

Ю. К. ВАСИЛЕНКО

# БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ



**Ю.К. Василенко**

# **Биологическая химия**

*Учебное пособие*

**Утверждено Департаментом образовательных  
медицинских учреждений и кадровой политики  
Минздрава России в качестве учебного пособия для  
студентов медицинских и фармацевтических вузов,  
обучающихся по специальности 060108 – Фармация**

**Пятигорск  
2005**

**УДК 614.27:658.6(470+571)**

**ББК 51.1(2)2**

**Б63**

**Автор:** профессор кафедры биологической химии и микробиологии  
Пятигорской государственной фармацевтической академии  
Росздрава, доктор медицинских наук **Юрий Киприанович**  
**Василенко**

**Рецензенты:**

Профессор кафедры биохимии Санкт-Петербургского государственного  
медицинского университета им. И.П. Павлова доктор медицин-  
ских наук **И.Г. Щербак**;

Заведующий кафедрой биохимии Башкирского государственного меди-  
цинского университета, доктор медицинских наук, член-  
корреспондент АНРБ и РАЕН, академик РЭА, заслуженный  
деятель науки РБ **Ф.Х. Камилов**;

Старший преподаватель, кандидат медицинских наук **Ф.А. Сагидуллин**

**Василенко, Ю.К.**

**Б63** Биологическая химия / Ю.К. Василенко / Учебное пособие. – ГОУ ВПО  
Пятигорская ГФА Росздрава. – Пятигорск, 2005. – 418 с.

**ISBN 5-94122-021-9**

В учебном пособии на современном уровне науки рассмотрены основные  
разделы биохимии – вопросы статической, динамической, функциональной и  
фармацевтической биохимии. Материал изложен в соответствии с программой  
по биологической химии и с учётом междисциплинарных связей этого пред-  
мета с другими дисциплинами. Особое внимание уделено медико-биологи-  
ческой и фармацевтической направленности материала, необходимой для изу-  
чения некоторых разделов практической фармации и медицины. Учебное по-  
сobie предназначено для студентов медицинских и фармацевтических вузов.

**УДК 614.27:658.6(470+571)**

**ББК 51.1(2)2**

**ISBN 5-94122-021-9**

**© Василенко Ю.К., 2005**

## Предисловие

В предлагаемом издании рассматриваются материалы по основным разделам биохимии – статической и метаболической биохимии, функциональной и фармацевтической биохимии, предусмотренные типовой учебной программой по биохимии, утвержденной в 2001 г. ГОУ ВУНМЦ Минздрава РФ.

Биологическая химия в фармацевтическом вузе является базовой дисциплиной, тесно связанной с проблемами химии, биологии, медицины, фармации. Одним из источников биохимии является физиология. Недаром вначале в течение длительного времени она называлась физиологической химией. Биохимические сведения лежат в основе познания функций организма: функции пищеварения, функции дыхания, функции мышц, функции нервной системы, функции крови, гормональной функции и др. Важнейший вклад в современную биохимию вносит биоорганическая химия. Биохимия тесно связана с фармакологией. Современная фармакология, изучающая влияние биогенных и чужеродных для организма веществ, по существу является прикладной физиологией и биохимией, направленной на лечебные цели. Наиболее глубокие знания действия лекарств и ядов основываются на исследовании места их вторжения в процессы обмена веществ. Знание структуры, свойств и превращения биологически активных веществ в организме необходимо не только для понимания механизма их действия, но и для оценки назначаемых дозировок, учета возможной несовместимости, зависимости лечебной активности от лекарственной формы, создания новых лекарственных форм, для определения их биологической активности и стандартизации, для возможности их промышленного производства и т.д. В этой связи биохимия является одной из важнейших теоретических дисциплин в системе фармацевтического образования. Эффективное изучение биохимических закономерностей позволит легко усваивать последующие дисциплины будущему провизору и в процессе профессиональной деятельности ориентироваться в особенностях обмена веществ у здорового и больного человека, понимать механизм действия различных лекарственных веществ и их превращения в организме. Эти знания позволят понять молекулярные механизмы возникновения лекарственной устойчивости микроорганизмов и привыкания к лекарствам больного человека, создадут интерес к поиску новых лекарственных средств и расшифровке механизма их действия.

## Введение

Биологическая химия – это наука о химическом составе живой материи и химических процессах, протекающих в живом организме и лежащих в основе его жизнедеятельности.

Как самостоятельная наука современная биохимия сложилась на рубеже XIX и XX веков на фундаменте двух наук – физиологии и органической химии. Существенными предпосылками для ее формирования послужили работы Реомюра и Спаланцани по физиологии пищеварения, открытие Ю. Либиха белков, жиров и углеводов как основных компонентов живого и растительного организмов, открытие природы спиртового брожения исследованиями Л. Пастера, Ю. Либиха, М.М. Манасеиной, Бухнера, синтез химическим путем веществ, присущих живым организмам – мочевины (работы Ф. Велера), жиров (работы М. Бертло), углеводов (работы А.М. Бутлерова), пептидов (работы А.Я. Данилевского, Э. Фишера), выделение в чистом виде ферментов уреазы и пепсина (Дж. Самнером и Дж. Норттроном), открытие Ф. Мишером нуклеиновых кислот, Н.И. Лукиным и К. Функом – витаминов и др.

XX век ознаменовался крупными открытиями в области биохимии – таких как выяснение способа хранения и передачи генетической информации, расшифровка структуры нуклеиновых кислот и белков, выяснение механизмов биосинтеза этих соединений, установление основных принципов и механизмов трансформации энергии в биологических системах, расшифровка реакций обмена веществ в их взаимодействии, роль каталитических свойств белков и др. Выдающееся место в развитии биохимии заняли исследования О. Варбурга, А. Сент-Дьерди, Ленинжера, Кребса, Митчела по изучению биологического окисления и связи с другими процессами обмена веществ, Л. Полинга, В. Кори, Ф. Сенджера, Дж. Уотсона, Ф. Крика, С. Очао, А. Корнберга, Э. Чаргаффа по структуре белков и нуклеиновых кислот и их роли в механизме наследственности. Среди творцов науки отечественные ученые всегда занимали достойное место. А.Я. Данилевский, А. Бах, В.И. Палладин, В.А. Энгельгард, А.Е. Браунштейн, А.Н. Белозерский, С.Е. Северин, А.И. Опарин, В.Н. Орехович, А.С. Спирин, И.Н. Овчинников, В.П. Скулачев и др. внесли существенный вклад в развитие биохимии, получив мировую известность.

Непреодолимой задачей биохимии является исследование функционального значения всех веществ и продуктов их превращения в организме, исследование закономерностей перехода физико-химических процессов, совершающихся в живых телах, в физиологическую функцию.

В этой связи усилия ученых сосредотачиваются на дальнейшем изучении таких узловых проблем биохимии как строение макромолекул (главным образом, белков и нуклеиновых кислот высших организмов), их искусственное по-

лучение, закономерности их функциональной активности, молекулярная организация и функционирование клетки, ее органелл и биомембран, механизм ферментативной активности, молекулярные механизмы заболеваний и др.

Для решения этих проблем широко используются разнообразные биохимические методы и подходы, позволяющие раскрывать состав и превращения веществ организма как *in vitro*, так и *in vivo*. Следует подчеркнуть, что эти методы постоянно совершенствуются в зависимости от достижений научно-технического прогресса.

В качестве биохимического материала используются целые организмы, изолированные органы, срезы органов и тканей, их гомогенаты и экстракты, субклеточные компоненты, изолированные клетки в виде микроорганизмов (особенно часто дрожжи и бактерии) и изолированных клеток животных и человека или клеток в культуре, и, наконец, очищенные ферменты. Схематично техника простейшего биохимического эксперимента, призванная выяснить пути образования природного химического вещества в клетке, состоит в определении изменения в содержании вещества, судьбу которого хотя бы выяснить, после внесения его на определенное время в инкубационную среду известного состава при температуре 25-37°C и содержащую живую ткань. Одновременно определяют содержание других веществ, которые появились в инкубационной жидкой среде в результате возможной трансформации исследуемого вещества.

Для разделения и выделения веществ, образующих сложные смеси в живых системах, их последующей идентификации и количественного определения, применяют целый ряд физико-химических методов: метод меченых атомов, хроматографические, электрофоретические, спектрофотометрические, колориметрические, полярографические, манометрические и др. методы. Для биохимических исследований субклеточных структур используют гисто- и цитохимические методы и фракционирование субклеточных структур путем центрифугирования.

Для изучения обмена веществ на целых организмах широко применяют метод индикаторов, который сводится к тому, чтобы по известному введенному участнику обмена веществ проследить его судьбу в организме. Важнейшим методом этого рода является метод меченых атомов.

Обычно используются или стабильные изотопы элементов, отличающиеся по массе от обычных элементов, или радиоактивные изотопы. Измерение первых производится по массе с помощью масспектрографа, вторых – по степени радиации с помощью счетчика Гейгера-Мюллера и сцинтилляционного счетчика. Из стабильных изотопов в биохимических исследованиях используются изотопы водорода с массой – 2 (дейтерий,  $H^2$ ), азота с массой 15 ( $N^{15}$ ) и углерода с массой 13 ( $C^{13}$ ). Из радиоактивных изотопов применяются изотопы фосфора ( $P^{32}$ ), углерода ( $C^{14}$ ), серы ( $S^{35}$ ), йода ( $I^{131}$ ), железа ( $Fe^{59}$ ), натрия ( $Na^{24}$ ), кальция ( $Ca^{45}$ ) и др.

Данный метод отличается высокой чувствительностью (определяется  $10^{-17}$  г вещества), намного превышающий весовой ( $10^{-6}$  г) и спектроскопические методы ( $10^{-10}$  г).

С помощью метода изотопной индикации можно изучать скорость обменных процессов, скорость обновления различных веществ в организме, пути всасывания, распределения, перемещения и выведения тех или иных (в том числе лекарственных) веществ, пути распада и синтеза веществ и другие вопросы. С этой целью, пометив изотопами молекулы исследуемого вещества и введя его в организм, ищут затем изотопы или содержащие их соединения в органах и тканях организма или в соединениях, полученных из тканей организма.

Одно из наиболее значительных открытий, сделанных с помощью метода изотопных индикаторов, является открытие факта непрерывного обновления в процессе метаболизма компонентов некоторых клеток. Так, в частности, было установлено, что белки печени обновляются на 50% за 7 суток.

Помимо изотопного метода, состояние обмена веществ изучают на целых организмах в условиях нормы, стресса или патологии с помощью нагрузки организма введением определенного вещества, искусственного нарушения реакционных путей обмена, путем перфузии отдельных органов. Так, на животных с экспериментальным диабетом, у которых с мочой выводятся большие количества глюкозы, было установлено, что введение таких аминокислот как серин, аланин, глутаминовая кислота, вызывает усиление выведения глюкозы с мочой. На этом основании было сделано заключение о том, что эти кислоты могут служить метаболическими предшественниками глюкозы. В аналогичных опытах введение аминокислот тирозина и фенилаланина увеличивает выведение кетоновых тел (бета оксимасляной кислоты, ацетоуксусной кислоты и ацетона). Это послужило основанием для утверждения, что данные кислоты могут быть метаболическими предшественниками ацетоуксусной кислоты.

В опытах с перфузией изолированной печени было установлено, что главным образом в клетках печени происходит образование кетоновых тел, мочевины и превращение некоторых аминокислот в глюкозу. Один из наиболее важных экспериментальных подходов, используемых для изучения промежуточного обмена веществ в интактных организмах, основывается на получении генетических мутантов, утративших способность синтезировать тот или иной фермент в активной форме. При таких дефектах субстрат поврежденного фермента накапливается и выделяется в среду, что позволяет давать характеристику отдельным звеньям метаболизма.

Методика тканевых срезов была введена Варбургом. При этом методе тонкие срезы тканей помещают в специальные сосудики с питательным раствором, где дыхание ткани обеспечивается за счет диффузии кислорода. Сосудики, соединенные с манометрами, помещают в водяную баню и для лучшего

питания тканей встряхивают. С помощью такой установки можно изучать тканевое дыхание, т.е. потребление кислорода и выделение углекислоты отдельными тканями, клеточными культурами, микробными клетками, а при дополнительных приспособлениях – также течение различных обменных реакций, в том числе ферментных.

Существенным ограничением в изучении метаболизма при применении клеточных срезов является существование клеточных мембран, которые действуют как барьеры между содержимым клетки и питательным раствором. Разрушение клеточных мембран делает возможным рассмотрение процессов внутри клетки, что послужило основанием для разработки биохимических методов с измельчением клеток и тканей, т.е. с гомогенатами и клеточными фракциями. При разрушении клеточных мембран становится возможным непосредственный контакт между веществами клеточного содержимого и добавленными реагентами, что позволяет определить роль ферментов, коферментов и субстратов для исследуемого процесса. Эти методы усовершенствовались в результате применения клеточного фракционирования путем простого центрифугирования, центрифугирования в градиенте сахарозы и др. С помощью такого подхода стало возможным выделение отдельных клеточных органоидов: митохондрий, ядер, рибосом и др. Последнее позволило изучить внутриклеточную локализацию тех или иных процессов обмена веществ. К примеру, удалось установить, что в митохондриях клеток сосредоточены ферменты, катализирующие процессы окисления органических веществ и связанные с ними процессы фосфорилирования.

Основным ограничением указанного способа явилось нарушение естественных структур, с которыми связано нормальное течение ферментных реакций, а также гетерогенность (неоднородность) исследуемых кашеи и гомогенатов (наличие различных клеток и их частей), что затрудняет представление о механизме отдельных биохимических реакций. В этой связи были разработаны методы получения однородных исследуемых систем, например, ферментов в растворенной форме. При этом, конечно, терялись последние связи со структурой клетки, но в результате появлялась возможность исследовать изолированное вещество химическими и физико-химическими методами (хроматографическими, спектрофотометрическими и др.) и устанавливать его химический состав и структуру, определять молекулярную массу и т.д.

Постоянное совершенствование методов исследования позволило постепенно перейти от изучения проявлений жизненных явлений на организменном, органном, тканевом уровнях к их изучению на клеточном, и, наконец, на молекулярно-атомном уровне. Сформировалось новое, направление – молекулярная биология, которую можно охарактеризовать как науку, исследующую биологические процессы на молекулярно-атомном уровне. Молекулярная биология изучает структуру, функции и синтез белков и нуклеиновых кислот. Это



связано с тем, что функция нуклеиновых кислот – передача генетической информации, есть химический процесс, протекающий на молекулярном уровне, равно как и многие стороны функциональной активности белков (ферментативный катализ, сократительная реакция миозина, образование мембран, обратимое связывание и перенос метаболитов, иммунологическая активность) происходят на молекулярном уровне и являются предметом изучения молекулярной биологии.

Развитие молекулярной биологии в значительной мере определяет в настоящее время достижения биохимии и биологии в целом.

Биохимия и молекулярная биология имеют большое значение для развития науки и практики во многих областях народного хозяйства. Достижения биохимической науки и биохимических методов нашли широкое применение не только в фармации, медицине и сельском хозяйстве, но и в целом ряде отраслей промышленности и даже в создании новых отраслей промышленности (микробиологическая промышленность) и разработке новой промышленной технологии (биотехнологии).

Большое значение биохимии в различных областях знаний о живом вызвало подразделение биохимии в зависимости от объекта исследований на биохимию человека и биохимию животных, биохимию растений и биохимию микроорганизмов. Существенным обоснованием для такого подразделения послужили значительные различия в структуре и, особенно, в характере обмена веществ в этих живых объектах. В силу особой важности познания не только нормальной, но и нарушенной жизнедеятельности человека, выделяют медицинскую биохимию как самостоятельную область биохимии.

Познание нормальных биохимических процессов, протекающих в здоровом организме человека, позволяет понять в дальнейшем природу различных заболеваний, поскольку они представляют по существу отклонения в биохимических реакциях, протекающих в организме. Не менее существенно знание данных биохимической науки и ее методов для диагностики и лечения заболеваний, для успешного функционирования лабораторной службы в системе здравоохранения.

На понимании биохимических механизмов жизнедеятельности здорового и больного организма зиждутся современные принципы поиска и создания лекарственных средств. Знания особенностей обмена веществ в норме и патологии служат основой для раскрытия механизма действия различных лекарственных веществ и их превращений (метаболизма) в организме. Последнее позволяет уяснить молекулярные механизмы возникновения лекарственной устойчивости микроорганизмов и привыкания к лекарствам больного человека. Фармация в настоящее время располагает большим количеством препаратов животного и растительного происхождения, как, например, витамины, гормоны, их синтетические заменители, ферменты, антибиотики, различные метабо-

литы (АТФ, глутаминовая кислота и др.), а так же антиметаболиты, различные препараты, получаемые из крови и плазмы животных, биогенные стимуляторы и многие другие, которые обладают широким диапазоном действия. Изучение химической природы и физико-химических свойств препаратов животного происхождения и растительного происхождения, их превращений в организме необходимо не только для понимания характера их действия, но и для оценки назначаемых дозировок, учета возможной несовместимости лекарств, для сохранения активности отдельных лекарственных форм при их приготовлении, перевозке, хранении.

В этой связи биохимия является одной из важнейших теоретических дисциплин в системе фармацевтического образования. В настоящее время сформировалось самостоятельное направление – фармацевтическая биохимия, основанное на применении биохимических закономерностей и методов исследования применительно к запросам практической фармации.

Биологическую химию, изучающую химическую природу веществ, входящих в состав живых организмов, и превращения этих веществ в организме, подразделяют на две основные части: статическую биохимию, занимающуюся преимущественно анализом химического состава организма, и динамическую биохимию, изучающую всю совокупность превращений веществ в организме. В силу того, что биохимия призвана выяснить связь химических превращений в организме с деятельностью органов и тканей, выделяют функциональную биохимию, исследующую химические процессы, лежащие в основе функциональной активности физиологических систем организма. Все эти части биохимии неразрывно связаны между собой и направлены на всестороннее изучение свойств живого организма, отличающих его от неживой материи.

Изучение свойств живого организма показало, что живое качественно отличается от неживого постоянно происходящим обменом веществ и энергии с окружающей средой, расходуемых на построение и поддержание характерной для живого сложной структурной организации. Наряду с обменом веществ и энергии и сложной структурной организацией, наиболее примечательными свойствами живых организмов является их способность к воспроизведению себе подобных (явление наследственности) и самостоятельному реагированию на воздействия окружающей среды изменением своего состояния и свойств (явление изменчивости). При этом каждая составная часть живого организма вплоть до молекул имеет специальное назначение и выполняет определенную функцию, что и служит предметом изучения биохимией совместно с рядом других биологических наук.

Живое вещество значительно отличается от неживого по элементарному составу и включает более 70 элементов из химических элементов, обнаруженных в земной коре. Основными элементами, из которых построены живые организмы, являются: углерод, кислород, азот, водород, фосфор, сера. Некоторые

авторы вместо серы в эту группу относят кальций. Другие элементы в организме присутствуют в меньшем количестве (до 1%). Это так называемые олигобиогенные элементы. В эту группу относятся ионы натрия, калия, магния, кальция (или серы), хлора.

Иногда в эту группу относят железо. Наконец, ряд элементов обнаруживаются в следовых количествах (в количестве меньшем 0,01%) и называются микроэлементами или микробиогенными элементами (Al, Cu, Co, Zn, Mn, Si, I, Mo и др.). Значение элементов заключается в том, что они входят в состав клеток тканей, в состав сложных белков и гормонов, являются активаторами (коферментами) ферментов, поддерживают осмотическое давление в организме, создают электрический потенциал на мембранах клеток.

В живых организмах 99% массы большинства клеток состоит из водорода, кислорода, азота, углерода. Относительное содержание этих элементов в молекулах живых организмов выше, чем в земной коре, и, очевидно, эти молекулы наиболее подходят для обеспечения жизнедеятельности организма. Эти элементы легко образуют наиболее прочные ковалентные связи посредством спаривания электронов, так как имеют малые относительные атомные массы. Они легко реагируют друг с другом, а также с серой и фосфором, поэтому в органические молекулы включаются функциональные группы (гидроксильные – OH, карбоксильные – COOH, аминогруппы – NH<sub>2</sub>, тиоловые – SH, фосфатные – OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> и др.). Углерод, азот и кислород образуют и ординарные и двойные связи, а атомы углерода и азота – тройные связи, что позволяет создавать самые разнообразные химические соединения. Особое место среди элементов занимает углерод.

Ковалентно связанные атомы углерода могут создавать цепные или циклические каркасы множества органических молекул. В соединениях углерода спаренные электроны вокруг каждого атома углерода способны давать тетраэдрическую конфигурацию, поэтому органические молекулы обладают различной трехмерной структурой. Наконец, для соединений углерода характерно явление изомерии. Таким образом, углерод как никакой другой химический элемент, может создавать стабильные молекулы различных конфигураций и размеров, с большим числом различных функциональных групп, что обеспечивает течение химических процессов, характерных для живого организма. Это объясняет, почему основу органических соединений, из которых построен организм, составляют атомы углерода.

Основными органическими соединениями, из которых построен организм, являются белки, нуклеиновые кислоты, углеводы и липиды. Кроме того, в состав организма входят неорганические соединения: вода и минеральные вещества.

Огромное значение для состояния органических веществ и их взаимодействия в химических реакциях, протекающих в организме, имеет строение мо-

лекул воды, определяющее ряд ее важных свойств. Полярность молекул воды и способность образовывать водородные связи делают воду превосходным растворителем полярных и нейтральных молекул. Вода также диспергирует с образованием мицелл многие соединения, содержащие неполярные (гидрофобные) группы и соединения с сильно гидрофобными и сильно полярными группами (амфипатические вещества), например, мыла и липиды. Эти свойства воды имеют большое значение, так как все реакции обмена веществ в живом организме протекают, в основном, в водных растворах, а многие из них с участием воды как компонента реакций.

Биологические жидкости (плазма крови, лимфа, ликвор и др.) являются многокомпонентными водными дисперсными системами. Белки в них находятся в виде коллоидного раствора, липиды – в виде эмульсий, а углеводы – в виде недиссоциированных молекул. Ряд веществ (минеральные соли, органические кислоты и основания) присутствуют в виде ионов, т.е. находятся в форме истинного раствора.

В структурах живой клетки сосуществуют гидрофильные и гидрофобные соединения. Эти соединения образуют единые структурные и функциональные системы за счет связей между их полярными группами или за счет веществ, входящих в них, с различными функциональными группами. К примеру, в биологических мембранах молекулы липидов за счет полярных групп связываются с полярными группами белковых молекул, образуя в итоге единую структурную и функциональную систему – мембрану.

Химические соединения в живом организме крайне сложны и разнообразны. Наряду с молекулами воды и углекислоты, имеющими небольшие молекулярные массы, в нем находятся гигантские молекулы, молекулярная масса которых измеряется сотнями тысяч и миллионами дальтон (к примеру, молекулы белков и нуклеиновых кислот). Так, молекула глобулярного белка глутаматдегидрогеназы имеет длину 13,0 нм и молекулярную массу 1 млн. дальтон, а молекула фибриллярного белка миозина – 160 нм и молекулярную массу 470000 дальтон. Они могут быть сфотографированы в электронном микроскопе.

Численность органических молекул даже у одноклеточного организма – бактерии – очень большая. В частности, в бактерии *Escherichia coli* (*E. coli*) обнаружено около 5000 различных органических соединений, из них – примерно 3000 различных белков и около 1000 различных нуклеиновых кислот. В организме человека – приблизительно 5 млн. различных белков. Каждый вид организмов располагает собственным набором молекул белков и нуклеиновых кислот.

