липооксигеназа (Alox15) действует как негативный регулятор плотности кости у мышей, а полиморфизм гена ALOX15 человека связан с различиями в пиковой массе костной ткани у женщин в климактерическом периоде.

Существует также ряд доказательств, что полиморфизм генов ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α и их рецепторов может оказывать влияние на массу кости у людей.

Нарушение образования эстрогенов – важнейшая причина остеопороза. Первоначальное представление о том, что дефицит эстрогенов является ключевым в патогенезе остеопороза, основывалось на простом наблюдении того обстоятельства, что у женщин в климактерическом периоде, когда уровень эстрогенов снижен, была самая высокая вероятность развития переломов костей. Морфологические исследования и измерение уровня некоторых биохимических маркеров указывали на то, что в период менопаузы значи-

тельно усиливаются процессы ремоделирования в костной ткани. Эти данные дали основание утверждать, что ведущим началом потери костной ткани при развитии дефицита эстрогенов является увеличение резорбции кости, а не ослабление остеогенеза. Однако быстрая и непрерывная потеря костной массы, которая наблюдается в течение нескольких лет после менопаузы, заставила предположить, что при дефиците эстрогенов страдает и формирование костной ткани. В пользу этого говорили факты ослабленной реакции образования костной ткани в ответ на механическую нагрузку.

Дефицит эстрогенов продолжает играть важную роль в потере костной массы и у женщин старшего возраста (70–80 лет), поскольку назначение им этих гормонов быстро уменьшало распад костной ткани. Недавно установлено, что уровень эстрогенов, необходимых для поддержания относительно нормального ремоделирования костной ткани у женщин в климактерический период, значительно ниже, чем необходимо для стимуляции классических тканей-мишеней (молочная железа, матка). Вероятность переломов у них обратно пропорциональна уровню эстрогенов. Для того чтобы уменьшить резорбцию и увеличить массу костной ткани, достаточно одной четвертой от той дозы эстрогенов, которая оказывает стимулирующий эффект на молочную железу и матку. Изменение чувствительности к эстрогенам может быть результатом возрастных изменений. В эксперименте было показано, что у трехмесячных мышей матка была более чувствительной к эстрогенам, чем кость, тогда как у шестимесячных мышей наблюдалось обратное явление.

Эстрогены являются важными регуляторами эпифизарного закрытия кости по достижении половой зрелости. Они регулируют обмен костной ткани как у мужчин, так и у женщин. Фактически эстрогены оказывают более выраженный эффект по сравнению с андрогенами на торможение резорбции кости у мужчин, хотя андрогены также участвуют в регуляции этого процесса. Эстрогенам отводится важная роль в достижении пиковой массы кости у мужчин. Кроме того, развитие остеопороза у пожилых мужчин более тесно связано с низким уровнем эстрогенов, чем со снижением уровня андрогенов.

Показано ремоделирование на поверхности трабекулярной кости. Такой же процесс протекает и в гаверсовых системах корковой кости. Активация остеокласта обычно инициируется взаимодействием гемопоэтических предшественников с клетками остеобластической линии, но может также быть инициирована воспалительными клетками, особенно Т-лимфоцитами. После образования остеокластов наступает фаза резорбции ограниченной продолжительности и короткая фаза реверсирования, в течение которой поверхность кости покрывается моноклеарными клетками, но формирование костной ткани еще не начинается. Затем инициируется фаза формирования, возможно при участии факторов, образуемых остеокластами или

клетками реверсивной фазы или высвобождаемыми из костного матрикса. Фаза формирования, которая является наиболее продолжительной, включает продукцию матрикса остеобластами, которые затем превращаются в выстилающие плоские клетки, погружаются в кость как остециты или подвергаются апоптозу. Потенциальные места действия эстрогенов включают воздействие на продукцию цитокинов Т-лимфоцитами (I); влияние на стромальные или остеобластические клетки, изменяющие образование RANKL или OPG (II); прямое ингибирование дифференцированных остеокластов (III); воздействие на формирование костной ткани, опосредованное остеобластами или остеоцитами, усиление реакции этих клеток на механические силы, действующие на кость (IV). Следует заметить, что БМЕ расположены в компартментах, разделенных слоем клеток. Предполагается, что это выстилающие клетки, хотя могут быть и клетки сосудистого происхождения.

Лиганд 17 β -эстрадиол транспортируется к ядру, где образует комплекс с рецептором эстрогена (ER). Комплекс димеризуется и меняет свою конформацию, что ведет к формированию транскрипционно активного комплекса. Тот связывается с респонсивными элементами генов, чувствительными к эстрогенам. В дополнение к классическим респонсивным элементам эстрогенов ERE и AP-1 другие факторы транскрипции типа NF κ B и Sp1 также могут взаимодействовать с ER и модулировать транскрипцию генов.

Дефицит эстрогенов увеличивает, а лечение эстрогенами уменьшает скорость ремоделирования кости, так же как количество теряемой кости при каждом цикле ремоделирования. Исследование на моделях животных и в клеточной культуре предполагает, что эстрогены действуют на многие процессы не только в клетках БМЕ, но и в других клетках костного мозга. Известны два рецептора эстрогенов: рецептор эстрогена α (ER α) и рецептор эстрогена β (ER β). ER α , по видимому, – первичный медиатор действий эстрогенов на скелет. В остеобластах идет экспрессия обоих типов рецепторов, но действие агонистов ER β на кость менее понятно. Согласно одним исследователям, действие эстрогенов через ER α и ER β противоположно. Другие предполагают, что активация обоих рецепторов оказывает одинаковые эффекты на кость. Однонуклеотидный полиморфизм ER α может оказывать влияние на прочность кости, значительно сокращая риск перелома, независимо от минеральной плотности кости (рис. П2.20, П2.21).

В остеоцитах имеется еще один ядерный рецептор (orphan receptor ERR α), гомологичный по аминокислотной последовательности главным рецепторам ER α и ER β . Несмотря на то что он не способен связывать эстрогены, он взаимодействует с ER α и ER β или действует непосредственно на функции остеоцитов. Измененный вариант гена, кодирующего этот рецептор, был недавно обнаружен у женщин в предклимактерическом возрасте, у которых имелись зна-

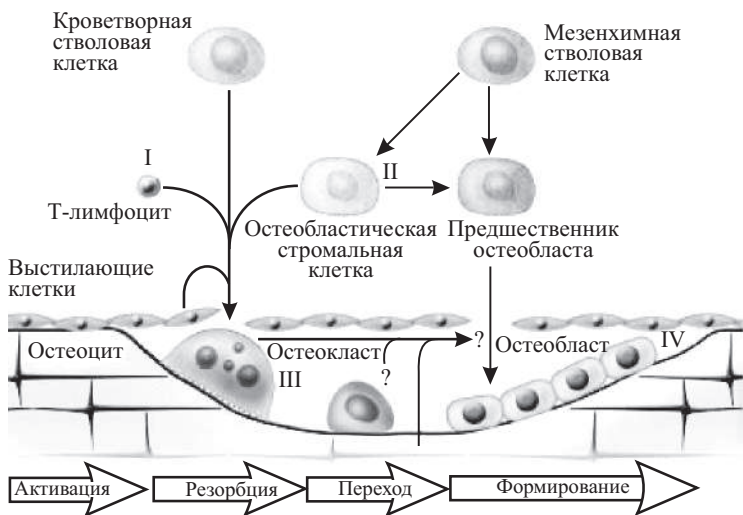


Рис. П2.20. Предполагаемые места действия эстрогенов на процессы ремоделирования костной ткани

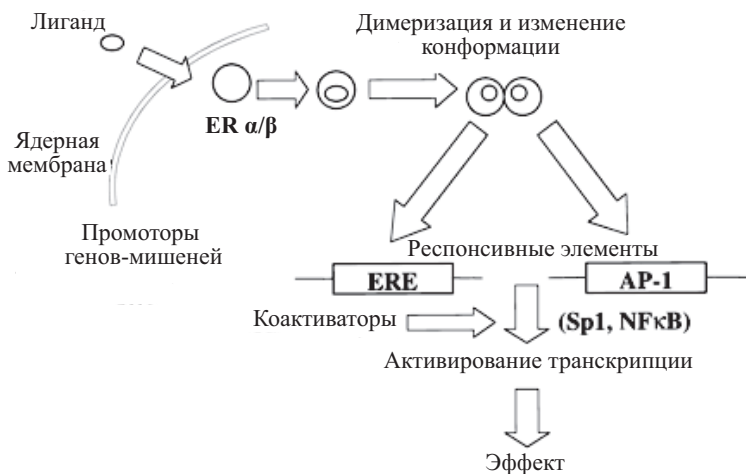


Рис. П2.21. Механизм действия эстрогенов.

чительные различия в минеральной плотности между поясничными позвонками и шейкой бедра.

Глобулин плазмы крови, связывающий половые гормоны (SHBG), главный белок плазмы, транспортирующий половые стероиды, может не только изменить доступность эстрогенов для тканей, чувствительных к гормону, но также и воздействовать на его поступление в клетки. Образование эстрадиола клетками костной ткани при участии ароматазы может также играть дополнительную роль.

Хотя эстрогены действуют на клетки остеобластического ряда, их эффекты на кость могут также зависеть от действия на клетки гемопозитической линии (предшественники остеокластов, зрелые остеокласты и лимфоциты). Опосредуют эти эффекты локально образуемые цитокины и другие факторы. Так, резорбция кости после экспериментальной овариэктомии может быть предотвращена путем ингибирования ИЛ-1 или ФНО- α и не обнаруживается у животных с дефицитом рецепторов ИЛ-1 или ФНО- α . Эффекты эстрогенов на продукцию цитокинов могут быть опосредованы Т-лимфоцитами. Прямой эффект эстрогенов на ускорение апоптоза остеокластов связывают с повышенным образованием TGF- β . Другой механизм влияния эстрогенов – подавление АФК. При дефиците эстрогенов снижается антиоксидантная защита, а возникающее при этом увеличение АФК может индуцировать образование ФНО- α . Правда, возможность таких изменений при остеопорозе у человека еще требует доказательств.

Кальций, витамин D и паратгормон. Концепция о том, что остеопороз – прежде всего результат дефицита кальция, особенно в пожилом возрасте, была первоначально выдвинута в противовес теории дефицита эстрогенов. Снижение кальция в пище, ослабление всасывания кальция в кишечнике вследствие старения или болезни, так же как и дефицит витамина D, могут привести к вторичному гиперпаратиреозу (рис. П2.22).

Активная гормональная форма витамина D – 1,25-дигидроксикальциферол (кальцитриол) не только необходима для оптимального всасывания кальция и фосфора в кишечнике, но также оказывает ингибирующее действие на синтез паратгормона (ПТГ). Дефицит витамина D и вторичный гиперпаратиреоз могут внести вклад не только в ускоренную потерю костной ткани и повышение хрупкости костей, но также вызвать нервно-мышечную недостаточность, которая в свою очередь может увеличить частоту падений таких людей, что способствует возникновению переломов. Клинические испытания, проведенные на пожилых людях с дефицитом кальция и витамина D, показали, что добавки их к пище полностью избавляли людей от вторичного гиперпаратиреоза, снижали резорбцию кости, увеличивали массу кости, уменьшали риск переломов и даже уменьшали частоту падений. Правда, в ходе других, довольно больших клинических обследований добавки кальция и витамина D не принесли

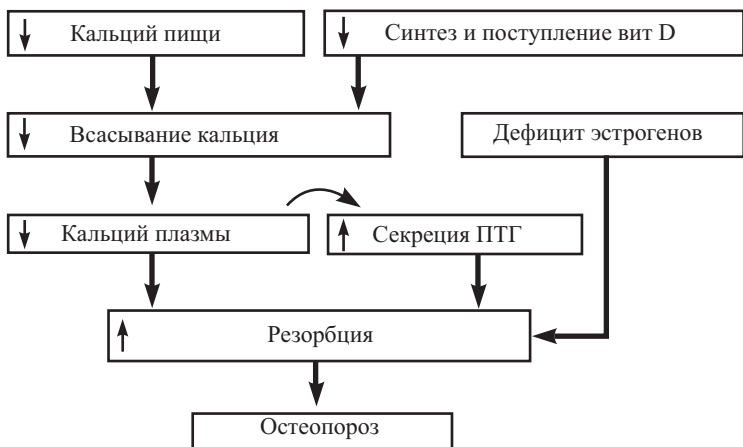


Рис. П2.22. Схематическое изображения путей, ведущих к развитию старческого ОП

столь выразительных результатов, возможно, из-за изначально хорошего обеспечения витамином D обследуемых людей.

Вторичный гиперпаратиреоз развивается в условиях, когда есть относительная недостаточность витамина D, при которой уровень циркулирующей формы витамина D, 25-гидроксиколекальциферола, падает ниже 30 нг/мл. Этот уровень может служить своеобразным критерием для дополнительного назначения витамина D. Сезонное уменьшение уровня витамина D и увеличение уровня ПТГ зимой связано с увеличением числа переломов независимо от увеличения частоты падений. Кроме того, увеличенный уровень ПТГ сопутствует повышенной летальности ослабленных пожилых людей независимо от массы кости и содержания витамина D. Точные механизмы, лежащие в основе этой зависимости, еще не определены, но при повышении уровня ПТГ смертность от сердечно-сосудистых нарушений значительно увеличивается. Полиморфизм генов, кодирующих кальцийчувствительные рецепторы (оказывают влияние на трансляцию и секрецию ПТГ), не был ассоциирован с какими-либо фенотипическими проявлениями изменения кости.

К ставшим уже классическими системным гормонам, участвующим в регуляции обмена кальция, в последнее время добавляются новые гормоны. Один из них – лептин – гормон, секретируемый адипоцитами. Показано, что дефицит лептина или резистентность к нему у мышей сопровождаются высокими значениями костной массы даже в случае снижения функции половых желез. Это связывают с центральным действием лептина на адренергическую передачу сигналов. Повышение активности β -адренергических нейронов

может способствовать снижению массы костной ткани, в то время как β -адренергические блокаторы уменьшают вероятность переломов и способствуют увеличению массы костной ткани. Недавно обнаружен и другой невральный механизм регуляции костной массы. Показано, что у мышей, у которых ингибирован канабиоидный рецептор типа I, не обнаруживается потери костной массы после овариэктомии.

В 1997 г. был открыт ген, дефекты которого приводили у мышей к появлению признаков старения, в том числе снижения плотности костной ткани. Введение продукта этого гена другим мышам вызывало повышение продолжительности жизни. Ген получил название «клото» – в честь греческой богини, которая прядет нить человеческой жизни. Продукт, кодируемый этим геном, представляет фермент из семейства α -гликозидаз, связанный с мембранами, но он может находиться и в свободной форме. Свободный белок клото служит корецептором для ФРФ23 (фактор роста фибробластов 23). ФРФ23 является одним из представителей большого семейства ФРФ, кодируемых 22 разными генами. ФРФ23 экспрессируется в мозге клетками вентролатерального таламического ядра. Известны четыре типа рецепторов для ФРФ, которые относятся к группе 1TMS рецепторов. Связывание клото с ФРФ23 значительно увеличивает его активность. Показано, что ФРФ23 регулирует синтез белков, участвующих в механизмах минерализации.

Биохимические показатели помогают оценить отдельные фазы цикла ремоделирования кости. Сразу следует сказать о довольно низкой информативности биохимических показателей в диагностике остеопороза. Чаще с этой целью используют инструментальные методы исследования (двухлучевая рентгеновская денситометрия, разные виды компьютерной томографии и т.д.). Биохимические показатели указывают на уровень активности фаз ремоделирования костной ткани. Поэтому многие из них достаточно информативны для характеристики глубины, тяжести заболевания, оценки влияния проводимого лечения на состояние костной ткани.

Долгое время основным биохимическим показателем резорбции костной ткани было содержание гидроксипролина в моче. Однако низкая специфичность этого метода в связи с тем, что гидроксипролин – аминокислота всех типов коллагена, необходимость соблюдения безколлагеновой диеты, методические трудности метода определения обусловили поиск более специфичных маркеров.

Более высокой специфичностью обладают пиридиновые связи коллагена. Выше приводились данные об их происхождении. Пиридиновые связи присутствуют только во внеклеточных коллагеновых фибриллах и характерны для дифференцированного матрикса таких типов соединительной ткани, как кости, хрящ, дентин. Они не обнаруживаются в коллагене кожи, мягких тканей, чем выгодно отличаются от гидроксипролина. Во время резорбции под влиянием катепсиназов образуются пептиды (NTX-N-концевые и CTX-C-концевые),

содержащие эти поперечные сшивки (60% от суммы всех сшивок), и свободные молекулы (40% от всех сшивок) пиридинолина (PYD) и дезоксипиридинолина (DPD), которые можно рассматривать как своеобразные аминокислоты, образующиеся путем конденсации во время формирования поперечных сшивок. Пептиды, PYD и DPD, выделяются почками. Костная ткань является основным источником этих соединений для биологических жидкостей организма. Этот тип связи представлен также в хрящевой ткани, сухожилиях, однако более активный метаболизм костной ткани по сравнению с другими типами соединительной ткани позволяет считать, что определяемые в моче пептиды и аминокислоты связаны с распадом коллагена в костях. Соотношение PYD : DPD в коллагене 4 : 1. Это соотношение сохраняется в моче взрослых, где на долю DPD приходится 20–22% от общего уровня экскреции пиридиновых связей коллагена. Оно меняется в сторону увеличения относительного содержания PYD лишь при заболеваниях суставов различного генеза, на чем основана их дифференциальная диагностика. Метод определения суммарного содержания поперечных сшивок довольно трудоемок, что ограничивает его использование в широкой клинической практике.

Определение свободного DPD на основе иммуноферментного анализа характеризуется высокой стабильностью, воспроизводимостью и хорошо коррелирует с методом суммарного определения всех сшивок. В последнее время стало возможным определение DPD хемилюминесцентным анализом в автоматическом режиме. Стабильность пиридиновых связей коллагена, экскретируемых с мочой, значительно упрощает использование этих показателей в рутинной практике.

В остеокластах образуется специфическая тартрат-резистентная кислая фосфатаза, активность которой также может быть дополнительным критерием оценки состояния фазы резорбции кости (табл. П2.5).

Таблица П2.5. Биохимические показатели фазы резорбции костной ткани

Сокращение	Название	Источник
NTX	N-концевые телопептиды коллагена с поперечными сшивками	Коллаген
CTX	C-концевые телопептиды коллагена с поперечными сшивками	Коллаген
PYD	Пиридинолин	Коллаген
DPD	Лизил-пиридинолин (дезоксипиридинолин)	Коллаген
ТРКФ	Тартрат-резистентная кислая фосфатаза	Секретируется остеокластами
ОНпро	Гидроксипролин (не очень специфичен)	Коллаген

Для характеристики состояния фазы формирования костной ткани используется определение количества телопептидов, удаляемых при секреции коллагена, активность щелочных фосфатаз (специфической костной и общей) и белка остеокальцина (табл. П2.6).

Таблица П2.6. Биохимические показатели фазы формирования

Сокращение	Название	Источник
КЩФ	Специфическая костная щелочная фосфатаза	Секретируется остеобластами
PICP	С пропептид проколлагена типа I	Коллаген
PINP	N пропептид проколлагена типа I	Коллаген
ОК	Остеокальцин (костный gla-белок)	Секретируется остеобластами
ЩФ	Щелочная фосфатаза (не очень специфичен)	Секретируется остеобластами

Остеокальцин – основной неколлагеновый белок костного матрикса, состоящий из 49 аминокислотных остатков, который синтезируется почти исключительно остеобластами и затем участвует в процессах минерализации. Его концентрация в сыворотке крови существенно увеличивается при некоторых заболеваниях, в частности при болезни Педжета, гиперпаратиреозе. Белок нестабилен, он подвергается сравнительно быстро деградации. Синтез остеокальцина зависит от витаминов К и D, что снижает чувствительность и специфичность определения остеокальцина как маркера метаболизма костной ткани и ограничивает его использование в клинической практике.

Исследование костной щелочной фосфатазы (КЩФ) наряду с общей активностью щелочной фосфатазы (ЩФ) существенно повышает информативность при дифференциальной диагностике заболеваний скелета и печени. КЩФ ассоциируется с активностью остеобластов. Разработка различных методических принципов определения активности костной ЩФ способствует ее внедрению в клиническую практику в целях диагностики и мониторинга заболеваний скелета различного характера у взрослых и детей.

Из приведенных примеров маркеров формирования костной ткани наибольшей специфичностью обладают определение уровня остеокальцина и активности КЩФ.

Понимание механизмов патогенеза остеопороза – основа эффективности лечения. SERMS (Selective Estrogen Receptor Modulators) – соединения, способные взаимодействовать с рецепторами для эстрогенов, оказывая различный эффект на разные ткани. Некоторые

из них могут быть конкурентными ингибиторами действия эстрогенов. Для лечения используют те из них, которые действуют подобно эстрогенам, стабилизируя массу костной ткани, но не обладают нежелательными эффектами (рак грудной железы, стимуляция эндометрия). Применение препаратов эстрогенов нежелательно из-за побочных эффектов, хотя, как указывалось выше, дозы эстрогенов оказывающих действие на кость, значительно ниже, чем дозы, вызывающие другие эффекты.

Бифосфонаты обладают очень мощным эффектом на костную ткань (рис. П2.23). Эти соединения резко снижают вероятность переломов у больных, у которых она высока, и улучшают качество жизни. Широкая реклама способствовала применению этих лекарственных средств у людей, которые на самом деле в них не нуждаются. При всем благоприятном влиянии на течение остеопороза бифосфонаты обладают многими побочными эффектами. Мало известно и о возможности их продолжительного использования.

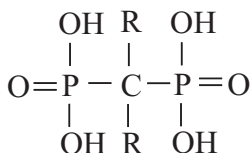


Рис. П2.23. Бифосфонаты

Кальцитонин – естественный гормон, секретируемый клетками щитовидной железы, также нашел применение в лечении остеопороза. Он применяется интраназально, поскольку в кишечнике разрушается. Он оказывает прямое влияние на остеокласты, вызывая их апоптоз и снижение резорбтивной активности.

Другие препараты, приведенные в табл. П2.7, также показали свою эффективность в экспериментальных условиях.

Таблица П2.7. Примеры препаратов, используемых для лечения остеопороза

Класс соединений	Механизм действия
1	2
Амино-бифосфонаты	Мевалонатный путь, апоптоз
Эстрогены/SERMs	ER-агонисты
RANKL-антагонисты	Блокада взаимодействия RANK – RANKL
Sgc-ингибиторы	Блокада активирования остеокластов

1	2
Ингибиторы интегрин	Блокада адгезии остеокластов
Ингибиторы катепсина К	Ингибирование активности коллагеназы остеокластов
Кальцитонин	Снижение активности остеокластов

Азбука профилактики остеопороза. В настоящее время для взрослых мужчин и женщин полное всасывание 1000–1500 мг/сут кальция рассматривается как обязательная норма. Сюда входит кальций пищи и его добавки (рис. П2.24). Суммарное ежедневное потребление не должно превышать 2000 мг. Необходимо осознавать, что только один кальций не может предотвратить или излечить остеопороз. В последнее время было убедительно показано, что неоправданно высокие добавки кальция не только не помогают снизить количество переломов, но способствуют камнеобразованию в почках. При использовании добавок важно поступление в организм достаточного количества витамина D.

Учитывая то, что витамин D частично синтезируется в коже, нормы пищевых добавок витамина D во многом зависят от времени экспозиции к солнечному свету. В условиях недостаточного контакта с солнечным светом нормой потребления считается 400–1000 ед /сут,

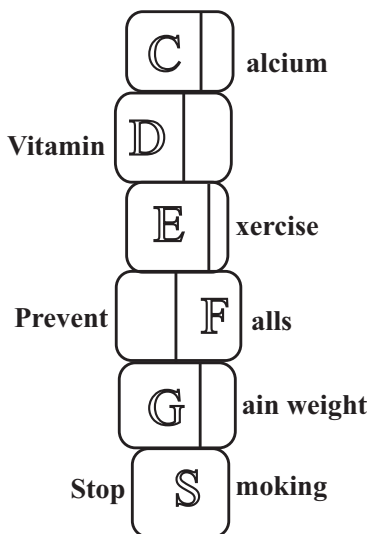


Рис. П2.24. Азбука профилактики остеопороза

у взрослых людей старше 70 лет – 800–1000 ед/сут, при малабсорбции эти величины увеличиваются до нескольких десятков тысяч единиц. Важным критерием является контроль за уровнем витамина D в крови. Выше уже отмечалось, что для оценки уровня витамина D в крови пользуются определением содержания $25(\text{OH})\text{D}_3$ (табл. П2.8).

Таблица П2.8. Критерии обеспеченности организма витамином D по уровню $25(\text{OH})\text{D}_3$ в крови

Уровень $25(\text{OH})\text{D}_3$	Уровень витамина D нг/мл	Уровень витамина D, нМоль/л
Дефицит	Менее 8	Менее 20
Недостаточность	8–20	20–50
Оптимум	20–60	50–150
Высокий уровень	60–90	150–225
Токсический уровень	Выше 90	Выше 225

Рекомендуемые в настоящее время нормальные значения более высоки, чем предлагались ранее. Определения понятий нормы и оптимума все еще обсуждаются. Предлагается два способа определения оптимального уровня:

- это такой уровень, при превышении которого всасывание кальция более не изменяется;
- это такой уровень, который не вызовет увеличения секреции паратиринина.

Оба подхода привели к одинаковому значению нормального уровня $25(\text{OH})\text{D}_3$ в сыворотке 32 нг/мл. Обследование большого числа госпитализированных больных показало, что у 57% из них уровень витамина D ниже, чем 15 нг/мл. Такая высокая распространенность гиповитаминоза D может внести свой вклад в развитие остеопороза. С другой стороны, «лишний» витамин D может ускорить резорбцию кости. Среди обследованных больных, упомянутых выше, у 4 человек, которые принимали дополнительно витамин D, выявлен высокий уровень $25(\text{OH})\text{D}_3$ (53–89 нг/мл). У этих больных обнаружили гиперкальциурию и остеопороз, плотность кости у них улучшилась спустя более чем 3 года после того, как они прекратили принимать витамин D.

У активных женщин, которые занимаются физическими упражнениями, более низкий риск переломов шейки бедра, чем у сидячих женщин. Это может быть связано с прямым влиянием упражнений на кость или с уменьшением риска падений. Ходьба – самое простое, что можно делать всю жизнь, не требуя дополнительного дорогого оборудования для профилактики остеопороза. Существует большое число условий, ведущих к увеличению риска падений, особенно у по-

жилых людей. Немаловажным является и масса тела, вредные привычки, среди которых следует назвать курение, алкоголизм.

Таким образом, факты, приведенные выше, лишний раз подчеркивают сложность, многофакторность этого широко распространенного заболевания, и хотя многие участники патогенеза остеопороза уже выявлены, решение проблемы все еще впереди.

Приложение 3

РОЛЬ ЦИТОХРОМА P450 В МЕТАБОЛИЗМЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Стратегия метаболизма лекарственных препаратов в организме человека. Большинство лекарственных препаратов, попадающих в организм перорально, являются в той или иной степени липофильными, что вполне естественно, поскольку их абсорбция в основном происходит методом пассивной диффузии через мембраны энтероцитов. После всасывания лекарства связываются с плазменными белками и широко циркулируют с током крови по всему организму или секвестрируются в жировой ткани. В таком виде они не могут экскретироваться с мочой. Следовательно, их эффективная элиминация возможна только при условии превращения в более гидрофильные метаболиты.

Основным органом, выполняющим эту функцию, является печень, так как эндотелиальные клетки ее синусоидов содержат большие трансцеллюлярные поры или фенестры, сквозь которые проходят плазменные белки. Будучи связаны с лекарственным препаратом, они могут пассивно проникать через синусоиды в пространства Диссе. Далее лекарственный препарат попадает в гепатоцит методом пассивного или активного транспорта, где превращается в более гидрофильный метаболит под влиянием ферментов, локализованных в эндоплазматическом ретикулуме (рис. ПЗ.1). Затем полученные метаболиты либо вновь попадают в кровь через синусоидальный ток и выводятся почками с мочой, либо через каналикулярную мембрану секретируются в желчь и потом выводятся с калом.

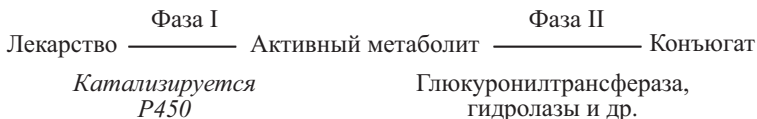


Рис. ПЗ.1. Схематическое изображение метаболизма лекарств печенью

Весь процесс метаболизма обычно включает две фазы. Сначала лекарственный препарат вовлекается в реакции гидроксилирования, окисления и другие, которые катализируют цитохромы 450 (цитР450). Некоторые превращения в этой фазе катализируют также алкогольдегидрогеназа, альдегиддегидрогеназа, алкилгидразиноксидаза, аминоксидазы, ароматазы, ксантиноксидаза.

Метаболиты, образовавшиеся в результате действия этих ферментов, могут быть менее токсичными или, наоборот, высокотоксичными и даже чрезмерно токсичными по сравнению с их предшественниками. Ниже мы приведем примеры подобного явления. Обычно метаболит первой фазы подвергается дальнейшему превращению под влиянием фермента второй фазы. В результате происходит его конъюгирование с другим соединением или группой: глутатионом, глюкуронидной или сульфидной группами. Типичным примером препарата, метаболизм которого проходит в две фазы, является снотворное средство – мидазалам. Сначала оно превращается в 1-гидроксимидазалам, а затем – в 1-гидроксимидазалам-глюкуронид. Некоторые лекарства подвергаются метаболическим превращениям, присущим преимущественно второй фазе. Примером является морфин, который преобразуется в морфин-3-глюкуронид и морфин-6-глюкуронид (рис. ПЗ.2).

Количество цитР450 и других ферментов первой фазы уступает ферментам второй фазы метаболизма лекарственных препаратов. Поэтому ферменты первой фазы более подвержены изменениям при заболеваниях. Соответственно, если метаболит будет образовываться в ходе первой фазы неэффективно, вторая фаза и метаболизм лекарственного препарата в целом будут также несостоятельны.

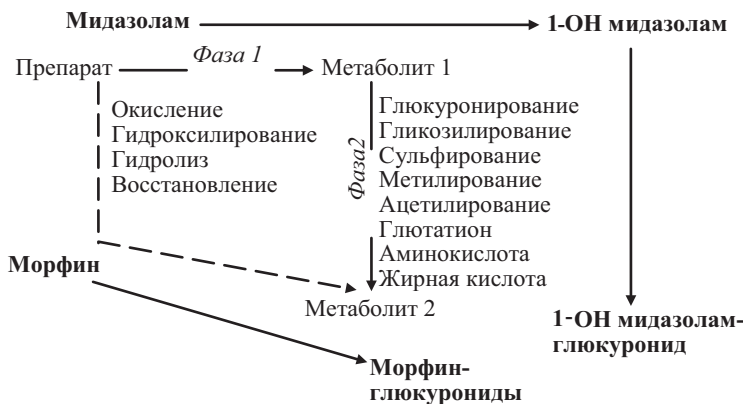


Рис. ПЗ.2. Фазы метаболизма лекарственных препаратов

То есть количество и активность ферментов первой фазы обычно определяют скорость всего процесса обезвреживания в ходе химического превращения лекарственного средства.