Подсчитано, что все виды живых организмов содержат приблизительно  $10^{10}$ - $10^{12}$  различных белков и около  $10^{10}$  различных нуклеиновых кислот. Строение большинства из них ввиду сложности неизвестно. К счастью для исследователей, оказалось, что разнообразные высокомолекулярные органиче-

ские молекулы в живых организмах построены из сочетаний большого числа простых, сравнительно небольших молекул, играющих роль строительных блоков. Связываясь друг с другом ковалентными связями (пептидными, фосфодиэфирными, дисульфидными и др.) в длинные цепи, эти блоки и образуют высокомолекулярные молекулы (макромолекулы) белков, нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов.

Строительными блоками белков являются аминокислоты, нуклеиновых кислот – мононуклеотиды, полисахаридов – моносахариды и с известными оговорками строительными блоками большинства липидов – жирные кислоты. В этой связи все 3000 белков в клетке *E. coli* построены из сочетания всего лишь 20 различных аминокислот, а 1000 различных нуклеиновых кислот – из сочетания 8 мононуклеотидов. Примечательно, что все строительные блоки – аминокислоты, мононуклеотиды, моносахариды, жирные кислоты – одни и те же у всех видов организмов и разнообразие макромолекул объясняется различием в сочетании этих строительных блоков в макромолекулах различных организмов. Хотя строение большинства макромолекул еще не расшифровано, выяснение их структуры уже находится в пределах возможностей современной биохимии.

На уровне макромолекул прослеживается довольно четкая функциональная специализация: нуклеиновые кислоты выступают как носители и передатчики генетической информации, обеспечивая воспроизведение себе подобных организмов, белки являются, главным образом, катализаторами химических реакций (т.е. ферментами), с помощью которых реализуется генетическая информация и протекает обмен веществ и энергии, часть из них является структурными элементами, полисахариды выполняют, с одной стороны, роль источников энергии, а с другой – строительного материала, наконец, липиды служат, во-первых, структурными элементами биологических мембран, а во-вторых, формой хранения энергии.

В отличие от макромолекул, функция их строительных блоков – нуклеотидов, аминокислот, моносахаридов, жирных кислот – в жизнедеятельности организма более многогранна. Так, нуклеотиды не только используются для строения молекул нуклеиновых кислот, но выступают как коферменты и макроэргические вещества. Аминокислоты не только служат строительными блоками белков, но и служат предшественниками многих важных для организма веществ: гормонов, пигментов, порфиринов, алкалоидов и др.

Молекулярная организация живого начинается с простых молекул-предшественников: двуокиси углерода, воды, атмосферного азота, поступающих из внешней среды. С помощью ферментативных реакций через ряд промежуточных продуктов метаболизма при нарастающей молекулярной массе они превращаются в биомолекулы аминокислот, моносахаридов, жирных кислот и др., выступающие как строительные блоки и имеющие средние молеку-

лярные массы. Далее эти строительные блоки, связываясь ковалентно друг с другом, образуют макромолекулы, обладающие высокой молекулярной массой: белки, полисахариды, липиды, нуклеиновые кислоты. Макромолекулы, в процессе метаболизма при помощи нековалентных связей (ионных взаимодействий, водородных связей, гидрофобных взаимодействий и вандерваальсовых сил) соединяются в надмолекулярные комплексы (липопротеиды, нуклеопротеиды и др.), а затем, в основном, при помощи нековалентных взаимодействий объединяются в органеллы клеток. Таким путем формируются все более высокие уровни молекулярной организации живого, формируется молекулярная организация живой клетки. Клетка – это не просто замкнутый сосуд, в котором попросту перемешаны в растворе все присущие ей биомолекулы, макромолекулы и надмолекулярные комплексы. Она имеет определенную структуру. Клетка имеет множество органелл (ядро, митохондрии, лизосомы, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи), окруженных липопротеиновыми мембранами, наделенными каталитической (ферментативной) активностью и препятствующие свободному проникновению растворённых веществ. Внешняя оболочка клетки также является липопротеиновой мембраной с избирательной проницаемостью. Большинство ферментов в клетке находится внутри тех или иных органелл и лишь часть в цитоплазме. Поэтому все биохимические процессы, текущие в клетке, локализованы в определенных ее местах, т.е. компартментарны. В ядре происходит биосинтез нуклеиновых кислот, обеспечивающий явление наследственности; в митохондриях совершаются окислительные процессы, обеспечивающие клетку энергией; для лизосом характерно гидролитическое расщепление поступающих в клетку веществ и т.д.

Формирование сложной организации живого осуществляется благодаря обмену веществ и энергии, т.е. способности живых организмов использовать из внешней среды энергию и вещество в удобной для утилизации форме и затем возвращать в среду эквивалентные количества энергии и веществ в другой форме, менее для них пригодной.

При этом существование живых организмов подчиняется законам термодинамики. С точки зрения термодинамики живые организмы являются неравновесной открытой системой, находящейся в стационарном состоянии, системой, извлекающей из внешней среды утилизируемую в процессе жизнедеятельности свободную энергию, в результате чего происходит возрастание неупорядоченности среды (энтропии) и поддержание, сохранение организма как единой упорядоченной системы. В этом проявляется «антиэнтропийность» живого организма.

Единый процесс обмена веществ и энергии складывается из двух противоположных процессов: ассимиляции (анаболизма, синтеза) и диссимиляции (катаболизма, распада). В результате ассимиляции и диссимиляции происходит постоянное обновление входящих в живой организм структурных образований и

в целом организма. Без обновления в процессе обмена веществ живой материи невозможен сам процесс существования и развития организма.

Поглощаемую из внешней среды энергию живые организмы получают в форме либо солнечного света, либо энергии химических связей, которая затем преобразуется для выполнения химической работы по биосинтезу веществ в организме, осмотической работы, по транспорту веществ в клетку, механической работы сокращения и передвижения в пространстве и др.

Как у ауотрофных (главным образом, растениях), так и у гетеротрофных (главным образом, животных) организмов процесс улавливания, сохранения и реализации поступающей из внешней среды энергии связан с функционированием универсальной для всех видов живых существ системой АТФ – АДФ (аденозинтрифосфат – аденозиндифосфат). Благодаря специфическим ферментативным реакциям, поступающая из внешней среды энергия, с одной стороны, может аккумулироваться в макроэргических связях АТФ путем фосфорилирования АДФ, а с другой стороны, энергия макроэргических связей АТФ в процессе его расщепления до АДФ может трансформироваться для биосинтеза клеточных компонентов, механической, электрической и других видов работы живого организма.

Все химические реакции обмена веществ и энергии связаны друг с другом общими промежуточными продуктами и протекают в организме при наличии в нем ферментов – высокоспецифических биологических катализаторов белковой природы. Ферменты служат движущей силой обмена веществ. Контроль всех метаболических процессов живой клетки осуществляется посредством тонкого регулирования локализации, количества и каталитической активности различных ферментов. Благодаря специфичности ферментов и их высокой каталитической эффективности в организме совершаются в сложной последовательности множество взаимосвязанных реакций, обеспечивающих направленность биохимических процессов, что, в свою очередь, обеспечивают нормальную жизнедеятельность организма.

Процесс метаболизма способен саморегулироваться. Регуляция в организме осуществляется на разных уровнях и особенно сложна у высокоорганизованных организмов, имеющих нервную и гормональную систему. Как гормональная, так и нервная регуляция реализуются путем химических реакций с участием ферментов. На молекулярном уровне саморегуляция в простейшем случае осуществляется ингибированием по типу обратной связи. При накоплении метаболитов (промежуточных продуктов обмена) до некоторой критической величины они выступают как сигнал или ведут себя как ингибиторы, обеспечивающие уменьшение синтеза ферментов клеткой или уменьшение скорости ферментативных реакций, приводящих к образованию этих метаболитов.

На активность ферментов воздействуют вещества, поступающие в клетку извне. В этой связи жизнедеятельность организма тесно связана с условиями окружающей среды и питания и организм может существовать лишь при определенных параметрах внешней среды: давления, температуры, радиации и др. На этом фундаментальном явлении основывается возможность воздействия на процессы жизнедеятельности лекарственными веществами и биологически активными соединениями, что в конечном итоге, служит целью фармации и медицины в целом.



## 1. Химия белков

### 1.1. Общая характеристика белковых веществ

Белками (протеинами – от греч. «протос» – первичный) называются высокомолекулярные природные соединения, построенные из  $\alpha$ -аминокислот.

Белки являются количественно самыми важными составными частями всех живых, в особенности, высокоорганизованных организмов. В тканях млекопитающих белки составляют 10-20% от массы свежих тканей, тогда как углеводы и липиды – всего 1-5%. Следовательно, белки образуют основной материал клеток. Белки являются также самой многообразной группой всех составных частей живых систем. Известны многие тысячи белковых веществ, а число возможных разновидностей белка может быть огромным ( $10^{10}$ - $10^{12}$ ). Одновременно белки крайне специфичны и их строение является характерным для тех живых организмов и видов живых существ, в которых они образуются.

Белковые вещества выполняют многочисленные физиологические функции, из которых наиболее общей и важной является каталитическая. Все процессы обмена веществ идут с помощью каталитических белков, называемых энзимами или ферментами. Следует заметить, что в живых организмах каталитическими свойствами обладают только белки.

Группа биологов в Колорадском университете (США), изучая процесс созревания РНК (силай-синг) установила, что рибосомальная РНК тетраимены (одноклеточный организм) без участия белков (ферментов) способна терять незначительный участок («интрон»), к одному из концов РНК присоединять ГТФ, замыкаться в кольцо. Таким образом, РНК выполняла функции каталитического белка – фермента. Это имеет огромное значение для понимания того, как появилась и развилась первичная жизнь на земле. По-видимому, РНК сама, без помощи белка, способна перестраивать свою структуру и снимать копии с себя самой.

Белковые вещества выполняют также опорную и защитную функцию, составляя основное вещество хрящей, костей и кожи. Кроме того, белки являются существенными составными частями всех клеточных и внутриклеточных структур, т.е. несут структурную функцию.

Белок (актомиозин) мышц обеспечивает в организме сократительную функцию. Способность к росту и размножению тесно связана с наличием в организме особых сложных белков – нуклеопротеидов.

Растворимые белки поддерживают в организме коллоидно-осмотическое давление и кислотно-щелочное равновесие.

В виде антител белки являются специфическими защитными веществами против патогенных (болезнетворных) организмов и их продуктов. Белки вы-

полняют также транспортную функцию (к примеру, гемоглобин транспортирует газы крови). Наконец, белки в виде гормонов участвуют в регуляции функций организма.

Таким образом, белки и их производные играют решающую роль во всех процессах и явлениях жизни, вследствие чего их считают главными носителями жизни.

Белки и пептиды, обладающие высокой биологической активностью, получили широкое применение в фармации в качестве лекарственных препаратов. Это, главным образом, ферменты и такие гормональные препараты как инсулин, СТГ, АКТГ, окситоцин, вазопрессин, гастрин и др., то есть гормоны пептидной и белковой структуры. Ряд из них в настоящее время получают синтетическим путем. В частности, синтезированы гормоноподобные вещества пептидной природы: брадикинин, окситоцин и его аналоги, гастрин и его производные и др., получившие название пептидных биорегуляторов. В последнее время синтетическим путем получены инсулин и интерферон. В нашей стране разработана и осуществлена технология пептидного синтеза, с помощью которой в промышленных масштабах начато получение пептидных биорегуляторов, широко применяемых в медицине, сельском хозяйстве, фармакологических и биохимических исследованиях.

В лечебной практике в медицинских учреждениях широко используются продукты неполного гидролиза белков и свободные аминокислоты. Так, гидролизаты белков вводят в кровоток при заболеваниях, сопровождающихся потерями белка. Аминокислоту метионин используют при заболеваниях печени, почек, при отравлениях тяжелыми металлами, а глутаминовую кислоту – при заболеваниях центральной нервной системы, эпилепсии и заболеваниях сердечно-сосудистой системы.

Уже первые химические анализы элементарного состава белков показали, что независимо от источников получения, белковые вещества содержат, кроме С, О и Н, обязательно N и обычно, некоторое количество S. Белки обычно содержат около 50% углерода, 7% водорода, 23% кислорода, 16% азота и до 3% серы. Кроме того, в некоторых белковых веществах встречается фосфор, а также микроэлементы (Fe, Mn, I, Cu, Zn и др.).

## **1.2. Физико-химические свойства белков**

Белки обладают характерными физико-химическими свойствами. Белки представляют собой высокомолекулярные соединения. Их молекулярные массы охватывают область от нескольких тысяч до многих миллионов дальтон. Нижней границей молекулярной массы белков условно принято считать величину 6000 (аналогичные по строению соединения с более низкой молекулярной массой называют полипептидами). Молекулярные массы многих широко

распространенных белков достигают нескольких десятков и сотен тысяч и даже миллионов (гемоглобин –  $M = 64500$ , каталаза –  $M = 250000$ , синтетаза жирных кислот –  $M = 2300000$ ).

Обычные методы определения молекулярной массы для белков неприемлемы. Молекулярная масса белков очень велика, поэтому их сравнительно концентрированные (по процентной концентрации) растворы молярно еще слишком разбавлены, что не позволяет с достаточной точностью произвести определение, например, путем измерения точки замерзания.

Для определения молекулярной массы белков используют различные методы, имеющие разную степень точности.

**1. Аналитические методы.** Определение содержания иона металла (в металлопротеидах) или определение аминокислотного состава белка позволяет вычислить минимальные молекулярные массы белка, используя определенные формулы расчетов.

**2. Электронная микроскопия.** С помощью электронного микроскопа можно непосредственно наблюдать и фотографировать отдельные молекулы белков, так как их минимальные размеры в большинстве случаев превышают 2,0 нм, а разрешающая способность электронного микроскопа равна приблизительно 2,0 нм, а лучших образцов – даже 0,2-0,3 нм. Расчет молекулярной массы белка идет по формуле, где учитывается число белковых молекул, объем раствора и сухой вес белка исходного раствора.

**3. Измерение осмотического давления белка** с последующим расчетом молекулярной массы по концентрации.

**4. Диффузный метод**, при котором молекулярная масса определяется, исходя из скорости диффузии при растворении белка.

**5. Измерение скорости седиментации** (т.е. оседания) белковых частиц под влиянием центробежной силы, развивающейся в ультрацентрифугах, дающих до 60000 и более оборотов в минуту, с последующим расчетом их размеров и молекулярной массы белка. Скорость осаждения белковых частиц наблюдается при помощи специального оптического приспособления. Этот метод, предложенный Сведбергом, наиболее точен.

Определение разными методами молекулярной массы многих белков дало, в общем, довольно хорошо совпадающие результаты.

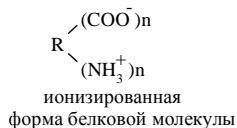
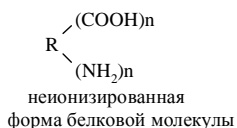
Молекулы белков вследствие необычайно больших размеров называются макромолекулами. Огромные размеры молекул белковых веществ хорошо объясняют и ясно выраженный коллоидный характер их водных растворов. Это значит, что диаметр белковых частиц в растворе превышает 0,001 мкм (следует напомнить, что коллоидным характером обладают растворы именно таких веществ, диаметр частиц которых находится в пределах 0,1-0,001 мкм).

Мощным фактором стабилизации коллоидных систем белка является заряд их частиц. Частицы коллоидного раствора белка имеют электрические заряды одного знака, благодаря чему они не соединяются в более крупные частицы и не осаждаются.

С коллоидным характером растворов белков связаны их способность рассеивать луч света (явление Тиндаля) и неспособность проходить через поры животных и растительных мембран. Последнее используется для очистки коллоидных растворов белка от находящихся в них низкомолекулярных веществ. Этот метод носит название диализа.

Следует обратить внимание на то, что протоплазма всех видов клеток как животного, так и растительного происхождения, представляет собой коллоидную систему, состоящую, главным образом, из воды и белковых веществ. Белки обладают гидрофильными свойствами, т.е. имеют большое сродство к воде. В присутствии гидрофильного коллоида возможно связывание большого количества воды и образование растворов, представляющих собой все степени перехода от золя до геля. Наличие определенной формы, упругости, вязкости и др. свойств у тканей организма в значительной степени связано как с особым строением входящих в состав клеток белковых молекул, так и с их гидрофильным характером.

Многие свойства белков объясняются тем, что белки содержат большое число катион- и анионобразующих групп, в результате чего они почти при всех условиях являются полиэлектролитами или амфотерными электролитами. В ионизации участвуют, главным образом, боковые цепи (так называемые радикалы – R) остатков аминокислот, образующих белковую молекулу. В молекуле белка, главным образом, за счет этих радикалов всегда имеется некоторое количество свободных карбоксильных групп и аминогрупп. Карбоксильная группа, способная к диссоциации с образованием H-ионов, придает белку характер слабой органической кислоты и несет отрицательный заряд. Наличие в молекуле белка аминогрупп определяет основные свойства белка, поскольку к аминогруппе может присоединиться протон (H-ион) с образованием  $R-NH_3^+$  - ионов, имеющих положительный заряд.

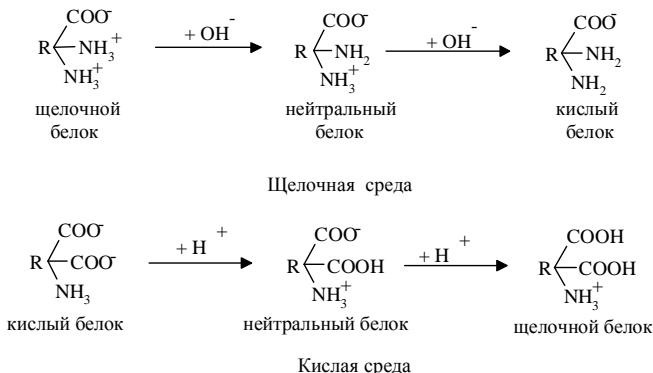


n – число функциональных групп.

Если частицы белка несут одновременно положительный и отрицательный заряд и практически являются электронейтральными частицами, то сум-

марный заряд их равен нулю и они называются амфионами или цвиттерионами. В форме амфионов частицы белка лишены одного из основных факторов стабилизации коллоидного раствора – заряда, и поэтому легко выпадают в осадок.

Белковые частицы в растворе могут, однако, менять свой заряд в зависимости от pH среды:



При появлении заряда белковые частицы могут передвигаться в электрическом поле, как все заряженные частицы, к противоположно заряженному полюсу. В кислой среде белок передвигается к катоду (имеющему отрицательный заряд), а в щелочной среде – к аноду (имеющему положительный заряд). Это передвижение называется электрофорезом (дословно – «движение посредством электрического тока»).

В процессе титрования белка от предельно кислой до предельно основной формы существует значение pH раствора, при котором средний заряд белка равен нулю. Это значение pH носит название изоэлектрической точки. При значении pH, равном изоэлектрической точке, данный белок не перемещается в электрическом поле. Ниже изоэлектрической точки каждый белок ведет себя как катион (т.е. как частичка с положительным зарядом), выше изоэлектрической точки – как анион (т.е. как частичка с отрицательным зарядом), и это тем сильнее выражено, чем больше он удален от изоэлектрической точки. Положение изоэлектрической точки специфического белка зависит от рода и числа имеющихся групп, способных к ионизации, т.е. в основном от боковых цепей (радикалов) аминокислотных остатков белка. Изоэлектрические точки большинства белков близки к 7, что обусловлено приблизительно одинаковым содержанием в молекуле белка кислых и основных остатков. Однако существуют и такие белки, у которых изоэлектрические точки существенно отличны от 7. Так, например, пепсин (протеолитический фермент, функционирующий в

сильнокислой среде желудка) имеет изоэлектрическую точку, близкую к 1, а изоэлектрические точки протаминов близки к 12.

Суммарный заряд молекулы – одна из наиболее специфичных характеристик индивидуального белка. Поскольку электрофоретическая подвижность сильно зависит от заряда, электрофорез оказался превосходным методом для изучения состава сложных белковых смесей и для их разделения. При электрофорезе электрическое поле возбуждается при погружении двух электродов постоянного тока в буферный раствор, содержащий белок. Быстрота передвижения зависит, в первую очередь, от электрического заряда частиц и приложенного напряжения. Для сравнения полученных результатов вне зависимости от примененного поля было введено понятие электрофоретической подвижности, что означает скорость передвижения белка на единицу силы поля. Эта величина может быть привлечена для идентификации белков.

Электрофоретическая подвижность частиц белка, очевидно, должна быть при прочих равных условиях тем выше, чем больше величина заряда белковой частицы. Поскольку заряд белка изменяется в зависимости от значения pH, то от него зависит и электрофоретическая подвижность. При данном значении концентрации водородных ионов наибольшей электрофоретической подвижностью обладают частицы тех белков, изоэлектрическая точка которых наиболее отличается от значения pH раствора. Таким образом, смесь, состоящая из белков с различными изоэлектрическими точками, может быть легко разделена на отдельные фракции при подходящих значениях pH путем электрофореза.

Наиболее широко применяются два варианта электрофоретического метода: фронтальный (или свободный), при котором ионы свободно перемещаются в растворе в кюветах U-образной формы, и зонный электрофорез, при котором используется поддерживающая среда, где и осуществляется движение вещества. Поддерживающей средой или носителем служат обычно специальная бумага, целлюлоза, крахмальные гели или блоки, пористые полиуретаны и полиакриламидные гели.

Одним из характерных физико-химических свойств белков является их растворимость. Поскольку большинство белков обладают гидрофильными свойствами, они легко растворяются в воде. Растворение белка в воде связано с гидратацией каждой его молекулы, т.е. образованием вокруг частицы белка электростатически заряженных (водных) оболочек. Следует заметить, что вода, входящая в состав гидратного слоя, обладает иными свойствами, чем обычная вода, и называется структурированной водой.

Белки, так же как и низкомолекулярные вещества, подчиняются классическим физико-химическим законам растворимости, которые находят свое выражение в правилах фаз. Сообразно с этим правилом, растворимое вещество полностью растворяется в растворителе до момента насыщения. После дости-

жения момента насыщения дальнейшее добавление вызывает появление и увеличение осадка, но не растворение вещества.

Различные белки обладают различной растворимостью. Одни из них хорошо растворимы в воде, другие в водных растворах солей той или иной концентрации, третьи в смеси воды и полярных растворителей, к примеру, спирта. Наконец, имеются белки, нерастворимые в обычных белковых растворителях. В чистых органических растворителях белки не растворяются. Растворимость большинства белков зависит от ионной силы, концентрации водородных ионов (т.е. pH), концентрации органических растворителей, температуры.

Для большинства белков характерно, что при низких ионных силах растворимость белка увеличивается, а при высоких – уменьшается. Зависимость растворимости большинства белков от pH при данной ионной силе описывается U-образной кривой с минимумом растворимости вблизи изоэлектрической точки. С повышением температуры до определенной величины растворимость белка повышается. Наконец, с увеличением концентрации органического компонента растворимость белка уменьшается. Последнее связано с тем, что при возрастании концентрации, например, такого органического растворителя как ацетон, уменьшается способность водных растворителей гидратировать заряженные группы белков. Следует подчеркнуть, что любой фактор, нарушающий гидратацию молекул белка, будет в то же время понижать растворимость белка в воде и способствовать выпадению его в осадок. К таким дегидратирующим (водоотнимающим) веществам относятся органические вещества: спирт (этиловый или метиловый), ацетон, а также концентрированные растворы нейтральных солей щелочных металлов (сернокислого аммония, сернокислого натрия, хлористого натрия и т.д.). Выделение белка из раствора после прибавления различных солей носит название высаливания. Процесс высаливания белка зачастую не связан с потерей белком способности вновь растворяться в воде после удаления водоотнимающего вещества (к примеру, методом диализа). Различные белки высаливаются при неодинаковых концентрациях солей, что позволяет проводить их разделение.