Большинство лекарственных препаратов, подобно мидазолу, проходят две фазы метаболизма. Немногие препараты типа морфина проходят сразу вторую фазу, минуя первую.

ЦитP450, имеющие ключевое значение в первой фазе метаболизма лекарств, представляют собой семейство изоферментов или изоформ. Отметим, что каждый изофермент цитP450 может катализировать метаболизм не одного, а нескольких лекарственных соединений, подходящих ему по структуре, что создает основу для взаимодействия лекарств, одновременно поступающих в человеческий организм.

Каждая идентифицированная изоформа цитP450 кодируется отдельным геном. Гены цитP450 распределены в нескольких хромосомах. Регуляция этих ферментов представляется комплексной. ЦитP450 человека, отвечающие за метаболизм лекарств, принадлежат к семействам 1, 2 или 3. В табл. ПЗ.1 перечислены некоторые клинически важные P450 протеины вместе с лекарствами или ксенобиотиками, которые их могут индуцировать или ингибировать. В дальнейшем будет приведена более подробная характеристика семейства цитP450 с точки зрения участия этих ферментов в катаболизме лекарств.

Семейство цитохромов P450. ЦитP450 обнаруживается во всех организмах, начиная от бактерий. Полагают, что в процессе эволюции этот фермент появился для конверсии инертных углеводов окружающей среды до продуктов, используемых с энергетической и пластической целью, либо для удаления токсичных гидроперекисей у примитивных организмов, использующих кислород в клеточном дыхании. В результате процессов дупликации, конверсии, мутации генов образовалось множество изоформ цитP450, осуществляющих окислительный, восстановительный метаболизм стероидов, жирных кислот, ретиноидов, желчных кислот, биогенных аминов, лейкотриенов, а также экзогенных соединений, в том числе лекарств, загрязняющих агентов из окружающей среды, химических канцерогенов.

Таблица ПЗ.1. Характеристики основных изоферментов цитохрома P450 печени человека

Изофермент	Субстраты	Индукторы	Ингибиторы
1	2	3	4
ЦитP1A2	Ацетаминофен, теofilлин, таkрин	Сигаретный дым, древесный уголь, жареная пища, омеnразол	Норфлоксацин, ципрофлоксацин, эноксацин

1	2	3	4
ЦитP2C	Дапсон, диазепам, фенитоин	Дексаметазон, фенобарбитал	Амиодарон, циметидин
ЦитP2D6	Бета-адреноблока- торы, дебризоквин, декстрометорфан, омепразол, трициклические антидепрессанты	Не идентифициро- ваны	Дезипрамин, кломипрамин, пароксетин, сертралин, тиоридазин, флуоксетин, хинидин
ЦитP3A4	Варфарин, верапамил, декстрометорфан, диазепам, дилтиазем, итраконазол, кетоконазол, кортикостероиды, ловастатин, макролиды, мидазолам, нифедипин, половые гормоны, терфенадин, теофиллин, триазолам, цизаприд, циклоспорин, хинидин, эналаприл	Карбамазепин, глюкокортикоиды, фенобарбитал, фенитоин, рифампин	Верапамил, итраконазол, кетоконазол, макролиды, нифедипин, циметидин

У человека к настоящему времени известно около 25 цитP450. Все они представляют собой структурно и функционально различные изоферменты, являются гемопroteинами и кодируются суперсемейством генов. В 1987 г. была разработана классификация цитP450, основанная на дивергентной эволюции и гомологии нуклеотид/аминокислотной последовательностей. Суперсемейство разделено на семейства, подсемейства и индивидуальные гены. ЦитP450, имеющие более 40% гомологии аминокислотных последовательностей, объединяют в одно семейство и обозначают арабской цифрой, а имеющие по меньшей мере 55% гомологии – в одно подсемейство и обозначают прописной буквой латинского алфавита. Продукт индивидуального гена обозначают еще одной арабской цифрой. При составлении номенклатуры не учитывалась каталитическая активность цитохромов, поэтому члены различных подсемейств могут иметь пе-

рекреывающуюся субстратную специфичность. К примеру, цикло-спориноксидаза и нифедипиноксидаза в соответствии с номенклатурой представляет один и тот же фермент, цитР450 3А4.

ЦитР450 широко распространены в клетках органов и тканей. Высокая концентрация их обнаружена в носу (там они расщепляют амины, вызывающие запах) и в надпочечниках (там они принимают участие в синтезе стероидов). Однако наибольшая концентрация цитР450 обнаруживается в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов (микросомах). Именно печеночные микросомальные цитР450 играют важнейшую роль в определении интенсивности и времени действия чужеродных соединений и ключевую – в детоксикации ксенобиотиков, а также в активации их до токсичных и/или канцерогенных метаболитов. Некоторые формы цитР450 человека представлены в табл. ПЗ.2.

Наиболее важными ферментами метаболизма канцерогенов являются представители семейства 1 и 2. ЦитР450 семейства 2 и 3 осуществляют главным образом метаболизм лекарств. В настоящее время практически для всех членов суперсемейства цитР450 известны специфические субстраты, что позволяет использовать их для выявления той или иной формы цитР450.

Структура, механизм ферментативного действия и реакции, катализируемые семейством цитохромов Р450. На начальном этапе исследований цитохромов их структуру и функции изучали на основе анализа бактериального цитР450 (рис. ПЗ.3), который имеет ряд принципиальных отличий от цитохромов млекопитающих. Поэтому значительным научным открытием явилась работа Р. Williams и соавт., в ходе которой была расшифрована структура изоформы 2С5 цитР450 кролика. Впоследствии Р. Williams продолжала работы по изучению структуры цитР450 человека с использованием такой же методики в компании Astex (Кембридж, Великобритания). В результате проведенных исследований в конце 2001 г. была расшифрована структура цит2С9 человека. В настоящее время компания Astex представила предварительную информацию о структуре цит3А4, метаболизирующего многие применяемые в клинической практике лекарственные препараты.

Этот фермент имеет широкую субстратную специфичность. Активный центр запрятан глубоко внутрь фермента, рядом с атомом железа, расположенным в центре гемовой группировки. В него могут поступать различные углеродсодержащие молекулы. Они прочно фиксируются там, напротив активированного атома кислорода. Молекула, изображенная на рис. ПЗ.3, была выделена из бактериальной клетки, способной утилизировать камфору в качестве единственного источника углерода. (The Oncologist 2001; 6:205–206.)

Обычно при изучении семейств белков-ферментов нет необходимости в установлении структуры каждого белка семейства, поскольку во многих случаях для практических целей бывает достаточно

Таблица П3.2. Некоторые ксенобиотики и окисляющие их цитохромы Р450 человека

Цит. Р450	Место экспрессии	Типичные субстраты	Индукторы
1	2	3	4
1A1	Вне печени, другие ткани, синтез индуцированный	Полициклические ароматические углеводороды, бензо[а]пирен, 2,3,7,8-тетрахлордибензолдиоксин	Полициклические ароматические углеводороды, омепразол, курение, может участвовать в развитии рака
1A2	Печень, легкие, синтез постоянный	Гетероциклические амины, ариламины, ароматические амины, пищевые мутагены, афлатоксин В1	Полициклические ароматические углеводороды, курение, продукты питания, особенно, приготовленные на древесном угле
2A6	Печень, легкие, синтез постоянный	Гетероциклические амины, ариламины, ароматические амины, пищевые мутагены, афлатоксин В1. Ответствен за 7-гидроксилирование стероидов и холестерина в желчные кислоты	
2B6	Печень, другие	Лекарства (циклофосфамид)	Барбитураты
2C8	Печень	Бензо[а]пирен, толбутамид, R-мефенитоин, диазепам и нестероидный противовоспалительное – оксикам	Барбитураты
2C9	Печень	Толбутамид, R- и S-мефенитоин варфарин	Барбитураты
2C18	Печень	R-мефенитоин	
2C19	Печень	R- и S-мефенитоин	

1	2	3	4
2D6	Полиморфная экспрессия	Дебрисоквин, морфин, его аналоги и β -блокаторы	
2E1	Печень, другие	Хлорзоксазон, нитрозодиметиламин, этанол	Этанол, изониазид
2F1	Легкие, другие	Тестостерон, нафтиламин	
3A3	Тонкий кишечник, печень, другие	Нифедипин	Барбитураты, рифампицин, дексаметазон, кортизол
3A4	Печень, другие	Нифедипин, тестостерон, циклоспорин	
3A5	Печень	Нифедипин	
3A7	Печень	Тестостерон	

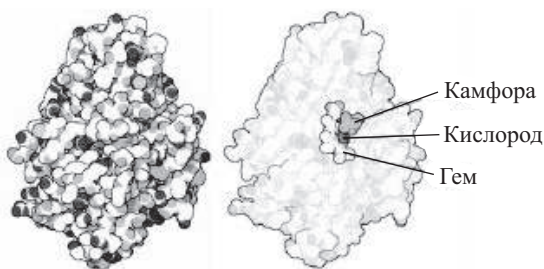


Рис. ПЗ.3. Пространственная структура цитР450

создания модели, построенной на примере ближайших родственных молекул. Однако для цитР450 данный принцип оказался не вполне применимым. К примеру, структура белковых цепей 2С9 и 2С19 идентична на 90%, в то время как небольшие, но принципиальные различия активных центров изменяют субстратную специфичность.

Знание структуры цитохромов может играть важную роль при разработке новых лекарственных средств. Известно, что основной рост затрат на разработку нового лекарственного препарата происходит на заключительном ее этапе, при непосредственном изучении его свойств в условиях живого организма (адсорбция, распределение, метаболизм, экскреция, токсичность). Поэтому фармацевтические компании предпочитают проводить скрининг метаболических свойств новых препаратов с помощью компьютерного моделирования, *in silico*, на основании анализа их структуры.

Именно с помощью такого рода исследований было установлено, что геном микобактерий туберкулеза содержит гены, кодирующие 20 различных цитР450, в том числе ферментов, являющихся мишенью действия для противогрибковых препаратов. Интересно, что из протестированных противогрибковых препаратов для системного применения можно использовать лишь флуконазол, но он оказался неэффективным в отношении микобактерий туберкулеза. Антимикотики местного применения для терапии туберкулеза не подходят, так как угнетают цитохромы организма человека. Предполагается, что по мере накопления новой информации о структуре цитР450 процесс создания новых противотуберкулезных препаратов, механизм действия которых связан с этими ферментами, будет значительно упрощен. В частности, ведется целенаправленный поиск новых азольных антимикотиков системного действия, которые могут в последующем стать новым поколением средств для химиотерапии туберкулеза.

Все ферменты, относящиеся к семейству цитР450, являются монооксигеназами, включающими в качестве кофермента железосодержащий гем. ЦитР450-зависимые монооксигеназы представляют

мультиферментную электрон-транспортную систему. Все цитР450 – гемсодержащие белки. Обычно гемовое железо находится в окисленном состоянии (Fe^{3+}). Восстанавливаясь до состояния Fe^{2+} , цитР450 способен связывать лиганды, такие как кислород или моноксид углерода (CO). Комплекс восстановленного цитР450 с CO имеет максимум поглощения при 450 нм, что и явилось основанием для названия этих ферментов.

Ход каталитической реакции с участием цитР450 в принципе известен. Решающая роль группы гема состоит в том, что она переводит атомарный кислород в реакционно-способную форму, которая, собственно, и ответственна за все описанные выше реакции (рис. ПЗ.4). В исходной стадии атом железа трехвалентен. Цитхром связывает субстрат рядом с группой гема (1). Это делает возможным восстановление трехвалентного железа до двухвалентной формы и последующее присоединение молекулы O_2 (2). Далее следует перенос электронов (3) и окисление атома железа, который восстанавли-

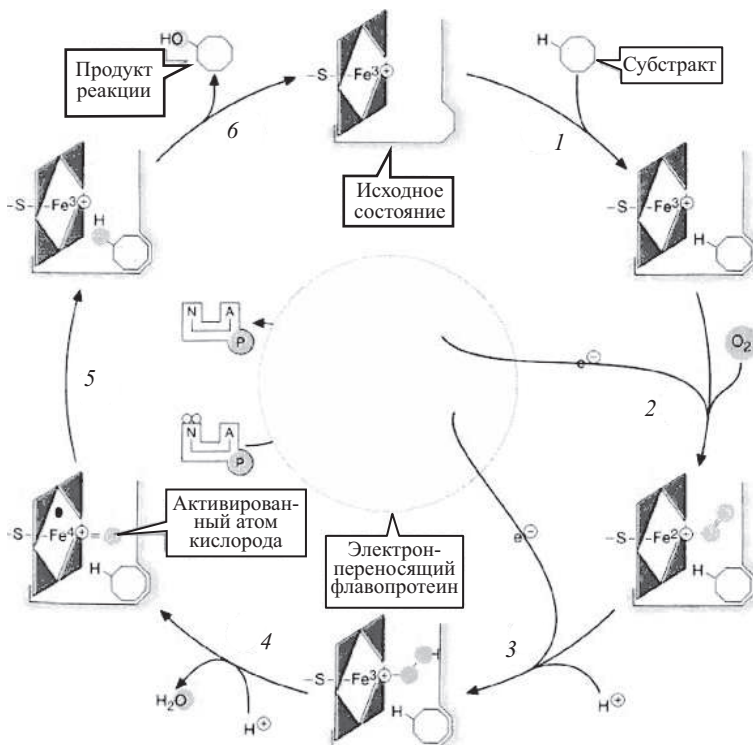


Рис. ПЗ.4. Механизм катализа с участием цитР450

ливают связанный кислород в пероксид. От промежуточного продукта отщепляется ион гидроксила (4) с образованием молекулы воды и реакционноспособной формы кислорода. В этом радикале железо формально четырехвалентно. Активированный атом кислорода атакует связь С–Н субстрата с образованием гидроксигруппы (5). После освобождения продукта реакции (6) фермент возвращается в исходное состояние.

В качестве восстановителя в реакции участвует НАДФН · Н⁺:



Механизм, благодаря которому цитохром получает электрон от НАДФН·Н⁺, зависит от внутриклеточной локализации цитР450. В ЭПР, где расположено большинство гемопroteинов, участвующих в биотрансформации ксенобиотиков, электрон передается через флавопротеин, называемый НАДФН·Н⁺-Р450-редуктаза (рис. ПЗ.5). Одна молекула редуктазы может доставлять электроны на несколько различных молекул Р450. В митохондриях, где расположены цитохромы Р450, участвующие в биосинтезе стероидных гормонов и метаболизме витамина D, электрон переносится с помощью двух белков: ферродоксина или ферродоксин-редуктазы.

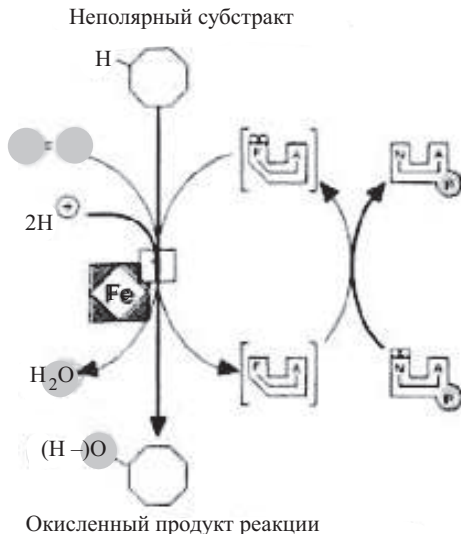
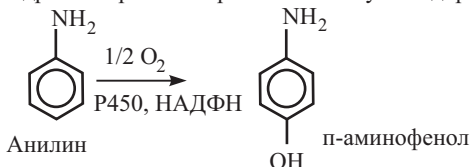


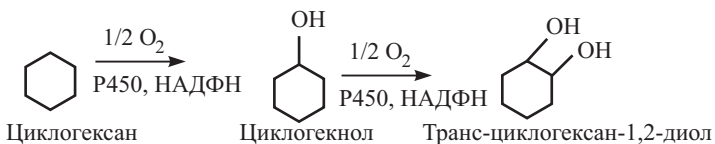
Рис. ПЗ.5. Доставка водородов для реакций, катализируемых цитР450

ЦитР450 катализируют основные типы следующих реакций: гидроксирование алифатических и ароматических атомов углерода, эпексидирование двойной связи, оксигенирование гетероатомов (S-, N-) и N-гидроксирование, деалкилирование гетероатомов (O-, S-, N-), перенос окисленной группы, расщепление эфирной связи, дегидрирование, восстановительное дегалогенирование, азо-, нитровос-

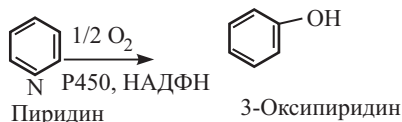
1. Гидроксирование ароматических углеводородов



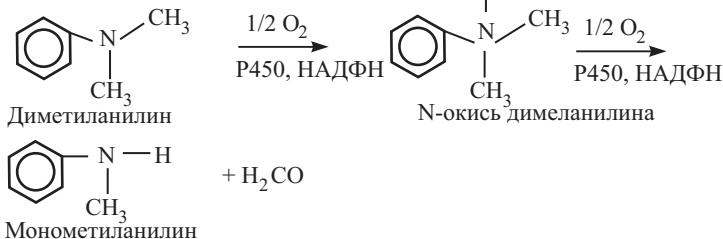
2. Гидроксирование циклических предельных углеводородов или органических соединений по насыщенной C–H связи



3. Гидроксирование гетероциклических углеводов



4. N-окисление



5. Окислительное дезаминирование

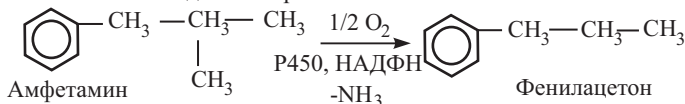


Рис. ПЗ.6. Реакции, катализируемые цитР450

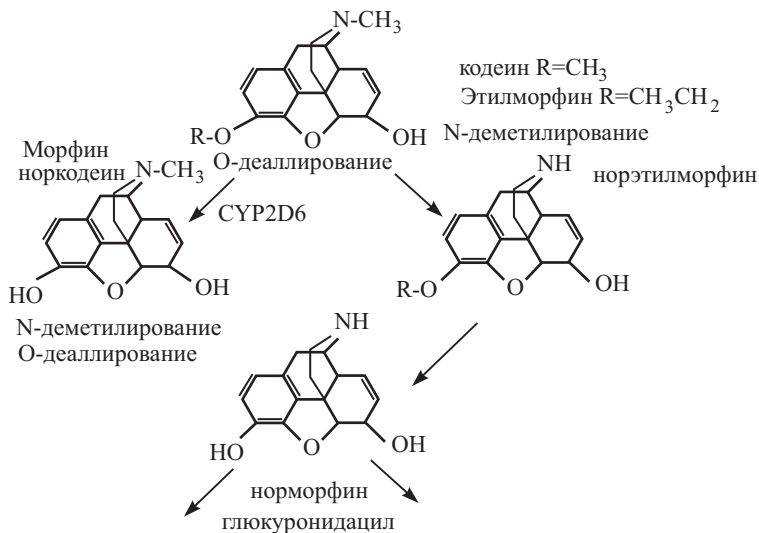


Рис. ПЗ.7. Окислительное деалкилирование, катализируемое цитР450, в ходе метаболизма кодеина и этилморфина

становление и изомеризацию. Некоторые из этих реакций представлены на рис. ПЗ.6, ПЗ.7. Все цитР450, будучи типичными гемопротеинами, обладают пероксидазной активностью.

Способность цитохромов Р450 к индукции под влиянием лекарственных препаратов. Характерным свойством ферментов из суперсемейства цитР450 является низкий уровень базальной экспрессии в отсутствие субстрата и существенное нарастание экспрессии в присутствии субстратов или каких-то других соединений-индукторов. В особенности индукции под влиянием ксенобиотиков подвержены гены цитР1А, цитР2В, цитР2С/Н, цитР3А и цитР4А. Для индукции характерны тканевая специфичность, быстрота, зависимость от дозы индуктора и обратимость после его удаления.

Феномен индукции цитР450 является важнейшей составляющей адаптивного ответа на чужеродные соединения, попадающие в клетку. Это приводит к усилению детоксикационной функции организма с последующим выведением ксенобиотика (табл. ПЗ.3). Около 40 лет назад было показано, что хроническое введение крысам барбитуратов постепенно уменьшало время сна от этих препаратов из-за усиления их метаболизма (рис. ПЗ.8). Отсюда было сделано заключение, что данные метаболические изменения вызваны индукцией определенных форм цитР450. Впоследствии было установлено, что

в основе феномена индукции фенобарбиталом лежит усиление транскрипционной активности генов, кодирующих цитР450. Оказалось, что процесс индукции цитР450 синтетическими или природными соединениями зарегистрирован у млекопитающих, птиц, рыб, беспозвоночных, растений, дрожжей и бактерий. Все это свидетельствует о биологической важности этого явления.

Таблица ПЗ.3. Лекарственные средства, биотрансформация которых в организме ускоряется под влиянием индукторов ферментов (фенобарбитал, рифампицин, фенитоин)

Фенобарбитал	Рифампицин	Фенитоин
Аминазин	Варфарин	Гидрокортизон
Антипирин	Гептобарбитал	Дексаметазон
Варфарин	Гидрокортизон	Дигитоксин
Гидрокортизон	Гликодиазин	Дикумарин
Гризеофульвин	Дапсон	Тиоксин
Диазепам	Дигитоксин	Фенитоин
Дигитоксин	Метадон	
Дикумарин	Норэтистерон	
Нитроглицерин	Рифампицин	
Оральные контрацептивы	Толбутамид	
Рифампицин		
Тестостерон		
Фенитоин		
Фенобарбитал		
Хинин		

Крысы получали фенобарбитал в течение 9 сут. Постоянный замер уровня белка цитР450 в печени показал быстрый его рост после начала введения препарата и возвращение к первоначальному уровню после прекращения его введения.

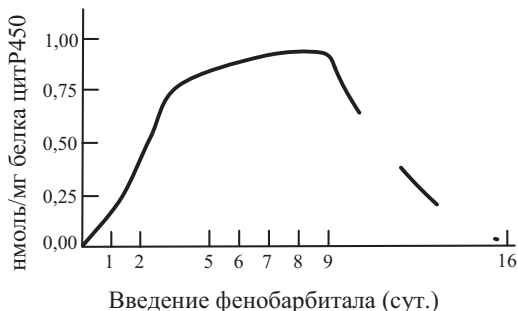


Рис. ПЗ.8. Открытие индукции цитР450 фенобарбиталом в печени крыс, сделанное Х. Реммером в 1972 г.

К настоящему времени известно, что не только фенобарбитал, но и другие барбитураты проявляют аналогичное свойство активировать транскрипцию генов цитР2А, цитР2В, цитР2С и цитР3А (табл. ПЗ.4). Те же цитР450 активируются соединениями типа рифампицина и дексаметазона. Однако по сравнению с барбитуратами их действие отличается своей выраженностью или интенсивностью. Так, индукцию цитР3А они осуществляют более эффективно, чем цитР2С и цитР2В.

Таблица ПЗ.4. Индукторы цитР450, используемые в качестве лекарственных препаратов

Противосудорожные препараты	Ингибиторы протеаз вируса СПИД и ревертазы	Антидепрессанты	Антибиотики	Другие
Фенобарбитал	Ритонавир	Гиперфорин, компонент зверобоя дырчатого	Рифампицин	Бозентан
Фенитоин	Саквинавир		Рифабутин	Тамоксифен
Карбамазепин	Эфавиренц			Троглитазон
Окскарбазепин	Невирапин			
Примидон				
Фелбамат				
Вигабатрин				
Топирамат				



Рис. ПЗ.9. Многообразное действие в организме индукторов цитР450

Как показано на рис. ПЗ.9, действие индукторов отнюдь не ограничивается регуляцией цитР450 и других ферментов, принимающих участие в метаболизме лекарственных препаратов. Оно включает комплексное регуляторное влияние на многочисленные гены и физиологические системы, в том числе на пролиферацию гладкого эндоплазматического ретикулаума. Помимо барбитуратов и индукторов типа рифампицин/дексаметазон ароматические углеводороды индуцируют преимущественно цитР1А и цитР1В. Вещества, стимулирующие пролиферацию пероксисом, увеличивают уровень цитР4А, а этанол – цитР2Е1. Примечательно, что такое действие этанола осуществляется на посттрансляционном уровне за счет стабилизации уже существующего фермента.

Таблица ПЗ.5. Механизмы индукции цитР450 различными соединениями

Форма цитР450	Типичные индукторы	Механизм первичной индукции
1А1	Диоксин (ТХДД), 3-метилхолантрен	Активация транскрипции лиганд-активируемых Ah-рецепторов
1А2	3-Метилхолантрен	Стабилизация мРНК
2В1/2	Фенобарбитал	Активация транскрипции под действием CAR-рецептора
2Е1	Этанол, ацетон, изониазид	Стабилизация белка
3А1	Дексаметазон	Активация транскрипции под действием PXR-рецептора
3А1	Триацетилолиндомицин	Стабилизация белка

Как видно из табл. ПЗ.5, ряд цитР450 активируется при участии специфичных рецепторов. Лишь для цитР1А1 и соответственно Ah (Aryl Hydrocarbon)-рецептора известен детальный механизм действия. ЦитР1А1 не обнаруживается в нормальной печени. Его синтез происходит лишь под воздействием ксенобиотиков-индукторов, к которым относятся канцерогенные полициклические ароматические соединения (ПАУ) (антрацен, бенз(а)антрацен, 3-метилхолантрен, бензо(а)пирен и др., рис. ПЗ.10).

Общепринятая на сегодняшний день схема активации гена цитР1А1 приведена на рис. ПЗ.11. В отсутствие индуктора Ah-рецептор связан с белком теплового шока hsp90, который представляет собой компонент системы шаперонов. Точная роль hsp90 в индукции цитР1А1 не определена, хотя полагают, что он поддерживает конфигурацию Ah-рецептора в состоянии, способствующем взаимодействию с лигандом. Из цитоплазмы комплекс Ah-рецептора с лигандом переносится в ядро. Там он связывается с другим белковым фактором ARNT (Ah Receptor Nuclear Translocator). В результате ге-

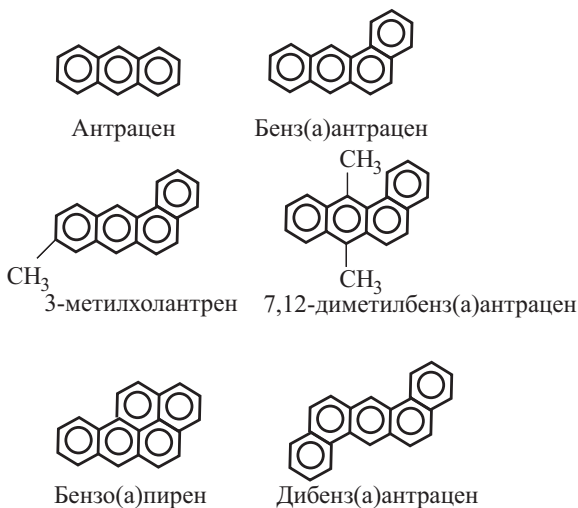


Рис. ПЗ.10. Полициклические ароматические углеводороды – типичные индукторы цитР1А1

теродимеризации этих белков, которая происходит в ядре, образуется ДНК связывающий фактор транскрипции цитР1А1. Помимо того, что Ah-рецептор регулирует экспрессию генов цитР1А, он также определяет токсичность многих ПАУ-соединений.

Цитохромы Р450 подсемейства 2В катализируют метаболизм многих лекарственных препаратов и других ксенобиотиков с самой разнообразной химической структурой. В метаболизме ксенобиотиков участвуют главным образом цитР2В1 и 2В2 белки. Каталитические свойства этих ферментов и регуляция экспрессии генов существенно различаются. ЦитР2В1 активно метаболизирует широкий спектр липофильных лекарств и стероидов. ЦитР2В2 может метаболизировать те же субстраты, что и ЦитР2В1, однако скорость метаболизма заметно ниже. Оба белка включают в состав своих молекул N-концевой гидрофобный участок порядка 20 аминокислот, который служит для закрепления в мембране; цис/гем-связующий пептид; участки для связывания субстрата и взаимодействия с НАДФН-цитохром Р450-редуктазой.

В противоположность генам цитР1А, в механизм индукции генов цитР2В вовлечены так называемые орфановые рецепторы, физиологические лиганды для которых остаются неизвестными. Эти белки принадлежат к семейству ядерных стероидных рецепторов. Недавно был идентифицирован новый рецептор CAR (constitutively active receptor), который участвует в активации генов цитР2В. Предполагается, что лекарственный препарат-ксенобиотик стимулирует транслокацию ре-

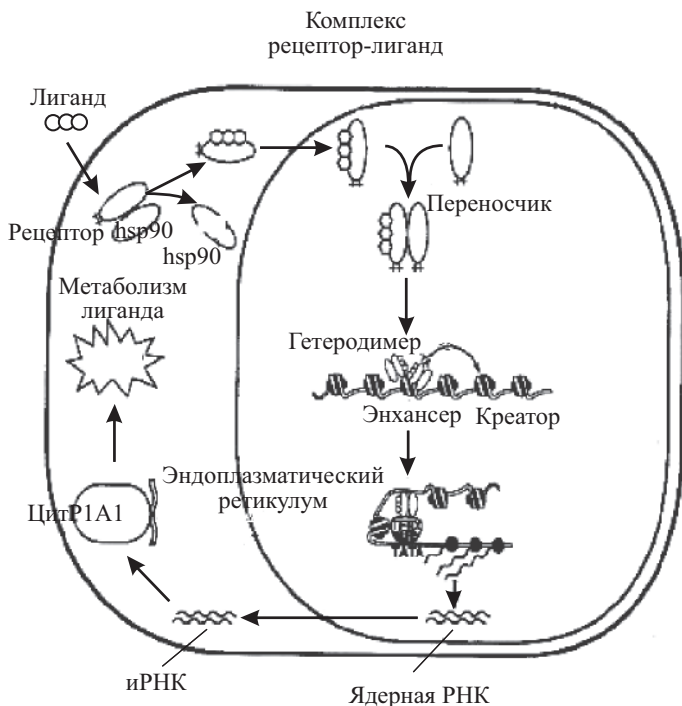


Рис. ПЗ.11. Схема индукции цитP4501A1

цептора в ядро и его связывание с PBREM (phenobarbital-responsive enhancer module) на молекуле ДНК. Это один из регуляторных участков генов, которые получили название «ФБ-ответственные элементы» (PBRs). С ними взаимодействуют факторы транскрипции. Связывание рецептора с PBRE (phenobarbital-responsive enhancer) элементами гена цитP2B2 происходит лишь в виде гетеродимера с ретиноидным рецептором RXR (retinoid X receptor) (рис. ПЗ.12). Основной принцип этого механизма состоит в том, что при ФБ-индукции происходит дерепрессия гена цитP450 через освобождение белка-репрессора. Будучи в связанном с ДНК состоянии, белок-репрессор блокирует участок размером 17 пар оснований, названный «Барби-бокс» (Barbie box).