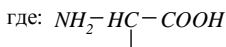
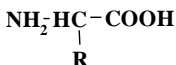
Для очистки и фракционирования белка существуют специальные методы. К их числу относятся:

- Осаждение солью.
- Изоэлектрическое осаждение.
- Осаждение органическими растворителями (ацетоном, метанолом, этанолом и др.).
- Ионообменная хроматография.
- Адсорбционная хроматография.
- Электрофорез.
- Молекулярные сита.
- Кристаллизация.

### 1.3. Химический состав белков

Описанные свойства белков зависят от их химического строения. Белки представляют собой, как мы уже говорили, высокомолекулярные соединения, молекулы которых построены из остатков альфа - аминокислот, т.е. аминокислот, у которых первичная аминогруппа и карбоксильная группа связаны с одним и тем же углеродным атомом ( первым атомом углерода, считая от карбоксильной группы).

Из белков путем гидролиза выделяют 19-32 вида  $\alpha$  -аминокислот, но обычно получают 19-20  $\alpha$ -аминокислот (это так называемые протеиногенные аминокислоты). Общая их формула:

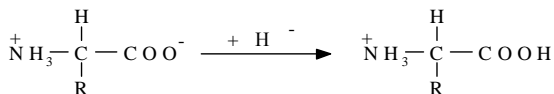


общая часть для всех аминокислот, а R-радикал, т.е. группировка атомов в молекуле аминокислоты, связанная с  $\alpha$ -углеродным атомом и не принимающая участие в формировании хребта полипептидной цепи.

Среди продуктов гидролиза многих белков обнаружены пролин и оксипролин, которые содержат иминогруппу  $=\text{NH}$ , а не аминогруппу  $\text{NH}_2$ , и собственно являются иминокислотами, а не аминокислотами.

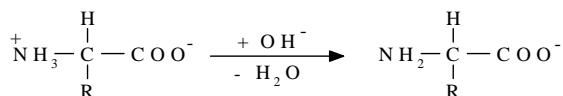
Аминокислоты – бесцветные кристаллические вещества, плавящиеся с разложением при высоких температурах (выше  $250^\circ\text{C}$ ). Легко растворимы в большинстве своем в воде и не растворимы в эфире и др. органических растворителях.

Аминокислоты содержат одновременно две группы, способные к ионизации: карбоксильную, обладающую кислотными свойствами, и аминогруппу, обладающую основными свойствами, т.е. аминокислоты являются амфотерными электролитами. В сильноокислых растворах аминокислоты присутствуют в виде положительно заряженных ионов, а в щелочных растворах – в виде отрицательных ионов.



кислая среда



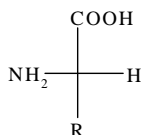


щелочная среда

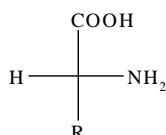
В зависимости от значения pH среды любая аминокислота может обладать то положительным, то отрицательным зарядом.

Значение pH среды, при котором частицы аминокислот электронейтральны, обозначается как их изоэлектрическая точка.

Все получаемые из белков аминокислоты, за исключением глицина, оптически активны, так как они содержат в  $\alpha$ -положении асимметрический атом углерода. Из 18 оптически деятельных белковых аминокислот 10 характеризуются правым +/- и 8 - левым -/- вращением плоскости поляризованного луча, но они все относятся к L-ряду. Конфигурацию L- и D-аминокислот можно представить в следующем виде:

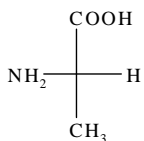


*L-ряд*

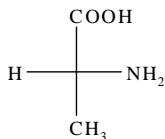


*D-ряд*

Например, аминокислоты L- и D-аланины будут иметь такие формулы:



*L-/- аланин*



*D-/-аланин*

В некоторых природных соединениях и биологических объектах (к примеру, в бактериях и в составе антибиотиков грамицидина и актиномицина) обнаружены аминокислоты D-ряда. Физиологическое значение и обмен L- и D-аминокислот различно. Аминокислоты D-ряда, как правило, или совершенно не усваиваются животными и растениями, или усваиваются плохо, поскольку ферментные системы животных и растений специфически приспособлены к L-аминокислотам. Примечательно, что оптические изомеры можно различить по вкусу: аминокислоты L-ряда горькие или безвкусные, а аминокислоты D-ряда обычно сладкие.

Для всех аминокислот характерны реакции, в которых принимают участие аминогруппы или карбоксильные группы, или те и другие одновременно.

Кроме того, радикалы аминокислот способны к разнообразным взаимодействиям. Радикалы аминокислот вступают в реакции:

1. Солеобразования.
2. Окислительно-восстановительные реакции.
3. Реакции ацилирования
4. Этерификации
5. Амидирования
6. Фосфорилирования.

Эти реакции, приводящие к образованию окрашенных продуктов, широко применяют для идентификации и полуколичественного определения белков и индивидуальных аминокислот, к примеру, ксантопротеиновая реакция (амидирование), реакция Миллона (солеобразование), биуретовая (солеобразование), нингидриновая реакция (окисление) и др.

Физические свойства радикалов аминокислот также весьма разнообразны. Это касается, прежде всего их объема, заряда. Разнообразие радикалов аминокислот по химической природе и физическим свойствам обуславливают полифункциональные и специфические особенности образуемых ими белков.

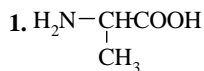
Классификацию аминокислот, встречающихся в белках, можно проводить по различным признакам: по строению углеродного скелета, по содержанию -COOH и -NH<sub>2</sub> групп и др. Наиболее рациональна классификация, основывающаяся на различиях в полярности радикалов аминокислот при pH 7, т.е. при pH, соответствующей внутриклеточным условиям. В соответствии с этим, аминокислоты, входящие в состав белков, можно подразделить на четыре класса:

- аминокислоты с неполярными радикалами;
- аминокислоты с незаряженными полярными радикалами;
- аминокислоты с отрицательно заряженными полярными радикалами;
- аминокислоты с положительно заряженными полярными радикалами.

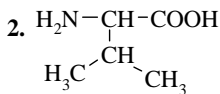
Рассмотрим строение этих аминокислот.

#### ***1. Аминокислоты с неполярными R-группами (радикалами)***

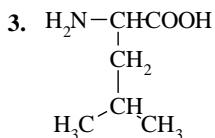
В этот класс входят четыре алифатические аминокислоты (аланин, валин, лейцин, изолейцин), две ароматические аминокислоты (фенилаланил, триптофан), одна серусодержащая аминокислота (метионин) и одна иминокислота (пролин). Общим свойством этих аминокислот является их более низкая растворимость в воде, по сравнению с полярными аминокислотами. Структура их такова:



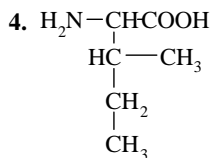
*Аланин (α-аминопропионовая кислота)*



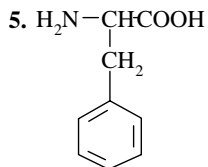
*Валин (α-аминоизовалериановая кислота)*



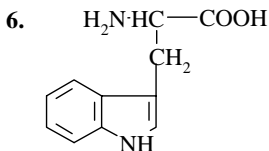
*Лейцин (α-аминоизокапроновая кислота)*



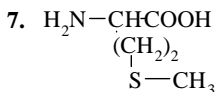
*Изолейцин (α-амино-β-метилвалериановая кислота)*



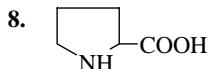
*Фенилаланин (α-амино-β-фенилпропионовая кислота)*



*Триптофан (α-амино-β-индолпропионовая кислота)*



*Метионин (α-амино-γ-метил-тиомасляная кислота)*

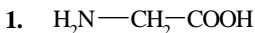


*Пролин (пирролидин-α-карбоновая кислота)*

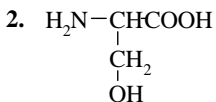
## **II. Аминокислоты с незаряженными полярными R-группами (радикалами)**

Этот класс включает одну алифатическую аминокислоту – глицин (гликокол), две гидроксиаминокислоты – серин и треонин, одну серусодержащую аминокислоту – цистеин, одну ароматическую аминокислоту – тирозин и два амида – аспарагин и глутамин.

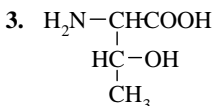
Эти аминокислоты более растворимы в воде, чем аминокислоты с неполярными R-группами, так как их полярные группы могут образовывать водородные связи с молекулами воды. Структура их такова:



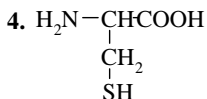
*Глицин или гликокол (α-аминоуксусная кислота)*



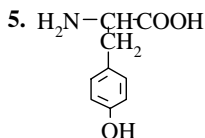
*Серин (α-амино-β-гидроксипропионовая кислота)*



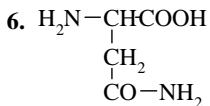
*Треонин (α-амино-β-гидроксимасляная кислота)*



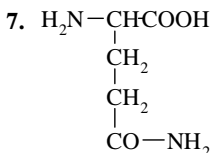
*Цистеин (α-амино-β-тиопропионовая кислота)*



*Тирозин (α-амино-β-парагидроксифенилпропионовая кислота)*



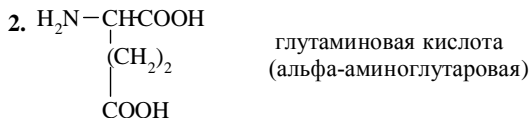
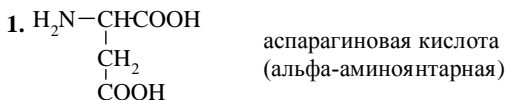
*Аспарагин*



*Глутамин*

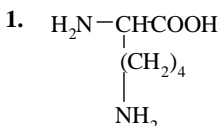
**III. Аминокислоты с отрицательно заряженными полярными R-группами (радикалами)**

К этому классу относят две дикарбоновые аминокислоты – аспарагиновую и глутаминовую, имеющие при pH 7 суммарный отрицательный заряд.

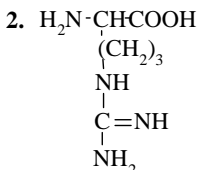


**IV. Аминокислоты с положительно заряженными полярными R-группами (радикалами)**

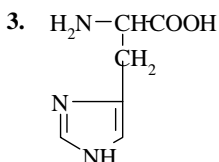
В этот класс входят две основные аминокислоты – лизин и аргинин и слабоосновная аминокислота – гистидин, несущие при pH 7 суммарный положительный заряд. Структура их такова:



*Лизин (α,ε-диаминокапроновая кислота)*



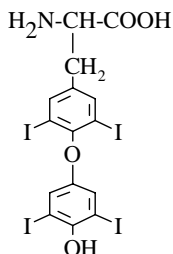
*Аргинин (α-амино-δ-гуанидинвалериановая кислота)*



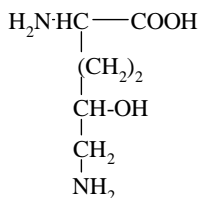
*Гистидин (α-амино-β-имидазолпропионовая кислота)*

Индивидуальный белок не обязательно содержит все перечисленные аминокислоты, а аминокислоты, которые постоянно входят в состав различных белков, содержатся в них в неравных количествах.

Помимо постоянно встречающихся в белках аминокислот, имеются аминокислоты, присутствующие лишь в отдельных белках. Так, в состав коллагена и желатины входят аминокислоты гидроксизин, а в состав тиреоглобулина – аминокислота тироксин, обладающая гормональными свойствами.



*Тироксин*

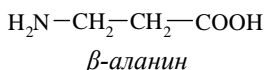


*Гидроксизин*

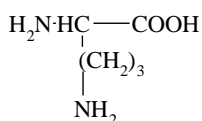
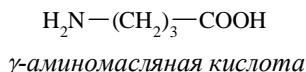
Встречающиеся в белках редкие аминокислоты представляют собой производные обычных аминокислот и в генетическом отношении отличаются тем, что не кодируются кодонами.

Кроме приведенных аминокислот, входящих в состав белков, из растений, животных и микроорганизмов выделено около 200 так называемых непротеиногенных аминокислот, которые существуют в свободной форме, либо в связанном состоянии (к примеру, в низкомолекулярных пептидах). В своем большинстве они являются производными  $\alpha$ -аминокислот, входящих в состав белков, а так же могут быть  $\beta$ -,  $\gamma$ -, и  $\delta$ -аминокислотами. Назовем некоторые из них:

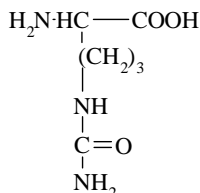
1)  $\beta$ -аланин входит в состав витамина В<sub>3</sub> (пантотеновой кислоты) и ее производного – кофермента А; содержится также в природных пептидах карнозине и ансерине.



2)  $\gamma$ -аминомасляная кислота (аминалон) содержится в растениях, а также в ткани мозга млекопитающих, некоторых земноводных и птиц. Участвует в качестве химического агента в передаче нервных импульсов (медиатор торможения).



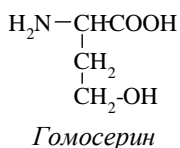
3) Орнитин



и 4) Цитрулин

Это – важные промежуточные продукты биосинтеза мочевины. Цитруллин – непосредственный предшественник аргинина.

5) Гомосерин – важный промежуточный продукт обмена, содержится в растительных и животных тканях.



После того, как было выяснено, что аминокислоты, имеющие разнообразные функциональные группы, являются структурными элементами (мономерами), из которых построены белковые вещества, встал вопрос о способе связи отдельных аминокислот между собой в белковой молекуле.

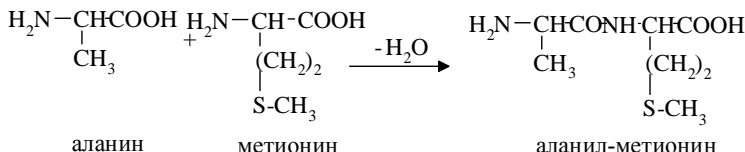
На основании многочисленных исследований в настоящее время признано, что в нативных белках имеются следующие виды связей:

- 1) ковалентные связи в виде пептидных и дисульфидных связей;
- 2) нековалентные связи в виде водородных связей, ионных связей, неполярных связей.

Пептидная (амидная) связь является основной сильной ковалентной связью, соединяющей аминокислоты в составе белковой молекулы.

Предположения о том, что белки синтезируются в результате образования пептидных связей были впервые высказаны Э. Фишером и Ф. Гофмейстером на основе идей, выдвинутых А.Д. Данилевским.

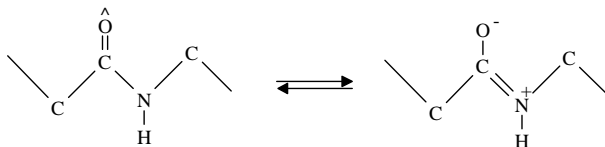
Пептидные связи образуются только между  $\alpha$ -карбоксильными группами и  $\alpha$ -аминогруппами соседних аминокислот. Теоретически пептидная связь возникает при реакции двух аминокислот с выделением воды.



Структуры, возникающие в результате образования пептидных связей между остатками аминокислот, называются пептидами. Пептид, содержащий два аминокислотных остатка, называется дипептидом; содержащий три остатка – трипептидом и т.д. Соединения, состоящие из многих аминокислотных остатков, называются полипептидами.

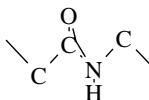
В наименовании пептидов первым указывается остаток аминокислоты, несущий свободную  $\alpha$ -аминогруппу. Если аминокислота вступает в пептидную связь своей карбоксильной группой, то она рассматривается как ацильный радикал и соответственно приобретает окончание «ил». Концевая аминокислота, содержащая свободную карбоксильную группу, не меняет своего названия. С электронной точки зрения, для пептидной связи можно написать две возможные формулы: когда пептидная связь простая и когда двойная.





В действительности распределение электронов не соответствует ни одной из этих формул, а лежит между ними за счет сопряжения электронов. Это явление обозначают как мезомерию или резонанс, а обе формулы – как мезомерные пограничные структуры.

Часто для мезомерной системы употребляют упрощенную манеру написания:

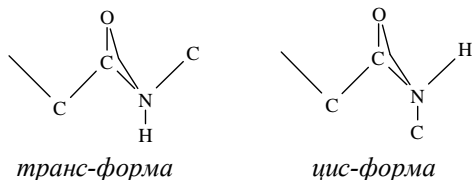


При мезомерии в силу сопряжения электронов у кислородного атома карбонильной группы имеется излишек электронов, а у атома азота иминогруппы – недостаток, в силу чего карбонильная группа приобретает повышенную электроотрицательность, а иминогруппа – повышенную электроположительность.

Благодаря мезомерии связь между C- и N-атомами пептидной связи является не чисто простой (одинарной) и не чисто двойной связью, а по своим свойствам находится между этими обоими типами связи. Частично двойной характер пептидной связи можно доказать, исходя из расстояния между атомами. При простой связи расстояние между C- и N-атомами равно 0,147 нм, при пептидных связях оно укорочено до 0,132 нм. По Полингу резонанс ведет к увеличению стабильности, что объясняет относительную прочность пептидных связей. Это обстоятельство имеет два важных последствия:

- 1) иминогруппа (=NH) пептидной связи не обладает заметно выраженной способностью отщеплять или присоединять протон при pH от 0 до 14;
- 2) свободное вращение атомов вокруг -C-N – связи в пептидах отсутствуют, поэтому атомы пептидных групп лежат в одной плоскости, что получило название копланарность.

При этом возможны лишь две конфигурации (цис- и транс-форма), из которых только транс-форма встречается в естественных пептидах и белках.



Всё это имеет чрезвычайно важное значение для процесса формирования трехмерной структуры полипептидных цепей.

Так как при образовании пептидных связей в протеинах участвует только  $\alpha$ -аминогруппы и смежные  $\alpha$ -карбоксильные группы, каждая отдельная аминокислота вносит в пептидную цепочку одинаковый структурный элемент в виде  $\text{-HN-CH-CO-}$ . Эти элементы образуют «хребет» полипептидной цепи. Отсюда «хребет» или «основной скелет» пептидной цепи характеризуется абсолютным единообразием строения. При этом радикалы (R) аминокислотных остатков расположены снаружи по бокам пептидной цепи (хребта, основы пептидной цепи). Радикалы соседних аминокислотных остатков полипептидной цепи также, как и пептидные группы, находятся в транс-положении т.е. на противоположных сторонах хребта пептидной цепи.

Различные аминокислотные остатки пептидной цепи отличаются величиной этих радикалов. Могут быть маленькие радикалы (как  $\text{-H}$  у глицина или  $\text{-CH}_3$  у аланина) или большие радикалы (как у триптофана или лейцина). Существуют как неполярные радикалы (у валина., лейцина, фенилаланина и др.), так и незаряженные полярные (у тирозина, цистеина, серина и др.) и заряженные полярные радикалы (у лизина, аргинина, глутаминовой кислоты и др.). Все функциональные группы белков находятся в боковых цепях (радикалах), а также в концевых аминной и соответственно карбоксильной группах на свободных концах пептидной цепи. Свободные карбоксильные группы в радикалах поставляются аспарагиновой и глутаминовой кислотами, свободные аминогруппы – лизином. Концевые  $\text{-NH}_2$  и  $\text{-COOH}$ -группы и радикалы, способные к ионизации, определяют кислотно-основные свойства полипептидов (суммарный заряд).

Пептидная цепочка белков в принципе не разветвляется, так как только  $\alpha$ -аминогруппа и соседняя с ней  $\alpha$ -карбоксильная группа участвуют в образовании пептидных связей. Длина цепочки может быть очень различной, от нескольких десятков до многих сотен остатков аминокислот.

В настоящее время принято считать, что в одной цепочке не может быть больше 600 аминокислотных остатков (коэффициент поликонденсации). Лю-

бой белок, обладающий молекулярной массой свыше 50000-60000<sup>1</sup>, составлен из двух или более полипептидных цепей.

Существуют белковые молекулы, состоящие из одной пептидной цепочки, в то время как другие построены из нескольких полипептидов. Так, молекула рибонуклеазы состоит из одной полипептидной цепи, образованной 124 остатками аминокислот. Молекула инсулина состоит из двух полипептидных цепей, одна цепь содержит 21 аминокислоту, другая 30 аминокислот.

Возможность различных перестановок в пептидной цепочке, несмотря на ограниченное число аминокислот, почти безгранично многообразна и трудна для расшифровки. В настоящее время расшифрована последовательность расположения аминокислотных остатков более 2500 белков, и, в частности, молекул инсулина, рибонуклеазы, лизоцима, химотрипсина, трипсиногена, пепсина, миоглобина, гемоглобина, цитохрома С, папаина, клупеина и др.

Длинными полипептидными цепями белков, в которых расшифрована последовательность аминокислот, являются такие белки как бычий трипсиноген (229 аминокислотных остатков), бычий химотрипсиноген (245 аминокислотных остатков), глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа из мышц омара (333 аминокислотных остатка), аспаргатаминотрансфераза из сердечной мышцы свиньи (412 аминокислотных остатков), ДНК-зависимая-РНК-полимераза (около 5000 аминокислотных остатков).

Строение полипептидной цепи двух последних белков было изучено у нас в стране Ю.А. Овчинниковым.

Помимо пептидной связи, другой важной ковалентной связью в белках является дисульфидная, которая образуется в результате отщепления водорода из SH-групп двух цистеиновых остатков. Дисульфидные связи – это прочные ковалентные связи, которые могут соединять как обособленные полипептидные цепи (например, у инсулина), так и отдельные точки одной цепи (например, у рибонуклеазы), что приводит к образованию в ней петель.

Для многих протеинов такие дисульфидные связи являются решающим структурным фактором. С помощью этих ковалентных, устойчивых связей фиксируются на определенных местах различные отрезки пептидных цепей.

Помимо ковалентных связей в белках существуют нековалентные связи: водородная, ионная, неполярная.

Важную роль в поддержании структуры белковых молекул играют водородные связи.

Поскольку в пептидной связи обнаруживается избышек электронов у кислородного атома в карбонильной группе и недостаток электронов у атома азота в иминогруппе, то в пептидной связи электроотрицательность

---

<sup>1</sup> Молекулярная масса отдельной аминокислоты примерно равна 100-120. Молекулярные массы белков колеблются приблизительно от 6 000 до 1 000 000 и выше.

СО-группы больше, чем в обычной кетогруппе, аналогично усилена электроположительность NH-группы. Поэтому кислородный атом карбонильной группы пептидной связи способен конкурировать за водородный атом, который связан с атомом азота иминной группы другой пептидной связи. Этот водородный атом притягивается атомом кислорода первой пептидной связи. Таким образом, водородный атом как связующее звено образует своего рода мост между атомами кислорода и азота, так называемый водородный мостик. Расстояние между атомами кислорода и азота, связанными водородным мостиком, составляет приблизительно 0,28 нм. Энергия связи относительно мала, но все же больше, чем энергия водородных мостиков между молекулами воды. Водородные мостики могут возникать и между радикалами соответствующих аминокислотных остатков, как, например, между имидазольным радикалом гистидина и гидроксильной группой тирозина или серина разных пептидных цепей или внутри одной и той же цепи между первой и четвертой пептидными группами (межпептидные водородные связи).

Свободные карбоксильные группы и аминогруппы (концевые и в радикалах) остатков аминокислот пептидной цепи белка в физиологической области pH (т.е. при pH 7) находятся в ионизированной форме. Между ними, поэтому возникают сильные электростатические силы притяжения, которые обозначают как электровалентные или ионные связи.

Наконец, между неполярными остатками различных аминокислот действуют силы Ван дер Ваальса, вызывающие лишь слабое притяжение, когда встречающиеся группы находятся достаточно близко друг от друга. Обычно принимают, что атомы, расстояние между которыми больше 0,2 нм и меньше 0,31 нм, участвуют в полярных взаимодействиях, а атомы, расстояние между которыми больше 0,31 нм и меньше 0,41 нм, участвуют в неполярных взаимодействиях. Такие связи могут встречаться наряду с другими между метильными группами аланина, углеводородными остатками фенилаланина и триптофана.