После попадания в клетку ксенобиотики оказывают влияние одним из двух механизмов: 1) облегчают перенос CAR рецептора из цитозоля в ядро путем отщепления от этого рецептора неизвестных пока белков; 2) напрямую активируют PXR (pregnane X receptor) в ядре. В последующем и PXR, и CAR рецепторы гетеродимеризуются с RXR (retinoid X receptor), связываются с соответствующими

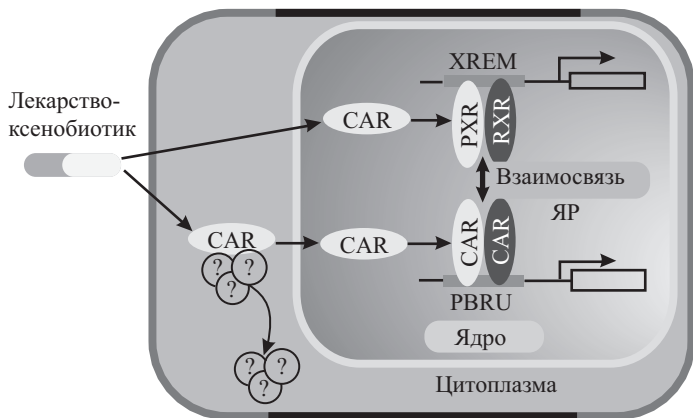


Рис. ПЗ.12. Активация чувствительных к ксенобиотикам ядерных рецепторов PXR и CAR у человека

участками ДНК (XREM – xenobiotic-responsive enhancer module; PBRU – Phenobarbital-responsive enhancer unit) и усиливают транскрипцию гена-мишени. Установлено, что одни и те же энхансерные зоны различных генов способны активироваться как PXR, так и CAR рецепторами.

Значение индукции цитP450 в клинической практике. Индукция цитP450 и других ферментов, катализирующих метаболизм лекарственных препаратов, может изменять выведение препарата из организма, тем самым влияя на его уровень в крови. Она ответственна за индивидуальную восприимчивость к тому или иному лекарственному препарату, может служить причиной взаимодействия лекарств между собой, с гормонами. Лекарства, принятые совместно с другими препаратами или даже в комбинации с растительными экстрактами, такими как экстракт зверобоя или грейпфрутовый сок, могут вызвать побочное действие или снизить эффективность лекарственной терапии. Отсюда вытекает необходимость знания тех ферментных систем, которые участвуют в метаболических превращениях лекарств, включая их индукторы и ингибиторы. К примеру, проблемы, связанные с антидиабетическим лекарственным препаратом, троглитазоном, получили объяснение после открытия того факта, что он активирует два вида рецепторов в клетке. А вот производное троглитазона, росиглитазон, оказалось, что на один из этих двух рецепторов не действует. Поэтому росиглитазон гораздо безопаснее для использования и является в настоящее время антидиабетическим средством выбора.

В схему регуляции синтеза цитP450 входят не только лекарственные препараты в качестве индукторов или ингибиторов. Состояние

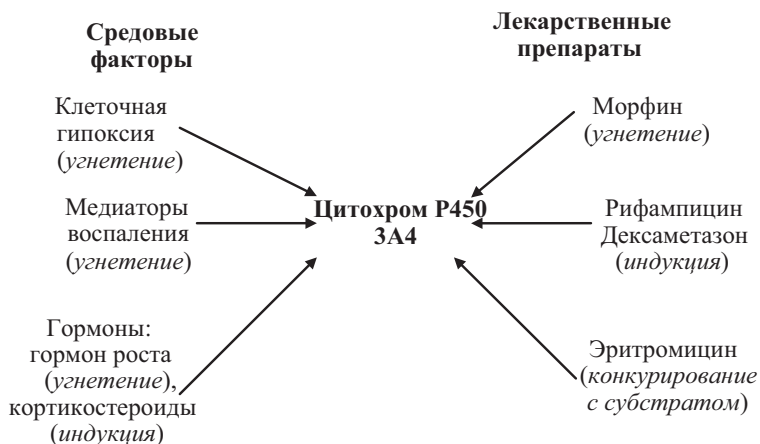


Рис. ПЗ.13. Некоторые из известных факторов, оказывающих влияние на цитР450 3А

организма, влияние внешней среды порой оказывает не менее выраженный эффект (рис. ПЗ.13). Все это свидетельствует о том, как трудно предсказать функцию того или иного цитохрома в реальных условиях патологии.

Изучение механизма метаболических превращений и выведения из организма 315 различных лекарственных препаратов позволило прийти к заключению, что 56% из них первоначально подвергаются действию цитР450 (табл. ПЗ.6). Самым распространенным среди них является цитР3А4 (50%), затем следуют цитР2D6 (20%), цитР2С9/19 (15%). Оставшиеся 15% приходятся на цитР2Е1, цитР2А6, цитР1А2 и на возможные неидентифицированные еще изоформы. Среди этих ферментов только цитР2D6 не подвергается индукции. Точнее, для этой формы она заключается в избирательной трансляции аллелей с удвоенными или мультиудвоенными активными генами.

Таблица ПЗ.6. Некоторые известные лекарственные препараты, являющиеся субстратами для наиболее важных цитохромов или взаимодействующие с ними

ЦитР3А4			
Альфентанил	Дилтиазем	Ловастатин	Сальметерол
Альпразолам	Доцетаксел	Мелоксикам	Саквинавир
Амброксол	17-эстрадиол	Метадон	Сертралин

Амиодарон	Алкалоиды спорыньи	Мибефрадил	Силденафил
Амлодипин	Эритромицин	Мидазолам	Симвастатин
Атровастатин	Этинилэстрадиол	Мифепристон	Сульфаметоксазол
Бензфетамин	Этосуксимид	Миконазол	Сульфентанил
Бупивакаин	Этилморфин	N-гидроксиаргинин	Такролимус
Будезонид	Этопозид	Нефазодон	Тамоксифен
Бупренорфин	Фелодипин	Никардипин	Тенипозид
Карбамазепин	Фенантил	Нифедипин	Терфенадин
Циталопрам	Финастерид	Нилудипин	Тергурид
Цизаприд	Флутамид	Нимодипин	Тестостерон
Кларитромицин	Гестден	Низольдипин	Тетрагидроканабинол
Клозапин (также цитP1A2)	Гранизетрон	Нитрендипин	Теофиллин (преимущественно цитP1A2)
Кодеин	Экстракт зверобоя	Паклитаксел (таксол)	Толтеродин
Колхицин	Ифосфамид	П а р а ц е т а м о л (преимущественно цитP2E1)	Триазолам
Кортизол	Индинавир	Преднизон	Триметадон
Циклобензаприл	Иринотекан	Прогестерон	Троглитазон
Циклофосфамид	Итраконазол	Прокванизил	Тролеандомицин
Циклоспорин А, G	Кетоконазол	Квинидин	Верапамил
Дегидроэпиандростерон	Лансопрозол	Ретиноевая кислота (третиноин)	Винбластин
Делабиридин	Левоноргестрел	Рифабутин	Винкристин
Дексаметазон	Лидокаин	Рифампицин	(R)-Варфарин
Декстрометорфан	Лизурид	Ритонавир	Золпидем
Диазепам	Лоратадин	Ропивакаин	
Дигитоксин	Лозартан	Сальметерол	

ЦитP2D6			
Аймалин	Декстроме-торфан	Изониазид (Ин-гибитор)	Квинидин (ин-гибитор)
Амитриптилин	Дексфенфлю-рамин	Мапротилин	Рisperидон
Буфуралол	Енкаинид	Мехоксиамфе-тамин	Спартеин
Бупранолол	Флекаинид	(S)-Метопролол	Такрин (преиму-щественно цитP1A2)
Циннаризин	Флюоксетин	Мексилетин	Тамоксифен
Циталопрам	Флюнаразин	Миансерин	Тиоридазин
Кломипрамин	Флюфеназин	Нортриптилин	Тимолол
Хлорпромазин	Флювоксамин	Пароксетин	Трамадол
Кодеин	Галантамин	Пергексилин	Трифлюперидол
Дебризоквин	Галоперидол	Перфеназин	Тримепранол
Депренил	Гидрокодон	Пропафенон	Тропизетрон
Дезипрамин	Имипрамин	Пропранолол	Венлафаксин
ЦитP2C9		ЦитP2C19	
Антипирин	Индометацин	Амитриптилин (также цитP1A2)	Моклобемид
Диклофенак	Ирбезартан	Циталопрам	Омепразол
Д р о н а б и н о л (ТНС)	Лозартан	Кломипрамин	Пантопразол
Карбамазепин	Мелоксикам	Диазепам	Фенитоин
Флурбипрофен	Фенитоин	Имипрамин	Примидон
Флювастатин	Пироксикам	Индометацин	Прогуанил
Глимпирид	Толбутамид	Изониазид (ин-гибитор)	Пропранолол
Глипизид	Торсемид	Лансопразол	Тенипозид
Глибенкламид	(S)-Варфарин	(S)-Мефенитоин	(R)-Варфарин
Ибупрофен			

Значение индукции цитР450 под влиянием различных лекарственных препаратов имеет огромное прикладное значение. Позже мы увидим, в чем оно заключается.

Генетический полиморфизм цитР450 и побочное действие лекарственных препаратов. Генетический полиморфизм ферментов, катализирующих биотрансформацию лекарственных препаратов, часто является причиной побочного их действия (табл. ПЗ.7). Так, фармакокинетические исследования антиаритмического средства – спартеина выявили у части испытуемых выраженные побочные явления, такие как двоение в глазах, нарушение аккомодации, «мерцание света» перед глазами (фотопсия) и головную боль. С мочой у них выделялся неизмененный спартеин, а концентрация этого препарата в крови была в 3–4 раза больше, чем у хорошо переносивших препарат. Оказалось, что люди, в организме которых спартеин не подвергается метаболизму, имеют дефект цитР2D6.

Таблица ПЗ.7. Лекарственные средства, в метаболизме которых полностью или частично участвует цитР2D6

Лекарственное вещество	Метаболизм	Побочные действия вследствие нарушения метаболизма
1	2	3
Антиаритмические средства		
Флекаинид	О-деалкилирование	У ММ большая вероятность аккумуляции биологически активного вещества, ухудшение сердечного ритма, появление почечной недостаточности
Экаинид	О-деметилование	Вентрикулярная тахикардия с летальным исходом
Пропафенон	Гидроксилирование ароматического кольца	Повышение концентрации у ММ, побочное действие на ЦНС у ММ (67%), у БМ (14%)
Пергексалин	Гидроксилирование алифатической части молекулы	У ММ часто возникают периферические нейропатии и поражение печени
N-Пропилай-малин	Гидроксилирование ароматического кольца	У ММ часто побочное действие на ЦНС и желудочно-кишечный тракт
Трициклические антидепрессанты		
Тиоридазин, амитриптилин	Гидроксилирование	У ММ высокая концентрация вторичных аминов, являющихся эффективными антидепрессантами, избыток их вызывает психические расстрой-

1	2	3
		ства; у БМ недостаточная концентрация вторичных аминов, препарат не оказывает лечебного действия
Другие антидепрессанты		
Пароксетин, метопролол	Алифатическое О-деалкилирование	После однократного приема блокада β -адренорецепторов в течение 24 ч у ММ, в течение 6 ч у БМ
Тимолол, алпренолол, пропранолол, буфуралол, фенформин	Гидроксилирование ароматического кольца	У ММ фенформин не подвергается метаболизму, поэтому у части таких людей развивается лактоацидоз
Транквилизаторы		
Перфеназин	Тип реакций не установлен	У ММ значительно замедлено выведение препарата
Производные морфина		
Декстрометорфан	О-деметилирование	При длительном применении повышается концентрация в плазме крови, что может вызвать непреодолимое влечение к препарату у ММ
Кодеин		У БМ быстро развивается зависимость к метаболиту – морфину

Примечание. Условные обозначения: ММ – медленно метаболизирующие препарат; БМ – быстро метаболизирующие препарат.

При окислительном метаболизме дебрисоквина различают два фенотипа: быстро метаболизирующий (БМ) и медленно метаболизирующий (ММ). Метаболизм этого вещества контролируется двумя генами в одном локусе. Люди-гомозиготы по «нулевой» аллели¹ генов цитP2D6 относятся к медленно метаболизирующим. У них нарушен катаболизм и выведение не только спартеина и дебрисоквина, но и других лекарственных препаратов: метопролола, нортриптилина, пропафона, фенитоина. Можно предположить, что гидроксилирование этих веществ находится под контролем генов одной локализации. У таких людей чаще возникают побочные реакции на введение

¹ Мутантный аллель, потерявший способность к экспрессии в результате мутаций.

ние в организм лекарств. Частота их встречаемости колеблется от 6% до 10% у представителей европеоидной расы, от 1% до 2% у представителей монголоидной расы.

Для лечения желудочковых и наджелудочковых нарушений сердечного ритма применяется пропafenон, при метаболизме которого происходят гидроксирование, деалкилирование и другие реакции. Метаболиты, 5-ОН-пропafenон (5-ОНР) и N-деспропилпропafenон (NDPP), обладают более сильным антиаритмическим действием, чем пропafenон. У 10% европейского населения ген цитP450 2D6 не экспрессируется, а метаболиты 5-ОНР и NDPP не образуются. Увеличение дозы, казалось бы, должно компенсировать дефицит активного метаболита, но тогда левовращающий оптический изомер пропafenона быстро связывается с β -адренорецепторами, что вызывает β -блокирующее действие, которое проявляется в снижении частоты сердечных сокращений. Особенно отчетливо выражено это действие у фенотипа ММ, которое у них дополнительно проявляется в угнетении ЦНС.

Антиаритмическое средство энкаинид в организме превращается в О-десметилэнкаинид (ODE), 3-Метокси-О-Десметилэнкаинид (MODE) и N-Десметилэнкаинид (NDE). ODE почти в 10 раз, а MODE почти в 3 раза эффективнее, чем энкаинид. Поэтому у фенотипа БМ энкаинид может вызывать очень серьезные осложнения в виде появления новых приступов аритмий на фоне уже существующей аритмии.

В тех случаях, когда в метаболизме разных лекарственных препаратов участвуют одни и те же ферменты, действие этих препаратов изменяется. Например, хинидин является сильным ингибитором цитP2D6, катализирующего окисление пропafenона и энкаинида. Поэтому одновременный прием хинидина и пропafenона, хинидина и энкаинида, особенно у фенотипа БМ, тормозит образование метаболитов, 5-гидроксипропafenона, ODE и MODE.

Гомозиготы по нулевой аллели генов цитP2C19 высокочувствительны к омепразолу, диазепаму, пропранололу, мефетоину, амитриптилину, гексобарбиталу и другим препаратам. К ним относятся от 2 до 5% представителей европеоидной расы и от 3 до 23% – монголоидной расы. Причина, как правило, заключается в мутации единственной пары азотистых оснований (вместо аденина встроен гуанин) в пятом экзоне седьмом участка. Синтезирующийся в результате экспрессии этой информации белок теряет способность связываться с гемом и проявлять ферментативную активность. Замена кодонов 144 и 359 в гене цитP2C9 приводит к пятикратному снижению активности фермента. 25% представителей европеоидной расы гетерозиготны по одной из этих двух мутаций, 5% – гомозиготны.

ЦитP450 и взаимодействие лекарственных препаратов. Молекулярная основа взаимодействия лекарственных препаратов заключается в том, что индукция цитP450 одним препаратом может

затем оказывать влияние на метаболизм другого лекарственного препарата, попавшего в организм одновременно или вслед за первым, и/или метаболизм одного лекарственного препарата ингибируется вследствие конкуренции его со вторым препаратом за один и тот же цитР450. В качестве примера первого механизма может служить существенное снижение уровня циклоспорина в плазме крови после попадания в организм препаратов, содержащих гиперацин (одно из действующих начал лекарственного растения – дырчатого зверобоя). Это может существенно ухудшить состояние больных, в частности после трансплантации органов и тканей, из-за выраженной индукции цитР3А4. С другой стороны, лечение рифампицином индуцирует цитР4503А, что является основой для повышенного метаболизма циклоспорина и преднизолона. Отметим, что недостаточное действие контрацептивов у женщин, получающих рифампицин, также связано с индукцией цитР4503А.

Примером второго механизма (ингибирования) взаимодействия лекарственных препаратов является взаимовлияние неседативного антигистаминного препарата терфенадина и азольных противогрибковых препаратов интраконазола или кетоконазола. В этом случае уровень терфенадина в плазме (вследствие конкуренции за тот же цитР3А4) будет нарастать, превышая терапевтический и создавая угрозу развития злокачественной аритмии. При одновременном введении больному циклоспорина и эритромицина концентрация циклоспорина в крови повышается, что вызывает его большую токсичность. Это связано с конкурентным связыванием данных препаратов цитР4503А в печени. В результате находящийся в эндоплазматическом ретикулуме эритромицин ингибирует метаболизм циклоспорина пропорционально его концентрации. Данное состояние полностью обратимо при отмене эритромицина.

По причине аналогичного фармакокинетического взаимодействия с другими лекарственными препаратами сравнительно недавно было изъято из употребления антигипертензивное средство – мифеградил.

ЦитР450 и гепатотоксичность. Лекарственные поражения печени составляют от 2 до 5% случаев госпитализаций больных по поводу желтухи, около 10% случаев гепатитов у взрослых и более 40% случаев гепатитов у пациентов старше 50 лет. На индивидуальную чувствительность к лекарствам влияют не только возраст, но и пол, факторы питания, системные заболевания, одновременное введение нескольких лекарственных препаратов и генетическая предрасположенность. Продолжение приема вызвавшего гепатит препарата в такой ситуации чревато развитием либо печеночной недостаточности, либо хронического заболевания печени.

Многие лекарственные препараты в больших количествах (прямая дозозависимая гепатотоксичность) токсичны для печени, когда попадают в организм. Отдельные препараты могут вызывать по-

вреждение печени только у небольшого числа пациентов даже при употреблении в терапевтических дозах. Такая непредсказуемая токсичность лекарственных препаратов получила название идиосинкратической и связана с вовлечением в патологический процесс иммунной системы.

Сам профиль цитP450 может предрасполагать пациента к гепатотоксичности, что происходит, по крайней мере, двумя путями:

- лекарство само по себе является гепатотоксичным, в этом случае нарушение его детоксикации или элиминации предрасполагает к развитию гепатотоксичности;
- безвредное лекарство метаболизируется цитохромом P450 в реактивный или потенциально токсичный метаболит (наиболее частый путь).

В качестве примера гепатотоксичности, развивающейся по второму пути, можно привести передозировку парацетамола. Парацетамол (ацетилированное производное п-аминофенола) представляет собой один из наиболее широко используемых во всем мире, благодаря эффективности и безопасности, анальгетиков/антипиретиков. По контрасту с аспирином и нестероидными противовоспалительными препаратами он не вызывает желудочно-кишечных кровотечений и развития синдрома Рейе. Особого внимания заслуживает вопрос безопасности парацетамола у лиц, злоупотребляющих алкоголем. До настоящего времени не получено данных о гепатотоксическом действии парацетамола при применении в терапевтических дозах (4 г в сутки), в том числе и у пациентов с высоким риском поражения печени. Хронические заболевания печени (включая цирроз печени в стадии компенсации) также не являются противопоказанием для назначения парацетамола.

Однократный прием большой дозы (15 г и более; токсическая доза парацетамола составляет > 150 мг/кг) в основном с суицидальными целями приводит к развитию гепатотоксичности с образованием центрлобулярных некрозов и печеночной недостаточности. Эффект гепатотоксичности связан с действием не самого парацетамола, а вызывается его нестабильным метаболитом — N-ацетил-п-аминобензохиноном (NAPQI), который инактивируется глутатионом. В норме лишь небольшая фракция парацетамола конвертируется в активный метаболит, который связывается с глутатионом и затем экскретируется в виде меркаптуриновой кислоты (рис. ПЗ.14). Большие дозы парацетамола приводят к повышенному образованию его активного метаболита — NAPQI; когда истощаются запасы связывающего NAPQI глутатиона, этот метаболит ковалентно связывается с белками плазмы с образованием комплексов, вызывающих некроз. Таким образом, гепатотоксичность парацетамола зависит от дозы препарата, скорости его трансформации, тканевых запасов глутатиона, обстоятельств или агентов, потенциально способных индуцировать соответствующее звено цитP450 или сокращать запасы

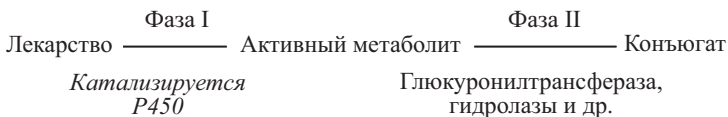


Рис. ПЗ.14. Схема метаболизма парацетамола

глутатиона (например, хронический алкоголизм или прием противоэpileптических препаратов).

Еще одним примером, когда оксигенированный промежуточный продукт, образование которого катализирует цитР450, является значительно более опасным для организма, чем исходная молекула, может служить афлатоксин (рис. ПЗ.15).

Афлатоксин образуется плесенью, возникающей в арахисовых орехах и крупах. ЦитР450 добавляет атом кислорода (показан стрелкой), в результате образуется чрезвычайно реакционноспособное трехчленное эпоксидное кольцо. В идеале другие ферменты затем катализируют присоединение глутатиона к эпоксиду. Образуется водорастворимое соединение, которое способно покинуть организм. Но в данном случае эпоксид, обладая высокой реакционной способностью, атакует азотистые основания в составе ДНК. Справа показано, как активированный афлатоксин связывается с циклической структурой гуанина в составе спирализованной ДНК, после чего весь плоский углеводородный скелет молекулы встраивается в пространство между азотистыми основаниями. Такой своеобразный клин растягивает спираль ДНК. Это приводит к нарушению считывания генетической информации во время репликации ДНК.

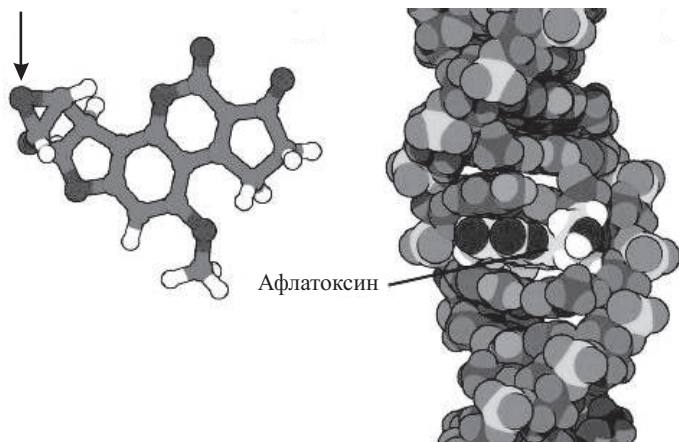


Рис. ПЗ.15. Биотрансформация афлатоксина

Афлатоксин, наряду с возбудителем гепатита В, является одним из наиболее частых причин рака печени. ЦитР450 образует высоко реакционноспособную эпоксидную группу в составе афлатоксина, что делает его чрезвычайно мутагенным. Если такая молекула не будет немедленно обезврежена глутатионом, она будет реагировать с ДНК. Активированный афлатоксин напрямую связывается с азотистыми основаниями и растягивает спирализованную ДНК. Из-за проникновения чужеродной молекулы позже, во время репаративного или репликативного синтеза ДНК, ответственные за это ферментативные системы могут вести ошибочное считывание последовательности азотистых оснований. Это вызывает изменение последовательности нуклеотидов в новосинтезированных участках или даже сдвиг рамки считывания. Если подобные мутации затрагивают зоны кодирования р53 или онкогена, регуляторная функция этих белков может измениться, что в конечном счете приведет к развитию рака печени. К счастью, в действительности это происходит нечасто.

ЛИТЕРАТУРА

- Березов, Т.Т.* Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. М., 2004.
- Биохимия / под ред. Е.С. Северина. М., 2013.
- Гарри, Р.* Биохимия человека: в 2 т. / Р. Гарри [и др.]. М., 2009.
- Кухта, В.К.* Биологическая химия / В.К. Кухта [и др.]. Минск, 2008.
- Николаев, А.Я.* Биологическая химия / А.Я. Николаев. М., 2004.
- Нельсон, Д.* Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. Т. 1. Лаборатория базовых знаний / Д. Нельсон. М., 2012.
- Чиркин, А.А.* Биохимия / А.А. Чиркин, Е.О. Данченко. М., 2010.
- Garrett Reginald, H.* Biochemistry, Fourth Edition / H. Garrett Reginald, M. Grisham Charles. Boston, 2010.
- Berg, J.M.* Biochemistry / J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer. N-Y, 2007.
- Dawn, B.* Biochemistry / B. Dawn. Baltimor – Paris – Wroclaw, 1994.
- Löffler, G.* Biochemie und Pathobiochemie / G. Löffler, P.E. Petrides. Berlin, 1997.
- Molecular Biology of the Cells / B. Alberts [et al]. NY&London, 2005.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

Агликогенозы 127, 128
Аденилатциклаза 126, 282, 283, 285, 295

S-аденозилметионин 307, см. SAM

Аденозиндифосфат см. АДФ

Аденозил-5'-монофосфат 246

Аденозин-5'-трифосфат 246

Адипоциты 280, 307, 330, 448

Адреналин

– синтез 307

Адренорецепторы см. Рецепторы адреналина

АДФ

– строение 246

– участие в синтезе АТФ 89

Азотистый баланс 220

Акромегалия 295

АКТГ см. Гормон адренокортикотропный

Активность фермента 47

– влияние температуры 54

– воияние рН 53

Актин 433

Актомиозиновый комплекс 434

Аланин 10

Аланиновая аминотрансфераза 523

Аминолевулиновая кислота 420

Алкалоз 393

Алкаптонурия 239

Алкогольдегидрогеназа 134

Альбинизм 239

Альбумины 30, 379, 380, 398, 428 472, 528

Альдегиддегидрогеназа 134

Альдолаза 131, 149

Альдостерон

– синтез 312

– действие 314

– α -амилаза 117, 525

Аминоацил-т-РНК 272

Аминоацил-т-РНК-синтетазы см. APCаза

Аминокислоты

– активированные 272

– алифатические 9

– ароматические 13

– анионная форма 16

– буферные системы 16

– всасывание 222

– гликогенные 117, 324, 418

– декарбоксилирование 229

– изоэлектрическая точка 17

– катионная форма 16

– катаболизм 225

– кетогенные 99, 418

– классификация 9

– нейтральные 16

– свойства 16

– серусодержащие 11

– стереоизомеры 9

Амины биогенные 230

Аммиак

– образование 227

– обезвреживание 231

АМФ см. Аденозин-5'-монофосфат

АМФ циклический 285

Ангиотензин 314

Андрогены 315 (см. также Гормоны половые мужские)

Андростерон 315

Анемия

– гемолитическая 427

– макроцитарная 340

– пернициозная 342

– серповидноклеточная 35

Антивитамины 332

– биотина 345

– витамина К 388

Антикоагулянты 387
 Антитела 8, 157, 317, 380, 401
 Антитрипсин 397
 АРСаза 272
 АПБ см. Белок ацилперенос-
 щий
 Апобелки (аполипопротеи-
 ны) 185
 Апотомический путь 142
 Апоферритин 374
 Аргиназа 233
 Арахидоновая кислота 168
 Аргинин 15, 218, 233, 430
 Аргининосукцинат 233
 Аргининосукцинатаза 233
 АсАТ см. Аспартатамино-
 трансфераза
 Аспарагин 13
 Аспарагиновая кислота 13, 99,
 324
 Аспирин 168
 Атерогенез 216
 Атеросклероз 164, 194–197,
 539
 АТФ см. Аденозинтрифосфат
 АХАТ 181
 Ацетальдегид 133
 Ацетат 482
 Ацетил-КоА 60, 95, 99, 105,
 140, 164
 Ацетил-КоА-карбоксилаза 204
 Ацетилхолин 497
 Ацетоацетат 213
 Ацетоацетил-КоА 212
 Ацетон 213 (см. также: Тела
 кетоновые)
 Ацидоз 393
 Ацилглицеролы
 – свойства 169
 – функции 170
 Ацилсинтаза 205

Б

Баланс азотистый 218, 220
 – положительный 220
 – отрицательный 220

Белки

 – амилоидный 397, 505
 – ацилпереносящий 206
 – выделение 26
 – высаливание 27
 – гидролиз 18
 – гидроксилирование 453
 – гликозилирование 160,
 195, 453
 – неферментативное 105
 – глобулярные 29
 – G белки 284
 – домены 22
 – интегральные 282
 – крови 378–382
 – модификация посттран-
 сляционная 274
 – негистоновые 276
 – обмен 218–234
 – осаждение 27–29
 – недостаточность 221
 – переваривание 221–223
 – плазмы крови 378–382
 – простые 30
 – разделение 26, 27
 – свойства 25
 – структура 19
 – вторичная 20
 – надвторичная 22
 – первичная 20
 – третичная 20
 – четвертичная 22
 – точка изоэлектрическая 17
 – ценность биологическая
 220
 – сульфатирование см.
 Модификация посттрансля-
 ционная
 – сыворотки крови 378, 382
 – фосфорилирование см.
 Модификация посттрансля-
 ционная
 – функции 7
 – электрофорез 26

Белок ацилпереносящий 205
 Белковая потребность 220

Белково-углеводные комплексы 448
 Бери-бери 337
 Бесплодие 346
 Билирубин 420, 422–424
 Биогенные амины 229–231
 Биологическое окисление см.
 Тканевое дыхание
 Биосинтез белка 271–277
 Биотин 205, 344
 Би(ди)фосфоглицерат 132
 Болезнь Аддисона 311–312, 543
 – Альцгеймера 486, 505, 507
 – Вильсона – Коновалова 400, 527, 530
 – Гирке 70, 127
 – Паркинсона 507–510
 Брожение
 – спиртовое 103, 133
 Буферные системы крови 391

В

Вазопрессин 295, 297
 Валин 10, 324
 Взаимодействия
 – гидрофобные 21
 – ионные 21
 – электростатические 22
 Викасол 357
 Витамины 332
 – А 351
 – аскорбиновая кислота 338
 – В₁ 336
 – В₂ 342
 – В₆ 343
 – В₉ 339
 – В₁₂ 340
 – D 354
 – E 346
 – источники 335
 – K 356
 – классификация 334
 – пантотеновая кислота 343
 – H 344
 – PP 337

Витаминоподобные вещества 334
 Внеклеточная жидкость 361
 Внеклеточный матрикс см. Межклеточный матрикс
 Водный обмен 360
 Воски 163, 170
 Восстановительный (сорбитный) путь 160
 Высаливание 27

Г

Галактоза 104, 110, 149
 Галактокиназа 149–150
 ГАМК см. Кислота
 γ-аминомасляная
 γ-Карбоксиглутаминовая кислота 388
 Ганглиозиды 174
 Гаптоглобин 379, 397, 529
 Гастрин 223
 Гексокиназа 63, 121
 Гель-электрофорез 26, 37
 Гем
 – синтез 420
 – распад 422
 Гемоглобины 34
 – гликозилирование
 – распад 422
 – S 35
 – Типы
 – четвертичная структура 34
 Гемоглобинопатии 34
 Гемопексин 530
 Гемолитическая анемия 427
 Гемосидероз 375
 Гемостаз 382
 Гемофилии 389, 402
 Гепарин 387 449
 Гиалурионовая кислота 449
 Гидроксизин 455
 Гидроксипролин 16
 Гидролазы 63
 Гинекомастия 296
 Гипервитаминозы 332