### **1.4. Структура белков и их функции**

Ковалентные и нековалентные связи в молекулах белков определяют конфигурацию полипептидных цепей и всей белковой молекулы в целом, или, как говорят, конформацию белков или структурную организацию белков. Выделяют четыре уровня структурной организации белка: первичную, вторичную, третичную, и четвертичную. Между структурами имеются многочисленные переходы и внутренняя связь, поэтому это деление в известном смысле произвольное.

Последовательность расположения определенного числа аминокислотных остатков в полипептидной цепи белковой молекулы называется первичной

структурой белка. Первичная структура белковой молекулы определяется сильными ковалентными пептидными связями, а также небольшим числом дисульфидных связей. Аминокислотная последовательность является специфической характеристикой данного белка, все его молекулы в этом отношении идентичны. К примеру, в полипептидной цепи рибонуклеазы 124 аминокислотных остатка и 4 дисульфидных мостика, молекулярный вес 13200. Последовательность аминокислотных остатков в белке точно детерминирована и закреплена генетически. Следует подчеркнуть, что в настоящее время расшифрована первичная структура более 2500 белков, причем, аминокислотная последовательность таких белков как инсулин, лизоцим, рибонуклеаза подтверждена путем их химического синтеза. Среди белков, построенных из больших полипептидных цепей, расшифрована первичная структура тяжелой цепи иммуноглобулина М человека (610 аминокислотных остатков), глутаматдегидрогеназы из печени быка (500 аминокислотных остатков), аспаратаминотрансферазы из сердца свиньи (412 аминокислотных остатков), ДНК-зависимой РНК-полимеразы (5000 аминокислотных остатков). Значительные работы по изучению первичной структуры белков выполнены в СССР под руководством академика Ю.А. Овчинникова (аспаратаминотрансфераза, метгемоглобин, белок L-25, нейротоксины и др.).

Считается, что первичная структура белка определяет структуры более высокого порядка и, в частности, вторичную структуру белка. Это связано с тем, что возникновение взаимодействия между определенными участками полипептидной цепи с образованием дисульфидных мостиков, водородных, ионных и неполярных связей обуславливается именно определенной последовательностью аминокислот, содержащих те или иные функциональные группы.

Под вторичной структурой понимают пространственную регулярную конфигурацию полипептидной цепи в виде альфа-спирали или бета-структуры. Вторичная структура определяется упорядоченным расположением цепи за счет образования водородных связей между СО- и NH-группами пептидных связей данной полипептидной цепи или между цепями.

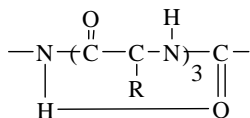
Образование таких водородных связей может обуславливать ряд конформаций (видоизменений) полипептида. Эти конформации подразделяются на два больших класса: спиральные структуры и структуры типа складчатого слоя.

Белки со структурой спирали могут быть либо глобулярными, либо фибриллярными. Структура типа складчатого слоя характерна для фибриллярных белков, которые, как правило, нерастворимы в полярных растворителях (например, фиброин шелка).

По Полингу большинство из существующих спиралей, образованных полипептидными цепями белков, относится к альфа-типу. Альфа-спирали представляют собой винтообразно закрученную влево или вправо структуру, одна-

ко, правая спираль значительно более стабильна и только она характерна для природных белков. Предполагают, что пептидные цепи принимают альфа-спиральную конфигурацию самопроизвольно, поскольку из всех возможных форм именно эта форма является наиболее стабильной. На один виток альфа-спирали приходится 3,6 аминокислотных остатка, а шаг спирали равен 0,54 нм. Один аминокислотный остаток занимает по высоте спирали 0,15 нм. Угол подъема спирали составляет  $26^\circ$ . Период идентичности, т.е. длина отрезка спирали, полностью повторяющегося по ходу ее, составляет 2,7 нм и включает 18 аминокислотных остатка. Каждый атом кислорода карбонильной группы и каждый атом азота иминной группы участвуют в образовании водородной связи.

Карбонильный кислород любого данного остатка аминокислоты полипептидной цепи соединен водородной связью с иминным азотом четвертого по счету остатка аминокислоты (считая вдоль пептидной цепи назад). Это можно представить следующим образом:



Водородные связи между отдельными СО- и NH-группами пептидных связей почти параллельны длинной оси спирали и удерживают в упорядоченном спиральном состоянии пептидную цепь. Боковые цепи (радикалы) аминокислотных остатков выступают из альфа-спирали наружу и могут, взаимодействуя друг с другом, создавать условия, при которых происходит разрыв водородных связей и образование линейных участков. Для длинного спирального участка полипептида стабилизация может осуществляться, кроме водородных связей также дисульфидными мостиками, солеподобными связями, неполярными (гидрофобными) связями и т.д. Полностью спирализованные полипептидные цепи встречаются очень редко. Обычно для белковых молекул характерна частичная спирализация, обычно не более 70%. Например, молекула рибонуклеазы спирализована всего на 17%.

Структуры типа складчатого слоя (бета-структуры) обусловлены образованием водородных связей между полипептидными цепями, в отличие от спирали, где водородные связи имеются лишь в пределах одной и той же полипептидной цепи.

Дальнейшее усложнение структуры белка связано с пространственной упаковкой чередующихся спиральных и линейных участков полипептидной цепи в компактное тело, что получило название третичной структурой белка. Другими словами, третичная структура показывает, как полипептидная цепь,

свернутая целиком или частично в спираль, расположена в пространстве. Это – трехмерная структура белковой молекулы. В поддержании третичной, также как и вторичной структуры белков, участвуют:

- 1) водородные связи между пептидными группами,
- 2) водородные связи между боковыми цепями аминокислотных остатков (радикалами),
- 3) ионные связи,
- 4) дисульфидные связи,
- 5) неполярные или гидрофобные связи и некоторые другие.

Третичная структура определяется автоматически аминокислотной последовательностью в полипептидной цепи и размером, формой и полярностью радикалов аминокислотных остатков. Большую роль в выяснении трехмерной пространственной структуры сыграл рентгеноструктурный анализ, с помощью которого Кендрью и Перуц расшифровали более 50 молекул белка. По форме третичной структуры белки в основном можно подразделить на глобулярные и фибриллярные.

Третичная конфигурация белка имеет значение, главным образом, для глобулярных белков. Результаты рентгеноструктурного анализа глобулярных белков свидетельствуют, что полипептидные цепи этих белков свернуты очень компактно. Все или почти все полярные радикалы глобулярных белков находятся на поверхности молекулы в гидратированном состоянии, тогда как гидрофобные остатки скрыты внутри глобулы. В настоящее время третичная структура расшифрована у нескольких десятков белков (гемоглобина, миоглобина, инсулина, лизоцима, пепсина, трипсина, рибонуклеазы и др.).

Методами рентгеноструктурного анализа доказано существование ещё двух уровней структурной организации белковой молекулы, оказавшихся промежуточными между вторичной и третичной структурами. Это так называемые надвторичные структуры и структурные домены. Надвторичные структуры представляют собой агрегаты полипептидных цепей, обладающих собственной вторичной структурой и образующихся в некоторых белках в результате их термодинамической или кинетической стабильности. Домен – это компактная глобулярная структурная единица внутри полипептидной цепи. Домены создаются объединением и чередованием  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -слоёв, между которыми открываются более рыхлые структуры.

Молекулы многих белков состоят из нескольких индивидуальных полипептидных цепей, не связанных одна с другой ковалентными связями. При этом каждая из индивидуальных цепей может иметь свою собственную первичную, вторичную и третичную структуру, и иногда обозначается как субъединица белка.

Взаимное пространственное расположение субъединиц, связанных нековалентными связями в единой белковой молекуле, и представляющих единое образование в структурном и функциональном отношении, называется четвертичной структурой белка. Крупные молекулы белков состоят, как правило, из субъединиц со сравнительно небольшим молекулярным весом. Белковые молекулы, составленные из субъединиц, принято называть мультимерами (олигомерами), а сами субъединицы протомерами<sup>2</sup>.

Полагают, что из субъединиц состоят все или почти все белки с молекулярной массой больше 50000-100000. С этой точки зрения, детально изучено строение некоторых белков. Согласно Д. Дарнелу и И. Клотцу обнаружено 537 белков, обладающих четвертичной структурой. Среди них много ферментов (например, лактатдегидрогеназа – 4 протомера двух типов).

Наиболее полные данные получены по четвертичной структуре гемоглобина. Гемоглобин состоит из двух  $\alpha, \beta$ -субъединиц, каждая из которых состоит из двух полипептидных цепей – одной  $\alpha$ -цепи и одной  $\beta$ -цепи;  $\alpha$ -цепь составлена из 141 аминокислотного остатка,  $\beta$ -цепь – из 146. Четыре протомера (два типа  $\alpha$ - и два типа  $\beta$ -) соединяются нековалентными связями в единую молекулу гемоглобина, располагаясь в углах почти правильного тетраэдра и образуя почти шаровидную молекулу с параметрами  $5,0 \times 5,6 \times 6,4$  нм.

Четвертичная структура белков, как полагают, объясняет существование изоферментов. Изоферментами называют ферменты, встречающиеся у одного и того же биологического вида в разных структурных формах. Так, например, если молекула белка составлена из четырех протомеров типа А и В, то возможно пять сочетаний: АААА, АААВ, ААВВ, АВВВ, ВВВВ т.е. возможно существование пяти изоферментов, отличающихся большей или меньшей каталитической активностью. Такие формы найдены для фермента лактатдегидрогеназы и некоторых других ферментов.

Установлено, что малейшее изменение третичной структуры субъединицы белка (протомеров), т.е. отдельных полипептидных цепочек, делает невозможным соединение их в молекулы мультимера, т.е. образование четвертичной структуры белка. А так как третичная структура, как уже говорилось выше, задается первичной структурой белка и зависит от ряда других факторов (рН среды, концентрации солей и т.п.), то даже незначительное изменение первичной структуры белка или стандартных условий в клетке приводит к изменению функциональной активности белков. Таким образом, именно от первичной структуры молекул различных белков зависит, в первую очередь, своеоб-

---

<sup>2</sup> Протомером называют отдельную полипептидную цепь, а термин субъединица часто используют для обозначения функционально активной части олигомерного белка, т.е. белка, состоящего из нескольких отдельных полипептидных цепей (протомеров).



разие их свойств. Однако высшие уровни структуры белка также имеют существенное значение для его свойств.

Значение высших уровней структурной организации белка становится особенно ясным при рассмотрении взаимосвязи между специфическими свойствами белков и их конформацией. Специфические свойства белков проявляются прежде всего в энзиматической (т.е. ферментативной) специфичности. Энзимы – это такие белки, которые в большинстве случаев катализируют превращение точно определённого вещества, точно определённые реакции. В этой реакции принимают участие боковые цепи аминокислот (радикалы), находящиеся на определённом участке большой молекулы энзима (т.н. активный центр). Для некоторых энзимов установлено, какая группа, какой участок энзиматической цепи обуславливает энзиматическое действие. Так, для действия химотрипсина, необходима боковая цепь серина, являющегося 195 аминокислотным остатком полипептидной цепи, и боковая цепь гистидина, находящегося на 57 месте полипептидной цепи. Между этими остатками указанных аминокислот нет никакой связи, но благодаря возникновению третичной структуры молекулы, они сближены до такой степени, что оба участвуют в действии энзима. Эти и подобные наблюдения свидетельствуют, что третичная структура белка является обязательным условием его специфического каталитического действия.

Для функции белка существенна также его четвертичная структура. В качестве примера можно сослаться на взаимосвязь дыхательной функции гемоглобина и его четвертичной структуры. Гемоглобин и оксигемоглобин различаются по своей четвертичной структуре. При превращении гемоглобина в оксигемоглобин в результате присоединения кислорода расстояние между двумя  $\beta$ -цепями гемоглобина уменьшится, хотя при этом и не происходит заметного изменения третичной структуры самих  $\beta$ -цепей.

Считается, что белки, встречающиеся в различных видах организмов и выполняющие тождественные функции, могут отличаться друг от друга своими отдельными аминокислотами или их последовательностью, но высшая организация белков одинакова, так как они выполняют одну и ту же функцию. Об этом свидетельствует изучение у разных видов организмов строения одних и тех же пептидных гормонов, таких как инсулин, адренокортикотропный гормон и др. Так, молекула инсулина, состоит из двух полипептидных цепей, соединённых двумя дисульфидными мостиками, перекинутыми между остатками цистеина. Цепь А состоит из 21 аминокислоты, цепь В – из 30 аминокислот, расположенных в определенной последовательности. В первичной структуре цепей А молекул инсулина различного происхождения в положении 8, 9 и 10 найдены несколько различные последовательности и состав аминокислот: в бычьем инсулине – аланин-серин-валин, в инсулине свиньи – треонин-серин-изолейцин, в инсулине овцы – аланин-глицин-валин.

В адренокортикотропине свиньи и овцы различие заключается в том, что в одном месте полипептидных цепей одни и те же четыре аминокислоты стоят в другой последовательности, однако высшие уровни организации этого белка одинаковы.

Приведенные данные свидетельствуют о видовой специфичности белков на уровне первичной структуры белковой молекулы. При этом установлено, что чем дальше отстоят друг от друга два вида, тем больше у них число различий по аминокислотным остаткам, находящихся в определенных положениях полипептидных цепей одного и того же белка.

Строение данного белка у данного организма закреплено генетически и передается потомству по законам наследственности. В передаче наследуемых признаков, однако, временами могут наступать внезапные изменения – мутации. Мутация представляет собой не что иное, как появление некоторого изменения в аминокислотном составе определённого синтезируемого белка. Если эти мутации происходят на месте таких аминокислотных остатков, которые участвуют в формировании вторичной и третичной структуры, то это приводит к тому, что из такой измененной полипептидной цепи не может образоваться соответствующий белок, а если данный белок жизненно важен, то особь будет нежизнеспособна.

В других случаях изменение аминокислотной последовательности или его состава в молекулах белков могут вызывать патологические нарушения. Полинг предложил болезни, связанные с изменением структуры того или иного вещества на молекулярном уровне называть «молекулярными болезнями». В этом отношении особенно хорошо изучено такое заболевание, как серповидноклеточная анемия, обусловленная аномальной структурой гемоглобина. Установлено что при серповидноклеточной анемии в гемоглобине глутаминовая кислота нормально расположенная в  $\beta$ -цепи на шестом месте, заменена на валин. Такой гемоглобин благодаря своей плохой растворимости, легко выпадает в осадок в содержимом эритроцита, деформируя его в характерную серповидную форму. Такой гемоглобин обладает меньшим сродством к кислороду, что при большом его содержании в эритроцитах служит причиной возникновения у людей анемии.

В настоящее время описано более 150 аномальных гемоглобинов, характеризующихся различными заменами аминокислот. Все эти нарушения, в том числе и серповидноклеточная анемия, передаются по наследству, поскольку их появление обусловлено изменением генетического кода, т.е. структуры отдельных фрагментов матричной ДНК в ядрах клеток.

Сегодня насчитывается более 1,5 тысяч наследственных болезней, начиная от сравнительно небольших нарушений и кончая нарушениями со смертельным исходом. В основе этих заболеваний зачастую лежат генетические нарушения в синтезе тех или иных ферментных белков. Так, при хорошо изу-

ченном наследственном заболевании фенилкетонурии организм испытывает дефицит в фенилаланингидроксилазе (КФ 1.14.3.1). Вследствие этого катаболизм фенилаланина не идет до конечных продуктов через тирозин, а вступает на побочный путь дезаминирования с образованием фенилпировиноградной кислоты. Накопление последней совместно с фенилаланином приводит у детей к тяжелому заболеванию, сопровождающемуся слабоумием. При альбинизме имеет место дефект дифенолоксидазы (КФ 1.10.3.1.), при алкаптонурии – гомогентизинаоксидазы (КФ 17.1.5.), при ксантонурии – ксантинооксидазы (КФ 1.2.3.2.) и т.д.

### 1.5. Денатурация белка

Присущие белкам свойства, связанные с особенностями конформации их молекул, существенно изменяются при нарушении этой конформации в процессе денатурации белка.

Под денатурацией понимают превращение биологически активного, так называемого, нативного<sup>3</sup> белка в форму, в которой его естественные свойства такие, как растворимость, электрофоретическая активность, ферментативная активность и т.д. теряются.

Денатурация является характерным признаком белков и не наблюдается у аминокислот и низкомолекулярных пептидов. Денатурация, как правило, связана с нарушением третичной и частично, вторичной структуры белковой молекулы и не сопровождается какими либо изменениями первичной структуры. Естественно поэтому, что при денатурации белка разрушаются, главным образом, водородные связи и дисульфидные мостики в белковой молекуле.

Денатурирующие агенты делятся на физические и химические. К физическим факторам принадлежит нагревание (свыше 50-60°C), повышенное давление, ультразвук и т.д., к химическим – ионы  $H^+$  и  $OH^-$  (обычно при pH ниже 4 и выше 10 – денатурация), органические растворители (ацетон, спирт), мочевины, соли тяжелых металлов и др. Белки денатурируются и под влиянием детергентов (от лат. Detergeo – раздроблю, разобью, чищу), обладающих мылоподобным действием, хотя при этом в большинстве случаев денатурированный белок остается в растворимом виде. Обезвоживание, высушивание белков при комнатной температуре влечет за собой, как правило, полную денатурацию. Все это говорит о большом разнообразии денатурирующих агентов и механизма их действия.

---

<sup>3</sup> Нативной конформацией белка называют характерную трехмерную структуру белка, в которой он стабилен и проявляет биологическую активность при определенных физических условиях (температура, pH и др.).

При денатурации пространственные изменения белка состоят в разворачивании пептидной цепочки молекулы, которая проходит стадию рыхлого клубка до образования нити, при которой атомные группы демаскируются. В последующем полипептидные цепи все больше и больше переходят в стадию так называемого случайного клубка, при котором случайные связи образуются не только между различными отрезками одной и той же полипептидной цепочки, но также между различными, до этого разъединенными цепочками (происходит агрегация). В конце концов, это ведет к образованию таких больших агрегатов, что они выпадают в осадок.

Биологически важным является большая доступность денатурированных белков для многих расщепляющих белки энзимов, получающихся вследствие разрыхления молекулярного строения и как бы раскрытия функциональных групп белка при взаимодействии их с энзимом.

При определенных условиях денатурированный белок можно частично или полностью вернуть к исходному нативному состоянию. Такой белок называют ренатурированным. В качестве примера можно привести ренатурацию фермента рибонуклеазы, состоящую из единственной полипептидной цепи, соединенной четырьмя дисульфидными мостиками. После тепловой денатурации рибонуклеазы, связанной с разрывом дисульфидных мостиков, активность фермента после стояния может восстановиться. При стоянии вследствие воздействия кислорода воздуха происходит окисление и дисульфидные мостики восстанавливаются вновь, в результате почти полностью восстанавливается первоначальное строение молекулы и энзимная активность. Это говорит о том, что нативная структура является наиболее вероятной, наиболее стабильной структурой.

### **1.6. Классификация белковых веществ**

Из всех веществ живого организма белки в отношении классификации представляют наибольшие трудности. Классификация белков на основании их химического строения в настоящее время затруднена из-за недостаточности наших знаний их строения. Наиболее распространенная классификация белков учитывает некоторые их физико-химические свойства, особенности в химическом строении, происхождение и роль в организме. Согласно этой классификации все белковые вещества подразделяются на две большие группы:

- 1) простые белки (протеины, протос – первый, главный);
- 2) сложные белки (протеиды, т.е. производные протеинов).

Простыми называют белки, которые при гидролизе распадаются исключительно на аминокислоты. Сложные белки – белки, которые при гидролизе, наряду с аминокислотами, дают другие вещества: углеводы, фосфорную кислоту, нуклеиновые кислоты, липиды и пр.

### 1.6.1. Протеины

Простые белки (протеины) по поведению в некоторых растворителях и по аминокислотному составу в свою очередь делятся на следующие подгруппы:

- 1) протамины,
- 2) гистоны,
- 3) альбумины,
- 4) глобулины,
- 5) проламины,
- 6) глютелины,
- 7) протеиноиды.

Рассмотрим эти группы в отдельности.

Протамины и гистоны являются наиболее простыми белками с молекулярной массой 10000-20000. Протамины обладают выраженными щелочными свойствами, так как до 80 % содержат основные кислоты (лизин, аргинин, гистидин). В их составе отсутствуют ароматические и серусодержащие аминокислоты. Гистоны обладают менее щелочным характером, так как содержат лишь до 30% основных кислот. Протамины содержатся в большом количестве в веществе клеточных ядер, в сперме позвоночных и молоках рыб; в зависимости от источника получения носят название сальмин, скумбрин, клупеин и др. Гистоны также содержатся в большом количестве в ядерном веществе, в зубной железе, в белках эритроцитов. Их представителем является белок глобин, который входит в состав гемоглобина.

Альбумины и глобулины – протеины, встречающиеся во всех животных и растительных тканях; составляют основную массу белков крови и других биологических жидкостей.

Альбумины ( $M=35000-70000$ ) осаждаются насыщенным раствором сернокислого аммония, растворяются в дистиллированной воде, обладают наибольшей подвижностью в электрическом поле, принимают участие в поддержании осмотического давления крови и транспортировке различных веществ (кальций, билирубин, жирные кислоты).

Глобулины ( $M=150000$ ) высаливаются полунасыщенным раствором сернокислого аммония, осаждаются в дистиллированной воде, растворяются в физиологическом растворе, что позволяет их отделять от альбуминов диализом. При электрофорезе движутся с различной скоростью и поэтому разделяются на подфракции: ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -глобулины). При инфекционных болезнях увеличение количества глобулинов в крови связано с образованием иммунных веществ: антител и антитоксинов, в состав которых они входят.

Глютелины и проламины – белки растительного происхождения. Глютелины не растворимы ни в воде, ни в разбавленном нейтральном солевом растворе, растворяются в разведенных щелочах. Входят в состав клейковины. К

глютелинам относится оризенин, получаемый из риса, глютенин, получаемый из пшеницы.

Проламины нерастворимы в воде и солевых растворах, но, в отличие от других белков, растворяются в 70% спирте. В проламины входит в большом количестве иминокислота пролин. К проламинам относятся глиадин (из пшеничных ядер), гордеин (из ячменя) и зеин (из кукурузы).

Протеиноиды, т.е. белковоподобные вещества, включают белки опорных тканей (костной ткани, хрящей, сухожилий, волос, шерсти, ногтей, кожи, шелка и др.). Отличительной особенностью этих белков является их полная нерастворимость в воде, солевых растворах, разведенных кислотах и щелочах, неперевариваемость пищеварительными ферментами. Обычно протеиноиды относятся к фибриллярным белкам. Из отдельных представители этой группы белков следует назвать коллаген (входит в состав соединительной ткани), кератины (входят в состав волос, ногтей, копыт), фиброин (вырабатывается железами пауков, гусениц и др.).

### 1.6.2. Протеиды

Сложные белки – (протеиды) состоят из белковой части и небелковой части (ее называют еще при небольшой молекулярной массе простетической группой). Белковые и небелковые компоненты в сложных белках связаны нековалентными связями.

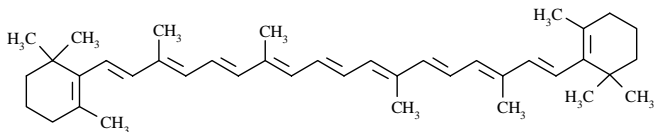
Протеиды в свою очередь подразделяются на:

- 1) хромопротеины (содержат в качестве простетической группы производные порфирина, изоаллоказина,  $\beta$ -каротина);
- 2) фосфопротеины (содержат фосфорную кислоту);
- 3) гликопротеины или углеводсодержащие белки (содержат углеводы);
- 4) липопротеины (содержат липиды);
- 5) металлопротеины (содержат различные атомы металлов);
- 6) нуклеопротеины (содержат нуклеиновые кислоты).

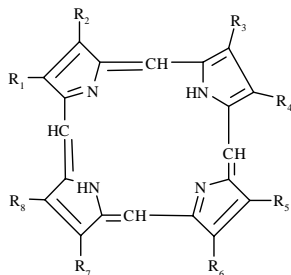
Рассмотрим группы сложных белков в отдельности.

Хромопротеиды (от греческого слова – хрома – краска) состоят из простого белка и связанного с ним окрашенного небелкового соединения, которое может относиться к различным классам органических соединений. Важнейшей особенностью хромопротеидов является их высокая биологическая активность. Они играют важную роль в процессах жизнедеятельности, так как, в основном, являются биокатализаторами, ускоряющими протекание в организме таких важнейших биохимических процессов как фотосинтез и окислительно-восстановительные реакции.

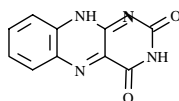
В качестве простетических групп в молекулах хромопротеидов могут быть производные порфирина, изоаллоказина и бета-каротина.



бета-каротин



порфирин



изоаллоксазин  
(флавин)

Изоаллоксазин служит исходным соединением для синтеза флавиновых группировок, образующих в сочетании со специфическими белками ряд флавопротеидов, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях в организме в качестве биокатализаторов-ферментов.

Производные каротина, связываясь с белком, дают начало хромопротеидам зрительного пурпура.

Производные порфирина с магнием образуют хлорофилл, комплекс которого с белком обеспечивает фотосинтетическую деятельность растений. Производные порфирина с железом образует гем и служат основой в комплексе с белком для образования гемоглобина и ряда дыхательных ферментов (цитохромов, каталазы, пероксидазы).

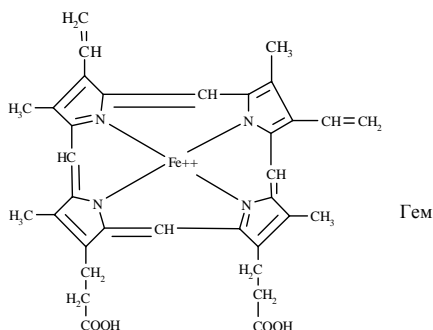
Среди выделенных из клеток цитохромов наиболее изучен цитохром С ( $M=13000$ ), который содержит одну молекулу гема. Гем связан с белковым компонентом одной основной связью, идущей от железа к гистидину и двумя связями между винильными группами гема и остатками цистеина белка. В тканях животных и некоторых бактерий распространен фермент каталаза ( $M=22500$ ), имеющий в составе своей молекулы четыре гема. В растительных организмах широко распространен другой, содержащий одну молекулу гема,

фермент – пероксидаза ( $M=44000$ ). Встречается этот фермент также и в тканях животных.

Наиболее изученным представителем хромопротеидов является гемоглобин. Гемоглобин крови позвоночных животных и человека сосредоточен в эритроцитах. Гемоглобин легко разлагается уксусной кислотой и хлористым натрием на две составные части: белковую – глобин и на красящее вещество (простетическую группу) – гем.

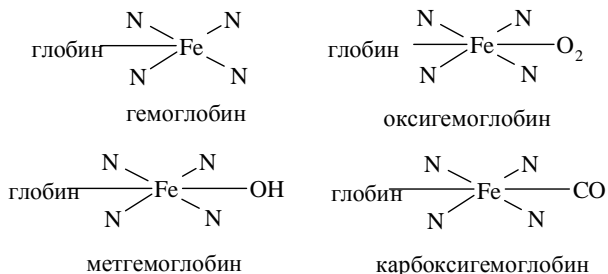
Глобины гемоглобинов крови разных животных различны по составу и расположению аминокислот. Глобины по содержанию в них диаминомонокарбоновых кислот относятся к гистонам. Состоят из четырех полипептидных цепей (две  $\alpha$ - и две  $\beta$ -цепи). В  $\alpha$ -цепи содержится 141 аминокислота, в  $\beta$ -цепи – 146 аминокислот.

Молекулярная масса гемоглобина равна 67-70 тысячам и в его молекуле содержатся четыре молекулы гема. Молекула гема включает один атом двухвалентного железа. Полагают, что присоединение гема к глобину осуществляется нековалентной связью между атомами железа гема и гистидином глобина. Гем по своей химической структуре один и тот же у различных позвоночных животных. Строение гема было выяснено главным образом исследованиями М.Д. Ненцкого и Г. Фишера. Каждый гем содержит четыре пиррольные кольца, связанных четырьмя метиновыми группами ( $=CH-$ ) и представляющих таким образом порфирин. Наличие четырех метильных ( $CH_3$ ) и двух винильных групп ( $-CH=CH_2$ ), а также двух остатков пропионовой кислоты ( $CH_2-CH_2-COOH$ ) характерно для протопорфирина.



По своей химической структуре протопорфирин является 1,3,5,8-тетраметил-2,4-дивинил-6,7-дипропионовокислым порфином. И, наконец, присутствие одного атома двухвалентного железа придает соединению окончательный вид простетической группы гемоглобина – гема.





Самая интересная биологическая особенность гема заключается в его способности соединяться с газами (кислородом, окисью углерода, окислами азота и др.). При присоединении к гемоглобину (Нв) кислорода образуется оксигемоглобин (НвО<sub>2</sub>). Кислород присоединяется к железу за счет дополнительных связей.

НвО<sub>2</sub> настолько неустойчив, что уже при уменьшении парциального давления кислорода он распадается с образованием Нв и О<sub>2</sub>. Присоединение О<sub>2</sub> к Нв крови происходит в легких, распад же НвО<sub>2</sub> на О<sub>2</sub> и Нв имеет место в крови, притекающей к тканям, где парциальное давление О<sub>2</sub> понижается за счет его поглощения тканями.

К железу гемоглобина легко присоединяется окись углерода (СО) с образованием карбоксигемоглобина (НвСО). При вдыхании воздуха, в котором содержится СО, последний образует более прочное соединение с Нв, чем оксигемоглобин, что ведет к вытеснению О<sub>2</sub> из НвО<sub>2</sub>. В результате нарушается доставка кислорода от легких к тканям.

Важным производным гемоглобина является метгемоглобин, в молекуле которого атом железа трехвалентен.

Метгемоглобин образуется из НвО<sub>2</sub> при воздействии на него окислителей (железосинеродистого калия, окислов азота, метиленовой сини и т.д.). Метгемоглобин может образоваться при продолжительном вдыхании окислов азота, паров нитробензола при профессиональном заболевании. Образование инертного, прочно связывающего кислород метгемоглобина в крови уменьшает количество в ней функционально важного НвО<sub>2</sub>, нарушает доставку О<sub>2</sub> к тканям, что ведет к тяжелым патологическим состояниям.

Веществом, близким к гемоглобину, является хромопротеид мышц — миоглобин. Он образует такие же производные, как и гемоглобин крови (оксимиоглобин, карбоксимиоглобин и метмиоглобин). Миоглобин и гемоглобин очень близки по своему элементарному составу. Различия состоят прежде всего в строении белкового компонента, а также в том, что миоглобин содержит одну молекулу гема. Миоглобин рассматривают как дыхательный пигмент, обеспечивающий в мышцах кратковременный резерв кислорода, использу-

мый мышечными волокнами. Сродство к кислороду у миоглобина более выражено, чем у гемоглобина.

Большой группой сложных белков являются гликопротеиды (углеводсодержащие белки).

Углеводсодержащие белки – обширный класс соединений, единая классификация которых до сих пор не установлена и которые рядом авторов подразделяются на две большие группы: мукопротеиды (протеогликаны) и гликопротеиды. Мукопротеиды представляют собой белки, простетической группой которых служат глюкозаминогликаны (или кислые мукополисахариды): гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты А, В, С, Д, гепарин и др., и обладают сильно выраженными кислотными свойствами. Эти кислотные свойства связаны с наличием в составе глюкозаминогликанов большого числа остатков серной и глюкуроновой кислот. Связь между белками и глюкозаминогликанами в мукопротеидах непрочна, с чем связывают их участие в регуляции тканевой проницаемости. Кроме того, им присуща защитная и структурная функции. Главными представителями мукопротеидов (протеогликанов) являются муцины и мукоиды. Муцин входит в состав слюны, защищает от механических и химических повреждений слизистые оболочки пищеварительного тракта. Мукоиды входят в состав хрящей, костей, связок, сухожилий, яичного белка.

В отличие от мукопротеидов (протеогликанов) гликопротеиды являются белками, у которых белковая часть прочно соединена с аминополисахаридами. Аминополисахариды не содержат уроновых кислот и сульфатов, а содержат гексозы, гексозамины, фукозы и сиаловые кислоты или N-ацетилнейраминовые кислоты. Поэтому эта группа полисахаридов теряет выраженные кислотные свойства, почему ее иногда называют нейтральными мукополисахаридами. Отсюда гликопротеиды обладают слабо выраженными кислотными свойствами. Представителями гликопротеидов являются различные ферменты (холинэстераза, церулоплазмин), гормоны (гонадотропин, эритропоэтин), группоспецифические субстанции крови, протромбин, фибриноген, интерфероны, обладающие антивирусным, противоопухолевым и иммунорегуляторным действием, а также иммуноглобулины (антитела).

К числу сложных белков (протеидов) относятся фосфопротеиды, при гидролизе которых, наряду с аминокислотами, получают более или менее значительное количество фосфорной кислоты. В молекуле фосфопротеида остатки фосфорной кислоты сложноэфирными связями присоединяются к молекуле белка по месту гидроксильных групп оксиаминокислот (серина и треонина), входящих в состав полипептидной цепи.

Наиболее часто остатки фосфорной кислоты соединены в фосфопротеидах с остатками серина. Поэтому после гидролиза фосфопротеидов обнаруживают обычно больше серин-фосфорной кислоты, чем треонинфосфорной кислоты.

В фосфопротеидах выявлены пирофосфатные и фосфодиэфирные остатки. Наличие фосфодиэфирных остатков указывает на то, что пептидные цепи в молекулах фосфопротеидов соединены друг с другом не только дисульфидными мостиками, но и с помощью остатков фосфорной кислоты. Фосфопротеиды с биологической точки зрения являются питательным материалом для растущего организма. Вместе с необходимыми для развития молодого организма аминокислотами фосфопротеиды доставляют также и необходимую организму фосфорную кислоту. Фосфорная кислота особенно важна для развития скелета.

Типичным представителем фосфопротеидов является казеин – белок молока. Казеин имеет молекулярную массу в пределах 75-100 тыс. Казеин существует в нескольких формах, различающихся по содержанию фосфора и аминокислотному составу. Несколько различных фосфопротеидов найдено среди белков яиц: овальбумин (фосфопротеид яичного белка) и вителлин, вителлинин, фосвитин (фосфопротеиды яичного желтка).

Из других белков к фосфопротеидам относится пепсин, содержащий один остаток фосфорной кислоты на молекулу белка. Фосфатная группа и здесь присоединена к радикалу серина, находящемуся в пептидной цепи рядом с глутаминовой кислотой. Фосфопротеидами являются также ферменты фосfogлюкомутаза и фосфорилаза.

Липопротеиды – другая группа сложных белков, состоящая из белков и липидов (холестерина, фосфолипидов, триглицеридов). В отличие от липидов, липопротеиды растворимы в воде и нерастворимы в органических растворителях (эфире, бензоле, хлороформе и др.).

Прочность связи белков с липидами в липопротеидах неодинакова. В зависимости от того, есть ли в молекуле липида ионизированные группы атомов (как у полярных липидов – фосфатидов) или их нет (как у триацилглицеридов), между белковой и липидной компонентами липопротеида возникают различного типа связи. В первом случае между белком и липидом возникают лабильные нековалентные связи. Во втором случае белковая составляющая обволакивает липидную часть, которая становится центром мицеллы.

Липопротеиды широко представлены в нервной ткани, плазме крови, молоке, образуют биологические мембраны.

Наиболее изучены так называемые транспортные липопротеиды, присутствующие в плазме крови млекопитающих. Эти липопротеиды содержат обычно как полярные, так и нейтральные липиды, а также холестерин и его эфиры. Они служат той формой, в которой липиды из тонкого кишечника транспортируются кровью в печень и далее в жировую ткань. Липопротеиды плазмы классифицируются по своей плотности на четыре группы. Самыми легкими липопротеидами являются хиломикроны – крупные структуры, содержащие около 98% липидов и 2% белков (главными липидными компонен-

тами являются экзогенные триацилглицериды). Среди других основных липопротеидов липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП или пребета-липопротеиды) содержат около 90% липидов и 10% белков (главными липидными компонентами служат эндогенные триацилглицериды), липопротеиды низкой плотности (ЛПНП или бета-липопротеиды) содержат около 78% липидов и 22% белков (главными липидными компонентами являются холестерол и его эфиры), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП или альфа-липопротеиды) содержат около 50% липидов и 50% белков (главными липидными компонентами являются фосфолипиды и эфиры холестерола). Высокое содержание холестерола и оптимальный размер молекул (15-25 нм) для инфильтрации интимы артерий обусловило ведущую роль бета-липопротеидов в патогенезе атеросклероза.

Полагают, что липопротеиды участвуют в транспорте гормонов стероидной природы и витамина А.

Липопротеиды участвуют также в построении биологических мембран. Строение и функции мембран в силу их роли в жизнедеятельности заслуживают специального изложения, более подробного.

Биологические мембраны представляют собой плоские структуры толщиной порядка 6-9 нм, которые состоят из молекул белков и липидов, удерживаемых вместе нековалентными связями. В различных мембранных структурах клетки (плазматической мембране, эндоплазматическом ретикулуме, аппарате Гольджи, митохондриальной и ядерной мембране и др.) на долю белков и липидов приходится от 20 до 80% обеих составляющих. Основными классами мембранных липидов служат:

- 1) фосфолипиды (фосфоацилглицеролы: фосфатидилхолин, фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин и сфингомиэлины);
- 2) гликолипиды – производные сфингозина;
- 3) холестерол.

Именно липидами определяется пластинчатая форма мембран и их основные физико-химические свойства. Характерной особенностью молекул фосфолипидов и гликолипидов является их амфифильность: один конец молекулы гидрофильный, другой – гидрофобный. Гидрофобный конец составляют углеводородные радикалы жирных кислот и сфингозина. Гидрофильный конец в гликолипидах образован углеводной частью, в фосфолипидах – фосфатным остатком, связанным с холином, этаноламином или серином. Благодаря амфифильности эти липиды в водной среде образуют многомолекулярные структуры с упорядоченным расположением молекул: гидрофобные части вытесняются из водной среды и взаимодействуют друг с другом, а гидрофильные части контактируют с водой и гидратируются. Именно этим определяется построение бимолекулярного липидного слоя мембран, состоящего из гидрофильной и

гидрофобной фаз. Холестерин находится практически целиком в гидрофобной части бимолекулярного слоя. При этом гидроксильная группа примыкает к гидрофильным головкам фосфолипидных молекул, а кольцо стерана уходит в толщу углеводородных цепей фосфолипидов. Благодаря такой компоновке, холестерин регулирует образование кристаллических структур мембраны. Состояние, в котором находятся липиды мембраны, называется жидкокристаллическим, поскольку в целом липидная прослойка жидкая, но в ней есть плотные участки, похожие на кристаллические структуры. Холестерин, разъединяя неполярные цепи фосфолипидов, мешает излишнему «затвердеванию» жидкого слоя и в то же время в участках с большим количеством «жидких» ненасыщенных цепей жирных кислот фосфолипидов способствует их уплотнению. Благодаря жидкокристаллической структуре липидного бислоя, молекулы липидов, несмотря на упорядоченность положения, сохраняют способность к диффузии в направлении, параллельном поверхности мембраны (латеральная диффузия) без выхода за пределы слоя. Эту способность мембран охарактеризовывают как их текучесть. Текучесть зависит как от содержания холестерина, так и состава жирных кислот. Наличие насыщенных жирнокислотных остатков в фосфолипидах приводит к жесткому состоянию, так как прямые углеводородные цепи легче взаимодействуют между собой. Присутствие ненасыщенных связей в ацильных остатках, ведет к появлению изгибов в цепях, что затрудняет их взаимодействие и способствует дезорганизации и переходу в жидкое состояние. Холестерин, как указывалось выше, также влияет на процесс кристаллизации и, следовательно, на текучесть мембран. Что касается поперечной диффузии липидов (флин – флоп), то она крайне ограничена.

Липидные бислои характеризуются крайне низкой проницаемостью для заряженных ионов типа  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , или  $\text{H}^+$  и для большинства полярных соединений, (например, сахаров), но легко проницаемы для воды, благодаря наличию пронизывающих мембрану пор. Полярные молекулы проникают через мембрану только при наличии для них специфических транспортных систем (переносчиков). В то же время растворимые в липидах молекулы легко проходят через биомембраны благодаря своей способности растворяться в углеводородном слое мембран.

Мембраны обладают высоким электрическим сопротивлением и потому являются хорошими изоляторами.

Как говорилось выше, липидный слой жидкий, что позволяет ему служить как бы растворителем для мембранных белков.

Содержание белка сильно варьирует в разных мембранах, определяя в значительной мере их свойства. В зависимости от прочности связи с мембранными структурами различают периферические (внешние) и интегральные (внутренние) мембранные белки. Периферические белки непрочны связаны с поверхностью мембраны электростатическими и водородными взаимодейст-

виями, которые легко разрушаются при изменении pH и концентрации солей. Интегральные белки погружены внутрь мембраны и даже могут пронизывать ее насквозь. Трансмембранные белки могут служить ионными каналами. Интегральные белки образуют многочисленные связи с углеводородными цепями мембранных липидов, и отделить их можно только с помощью детергентов или органических растворителей.

Состав белков разных мембран неодинаков и определяет их функции. В плазматических мембранах выделяются следующие группы белков:

1. антигенные белки, представленные обычно гликопротеидами или гликопротеолипидами, определяют специфику поверхности клетки и взаимодействие с антителами;
2. структурные белки, находящиеся в толще мембраны;
3. рецепторные белки, расположенные снаружи мембраны, определяют биохимический ответ клетки на внешние регуляторы (гормоны, медиаторы и др.);
4. ферментные белки, расположенные в разных фазах (слоях) определяют функции мембраны;
5. транспортные белки, осуществляющие перенос веществ через мембрану.

Представление о молекулярной архитектуре мембран сформулировано на основании результатов их химического анализа и электронной микроскопии. Все мембраны имеют общий план строения, но различаются в деталях химического состава и структуры.

Первоначально Даниелли и Даусон в 1931 году предложили модель строения биомембраны в виде сэндвича (бутерброда), которая впоследствии была модифицирована Робертсоном. В 1972 году С. Джонатан Сингер и Гарт Николсон сформулировали теорию строения мембран, получившую название жидкостно-мозаичной модели. Согласно этой модели основной непрерывной частью мембраны служит полярный липидный бислой, находящийся в жидком состоянии, что обеспечивается определенным соотношением насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в полярных липидах (фосфолипидах). На поверхности расположенных в мембране интегральных белков имеются гидрофобные радикалы аминокислотных остатков, за счет которых белки как бы растворяются в гидрофобной части бислоя. На поверхности периферических белков имеются, в основном, гидрофильные радикалы, которые притягиваются к гидрофильным заряженным полярным головкам липидов за счет электростатических сил. Интегральные белки, а к ним относятся ферменты и транспортные белки, обладают активностью только в том случае, если находятся внутри гидрофобной части бислоя, где они приобретают необходимую для проявления активности пространственную конфигурацию. Периферические белки бу-

квально плавают на поверхности бислойного «моря», а интегральные белки, подобно айсбергам, почти полностью погружены в углеводородный срединный слой. Согласно жидкостно-мозаичной модели мембранные белки могут свободно перемещаться в латеральной плоскости. Поперечная диффузия невозможна. Однако и продольная диффузия может быть ограничена вследствие притяжения между функционально связанными белками и образования ими кластеров, что, в конечном итоге, приводит к мозаичному распределению белков в липидном бислое. Модель Сингера – Николсона получила признание как наиболее вероятный способ молекулярной упаковки липидов и белков в мембранах, способной объяснить многие физические, химические и биологические свойства мембран.

Мембраны асимметричны структурно и функционально. Это проявляется как в направлении действия систем транспорта ионов, расположения гормональных рецепторов, и т.д., так и в преобладании фосфатидилхолинов и локализации углеводных остатков только на наружной стороне плазматических мембран млекопитающих (поперечная асимметрия мембран).

Некоторые из располагающихся на поверхности мембран олигосахаридных групп гликопротеинов и гликолипидов играют важную роль в процессах узнавания клетками друг друга и адгезии (контакте друг с другом), а также определяют тканевую специфичность (тканевую совместимость) и входят в состав рецепторных участков для гормонов (рецепторная функция или коммуникационная).

Организация мембранных структур, наличие в мембранах ферментных белков обеспечивает, наряду с выполнением ими разделительной функции (барьеры проницаемости с высокой избирательностью), также:

1. метаболическую (превращение природных и чужеродных веществ);
2. регуляторную (участие в образовании 3',5'-АМФ и 3',5'-ГМФ);
3. энерготрансформирующую (образование АТФ путем окислительного фосфорилирования);
4. транспортную (трансмембранный перенос веществ, регулирующий молекулярный и ионный состав компартментов) функции.

Следует сказать, что поверхность мембран несет электрически заряженные группы, которые помогают поддерживать разность электрических потенциалов на мембране, что имеет особое значение для передачи нервных импульсов.

Одна из главных функций мембран – регуляция переноса веществ. Через мембраны клетки в одно и то же время в обоих направлениях в клетку и из клетки проходят сотни разных веществ, без чего невозможна ее жизнедеятельность. Различают следующие способы переноса веществ через мембраны: простую диффузию, облегченную диффузию и активный транспорт. Диффузия

возникает из-за разницы концентраций диффундируемого вещества по обе стороны мембраны. Простая диффузия происходит без затраты энергии по градиенту концентрации (т.е. из зоны с большой концентрацией в зону с меньшей концентрацией) и определяется растворимостью в веществе мембран (особенно его липидного слоя). За счет диффузии через мембрану могут перемещаться небольшие нейтральные молекулы – вода,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ , а также гидрофобные низкомолекулярные органические вещества; в том числе лекарственные вещества.

Более распространена в природе облегченная диффузия, которая также осуществляется по градиенту концентрации, но при участии специальных мембранных белков-переносчиков (транслоказ, пермиаз). О наличии переносчиков свидетельствует эффект насыщения: при некоторой значительной концентрации диффундирующего вещества дальнейшее увеличение его концентрации не ускоряет более диффузию.

Для облегченной диффузии характерна высокая избирательность к переносимому веществу. Транспорт путем облегченной диффузии используется для переноса органических кислот, моносахаридов, жирорастворимых витаминов, стероидных гормонов и т.д. Полагают, что при помощи белков-переносчиков осуществляется перенос гидрофильного вещества через гидрофобный слой мембраны.

Активный транспорт, в отличие от диффузионного, происходит против градиента концентрации переносимого вещества и сопряжен с расходом энергии. Источником энергии может быть или гидролиз АТФ (первично-активный транспорт) или одновременный перенос другого вещества, который движется по градиенту своей концентрации (вторично-активный транспорт). С помощью активного транспорта происходит перенос многих минеральных ионов ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{H}^+$  и др.), аминокислот, перенос глюкозы из первичной мочи через мембраны клеток канальцев почки в кровь.

Примером первично-активного транспорта может служить так называемый натриевый насос. Натриевый насос переносит ионы натрия и калия через мембрану против градиента концентрации за счет энергии АТФ. Натриевый насос – это белковый комплекс ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , АТФ-аза), вмонтированный поперечно в мембрану, который за один цикл из клетки выводит три иона натрия и вносит в клетку два иона калия. Это ведет к появлению электрического потенциала, называемого трансмембранным электрохимическим потенциалом. Сходный механизм присущ транспортированию ионов кальция. Этот процесс осуществляется  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азой за счет энергии АТФ (перенос двух  $\text{Ca}^{2+}$  на одну молекулу АТФ).