- Гипергликемия 153
- Гиперкалиемиия 521
- Гипернатриемия 522
- Гипертиреоз 303
- Гиперурикемия 537
- Гиповитаминозы 332
- Гипогликемия 153
- Гипокалиемиия 521
- Гипокальциемиия 523
- Гипонатриемия 522
- Гипоталамус 294, 295
- Гипофиз 295, 296
- Гистамин 230
- Гистидин 14
- Гистоны 251
- Гликоген
 - биосинтез 122
 - распад 123
- Гликогенозы 127
- Гликогенсинтаза 123
- Гликогенфосфорилаза 124
- Гликозаминогликаны 449
- Гликолиз 129
 - Гликолитическая оксидо-редукция 131
- Гликолипиды 174
- Глицеролфосфолипиды 171
- Глицин
 - в синтезе креатина 438
- Гликопротеины 31, 105, 159, 222, 397, 417, 446, 448
- Гликогенолиз 123
- Глобулины 17, 30, 379, 531
- Глутамат см. Глутаминовая кислота
- Глутаматдегидрогеназа 228, 229
- Глутаматдекарбоксилаза 231
- Глутамин 13, 231, 418, 500
- Глутаминовая кислота 12
- Глутатион 417
- Глутатионредуктаза 413
- Глутатионпероксидаза 353
- Глюкагон 299
- Глюкокортикоиды 308
- Глюкоза 110
 - окисление анаэробное 129
 - аэробное 135
 - транспорт 119
 - фосфорилирование 120
- Глюкозо-1-фосфат 122
- Глюкозо-6-фосфат 121
- Глюкозо-6-фосфатаза 125
- Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа 142
- Глюкозурия 151, 542
- Глюкокиназа 121
- Глюконеогенез 136
- Глюкуроновый путь 145
- Глютатион см. Глутатион
- ГМФ см. Гуанозинмонофосфат циклический
- Голодание 123, 221, 322, 330, 398
- Гомоцистеин 240, 340, 346
- Гормоны
 - адренкортикотропный 296
 - белковой природы 280
 - гипоталамуса 294
 - гипофиза 295
 - гонадотропины 296
 - железы щитовидной 299
 - липотропины 296
 - β -липотропин 296
 - надпочечников 306
 - коркового слоя 308
 - половые 315
 - женские 315
 - мужские 315
 - производные аминокислот 280
 - стероидные 280
 - тиреотропин 296
 - фоллитропин 296
- График Лайнуивера – Берка 52, 53
- ГТФ-связывающий белок см.
- G белки
- Гуанин 244
- Гуанозинмонофосфат
 - синтез 257
 - циклический 246, 285

Гуанозинтрифосфат
– в синтезе белка 274

Д

Дезаминирование аминокислот
– внутримолекулярное 228
– восстановительное 228
– гидролитическое 228
– окислительное 229
– прямое 228
– не прямое 229

Дегидрогеназа см. по названию отдельных дегидрогеназ
Дезоксирибоза 246

Дезоксирибонуклеотиды 246

Декарбоксилазы
– аминокислот 229
– α -кетокислот (ПВК) 94

Декарбоксилирование
– глутамата 230
– α -кетокислот 94
– окислительное
– пирувата 94

Додецилсульфат натрия 37

Дыхание тканевое 76

Е

Енолаза 130

Ж

Железа
– паразитовидная 304
– поджелудочная 297
– щитовидная 299

Железо
– в активном центре 83
– двухвалентное 83
– комплексы с белками 81
– негемовое 81
– трехвалентное 83

Желтуха
– гемолитическая 427
– механическая 427
– паренхиматозная 427

Желчные кислоты 178

Желчные пигменты 420
Желчь 178
Жирные кислоты 165, 166
– биосинтез 205
– окисление 201

З

Зубы 447, 465

И

Изоаллоксазин 248
Изодезмосин 456
Изолейцин 9, 11, 220, 324
Изомеразы 63
Изоферменты 38
Иммуноглобулины 30, 400, 530
Ингибирование
– необратимое 57
– обратимое 57
– конкурентное 58
– неконкурентное 57
– продуктом реакции 58
Ингибиторы
– использование в медицинской практике 262
– синтеза белка 276
– трипсина 395, 397
– ферментов 57

Инозитол-3, 4, 5-трифосфат 392
Инсулин 140, 142, 152, 155–159, 211, 292, 297
Инсульт 192, 194, 535
Интегрины 283, 446, 450
Интроны 268, 270
Ионы аммония/аммиак 219, 223, 227, 231–233, 530

Й

Йод 299–302

К

Калий 371, 466, 521
Кальмодулин 288, 435, 443, 514
Кальций
– как мессенджер 288

- сокращение мышечное 443
- фактор свертывания крови 384
- Кальцитонин 306, 372
- Кальцитриол см. Витамин D
- Карбомиоилфосфат 232
- Карбоксилирование 357
- Карбоксипептидазы 222, 453
- Карнитин 201, 204
- Каротины 177, 334, 356
- Катаболизм 91–93
- Каталаза 31
- Катализ 30, 38, 39
- Катехоламины 238, 492, 494, 543
- Квашиоркор 71
- Кератансульфат 449, 461
- α -Кетоглутарат 80, 90, 97, 99, 495
- α -Кетокислоты 226, 321
- Кетонемия 157, 158, 213
- Кетоновые тела 152, 164, 378, 440
 - синтез 415
- Кетонурия 157, 213
- Киназа фосфорилазы b 125
- Кислота (ы)
 - адениловая см. Аденозин-монофосфат
 - β -аминоизомасляная 254
 - γ -аминомасляная 230
 - δ -аминолевулиновая 420
 - арахидоновая 167, 168
 - N-ацетилнейраминаовая 175
 - ацетилсалициловая см. Аспирин
 - гиалуриновая 146, 449, 470
 - гликохолевая 179
 - глутаминовая см. Глутамат
 - глюкуроновая 145, 146, 449
 - дигидроаскорбиновая см. также: Витамин C
- Кислоты жирные
 - активирование 200
 - биосинтез 204, 205
 - всасывание 180
 - ненасыщенные 166–167
 - окисление 200–203
 - транспорт в крови 186
- Кислота
 - γ -аминомасляная 230
 - молочная 129, 133, 134, 191, 436, 472, 482
 - мочевиная 127, 233, 254, 378, 435, 536
 - оротовая 258
 - пальмитиновая 166
 - парааминобензойная 334, 339
 - пировиноградная см. Пируват
 - рибонуклеиновая см. РНК
 - УДФ-глюкуроновая см. Кислота уридилдифосфат-глюкуроновая
 - уксусная см. Ацетат
 - уридиловая см. Уридин-монофосфат
 - фенилпировиноградная см. Фенилпируват
 - фолиевая 240, 319, 340, 343, 346, 390, 485, 492, 500 см. также: Витамин B₉
 - фосфатидная 208, 209
 - фосфоенолпировиноградная см. Фосфоенолпируват
 - фосфорная см. Фосфат неорганический
 - фумаровая см. Фумарат
 - хенодзоксикхолевая 183
 - холевая 179
 - хондроитинсерная, см. Хондроитинсульфат
 - щавелевоуксусная, см. Оксалоацетат
 - яблочная 98, 207
 - янтарная
- Кислород 32, 33, 78, 79, 84, 85, 88, 89, 109, 110, 129, 159, 266, 280, 339, 347 390, 395
- Кислотно-щелочное состояние 370, 394, 476

Клетчатка 116
 Кобаламин 340–341 см. также
 Витамин В₁₂
 Кобальт 30, 340, 390
 Код генетический 271
 Кодон 271, 272, 274
 Коллаген 446, 448, 450, 452,
 453–455
 Комплементарность 23, 38,
 241, 265–268
 Компартмент 90, 327
 Комплексы
 – α-кетоглутаратде-
 гидрогеназный 97, 337
 – мембраны митохондрий
 84, 85
 – пируватдегидрогеназный
 94, 337
 – фермент-субстратный 42
 Константа Михаэлиса 52, 412
 Концентрация протонов 34
 Кортизол 280, 309–310, 318,
 330
 Кортиколиберин 294–295, 309
 Кортикостероиды 164, 165,
 200, 212
 Кортикотропин см. Гормон
 адренокортикотропный
 Кофермент (ы) 38, 42
 Костная ткань 355, 393, 447,
 461
 Кристаллы 463, 465
 Коэнзим (ы) см. Коферменты
 – Q 82
 Креатин 219, 430, 435, 439
 Креатинин 255, 393, 594
 Креатинкиназа 439, 535
 Креатинфосфат 438, 439, 534
 Кретинизм 304
 Кровотечения 376, 383, 401,
 402, 521, 526
 Кровь
 – клетки 262, 377
 – плазма 184, 352, 379,
 – свертывание 382
 – состав 377

– дыхательная 31

– транспортная 379

Ксенобиотики 145, 403, 410

Кэп 270 см. Шапочка

Л

Лактаза 118–119

Лактат см. Кислота молочная

Лактатдегидрогеназа 23, 44,
 55, 62, 64, 73, 133, 227, 429,
 483, 536

ЛГ см. Лютропин

ЛДГ см. Лактатдегидрогеназа

Легкие 362, 377, 391, 392, 410

Лейкоциты 178, 378, 477

Лейцин 9, 11, 220, 320, 418

Лептин 330

Лецитин см. Фосфатидилхолин

Лиазы 63

Либерины 278, 294

Лигаза 63

Лизин 6, 12, 198, 449

Лизосомы 39, 67, 74, 188, 450

Лизоцим 473

Липаза 179, 186

Липиды 31, 159, 163

– классификация 165

– неомыляемые 169

– окисление перекисное
 195, 347

– омыляемые 169

– переваривание 179

Липогенез 312, 328, 330

Липолиз 188, 293, 295

Липопротеинлипаза 186–188,
 190, 193

Липопротеины 31, 66, 163

– липопротеин (а) 197

– атерогенность 194

– классификация 185

– наследственные наруше-
 ния 190

– номенклатура 185

– структура 187–190

Липосомы 174

ЛХАТ 189, 415, 429

α -макроглобулин 379, 380, 529, 530

М

Магний 466, 467
Макроэрги 417
Малат 80, 136, 138
Малатдегидрогеназа 138
Малонил-КоА 164, 200, 204, 205, 207, 341, 345, 441
Мальтаза 117, 118
Мальтоза 114, 116, 118
МАО см. Моноаминоксидаза
Марганец 56, 97
Масса тела 328
Мевалонат 214
Медь 30, 84, 468
Межклеточный матрикс 446
Меланин 69, 225, 238, 239
Мелатонин 230, 280, 496
Мембраны 278, 281, 282, 286, 289, 300, 302, 334, 347
Метаболизм 91, 308, 322, 324, 395, 414, 418

- интеграция 321
- межорганный 327
- регуляция 324

Металлопротеины 31
Метгемоглобин 36, 404, 422
Метилирование 218, 252
Метилкобаламин 340 см. также: Витамин В₁₂
Метионил-тРНК-синтетаза 273
Метионин 9, 12, 201, 218, 225, 240, 245, 340, 419, 430, 478
Миастения 444
Микросомы 134, 338, 357, 404, 409, 532
Микроэлементы 319, 484
Микседема 304
Минералокортикоиды 279, 314, 372
Минеральные вещества 436, 467
Миоглобин 6, 30, 31, 33, 420, 432

Митохондрии 39, 66, 67, 84, 116, 204, 207, 296, 327, 441

- дыхание 78
- ингибиторы 85
- мембраны 66

Мицеллы 174, 180
Молекулярная биология 243
Моноаминоксидаза 231
Моноацилглицеролы 169, 179, 180, 181, 186
Мононуклеотиды 241, 243
Монооксигеназы 404, 408
Моносахариды 102–104, 106, 107, 109, 111, 112, 117, 118, 326, 419, 468, 484
Моча 70, 363, 364, 426, 427, 476, 541, 542
Мочевая кислота 233, 254, 378, 536
Мочевина 28, 219, 242, 254, 378, 382, 406, 435, 472, 537

- синтез 233

МСТ см. Меланотропины
Мукополисахариды см. Гликозаминогликаны
Мукопротеины 448, 451
Мутация 233, 398, 444, 508, 509
Мышечная ткань 431
Мышцы

- скелетные 437
- сокращение 436

Н

Надпочечники

- корковый слой 308
- мозговой слой 306

Насосы протонные 492
Натрий 369, 370, 466, 521
Нервная ткань 485, 523, 524
Нейротензин 329
Никотинамидадениндинуклеотид 46
Норадреналин 152, 225, 237, 306–308, 485, 489, 491, 495, 513

НС-КоА см. Кофермент А
Нуклеиновые кислоты 243, 248
– строение 249–253
– функции 250

Нуклеозиды 242, 254, 260, 416
Нуклеопротеины 31, 67, 241, 243
Нуклеотидазы 243
Нуклеосомы 241, 251, 252
Нуклеотиды 245
– синтез пиримидиновых
нуклеотидов 258
– синтез пуриновых нукле-
отидов 254

О

Обезвреживание
– аминов 231
– аммиака 219
– билирубина непрямого 422
– ксенобиотиков 406

Обмен азотистый 219, 220

Оболочка гидратная 27

Окисление
– биологическое 76
– цепь 79
– микросомальное 408
– ω-окисление 201

Оксалоацетат 90, 98–99, 137,
138–139, 207, 256, 345, 409, 500

Оксигемоглобин 384

Оксигеназы 63, 76

Оксидаза (ы) 229

Оксид азота 489, 500

Оксидоредуктазы 63

Окситоцин 295, 297

Олигосахариды 106, 112

Олигофрения фенилпировино-
градная см. Фенилкетонурия

ОМФ см. Оротидин-'-фосфат

Опухоли 129, 153, 319, 502,
523, 527, 531, 539

Орнитин 232

Основания азотистые 242, 244,
245, 248, 250, 253, 267
– минорные 248, 253
– пиримидиновые 241, 242,
245

– пуриновые 225, 255, 257,
327

Остеопороз 240, 539

П

Парапротеинемии 401

Паратирин 279, 285, 354

Пектин 117

Пеллагра 337, 338

Пентозофосфатный путь 104,
128, 142, 145, 147, 327, 336, 413

Пепсин 53, 54, 63, 218, 221, 223

Пепсиноген 221

Пептидная связь 18, 20

Переаминирование 218, 225

Перекисное окисление липи-
дов 195, 347

Печень 74, 120, 125, 133, 140

– биохимия 403

– функции 405

Пигменты 69, 239, 352

– желчные 146, 181, 183,
420, 427

– в моче 426

Пиридоксальфосфат 125, 225,
276, 343, 491, 496

Пиридоксин 334, 343, 345, 346

Пируват 75, 78, 90, 99, 103,

131, 133 135–137, 328, 337,

345, 412, 419, 441, 498, 500

– в синтезе глюкозы 137

– декарбоксилирование 95,
см. также: Декарбоксилиро-
вание окислительное

Пируватдегидрогеназа 93, 95

Пируватдекарбоксилаза 133

Пируваткарбоксилаза 138

Пируваткиназа 140

Плазмин 387, 397, 529

Плазминоген 387

Плацента 317

Подагра 149, 201, 382, 537

Поджелудочная железа 72, 103,
105, 154, 156, 161, 168, 179,
180, 210, 223, 279, 297, 320,
364, 399, 412

Полиаденилирование 270
 Полипептиды 18, 248, 304
 – синтез 267
 Полисахариды 103, 106, 114, 116, 243, 483
 Полиурия 157, 297, 311, 371
 Порфирины 225
 Порфирия 424
 Посредники см. Мессенджеры
 Почки 105, 147, 227, 231, 305, 355, 365, 367, 369, 372, 377, 391, 392, 404, 412, 417, 426, 430, 444, 459, 523, 524
 Правила Чаргаффа 250
 Праймаза 263
 Праймер 263–265
 Прегненолон 309, 315
 Принцип комплементарности 23, 260
 Провитамины 332, 334, 354
 Прогестерон 296, 312, 315, 317
 Проинсулин 297, 298
 Прокариоты 241
 – регуляция транскрипции 268
 – рибосомы 252
 Пролин 8, 9, 15, 16, 455, 467, 478
 Промотор 268
 Простагландины 163, 167, 168, 176
 Протеазы 221, 376, 397, 450, 460
 Протеинкиназа (ы)
 – А 299, 413
 – В 293
 – С 289
 – Ca^{+} /кальмодулинзависимые 288
 Протеинурия 381, 541, 542,
 Протеины см. Белки
 Протеогликаны 416, 446, 448, 450, 460, 464, 469, 470
 Протеолиз 179, 198, 221, 276, 296, 298, 385, 490, 506
 – ингибиторы 387
 – ограниченный 221, 179, 195
 – тотальный 221