Созданный на мембране электрохимический градиент натрия может быть использован для транспорта другого вещества, например, глюкозы. При этом вторично-активном транспорте, если оба вещества переносятся в одном на-



правлении (например,  $\text{Na}^+$  и глюкоза), то такой совместный транспорт называется симпорт. Если же вещества пересекают мембрану в противоположных направлениях, то такой транспорт называется антипорт. Для переноса углеводов, аминокислот и других метаболитов вторично-активный транспорт имеет, по-видимому, наибольшее значение по сравнению с другими механизмами.

Помимо диффузионного и активного транспорта, существенную роль в транспорте веществ в клетку играет еще один вид транспорта – эндоцитоз, при котором плазматическая мембрана в участке контакта с веществом впячивается, образуя пузырьки. Пузырек, оказавшись внутри клетки, вместе с транспортируемым веществом и участком мембраны, отшнуровываются. Механизм отшнуровывания пузырька и выход содержимого в цитозоль не изучены. Поступление этим способом в клетку растворенных веществ называется пиноцитозом, а нерастворимых веществ (частиц) – фагоцитозом. Образование эндоцитозного пузырька происходит при участии специальных белков. Предполагают, что в мембране имеется особый гликопротеид – клатрин, накапливающийся на цитозольной поверхности мембраны и участвующий в образовании пузырька и его втягивании внутрь клетки при участии сократительных структур клетки – микрофиламентов. Считают, что для этого процесса используется энергия АТФ. Потери частиц мембраны непрерывно компенсируются ее образованием в аппарате Гольджи.

Таким образом, мембраны представляют собой сложные структуры, обладающие характерными биологическими свойствами и выполняющие многочисленные динамические функции, без которых немыслима жизнедеятельность клетки и организма в целом.

Структура и функции мембран нарушаются при ряде заболеваний, что нередко составляет существенный этап патогенеза болезни.

Мембраноподобные структуры возможно создать искусственным путем, поскольку на поверхности раздела двух фаз (воды – жира) полярные липиды легко и самопроизвольно формируют очень тонкие бислои. В лабораторных условиях такие бислои нетрудно получить путем сильного встряхивания водных суспензий фосфолипидов. При этом образуются замкнутые пузырьки, окруженные непрерывным липидным бислоем, получившие название липосомы. Возможно также создание искусственных мембранных пузырьков – протеолипосом – с заданным составом. Для этого выбранные липиды и белки растворяют в растворе детергента, а затем детергент удаляют диализом.

Липосомы с успехом используются в качестве моделей для изучения свойств клеточных мембран и органелл.

При введении непосредственно в кровотоки или при попадании в кровь после введения в желудочно-кишечный тракт липосомы захватываются клетками ретикуло-эндотелиальной системы, локализованными, главным образом, в костном мозге, селезенке и печени, где подвергаются метаболическим превра-

щениям. Это обстоятельство позволяет использовать липосомы для доставки лекарств в ретикуло-эндотелиальную систему и, таким образом, направленно воздействовать именно на эту ткань и орган, ее содержащий. С этой целью липосомы «нагружают» специальными методами раствором лекарственного препарата и затем вводят в кровь или в желудочно-кишечный тракт. В экспериментах на животных было доказано, что использование липосом в качестве переносчиков (контейнеров) лекарств значительно уменьшает токсичность и увеличивает эффективность препаратов. Путем подбора мембранных компонентов можно получить липосомы, избирательно задерживающиеся в том или ином органе. В качестве таких компонентов-векторов, обладающих сродством к определенным мишеням, используют молекулы гормонов, ферментов, иммуноглобулинов (антител). С помощью таких липосом можно направить лекарство точно в пораженный орган. При определенных условиях липосомы могут сливаться с плазматическими мембранами клеток. Это позволяет в экспериментальных условиях изменять липидный состав клеточных мембран и изучать значение таких изменений.

Среди сложных белков имеется группа белков, содержащая в своем составе металлы (Fe, Cu, Mg и др.), связанные с белковой частью посредством комплексной связи без каких-то специальных группировок атомов, и получившая название металлопротеиды. С точки зрения функции – это частично транспортные белки для металлов (например, трансферрин), частично депонирующие белки (например, ферритин, гемосидерин). У транспортных белков содержание металла составляет десятые доли процента, а у депонирующих белков этот процент гораздо выше. Так, содержание железа в ферритине достигает 20%. Этот металлопротеид содержится в селезенке и может быть получен в кристаллическом виде.

К числу металлопротеидов относятся некоторые ферменты:

- дипептидаза ( $\text{Mo}^{2+}$ ),
- ксантиноксидаза ( $\text{Mo}^{2+}$ ),
- тирозиназа ( $\text{Cu}^{2+}$ ),
- полифенолоксидаза ( $\text{Cu}^{2+}$ ),
- цитохромоксидаза ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ),
- карбоксипептидаза ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ),
- пероксидаза ( $\text{Fe}^{2+}$ ),
- аргиназа ( $\text{Mn}^{2+}$ ) и др.

В протеиназах металлы часто встречаются совместно с другими небелковыми группами сложных белков (примером могут служить металлофлавопротеиды).

Чрезвычайно важную группу сложных белков составляют нуклеопротеиды. Нуклеопротеиды входят в состав любой клетки, так как являются непре-

менными компонентами ядерного материала и цитоплазмы. Некоторые нуклеопротейды существуют в природе в виде особых частиц, обладающих патогенной активностью и получивших название вирусов.

Нуклеопротейды играют большую биологическую роль. Они являются не только структурными элементами клетки, ее ядра и протоплазмы, но выполняют важнейшие специфические функции в живом организме. Деление клеток, биосинтез белка, передача наследственных свойств и многообразные коферментные и энергетические функции тесно связаны с нуклеопротейдами и их составными частями – нуклеиновыми кислотами и нуклеотидами.

Нуклеопротейды имеют молекулярную массу от нескольких десятков тысяч до десятков и даже сотен миллионов дальтон. Растворы их обладают высокой вязкостью и обнаруживают в ряде случаев двойное лучепреломление. Форма молекул у нуклеопротейдов широко варьирует от глобулярной до нитевидной. При неполном гидролизе нуклеопротейда, например, под влиянием ферментов, нуклеопротейд распадается на белок и нуклеиновую кислоту. Белок можно удалить, переводя его в осадок путем тепловой денатурации или путем высаливания. Соотношение белка и нуклеиновой кислоты в нуклеопротейдах отличается разнообразием (часто от 30 до 60% обеих составляющих). Тип связи между белком и нуклеиновой кислотой, как полагают, ионный, так как белки нуклеопротейдов, как правило, содержат много катионных групп, а нуклеиновые кислоты обладают большим числом анионных группировок.

У большинства организмов белковой составляющей нуклеопротейдов являются гистоны и протамины. Однако, нуклеопротейды из растительных тканей, бактерий, вирусов, а также некоторых тканей животных характеризуются содержанием других простых белков (альбуминов или глобулинов).

По составу нуклеиновых кислот нуклеопротейды могут быть дезоксирибонуклеопротейдами и рибонуклеопротейдами. Дезоксирибонуклеопротейды (ДРНП) и рибонуклеопротейды (РНП) представляют собой сложные агрегаты, построенные из 1-2 молекул нуклеиновой кислоты (соответственно ДНК и РНК) и большого числа прикрепленных к ней белковых субъединиц. Классическим примером рибонуклеопротейда является вирус табачной мозаики, содержащий 1 молекулу РНК с молекулярной массой 2 млн. и около 2000 белковых субъединиц. Из рибонуклеопротейдов построены рибосомы – особые органеллы клетки, в которых происходит синтез белка. ДРНП входят в состав мононуклеосом, являющихся составной частью хромосомы.

В дезоксирибонуклеопротейде особую роль во взаимодействии ДНК и протамины или гистона, входящих в состав ДРНП, приписывают остаткам фосфорной кислоты ДНК и радикалам остатков аргинина в полипептидной цепи белковой молекулы. При этом замыкается большое число электровалентных связей между ионизированными фосфатными и гуанидиновыми группировками.

Нуклеиновая кислота и белок в нуклеопротеидах взаимно стабилизируют друг друга. Важно подчеркнуть, что подавляющая часть нуклеиновых кислот клетки существует в виде нуклеопротеидов. Сочетание в единую молекулу нуклеиновой кислоты и большого числа белковых субъединиц приводит к появлению уникальных функциональных свойств у такого рода образований. В частности, РНП-частицы играют совершенно исключительную роль в биосинтезе белка, а ДРНП-частицы – в формировании и функционировании хромосомного аппарата клетки, хранящего генетическую информацию. Ведущее значение в этих функциях нуклеопротеидов принадлежит нуклеиновым кислотам.

## 2. Химия нуклеиновых кислот

### 2.1. Общая характеристика

Нуклеиновые кислоты были открыты в прошлом столетии Мишером в ядрах гнойных клеток. Интенсивное изучение этих соединений началось лишь последние 50 лет. Большой вклад в выяснении состава, строения и роли нуклеиновых кислот внесли исследования Левина, Чаграффа, Дэвидсона, Уотсона, Крика, Уилкиса, а также советских ученых А.Н. Белозерского, А.А. Баева, А.С. Спирина и др.

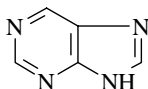
Нуклеиновые кислоты и мононуклеотиды, из которых они построены, участвуют в молекулярных механизмах хранения и передачи генетической информации. Кроме того, мононуклеотиды играют важную роль в реакциях обмена веществ и энергии, выполняя коферментные функции и функции макроэргических соединений. В последнее время появились указания на медиаторную функцию АТФ.

Нуклеиновые кислоты – высокомолекулярные соединения, с молекулярной массой до нескольких миллионов дальтон и выше. Они обладают сильно выраженными кислотными свойствами и при физиологическом значении рН несут высокий отрицательный заряд. Нуклеиновые кислоты содержат около 15% азота и 10% фосфора. В состав ДНК постоянно входят элементы С, Н, N, О, Р, а по данным последних лет – селен, который, как полагают, изоморфен фосфору.

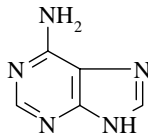
Молекула нуклеиновой кислоты является полинуклеотидом, состоящим из очень большого количества мононуклеотидов. Мононуклеотиды, в свою очередь, при гидролизе расщепляются на азотистые основания (пуриновые или пиримидиновые), углевод – пентозу (рибозу или дезоксирибозу) и фосфорную кислоту.

Наиболее важными из входящих в состав нуклеотидов (а значит, и нуклеиновых кислот) пуриновых оснований являются аденин и гуанин (производные бициклического гетероцикла – пурина).

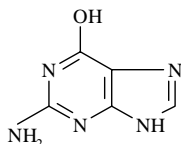
Кроме того, в составе нуклеиновых кислот найдено большое число так называемых минорных пуриновых оснований – метилированных производных аденина и гуанина.



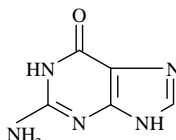
пурин



аденин (6-аминопурин)



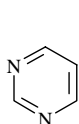
енольная форма  
(лактимная)



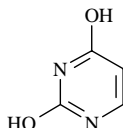
кетотформа  
(лактаманная)

гуанин

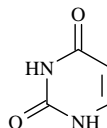
Помимо пуриновых оснований, при гидролизе мононуклеотидов могут освобождаться пиримидиновые основания: урацил, тимин, цитозин, а иногда также 5-метилцитозин и 5-оксиметилцитозин и др. минорные производные пиримидина.



пиримидин

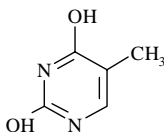


енольная форма  
(лактимная)

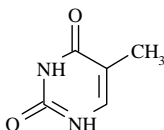


кетотформа  
(лактаманная)

урацил

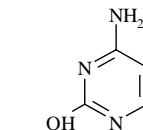


енольная форма  
(лактимная)

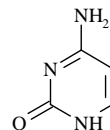


кетотформа  
(лактаманная)

тимин (5-метилурацил)

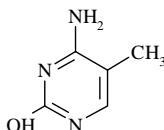


енольная форма  
(лактимная)

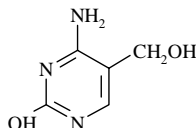


кетотформа  
(лактаманная)

цитозин

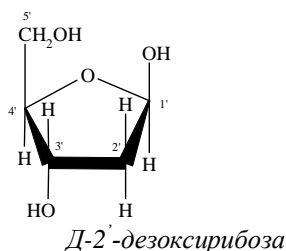
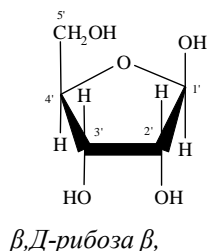


5-метилцитозин



5-гидроксиметилцитозин

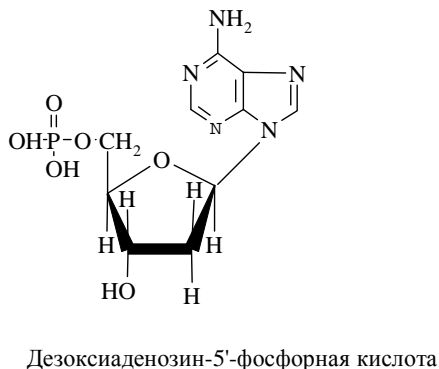
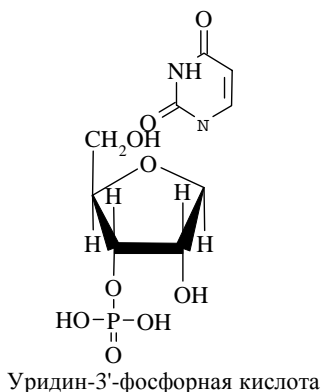
Наряду с азотистыми основаниями в мононуклеотидах находятся углеводы (рибозы или 2'-деоксирибоза), которые в составе нуклеиновых кислот представлены в виде β,Д-рибофуранозной формы.

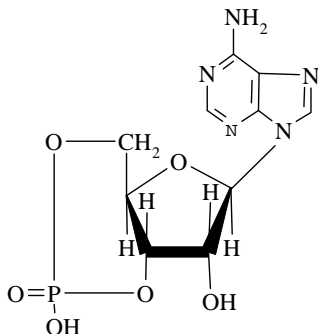


Пуриновые или пиримидиновые основания, рибоза или дезоксирибоза и фосфорная кислота связаны в молекулах нуклеотидов совершенно однотипно.

Пентозы своим 1-м углеродным атомам всегда соединяются с соответствующим основанием: с пуриновым основанием – по его 9-му атому азота, с пиримидиновым – по 1-му атому азота. Пентозы соединены с основаниями через β-гликозидные связи.

Пентоза с фосфорной кислотой соединена эфирной связью. В случае наличия в нуклеотиде дезоксирибозы сложноэфирная связь образуется с фосфорной кислотой в 3'- и 5'- положениях, а в случае наличия рибозы может быть – 2', 3' и 5'- положениях. Следует обратить внимание на то, что нуклеотиды, встречающиеся в клетке в свободной форме, содержат фосфатную группу преимущественно в 5' положении. Известны также циклические монофосфаты аденозина (3',5' - АМФ) и гуанозина (3',5'-ГМФ).





Аденозин-3'-5'-фосфорная кислота  
(циклическая адениловая кислота)

Во избежание путаницы с соответствующей нумерацией атомов в пуриновых или пиримидиновых основаниях углеродные атомы в пентозе нумеруют штрих-значком.

Нуклеотиды, содержащие рибозу, называются рибонуклеотидами, а нуклеотиды, включающие дезоксирибозу – дезоксирибонуклеотидами.

При отщеплении от нуклеотида остатка фосфорной кислоты образуется соединение, получившее название нуклеозида. Нуклеотиды можно рассматривать как фосфорные эфиры нуклеозидов. Поэтому название нуклеотидов (рибонуклеотидов и дезоксирибонуклеотидов) складывается из названия соответствующего нуклеозида и фосфорной кислоты. Так как нуклеозидфосфаты (нуклеотиды) обладают довольно сильными кислотными свойствами, то их часто называют соответствующими кислотами.

В число рибонуклеотидов, входящих в состав РНК, относят:

1. цитидинмонофосфат (ЦМФ) или цитидинмонофосфорная кислота или цитидиловая кислота;
2. уридинмонофосфат (УМФ) или уридинмонофосфорная кислота или уридиловая кислота;
3. аденозин-монофосфат (АМФ) или аденозинмонофосфорная кислота или адениловая кислота;
4. гуанозинмонофосфат (ГМФ) или гуанозинмонофосфорная кислота или гуаниловая кислота.

В число дезоксирибонуклеотидов, входящих в состав ДНК, относят:

1. дезоксицитидинмонофосфат (дЦМФ) или дезоксицитидинмонофосфорная кислота или дезоксицитидиловая кислота;

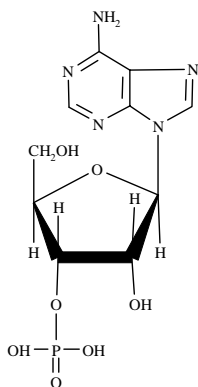


2. дезокситимидинмонофосфат (дТМФ) или дезокситимидинмонофосфорная кислота или дезокситимидиловая кислота;

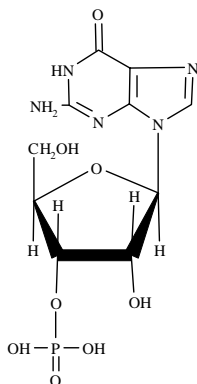
3. дезоксиаденозинмонофосфат (дАМФ) или дезоксиаденозинмонофосфорная кислота или дезоксиадениловая кислота;

4. дезоксигуанозинмонофосфат (дГМФ) или дезоксигуанозинмонофосфорная кислота или дезоксигуаниловая кислота.

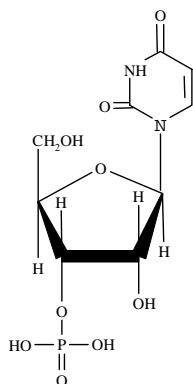
*Рибонуклеотиды:*



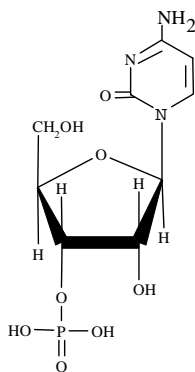
Аденозинмонофосфат  
(АМФ)



Гуанозинмонофосфат  
(ГМФ)

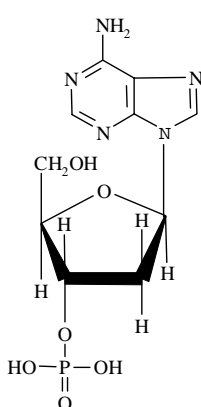


Уридинмонофосфат  
(УМФ)

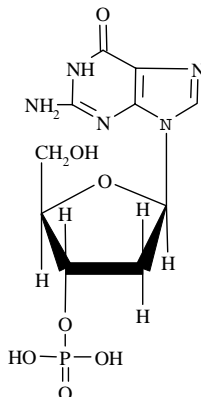


Цитидинмонофосфат  
(ЦМФ)

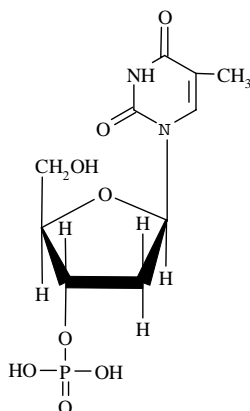
*Дезоксирибонуклеотиды:*



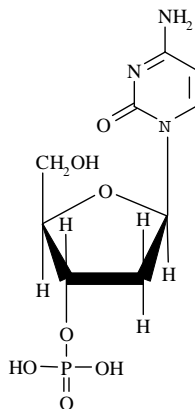
Дезоксиаденозинмонофосфат  
(дАМФ)



Дезоксигуанозинмонофосфат  
(дГМФ)



Дезокситимидинмонофосфат  
(дТМФ)

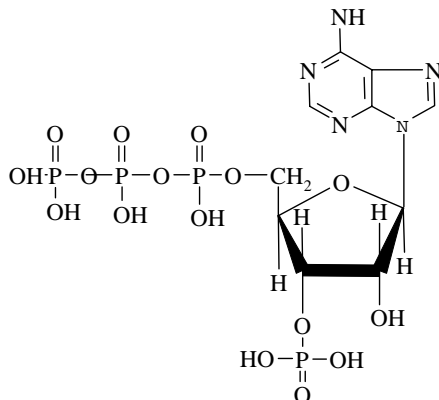


Дезоксцитидинмонофосфат  
(дЦМФ)

В организме встречаются и другие нуклеотиды, не входящие в состав нуклеиновых кислот, которые играют особую роль в процессах обмена веществ, будучи связаны с теми или иными ферментами.

Строение этих нуклеотидов характеризуется тем, что фосфорная кислота присоединена в них к пятому углеродному атому пентозы и, кроме того, в нуклеотиде нередко имеется не один, а несколько остатков фосфорной кислоты. Важнейшими представителями этой группы являются аденозинмонофос-

формная кислота (АМФ), аденозиндифосфорная кислота (АДФ) и аденозинтрифосфорная кислоты (АТФ). АТФ – это основной носитель химической энергии в клетке.



Аденозин-5'-трифосфорная кислота

При дефосфорилировании АТФ образуются АДФ и АМФ. Дефосфорилирование АТФ сопровождается освобождением энергии, которая используется в клетках для различных процессов синтеза и др. видов работы. В свою очередь, АДФ за счет энергии, освобождающейся при окислении органических веществ, фосфорилируется с образованием АТФ. В клетках организма постоянно происходит процесс дефосфорилирования АТФ и фосфорилирования АДФ и АМФ. Подобно АМФ (адениловой кислоте) происходит фосфорилирование других нуклеозидфосфатов: гуаниловой кислоты (ГМФ – ГДФ – ГТФ), уридиловой кислоты (УМФ – УДФ – УТФ), цитидиловой кислоты (ЦМФ – ЦДФ – ЦТФ). Все эти соединения в организме играют важную роль в обмене веществ и энергии, в частности, в биосинтезе белков (ГТФ), липидов (ЦТФ) и углеводов (УТФ).

Существенную роль в обмене веществ играют также и другие нуклеотиды и их производные. Никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ), флавиномононуклеотид (ФМН) и флавиноадениндинуклеотид (ФАД) являются переносчиками водорода в окислительно-восстановительных реакциях. Коэнзим А (КоА), построенный по нуклеотидному принципу, играет ведущую роль в процессах активирования, переноса и обмена жирных кислот и др. процессах.

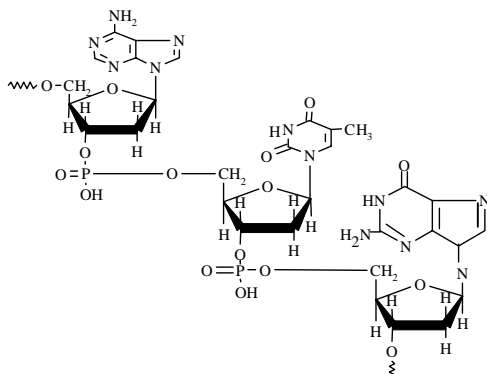
Циклические нуклеотиды (цАМФ и цГДФ) являются вторичными мессенджерами в процессах регуляции.

Нуклеиновые кислоты являются полинуклеотидами. Характерные для каждого вида нуклеиновых кислот мононуклеотиды, объединяясь в количестве нескольких сотен, а иногда и тысяч в единую молекулу, образуют громадные полинуклеотидные цепи.

По составу входящих в нуклеиновые кислоты углеводов различают дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК), содержащую дезоксирибозу, и рибонуклеиновую кислоту (РНК), содержащую рибозу. Помимо углеводного компонента ДНК и РНК отличаются по составу оснований. ДНК содержит прежде всего аденин, гуанин, цитозин и тимин; встречаются также 5-метилцитозин (тимус) и 5-оксиметилцитозин (бактериофаги). В РНК присутствуют аденин, гуанин, цитозин и урацил. Особенно разительны различия этих двух кислот в содержании минорных пуриновых и пиримидиновых оснований (в РНК их значительно больше). Основания находятся в нуклеиновых кислотах в форме лактамов (в кетоформе).

Все мононуклеотиды расположены в молекуле нуклеиновой кислоты в строго определенном порядке, свойственном данному полинуклеотиду.

Нуклеотиды в молекуле нуклеиновых кислот связаны друг с другом фосфодиэфирной связью между третьим углеродным атомом пентозы одного мононуклеотида и пятым углеродным атомом пентозы соседнего нуклеотида. Никаких разветвлений в цепи нуклеиновых кислот не обнаружено.



*Отрезок ДНК*

Как уже говорилось, в мононуклеотиде – структурной единице нуклеиновых кислот – имеются гликозидная связь, соединяющая основания с пентозой, эфирная связь между пентозой и фосфорной кислотой и фосфодиэфирная связь между нуклеотидами. Все эти связи прочные, ковалентные и они создают первичную структуру нуклеиновых кислот, т.е. состав и порядок чередова-

ния нуклеотидных остатков в полинуклеотидной цепи нуклеиновых кислот. В настоящее время первичная структура расшифрована почти для всех т-РНК, полинуклеотидная цепь которых содержит 75-90 нуклеотидов. Структура ДНК полностью не расшифрована. Расшифрована первичная структура лишь отдельных фрагментов ДНК.

Кроме первичной структуры нуклеиновые кислоты имеют вторичную и третичную структуры. Вторичная структура первоначально была предложена для ДНК Уотсоном и Криком в 1953 году. В основу организации этой вторичной структуры ДНК легли установленные закономерности химического состава ДНК (так называемые правила Чаргаффа). Они гласят:

1) молярное содержание в ДНК пуринов равно содержанию пиримидинов, а именно: содержание аденина равно содержанию тимина ( $A=T$ ) или  $A:T = 1$ , содержание гуанина – содержанию цитозина ( $G=C$ ) или  $G:C = 1$ , суммарное содержание аденина и гуанина равно суммарному содержанию цитозина и тимина ( $A+G=C+T$ ):

$$\frac{C + T}{A + G} = 1$$

2) количество аминогрупп, входящих в состав ДНК оснований аденина и цитозина, равно количеству кетогрупп имеющихся там оснований гуанина и тимина. следовательно  $G+T = A+C$  или:

$$\frac{G + T}{A + C} = 1$$

Эти данные наряду с результатами рентгеноструктурных исследований способствовали формированию представлений о вторичной структуре ДНК, как двойной правовращающей спирали. Это представление предполагает наличие в ДНК двух антипараллельных комплементарных полинуклеотидных цепей спиральной формы, закрученных друг на друга. Каждая цепь представляет собой полинуклеотид, в котором фосфодиэфирной связью соединены друг с другом мононуклеотиды. Вдоль оси отдельной цепи на каждые 0,64 нм приходится один мононуклеотид. Угол между смежными мононуклеотидами в каждой цепи равен  $36^\circ$ . Один виток спирали состоит из 10 нуклеотидов, размер витка – 3,4 нм. В цепи мононуклеотиды расположены таким образом, что азотистые основания их находятся внутри двойной спирали, а пентоза и фосфорная кислота снаружи. Две параллельные идущие цепи, обвитые вокруг общей оси, связаны друг с другом своими азотистыми основаниями вдоль всей молекулы ДНК с помощью водородных связей (аденин и тимин – двумя, а гуанин и цитозин – тремя водородными связями). Водородные связи направлены от  $NH_2$ -группы аденина к кетогруппе тимина и от  $NH_2$ -группы гуанина к кетогруппе цитозина, от  $NH_2$ -группы цитозина к кетогруппе гуанина. Наконец, во-

дородные связи имеются между двумя атомами азота в положениях 1 и 3 соответственно пуриновых и пиримидиновых оснований. Это приводит к тому, что последовательность расположения азотистых оснований в какой-либо одной из двух цепей может быть любая, но последовательность расположения азотистых оснований в другой цепи будет находиться в строгой зависимости от последовательности оснований первой цепи.

Пары аденин – тимин и гуанин – цитозин характеризуются избирательностью взаимодействия, т.е. являются комплементарными (дополнительными) друг к другу. Из этого следует, что макромолекула ДНК складывается из двух комплементарных друг к другу цепей, т.е. говорит о полном отражении последовательности нуклеотидов одной цепи в последовательности другой. Цепи не только комплементарны, но и антипараллельны, т.е. имеют противоположную полярность. Это означает, что моонуклеотидная связь в данной цепи имеет направление 5'-3', а в другой – 3'-5'. Большая роль в поддержании вторичной структуры биспиральных полинуклеотидов, наряду с водородными связями, отводится гидрофобным взаимодействиям.

Большинство типов РНК в отличие от ДНК имеет одноцепочную структуру, (исключение составляет РНК некоторых микроорганизмов и вирусов), однако, спаривание оснований может наступить и в этом случае внутри полинуклеотида, образуя т.н. «шпильки». Нить РНК закручивается сама на себя, образуя водородные связи между основаниями аденин – урацил и гуанин – цитозин. Молекула РНК способна к обратимым изменениям формы, размеров, числа водородных связей в зависимости от ионной силы, pH, температуры раствора и т.д.

Помимо вторичной структуры различают также третичную структуру нуклеиновых кислот, характеризующуюся суперспирализацией с образованием сверхскрученной кольцевой структуры, структуры компактного клубка и др. Это обеспечивает экономную упаковку огромной молекулы ДНК в хромосоме: вместо 8 см длины, которую она могла бы иметь в вытянутой форме, в хромосоме человека она настолько плотно упакована, что ее длина составляет 5 нм.

При определенных условиях (температуры, величины pH и др.) происходит разрушение третичной и вторичной структуры ДНК. Это явление получило название денатурации нуклеиновых кислот. Денатурация такое же характерное явление для нуклеиновых кислот, как и для белков, и сопровождается также изменением их свойств. Денатурация полинуклеотидов может быть обратимым процессом. Исследования показали, что при совместной денатурации различных ДНК бактерий и последующей ренатурации могут возникать «гибридные» молекулы ДНК, составленные из фрагментов первоначальных молекул ДНК. Это явление получило название молекулярной гибридизации и послужило основой для постановки работ в области генной инженерии, пресле-

дующей целью конструировать вне организма биологически активные рекомбинантные (или «гибридные») молекулы ДНК.

Содержание ДНК в клетках организма определенного вида отличается необыкновенным постоянством, тогда как межвидовые различия в этом отношении значительны. Чаргафтом, А.Н. Белозерским и др. было установлено, что препараты ДНК, изолированные из различных организмов, характеризуются разным количественным соотношением пар азотистых оснований.

Было установлено, что нуклеотидный состав ДНК является характеристикой данного организма, данного биологического вида. Иначе говоря, ДНК имеет видовую специфичность. Академик А.Н. Белозерский и его ученики выявили, что варибельность нуклеотидного состава ДНК очень высока у эволюционно древних таксонов и сравнительно мала у молодых, что распределение метилированных оснований различно у представителей животных, растений и бактерий. На этих свойствах нуклеиновых кислот А.Н. Белозерским были разработаны принципы геносистематики объектов растительного и животного мира. В различных клетках и тканях одного и того же организма ДНК имеет идентичный или, по крайней мере, достаточно близкий нуклеотидный состав, на него не оказывает влияние стадия развития, возраст, питание и прочие физиологические факторы или условия окружающей среды. Однако, у разных организмов относительное содержание различных оснований в ДНК колеблется в широких пределах. Показателем такого рода изменчивости служит отношение  $\frac{\text{аденин} + \text{тимин}}{\text{гуанин} + \text{цитозин}}$ , получившее название коэффициента специфичности

нуклеиновых кислот. В пределах каждого типа ДНК имеется бесконечное количество возможных вариаций по степени преобладания той или иной пары оснований (А+Т и Г+Ц). Это создает возможности существования того большого разнообразия ДНК, которое встречается в органическом мире.

Нуклеотидный состав РНК различных живых существ варьирует в гораздо меньших размерах, чем нуклеотидный состав ДНК. Видовая специфичность РНК создается различной последовательностью размещения нуклеотидов в их молекулах. Количество РНК в клетке может меняться под влиянием различных факторов.

В первичной структуре ДНК и информационной РНК есть одна интересная особенность: последовательность нуклеотидных остатков в РНК полностью совпадает с последовательностью нуклеотидных остатков (с заменой урацила на тимин соответственно) в определенных участках ДНК. Это обстоятельство очень важно для понимания закономерностей специфического биосинтеза белка в живой природе.

### **2.2. Свойства и функции нуклеиновых кислот**

Строение нуклеиновых кислот определяет их физико-химические и функциональные свойства.

Нуклеиновые кислоты – это вещества белого цвета, волокнистого строения, плохо растворимые в воде в свободном состоянии, но хорошо растворимые в воде в виде солей щелочных металлов. Они также хорошо растворяются в солевых растворах: РНК – в разбавленных, а ДНК – в более крепких. РНК неустойчива к воздействию щелочей и расщепляется до мононуклеотидов, в то время как ДНК стабильна в щелочной среде. Молекулярная масса ДНК – от 1,9 млн. до 200 млн. и выше, а ее молекула состоит из многих тысяч мононуклеотидов; молекулярная масса РНК – от 17000 до 4000000, а мононуклеотидов в молекуле – до 4-6 тысяч.

Растворы нуклеиновых кислот обладают высокой вязкостью и двойным лучепреломлением. Располагая большим отрицательным зарядом, молекулы нуклеиновых кислот подвижны в электрическом поле. Нуклеиновые кислоты прочно связывают многовалентные ионы металлов, подвергаются алкилированию и дезаминированию. Характерным свойством нуклеиновых кислот является способность поглощать свет в ультрафиолетовой области спектра вблизи 260 нм.

ДНК и РНК локализуются в различных частях клетки. ДНК эукариот находится преимущественно в ядре клетки (в составе хромосом) в связанной с белками виде, образуя хроматин. Однако несколько процентов общей клеточной ДНК сосредоточено в митохондриях, а также в хлоропластах растительных клеток и базальных тельцах жгутиков. ДНК митохондрий похожа на ДНК бактерий, т.е. она свободна, не связана с белком и имеет кольцевую структуру. Митохондриальная ДНК определяет синтез некоторых компонентов митохондриальных мембран, поэтому мутации в этой ДНК могут вызвать нарушения клеточного дыхания. РНК встречается как в ядре, так и в цитоплазме, особенно богаты РНК ядрышко и рибосомальная фракция микросом. Кроме того, РНК найдена в хромосомах и в растворимой форме – в цитоплазматической жидкости. Содержание РНК в клетках не отличается ни однообразием, ни стабильностью. Замечено, что в клетках тех тканей, где идет интенсивный синтез белка, содержание РНК превышает в несколько раз таковое ДНК.

С различной локализацией ДНК и РНК тесно связаны их функциональные особенности. ДНК является основным строительным материалом генов, в которых в «зашифрованном» виде хранится наследственная информация организма, реализующаяся через биосинтез белка. У РНК – другая функция: информировать цитоплазму о свойствах, записанных с помощью генетического кода. Это проявляется, прежде всего, в ответственности РНК за синтез белка и



специфичность синтезируемых молекул. В клетках существует три главных типа РНК:

- 1) информационная или матричная РНК (и-РНК или м-РНК);
- 2) рибосомальная или рибосомная РНК (р-РНК);
- 3) транспортная РНК (т-РНК).

Информационная РНК составляет 5-10% РНК клетки. Присутствует в ядре (где она синтезируется) и в цитоплазме. Молекулярная масса и-РНК находится в пределах 300000-4000000. Информационная РНК содержит четыре основания: аденин (А), гуанин (Г), цитозин (Ц) и урацил (У), в различной последовательности которых «переписывается» (транскрибируется) ферментативным путем информация с хромосомной ДНК. После завершения транскрипции и-РНК переходит на рибосомы, где служит матрицей при синтезе белка. Каждый белок, синтезируемый клеткой, кодируется специфической и-РНК или ее специфическим участком с помощью указанных выше оснований (точнее, нуклеотидов, содержащих эти основания).

Транспортная РНК составляет 10-15% РНК клетки, входит, главным образом, в состав цитоплазмы. Молекулярная масса их сравнительно невелика (17000-35000). Они содержат от 75 до 90 мононуклеотидов. Наряду с обычными основаниями (аденином, гуанином, цитозином, урацилом) т-РНК содержит довольно значительное количество минорных оснований.

Функция т-РНК состоит в транспортировке на рибосомы определенных аминокислот, при этом т-РНК выполняет роль молекулярного «адаптера», в который «вставляется» аминокислота, что обеспечивает ей способность «понимать» генетический код и включаться в синтез полипептидной цепи согласно соответствующего кодона и-РНК. Для каждой аминокислоты существует особая, специфическая т-РНК.

Рибосомальная РНК находится в составе рибосом (до 65% их массы) – особых субклеточных образований, в которых происходит синтез белка. На долю р-РНК приходится 75-80% РНК клетки. Рибосомальная РНК состоит из двух видов молекул с молекулярной массой 500000-700000 и 1000000-1700000. Считается, что р-РНК выполняет структурную роль: в сочетании с соответствующими белками она образует структуру рибосомы.

Кроме внутриклеточных ДНК и РНК существуют также ДНК и РНК, входящие в состав вирусов и фагов. РНК образует растительные вирусы, а ДНК – животные вирусы и бактериофаги.

### 3. Витамины

#### 3.1. Общая характеристика

Белки, жиры, углеводы, входящие в состав пищевых веществ, используются организмом для пластических и энергетических надобностей. Достаточное содержание этих соединений, а также солей и воды в обычных свежих продуктах и в пище смешанного характера вполне обеспечивает жизнь, здоровье и трудоспособность человека. Однако в определенных условиях даже при обильном потреблении основных пищевых веществ могут возникать особые заболевания, нередко кончающиеся смертью. Такие явления наблюдались издревле при отсутствии свежей пищи и связывались с недостатком в пище каких-то веществ. Экспериментально роль этих неизвестных веществ была доказана в прошлом веке русским ученым Н.И. Луниным. В 1912 году польский ученый К. Функ предложил называть эти неизвестные вещества витаминами, т.е. аминами жизни (от лат. «вита» – жизнь), так как одно из них, выделенное и изученное им (витамин В<sub>1</sub> – тиамин) содержало аминогруппу. Термин этот стал затем применяться ко всем обязательным дополнительным пищевым факторам. И хотя многие из них, как оказалось впоследствии, не содержат аминогруппы и вообще азота, название «витамины» по традиции удерживается до сих пор в биологии и медицине.

Благодаря усилиям биохимиков и физиологов за почти столетнюю историю витаминологии выделено более двух десятков индивидуальных витаминов и витаминоподобных соединений, изучены их состав и строение, физиологическое действие и в подавляющем большинстве случаев осуществлены химические синтезы соответствующих препаратов. Среди исследователей советского периода огромную работу в области витаминологии провели Л.А. Черкес, А.В. Палладин, М.Н. Шатерников, В.Н. Букин, А.В. Труфанов, Б.А. Лавров, В.В. Ефремов, А.Е. Браунштейн и др.

Витамины представляют собой сборную в химическом отношении группу низкомолекулярных органических веществ, физические свойства которых столь же разнообразны как и их химическая природа. Физиологическое действие витаминов на животных, на растительные ткани и микроорганизмы тоже весьма различно.

Витамины объединены в отдельную группу природных органических соединений на основе абсолютной необходимости их для гетеротрофного организма в качестве дополнительной к белкам, жирам, углеводам и минеральным веществам составной части пищи. Иначе говоря, витамины являются жизненно необходимыми компонентами сбалансированного питания. При этом витамины не включаются в структуру тканей и не используются в организме в ка-

честве источника энергии, а обеспечивают нормальное протекание биохимических и физиологических процессов путем участия в регуляции обмена веществ.

Витамины не синтезируются в организме человека и животных или синтезируются тканями, а также кишечной микрофлорой, присущей организму, в малых количествах, недостаточных для нормальной жизнедеятельности. Для человека основным источником витаминов являются высшие растения, которые сами или через пищевые продукты животного происхождения им потребляются. При недостаточном поступлении в организм витаминов развиваются патологические явления.

Между витаминами и другими составными частями пищи существуют тесные взаимоотношения, объясняемые общностью, единством обмена веществ. Так, известно, что между витамином B<sub>5</sub> (никотинамидом или витамином PP), недостаточность которого вызывает пеллагру, и аминокислотой триптофаном существует взаимосвязь, так как именно из триптофана образуется никотинамид. Ввиду этого недостаточность никотинамида развивается только при одновременной недостаточности триптофана. Недостаточность никотинамида может быть частично или полностью компенсирована введением триптофана. Другим примером подобного рода является холин, который при определенных экспериментальных условиях питания представляет собой жизненно необходимый фактор питания и, таким образом, может быть назван витамином или точнее – витаминоподобным соединением. Однако жизненно необходимой является не вся молекула холина, а только ее метильная группа. Путём добавления в обычную пищу других метилсодержащих веществ, прежде всего метионина, потребность организма в метильных группах может быть удовлетворена. Таким образом, холин, как и метионин, является носителем метильной группы и оба вещества, могут замещать друг друга.

В животном мире имеется видовое различие в потребности отдельных витаминов, связанное с возможностью или невозможностью достаточного их синтеза в организме. Так, аскорбиновая кислота (витамин С) является витамином для человека, обезьян и морских свинок, тогда как крысы, кролики и собаки синтезируют его сами в процессе межклеточного обмена веществ.

В количественном отношении потребность в витаминах ничтожна: если человек в среднем должен потреблять ежедневно около 600 г (в пересчете на сухое вещество) основных питательных веществ, то витаминов – лишь 100-200 мг. Эта потребность зависит от возраста, пола, физической нагрузки, физиологического состояния. В связи с этим возникло предположение, что витамины в организме участвуют в обмене веществ, выполняя каталитические функции. На связь витаминов с ферментами впервые в 1922 году указал академик Н.Д. Зелинский. Действительно, было установлено, что поступая в организм с пищей, витамины принимают активное участие в обмене веществ, причем

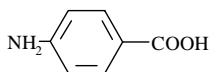
большинство водорастворимых витаминов (группы В) выполняют коферментную роль в ферментативных реакциях обмена.

Для витаминов, растворимых в жирах, коферментная функция пока только выясняется. Однако показано, что производные витаминов А и К выполняют коферментную функцию в процессах биосинтеза гликопротеидов и полисахаридов, перенося через липофильные мембраны гидрофильные остатки моно- и олигосахаридов к эндоплазматическому ретикулуму, где происходит присоединение углеводной части к белковой основе, синтезированной в рибосомах.

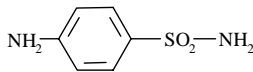
Вначале полагали, что витамины высоко специфичные соединения. Впоследствии, однако, было установлено, что в природе имеются семейства сходных соединений, которые одинаковы по своему биологическому (витаминоподобному) действию. Аналоги витаминов удается получить синтетическим путем. Для обозначения химически родственных с витаминами соединений применяют термин витаминеры.

В некоторых случаях установлено, что аналоги витаминов могут оказывать не только биологически подобные действия, но и противоположные. Эти соединения получили названия антивитамины.

Так, сульфаниламидные препараты (стрептоцид, сульфацил, норсульфазол и др.) оказались антивитаминами в силу своего химического сходства относительно парааминобензойной кислоты:



парааминобензойная  
кислота



сульфаниламид

Сульфаниламиды отличаются от парааминобензойной кислоты лишь наличием  $-SO_2-NH_2$ -группы, заменившей в последней карбоксильную группу, но, будучи введенными в большой организм, конкурируют с парааминобензойной кислотой за включение в молекулу фолиевой кислоты. Тем самым сульфаниламиды блокируют включение парааминобензойной кислоты в молекулу фолиевой кислоты. Фолиевая кислота играет существенную роль в ферментных системах синтеза нуклеиновых кислот микроорганизмов. Поэтому нарушение синтеза фолиевой кислоты приводит к задержке развития микробных клеток.

К числу антивитаминов витамина В<sub>1</sub> относят окситиамин, витамина В<sub>6</sub> – 4-дезоксипиридоксин.

В настоящее время для витаминов, растворимых в воде, установлено значительное число антивитаминов и выявлен механизм их действия. В отношении витаминов, растворимых в жирах, вопрос об их антивитаминах еще не

решен, за исключением витамина К, для которого выявлены в качестве анти-витаминов производные кумарина (дикумарин, варфарин, тромексан).

Таким образом, антивитамины – это, в основном, вещества, очень близкие по структуре к соответствующим витаминам, которые как бы являясь их ложными заменителями, включаются по аналогии в структуру в естественную цепь реакций обмена, прерывая ее нормальное течение. В основе действия антивитаминов лежит конкурентное вытеснение антивитаминном соответствующего витамина из его комплекса с ферментом. В результате образуется недействительный фермент, обмен нарушается и возникает тяжёлое заболевание – авитаминоз. Такие структуроподобные антивитамины являются, следовательно, конкурентными ингибиторами витаминов.

Помимо этих антивитаминов, сходных по структуре с витаминами, различают также структуроразличные антивитамины, которые путем изменения структуры молекул витаминов или комплексных соединений витамина с метаболитами частично или полностью лишают витамин его действия. Эти антивитамины являются неконкурентными ингибиторами витаминов. К их числу можно отнести ферменты: тиаминазу I и II, разрушающие молекулу тиамина, аскорбиназу, разрушающую молекулу аскорбиновой кислоты, авидин, инактивирующий биотин (витамин Н) и др.

Всё вышесказанное позволяет считать антивитаминами такие соединения, которые частично или полностью выключают витамины из обменных реакций организма путем их разрушения, инактивирования или препятствия их ассимиляции.

Указанные свойства антивитаминов, иногда используются с лечебной целью. В качестве примера можно привести применение сульфаниламидов. К числу таких лекарственных средств следует причислить дикумарол и аминоптерин. Дикумарол, являющийся по характеру своего действия антагонистом витамина К, применяется в качестве антикоагулянта при опасности закупорки кровеносных сосудов. Аминоптерин, антивитамин фолиевой кислоты, находит применение в качестве вещества, тормозящего биосинтез нуклеиновых кислот при лейкемии, благодаря чему задерживается развитие злокачественного лейкоза.

### **3.2. Классификация витаминов**

Почти до тридцатых годов нашего столетия химическое строение витаминов оставалось неизвестным. Поэтому каждому из них давали название по имени того заболевания, которое развивалось при отсутствии витамина в пище. При этом к названию соответствующей болезни добавлялась приставка «анти», так как введение витамина в пищу приводило к быстрому выздоровлению.

В 1913 году Мак-Коллума предложил отдельные витамины обозначать буквами латинского алфавита (А, В, С и т.д.), что и проводилось по мере их выделения.

Когда была исследована химическая природа ряда витаминов, стали вводить их химические названия. В настоящее время используются все три вида номенклатуры витаминов. Наметилась тенденция перехода к химическим наименованиям, которые биохимическая секция международного союза по чистой и прикладной химии с 1956 года признала международными.