Протонный потенциал 87
 Протромбин 346, 357, 358, 384, 387, 389
 Процессинг 242, 267, 270, 296, 419, 453, 454

Р

Реакция (и) химическая (ие)
 – биуретовая 29
 – Лоури 29
 – цветные 29
 Репарация 266, 267
 Репликация 66, 262, 363
 Репрессоры 140, 302
 Ресинтез 414
 – триацилглицеролов 180
 – фосфолипидов 181
 Рестриктазы 241
 Рецепторы
 – адреналина 307
 – гормонов 278
 – инсулина 292
 – классификация 281
 – мембранные 281–283
 – тирозинкиназы 282
 – ядерные 282
 Рибитол 342
 Рибоза 110, 117, 142, 244
 Рибозимы 38
 Рибонуклеотиды 244
 – синтез 254
 Рибосомы 67, 68, 241, 242, 272–274, 277
 – свободные 68
 Рибофлавин 333, 334, 342, 343
 Рилизинг-факторы 320
 РНК 31, 250
 – биосинтез 252
 – информационная 252
 – матричная 253
 – модификация
 – рибосомная 241
 – транспортная 253
 – сплайсинг 271
 – структура вторичная 252
 – первичная 253

- третичная 253
- РНКаза 474
- РНК-полимераза 268, 270
 - субъединицы 268
 - ДНК-зависимая 268
- РНК-праймеры 264
- Родопсин 285, 352
- Ротовая жидкость 447, 472
- SAM 497

С

Саркомер 430

Сахарный диабет 105, 155, 156, 190, 219

Сахараза 118

Сахароза 114, 479

Свободные радикалы кислорода 348

Связь

- водородная 20
- гидрофобные взаимодействия 20
- гликозидная 102–102, 112, 113
- дисульфидная 22
- ионная 22
- ковалентная 22
- нековалентная 22
- пептидная 5, 18
- фосфодиэфирная 249

Секретин 152, 223, 280, 370

Селен 301, 350, 484

Серин 11, 225, 500, 504

Синдром Леша – Найхана 537

Серотонин 14, 225, 230, 237, 280, 338, 485, 490, 494, 496, 511, 513

Симптом

- Вернике 337
- Конна 313, 522

Синдром Кушинга 153, 217, 310, 311

Синтетаза жирных кислот 205

Синтез белка 271

- ингибиторы 276

Синтез жирных кислот 205

Система (ы)

- аденилатциклазная 285
- противосвертывающая 377, 387, 389
- ренин-ангиотензин-альдостероновая 359, 365–367, 522

Сквален 215

Скорбут см. Цинга

Соединительная ткань см.

Ткань соединительная

Соляная кислота 221

Слюна 364, 476, 479

Сок желудочный 364

Соматолиберин 295

Соматостатин 295

Соматотропин 280, 295, 318, 320

Сорбит 484

Специфичность действия

- абсолютная 38
- групповая 38
- органный 38, 45
- относительная 38
- стереохимическая 44
- субстратная 38
- тканевая 38

Спирты высшие 163, 176

Сплайсинг 271

СТГ см. Соматотропин

Стеркобилин 182, 404, 423

Стеркобилиноген 424, см. также: Уробилиноген мочи

Стероиды 281, 419

Структуры

- надвторичные 22

Субстраты 61, 77, 80, 85, 86, 89, 96, 99, 100, 151, 153, 241, 254, 263, 279, 321, 329, 430, 437

Субъединицы 23, 128, 271, 285, 289, 292, 426, 433, 514, 517

Сукцинат 82, 91, 98, 99

Сукцинатдегидрогеназа 99, 101

Сукцинил-КоА 90, 97, 99, 203, 340, 416

Сульфатиды 175

Сульфоллипиды 175
Супероксид-анион 347
Сфингозин 173, 174, 417, 505
Сфинголипиды 163, 217
Сфингомиелины 173

Т

Талассемии 36
Таурин 417, 488
ТГФК см. Кислота тетрагидро-
фолиевая
Тела ацетоновые (кетонные)
152, 164, 226, 324, 331,
378, 403, 415, 440, 489, 501
– как источник энергии 213,
409
Теория индуцированного соот-
ветствия 43
– Кошланда 43
– Фишера 43
Теломеры 265
Теломераза 266
Тенасцин 457, 458
Терпены 163, 176
Тестостерон 279, 296, 315, 319,
411
Тетрагидробиоптерин 234
Тиамин см. Витамин В₁
Тимин 244, 250
Тирамин 239
Тирозин 13, 14, 35, 69, 70, 225,
233, 234, 238, 239, 241, 291,
293, 299, 300, 306
Тирозинкиназа 291, 292
Тирозинемия 238, 239
Тироксин 14, 225, 238, 279,
299, 303, 339
Тиреолиберин 294, 295, 300
Тиреотропин 280, 296, 299,
300, 317
Тканевое дыхание
– комплексы 77–85
Ткань
– соединительная 446
– жировая 186, 311, 360, 446
– костная 460

– мышечная 430
– нервная 485
– α -токоферол 346–350
Толерантность к глюкозе 104,
161
Трансаминазы 225, 226, 239
Транскортин 309
Транскриптон 268
Транскрипция 268–279
– инициация 268
Трансляция 271
Транспорт
– кислорода 177, 390
– углекислого газа 177, 394
– электронов 326
Трансферазы 63
Трансферрин 31, 375, 379, 400,
489, 530
Треонин 9, 11, 220
Триацилглицеролы 75, 158,
169, 170, 184, 186, 190, 415
– гидролиз 180
– путь глицерофосфатный
180
– β -моноацилглицерольный
180
Трипсин 218, 222, 223
Триптофан 9, 14, 219, 220, 225,
237, 338, 344, 419, 485, 495
Тромбин 357, 376, 384, 385,
387, 397
Тромбоксан (ы) 196, 280
Тромбоциты 197, 378, 383
Тропомизин 431, 432, 434,
435, 444
Тропонин 431, 432, 434–436,
443, 444

У

Убиквитин 509
Убихинол см. Коэнзим Q
Убихинон см. Коэнзим Q
Углеводы 31, 103, 105, 106–117
– переваривание 117–119
УДФ-галактоза см.
Уридиндифосфатгалактоза

Уравнение

- Гендерсона – Хассельбаха 392
- Лайнуивера – Бэрка 53
- Михаэлиса – Ментен 52

Уридиндифосфатглюкоза 122

Уробилиноген 404, 423, 427,

Ф

ФАД см. Флавинадениндинуклеотид

Фактор (ы) белковый (ые)

- инициации 268, 273
- Касла внутренний 341
- терминации 273
- свертывания крови 383
- элонгации трансляции 273

ФАФС см. 5-Фосфоаденозин-5-фосфосульфат

Фенилаланин 13, 14, 71, 220, 239

Фенилкетонурия 235

Фенилпируват 237, 239

Ферменты

- аллостерические 58
- влияние температуры 54
- внутриклеточные 40
- единицы активности 39
- кинетика реакций 39, 47
- классификация 63
- конформация 23
- мембранные 65
- методы выделения 7
- механизм действия 41
- органоспецифичные 45, 73
- рН-оптимум 53
- регуляция активности 39
- специфичность действия 43
- субстратная 43
- стереоспецифичность 44
- формы множественные 38, 44 (см. также: Изоферменты)

Ферритин 374

Фетопротеин 528

Фибрин 383, 402

Фибриноген 383, 387, 488, 530

Фибринолиз 382, 387, 388

Фибронектин 446, 456, 457

Флавинадениндинуклеотид 342

Флавиномононуклеотид 342

Флавопротеины 80

ФМН см. Флавиномононуклеотид

Фосфатаза-глюкозо-6-фосфата 135, 137

- кислая 74, 465
- щелочная 74, 538

Фосфатидилинозитол (ы)

- биомембран 286, 269, 290, 293
- биосинтез 172

Фосфатидилсерин (ы)

- биомембран 172, 173, 387, 388, 435

Фосфатидилхолин (ы)

- биомембран 171, 172, 417, 435, 498,
- биосинтез 209, 210

Фосфатидилэтаноламин

- биомембран 71, 173, 181,
- биосинтез 209, 210

5'-Фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС) 450

3-Фосфоглицерат 132, 500

3-Фосфоглицериновый альдегид 144, 145

Фосфоглюкомутаза 122, 125, 149

Фосфоглицераткиназа 132

Фосфоглицератмутаза 132

Фосфоглюконатдегидрогеназа 143

Фосфоенолпируват 133

Фосфоенолпируваткарбоксикиназа 137, 139

Фосфолипаза (ы)

- А 180
- А₂ 180, 349
- С 284, 286, 288, 297
- D 180

Фосфолипиды 182, 183, 186, 189, 298, 324, 328, 357, 384, 406, 420, 435, 470
– биомембран 184, 334, 504
– классификация 171
– синтез 209
– функции 171
Фосфопротеины 31, 464, 470, 478
Фосфорибозил-1-пирофосфат 254, 255, 257, 258, 260, 262
Фосфоорилаза (ы) 125, 126, 152, 157, 260
Фосфорилирование 60, 121, 131, 141, 142, 252, 260, 276, 285, 289, 291, 293, 294, 309, 442, 493, 514, 516, 535
– окислительное 77, 85, 87, 89, 303, 327, 412, 440
– разобщители 88
– субстратное 90, 103, 132
Фосфофруктокиназа 131, 137, 141
Фрагменты Оказаки 265
Фруктоза 104, 110, 114, 118, 147, 148, 405, 409
Фруктозо-1-фосфат 147–149, 413
Фруктозо-6-фосфат 131, 144–145, 329
Фруктозо-1,6-дифосфат 112, 131–132, 137, 139, 329
Фруктозо-2,6-дифосфат 131, 137, 141–142, 412–413, 482
Фруктозо-бифосфатаза 61, 104
Фруктозурия 148
Фруктокиназа 148
ФСГ см. Фоллитропин
Фумараза 98
Фумарат 98, 238, 256
Фтор 462, 463

Х

Хиломикроны 66, 185, 186, 190, 192

Химотрипсин 218, 222, 223, 397, 528
Хлориды 369, 468, 472, 474, 512
Холестерол 75, 99, 176, 191, 216, 315, 378, 406, 472,
– биосинтез 214
– липопротеинов 191
– роль печени 214
– свободный 176
– эфиры 176
Холецистокинин 223
Холин 210, 225, 498
Холинэстераза 429
Хондроитинсульфат 146, 461
Хроматография 6
Хромопротеины 30
Хрящ 261, 339, 353, 446, 449, 451, 460, 461

Ц

цАМФ см. АМФ циклический
цГМФ см. ГМФ циклический
Центрифугирование 187, 252, 378
Цепь дыхательная 61, 79, 85, 135
Церебровиды 174, 175, 505
Церулоплазмин 30, 397, 399, 400
Цикл
– трикарбоновых кислот 92, 95, 100, 158, 203, 327
– Кори 441
– мочевинообразования 232
– пентозофосфатный 142
Цинга 339, 455
Цинк 467
Цистеин 9, 11, 20, 206, 233, 453, 467, 478
ЦДФ-холин 210
Цитозин 244, 252, 266, 267
Цитохромы 31, 83, 84, 225, 531
Цитохромоксидаза 84
Цитрат 96
Цитрат-синтаза 95
Цитруллин 232

Ш

Шапероны 274, 282, 283, 510

Щ

Щитовидная железа 299

Э

Эйкозаноиды 280

Эластаза 218, 223, 455

Эластин 197, 435, 446, 451,
455, 456, 458

Электрофорез 6, 17, 26, 116,
193, 376

— в полиакриламидном геле
26, 37, 379

Эмульгирование жира 178

Энзимопатии 40, 69, 71, 118,
217, 234

Эндонуклеазы 267

Эндопептидазы 218, 221, 223,
298

Эндоцитоз 152, 188, 300, 519

Эндорфины 19, 297, 490

Эндоплазматическая сеть 67

Энзимодиагностика 40, 45, 71,
73

Энтерокиназа 222

Эпифиз 230

Эритроциты 117, 227, 330, 377,
389, 396, 422, 425, 531

Эстрадиол 279, 315, 316

Эстрогены 315–317 (см. также:

Гормоны половых желез)

Эстрон 279, 315

Этанол 75, 134, 409, 411, 511,
512

Этаноламин 209, 225

СОДЕРЖАНИЕ

От авторов	3
ГЛАВА 1. БИОХИМИЯ АМИНОКИСЛОТ, ПЕПТИДОВ, БЕЛКОВ	5
ГЛАВА 2. ФЕРМЕНТЫ	38
ГЛАВА 3. ВВЕДЕНИЕ В БИОЭНЕРГЕТИКУ (ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ)	76
ГЛАВА 4. ВВЕДЕНИЕ В МЕТАБОЛИЗМ. ЦЕНТРАЛЬНЫЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПУТИ	90
ГЛАВА 5. БИОХИМИЯ И ОБМЕН УГЛЕВОДОВ	102
ГЛАВА 6. ХИМИЯ И ОБМЕН ЛИПИДОВ	163
ГЛАВА 7. ОБМЕН БЕЛКОВ	218
ГЛАВА 8. ХИМИЯ И ОБМЕН НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ, БИОСИНТЕЗ БЕЛКА	241
ГЛАВА 9. БИОХИМИЯ ГОРМОНОВ	278
ГЛАВА 10. ВЗАИМОСВЯЗЬ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ	321
ГЛАВА 11. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ. ВИТАМИНЫ	332
ГЛАВА 12. БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ. ВОДА И МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА	359
ГЛАВА 13. ХИМИЯ КРОВИ	376
ГЛАВА 14. БИОХИМИЯ ПЕЧЕНИ	403

ГЛАВА 15. БИОХИМИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ	430
ГЛАВА 16. БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ...	446
ГЛАВА 17. БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ	485
ГЛАВА 18. ОСНОВНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И МОЧИ И ИХ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ЗНАЧЕНИЕ	521
ПРИЛОЖЕНИЯ	544
<i>Приложение 1. Биохимические основы канцерогенеза</i>	544
<i>Приложение 2. Молекулярные механизмы образования и резорбции костной ткани, остеопороз</i>	583
<i>Приложение 3. Роль цитохрома P450 в метаболизме лекарственных препаратов</i>	626
Литература	654
Предметный указатель	655

Учебное издание

Таганович Анатолий Дмитриевич
Олецкий Эдуард Иванович
Коневалова Наталья Юрьевна
Лелевич Владимир Валерьевич

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Учебник

2-е издание, исправленное

Редактор *Т.К. Хваль*
Художественный редактор *Т.В. Шабунько*
Технический редактор *А.Н. Бабенкова*
Корректор *Т.К. Хваль*
Компьютерная верстка *А.Н. Бабенковой*

Подписано в печать 25.02.2016. Формат 84×108/32. Бумага офсетная.
Гарнитура «Times New Roman». Офсетная печать. Усл. печ. л. 35,28.
Уч.-изд. л. 38,9. Тираж 1000 экз. Заказ

Республиканское унитарное предприятие «Издательство “Вышэйшая школа”».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/3 от 08.07.2013.
Пр. Победителей, 11, 220048, Минск.
e-mail: market@vshph.com <http://vshph.com>

Республиканское унитарное предприятие «Издательство
“Белорусский Дом печати”».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 2/102 от 01.04.2014.
Пр. Независимости, 79, 220013, Минск.

Биологическая **ХИМИЯ**