В 1970 году Р.В. Чаговец и Е.В. Лахно предложили классифицировать витамины, исходя из их химического строения, выделив следующие группы витаминов:

- 1) витамины, участвующие в образовании коферментов (тиамин, рибофлавин, пиридоксин, никотиновая кислота, биотин, фолиевая кислота, кобаламин).
- 2) алифатические витамины (пантотеновая и липоевая кислоты)
- 3) витамины – полиметильные соединения (холин, карнитин, пангамовая кислота, s-метилметионин).
- 4) витамины – изопреноидные соединения (филлохиноны, токоферолы и кальциферолы).
- 5) витамины гексозного происхождения (аскорбиновая кислота, инозит).

На кафедре фармацевтической химии Пятигорской ГФА используются следующая классификация витаминов:

- 1) витамины алифатического ряда (вит. С);
- 2) витамины аlicиклического ряда (вит. А, Д);
- 3) витамины ароматического ряда (вит. К, викасол);
- 4) витамины гетероциклического ряда:
  - а) хромановые витамины (вит. Е);
  - б) фенилхромановые (вит. Р);
  - в) пиридинкарбоновые (вит. РР, В<sub>5</sub>);
  - г) оксиметилпиридиновые (вит. В<sub>6</sub>);
  - д) пиримидин-тиазоловые (вит. В<sub>1</sub>);
  - е) группа фолиевой кислоты (вит. В<sub>с</sub>);
  - ж) изоаллоксазиновые (вит. В<sub>2</sub>);
  - з) кобаламины (вит. В<sub>12</sub>).

В медицинской и биологической литературе витамины подразделяются на две группы: витамины, растворимые в воде, и витамины, растворимые в жирах. М.И. Смирновым (1974) предложена временная классификация, согласно которой выделяются три группы витаминов (по каждому витамину приведена буквенная, химическая и физиологическая номенклатура):

**1. Витамины, растворимые в воде:**

- Витамин В<sub>1</sub> (тиамин, аневрин, антиневритный);
- Витамин В<sub>2</sub> (рибофлавин, витамин роста);
- Витамин В<sub>3</sub> (пантотеновая кислота, антидерматитный фактор);
- Витамин В<sub>5</sub> или РР (никотиновая кислота и никотинамид, ниацин, антипеллагрический);
- Витамин В<sub>6</sub> (пиридоксин или пиридоксол, пиридоксаль и пиридоксамин, антидерматитный);
- Витамин В<sub>12</sub> (цианкобаламин, антианемический);
- Витамин В<sub>с</sub> (фолиевая кислота, фолацин, птероилглутаминовая кислота, антианемический);
- Витамин Н (биотин, антисеборрейный);
- Витамин С (аскорбиновая кислота, антискорбутный);
- Витамин Р (биофлавоноиды, рутин, капилляроукрепляющий).

**II. Витамины, растворимые в жирах:**

- Витамин А (ретинол, аксерофтол, антиксерофталмический);
- Витамин Д (кальциферолы, антирахитический);
- Витамин Е (токоферолы, антистерильный);
- Витамин К (филлохиноны, антигеморрагический).

**III. Витаминаподобные соединения:**

- Холин;
- Липоевая (6,8-тиоктовая) кислота;
- Оротовая кислота;
- Витамин В<sub>15</sub> (пангамовая кислота, глюконодиметиламиноацетат, антианоксический);
- Инозит;
- Парааминобензойная кислота;
- Карнитин;
- Витамин U (S-метилметионин, противоязвенный).

**3.3. Нарушение баланса витаминов в организме**

Выше уже говорилось, что недостаточное поступление с пищей витаминов в организм человека и животных вызывает характерные для каждого витамина симптомокомплексы патологических нарушений.

В основе этих патологических нарушений во многих случаях лежат нарушения в ферментных системах (свыше 300 ферментов), приводящих к расстройству обмена веществ. Эти патологические состояния получили название авитаминозов (при полном отсутствии поступления витаминов) и гиповитаминозов (при малом, недостаточном для нормального течения жизнедеятельно-

сти поступлении витаминов). Может встречаться одновременная недостаточность нескольких витаминов – полиавитаминозы и полигиповитаминозы.

В нормальных условиях питания обычная потребность здорового человека в витаминах покрывается за счет смешанной и разнообразной пищи.

Витаминная недостаточность может развиваться не только в результате отсутствия витаминов в пище, но также в случае нарушения процессов всасывания витаминов в желудочно-кишечном тракте при различных заболеваниях желудочно-кишечного тракта и заболеваниях печени, а также при нарушении усвоения витаминов клетками организма при заболеваниях обмена веществ, эндокринных заболеваниях, инфекционных заболеваниях и пр.

В последние десятилетия выявлено большое количество заболеваний с врожденными нарушениями обмена веществ, текущих клинически по типу авитаминозов (вит. А, Д, Е, К, В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub>, Н, В<sub>12</sub> и др.). В основе этих заболеваний лежат генетические дефекты, приводящие к нарушению всасывания витаминов, превращения их в коферменты, образования апоферментов и др. Наконец, подавление жизнедеятельности кишечной микрофлоры, вырабатывающей витамины, антибиотиками и сульфаниламидными препаратами также может служить причиной возникновения витаминной недостаточности. Нормальная микрофлора кишечника человека синтезирует различные витамины: В<sub>1</sub> (тиамин), В<sub>2</sub> (рибофлавин), В<sub>6</sub> (пиридоксин), В<sub>5</sub> (никотинамид), В<sub>3</sub> (пантотеновую кислоту), парааминобензойную и фолиевую кислоты, витамин В<sub>12</sub>, К (филлохинон), что в значительной мере обеспечивает потребность организма в этих витаминах.

В настоящее время явные формы авитаминозов составляют большую редкость. Значительно большую актуальность в экономически развитых странах представляют различные гиповитаминозные состояния, которые могут быть как экзогенными, так и эндогенного происхождения.

Принадлежность витаминов к пищевым веществам привела к широкому назначению витаминных препаратов в профилактических и лечебных целях. При этом бесконтрольность использования витаминов и чрезмерное их употребление в ряде случаев вызвало патологические изменения в организме, получивших названия гипервитаминозов. Более токсическими оказались жирорастворимые витамины, особенно витамин Д, а менее токсичными – водорастворимые витамины.

При гипервитаминозе Д, к примеру, наблюдается кальцификация различных тканей и органов, причем, поражение почек приводило к уремии и летальному исходу. Из водорастворимых витаминов при гипервитаминозе наиболее токсичен витамин В<sub>1</sub> (тиамин).

В ряде случаев при повышении дозы применения витаминов отмечается фармакологическое действие, которое собственно не отражает действия витамина как такового, хотя и не сопровождается патологическими явлениями.



Так, к примеру, при приеме никотиновой кислоты часто наблюдается расширение кровеносных сосудов, при приеме аскорбиновой кислоты – противоположный эффект.

Раскрытие причин нарушения баланса витаминов в организме и механизма действия многих витаминов на организм обосновало использование витаминов как лекарственных препаратов.

По лечебно-профилактическому действию можно дать следующую групповую характеристику витаминам:

1) витамины B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, A и C регулируют функциональное состояние центральной нервной системы, обмен веществ и трофику тканей, поэтому их используют как препараты, повышающие общую реактивность организма;

2) витамины C, P и K обеспечивают нормальную проницаемость и устойчивость кровеносных сосудов, повышают свертываемость крови, поэтому их используют как препараты, оказывающие антигеморрагическое действие;

3) витамины B<sub>12</sub>, B<sub>c</sub> и C нормализуют и стимулируют кроветворение, поэтому их используют как антианемические препараты;

4) витамины C и A повышают устойчивость организма к инфекциям путем стимулирования выработки антител и противовоспалительных веществ, усиления защитных свойств эпителия, поэтому их используют как антиинфекционные препараты;

5) наконец витамины A, B<sub>2</sub> и C усиливают остроту зрения, поэтому их используют как препараты, регулирующие зрение.

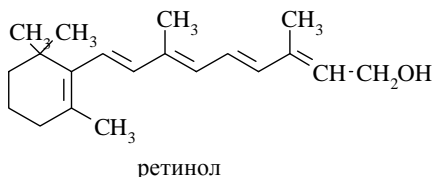
В ряде случаев витамины взаимно усиливают оказываемые ими физиологические эффекты. Так, влияние витамина P на проницаемость сосудов усиливается под влиянием витамина C. В некоторых случаях токсичность витаминов уменьшается при их комбинированном применении. В частности, токсичность витамина D уменьшается под влиянием витамина A. Витамины могут оказывать и антагонистическое действие. Например, никотиновая кислота тормозит липотропное действие холина. Эти особенности влияния витаминов на организм послужили основанием для их комбинированного применения, как в профилактических, так и в лечебных целях в виде так называемых поливитаминных препаратов. К числу готовых поливитаминных препаратов относятся: тетравит, пентовит, декадевит, аснيتين и др.

### **3.4. Характеристика индивидуальных витаминов**

Остановимся более подробно на характеристике отдельных витаминов.

**Витамин A** (ретинол, аксерофтол, антиксерофтальмический витамин) объединяет группу родственных соединений (ретинол, ретиналь, ретиновую кислоту, их эфиры), являющихся производными витамина A – спирта (ретинола) и оказывающих характерное физиологическое действие на организм. Рети-

нол представляет собой циклический ненасыщенный спирт, в основе химической структуры которого лежит  $\beta$ -иононовое кольцо, к которому присоединена боковая алифатическая цепь, содержащая два остатка изопрена и спиртовую группу.



При отсутствии в пище витамина А в организме животного и человека развивается ряд специфических изменений, обозначаемых как А-авитаминоз: ослабление зрения (сумеречная или куриная слепота), поражение эпителиальных тканей (метаплазия, слущивание и ороговение эпителия), в том числе роговицы глаза (сухость ее и воспаление называются ксерофтальмией, отсюда и название витамина А – антиксерофтальмический), нарушение формирования скелета, торможение роста, падение веса и уменьшение устойчивости к инфекциям.

Чрезмерное введение витамина А (гипервитаминоз) также может вызвать в организме патологические нарушения. У взрослых людей гипервитаминоз А проявляется главным образом поражением кожных покровов, выпадением волос, болью в костях и суставах, увеличением селезенки и печени, головными болями, потерей аппетита и бессонницей.

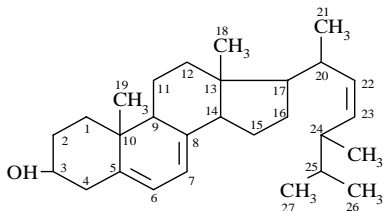
Механизм участия витамина А в поддержании нормального состояния эпителиальных тканей неизвестен. Предполагают, что большое значение имеет участие витамина А в окислительно-восстановительных процессах, так как он способен образовывать перекиси, ускоряющие окисление других соединений. Появились указания на значение витамина А в регуляции проницаемости биологических мембран, синтезе кортикостероидных гормонов, мукополисахаридов и хондроитинсульфатов, в обмене серы и синтезе гликопротеидов. В последнем случае витамин А выступает в роли кофермента. В опытах на А-авитаминозных и А-гипервитаминозных крысах наблюдали нарушение окислительного фосфорилирования, синтеза глюкозы и сульфатированных мукополисахаридов и гликопротеидов, обмена липидов, в том числе холестерина. Полагают, что указанные сдвиги в обмене фосфолипидов и мукополисахаридов являются причиной изменения структуры и проницаемости клеточных структур и проницаемости клеточных и субклеточных мембран при различной обеспеченности организма витамином А.

Роль витамина А в процессах фоторецепции в настоящее время достаточно хорошо изучена. Оказалось, что окисленная форма витамина А (ретиаль-альдегид) в виде цис-изомера является простетической группой белка – опсина, образуя с последним хромопротеид – родопсин (зрительный пурпур) – основное светочувствительное вещество сетчатки (ретины) глаза. Соединение ретиналя с белком происходит в темноте по альдегидной группе первого и аминогруппе второго с образованием Шиффова основания.

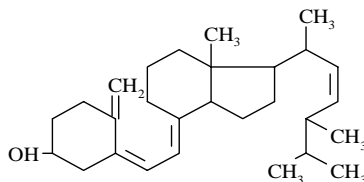
Под действием света происходит расщепление родопсина на белок (опсин) и ретиаль, который одновременно переходит из цис-формы в транс-форму. Эти процессы каким-то, до сих пор не выясненным образом, связаны с преобразованием энергии световых лучей в зрительное возбуждение. Предполагают, что фотоизомеризация в составе родопсина приводит к местной деполаризации мембран светочувствительных клеток сетчатки, что, в свою очередь, приводит к возникновению электрического импульса в зрительном нерве.

На следующем этапе транс-ретиаль при участии окислительно-восстановительных ферментов превращается в транс-ретинол. Часть транс-ретинола далее, по видимому, необратимо распадается, а часть при участии биокатализатора переходит (через стадию цис-ретинола) в цис-ретиаль и используется для ресинтеза родопсина. Таким образом, необходимо постоянное пополнение в организме цис-ретинола, осуществляемого за счет окисления цис-ретинола, т.е. витамина А. Последний, поскольку он не синтезируется в организме человека, должен систематически вводиться с пищей, иначе наступит дефицит ретиналя и разовьются соответствующие симптомы А-авитаминоза.

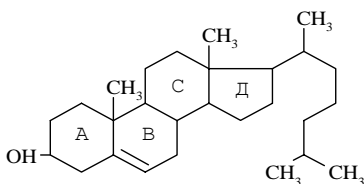
**Витамин Д** (кальциферол, антирахитический), как и витамин А, существует в виде нескольких витамеров. Наиболее распространенными являются витаминеры  $D_2$  и  $D_3$ . Их можно рассматривать как производные циклических спиртов – стеролов. Провитаминами  $D_2$  и  $D_3$  являются соответственно эргостерол и холестерол, которые переходят в активную форму в результате размыкания связи между 9-м и 10-м углеродными атомами кольца «В» циклопентанпергидрофенантренового скелета стеролов под действием солнечной радиации (холестерол предварительно дегидрируется и переходит в 7-дегидрохолестерол, являющийся непосредственным провитамином). Следовательно, при наличии соответствующих провитаминов и солнечного облучения витамин Д может синтезироваться в организме и его поступление с пищей не обязательно.



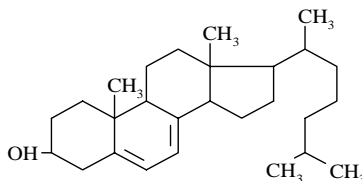
эргостерол



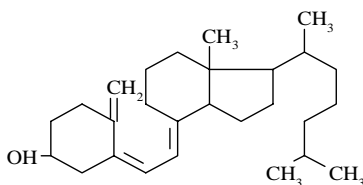
витамин D<sub>2</sub> (эргокальциферол)



холестерол



7-дегидро-холестерол



витамин D<sub>3</sub> (холекальциферол)

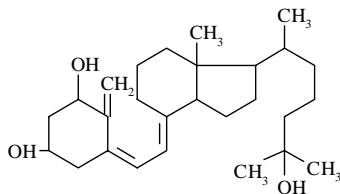
В ряде случаев эндогенный синтез витамина Д оказывается недостаточным и требуется дополнительное введение этого витамина с пищей или в виде препарата. При отсутствии в рационе детей витамина Д развивается заболевание рахит. Причина его лежит в расстройстве фосфорнокальциевого обмена и нарушении отложения фосфорнокислого кальция в костной ткани. Кости становятся мягкими, что ведет к искривлению трубчатых костей нижних конечностей. Появляются утолщения на костно-хрящевой границе ребер (рахитические четки), нарушается развитие зубов и формирование костей черепа. Для рахита характерна также гипотония мышц (дряблые мышцы, отсюда увеличение живота).

У взрослых людей недостаток витамина Д может привести к остеомалации – размягчению костей, например, у беременных и кормящих женщин, у пожилых людей – к остеопорозу т.е. вымыванию из костей уже отложившихся солей и хрупкости костей. При Д-авитаминозе нарушается как всасывание

фосфорнокислых солей кальция из кишечника, так и депонирование фосфорнокислого кальция в костной ткани; характерно снижение содержания неорганического фосфата и кальция в крови. Снижение уровня кальция в крови стимулирует секрецию паратиреоидного гормона, что создает условия для выхода фосфатов кальция из костной ткани в кровь, вызывая их обезызствление и размягчение, а также экскрецию неорганического фосфата с мочой.

Д-гипервитаминоз развивается обычно при введении в организм чрезмерных доз витамина Д (превышающих в 2-3 тыс. раз лечебные), а при повышенной чувствительности к витамину – и при обычных дозировках. Характерным проявлением Д-гипервитаминоза служат деминерализация костей, гиперкальциемия, гиперкальциурия, кальцификация внутренних органов (почек, сердца, легких, кишечника, сосудов и др.), приводящая к нарушениям их функций, а в тяжелых случаях – к смерти.

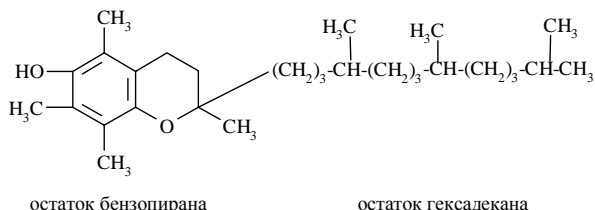
Механизм действия витамина Д недостаточно ясен. Существуют разные воззрения, согласно которым витамин Д либо способен своими высокореакционными продуктами метаболизма перекисной природы непосредственно влиять на физико-химическую структуру мембран и тем самым влиять на их проницаемость в отношении кальция, либо влиять на образование белков, являющихся компонентами так называемого кальциевого насоса – ферментной системы, осуществляющей активный перенос кальция через клеточные и субклеточные мембраны. В последнем случае особое место отводится витамину Д в образовании так называемого кальций связывающего белка. Причем, считается, что кальций связывающий белок образуется из неактивного прекальцийсвязывающего белка при участии активного метаболита витамина Д – 1,25-диоксихолекальциферола.



1,25-диоксихолекальциферол

Полагают, что формой, ответственной за осуществление антирахитического действия витамина Д в организме является не сам витамин Д, а его метаболит – 1,25-диоксихолекальциферол, обладающий в несколько раз более сильной биологической активностью, чем сам холекальциферол (витамин Д<sub>3</sub>). 1,25-диоксихолекальциферол рассматривают в настоящее время как гормон (точнее, гормоноид), участвующий в образовании кальцийсвязывающего белка кальциевого насоса.

**Витамин Е** (токоферол, антистерильный витамин) существует в виде нескольких витамеров ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -).  $\alpha$ -Токоферол и его химические аналоги являются производными токола.  $\alpha$ -Токоферол представляет собой 5,7,8-триметилтокол. В химической структуре  $\alpha$ -токоферола можно различать также остаток бензопирана и гексадекана.



ВИТАМИН Е (АЛЬФА-ТОКОФЕРОЛ)

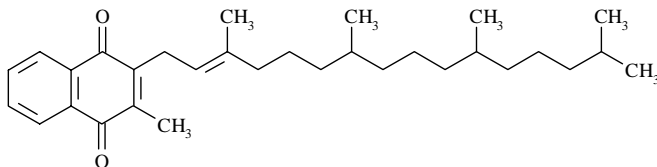
Витамеры витамина Е отличаются по своей биологической активности. Она наибольшая у  $\alpha$ -токоферола и снижается с уменьшением количества метильных групп в бензольном кольце молекулы. Долгое время считали, что значение витамина Е исчерпывается лишь его влиянием на процесс размножения, так как при отсутствии или недостатке витамина Е у человека и животных нарушается сперматогенез и эмбриогенез (т.е. образование сперматозоидов у мужчин и развитие плода в организме матери), а также наблюдается дегенеративные изменения репродуктивных органов. Однако более глубокое изучение Е-авитаминоза показало ошибочность такого представления.

Чрезмерное введение витамина Е может повышать реактивность организма и вызывать креатинурию. У лиц с повышенным артериальным давлением гипервитаминоз сопровождается тошнотой, крапивницей и гипертоническим кризом.

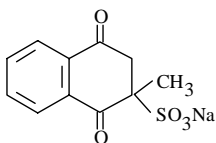
Механизм действия витамина Е в организме двоякий. С одной стороны, он является важнейшим внутриклеточным агентом, предохраняющим от окисления жиры и другие легко окисляемые соединения. Витамин Е – один из самых сильных природных антиоксидантов (антиокислителей). С этой стороны механизмы витамина Е связывают многообразную картину дегенеративных явлений и их последствий при Е-авитаминозе (усиление регенеративных процессов параллельно дегенерации тканей, разрушение клеточных и внутриклеточных оболочек и мембран, увеличение лизосомальных ферментов, торможение синтеза аскорбиновой кислоты и др.). С другой стороны, витамин Е функционирует в окислительно-восстановительных процессах либо как непосредственный переносчик электронов в окислительно-восстановительных реакциях, связанных с запасанием высвобожденной при этом энергии, либо регулирует синтез коэнзима Q, либо, наконец, как полагают, путем влияния на ферменты

и коферменты, содержащие сульфгидрильные группы. Отмечен синергизм в действии  $\alpha$ -токоферола и селена на окисление  $\alpha$ -кетоглутарата и пирувата, связанное с их участием в активировании отдельных ферментов.

**Витамин К** (филлохинон, антигемморрагический витамин) представлен несколькими витамерами. Витамин К<sub>1</sub> представляет собой 2-метил-1,4-нафтохинон, содержащий в положении 3 боковую цепь, представленную фитильным радикалом, имеющим 20 атомов углерода и одну двойную связь.



ВИТАМИН К<sub>1</sub> (ФИЛЛОХИНОН)



ВИКАСОЛ

На основе витамина К синтезирован ряд соединений, обладающих антигемморрагической активностью и растворимых в воде (викасол, синкавит, синкамин). Широкое применение нашёл синтезированный академиком А.В. Палладиным препарат викасол, являющийся натриевой солью бисульфидного производного 2-метил-1,4-нафтохинона.

Существует ряд веществ, обладающих антивитаминами свойствами по отношению к витамину К. К числу таких веществ относятся дикумарол (дикумарин), тромексан, салициловая кислота и др.

В отличие от витамина К его антивитамины задерживают свертывание крови и поэтому некоторые из них (к примеру, дикумарин) применяется в клинике при повышенной свертываемости крови.

Из-за широкой распространенности витамина К во всех живых организмах возможность развития первичной К-витаминной недостаточности у человека невелика. Следует подчеркнуть, что кишечная микрофлора обычно вырабатывает витамин К в количестве, достаточном для покрытия в нем потребностей. Причиной возникновения у человека К-гиповитаминоза может служить нарушение всасывания в кишечнике жирорастворимых витаминов в результате, в частности, прекращения поступления в кишечник желчи при закупорке

желчных протоков или заболевания кишечника и желудка, заболевания печени с поражением паренхимы и, следовательно, связанное с этим нарушением синтеза в ней прокоагулянтов, неконтролируемый прием лекарственных средств типа сульфаниламидов и антибиотиков, подавляющих жизнедеятельность микрофлоры кишечника, синтезирующей витамин К, или салицилатов, проявляющих антивитаминозное свойство.

Наиболее ранним проявлением К-витаминовой недостаточности является снижение содержания в крови факторов II (протромбина), VII, IX, X свертывающей системы крови, вследствие чего удлиняется время свертывания крови. Клинически это может проявляться кровоточивостью в областях тела, подвергшихся травмам, кровоточивостью десен при чистке зубов, кровоизлиянием во внутренние органы, носовыми кровотечениями, кровавой рвотой и т.п.

Наряду с геморрагическим синдромом при К-гиповитаминозе имеет место снижение резистентности капилляров, падение биосинтетических процессов в организме, уменьшение функциональной активности мышечной ткани.

Механизм действия витамина К в организме человека и животных остается до сих пор во многом неясным, даже в отношении характерного его влияния на биосинтез протромбина. Предполагается, что апофермент невыясненной природы образует с витамином К холофермент, необходимый для синтеза факторов II, VII, IX и X свертывающей системы крови.

Полагают также, что витамин К вовлекается в биосинтез ферментов свертывающей системы крови на генетическом уровне, способствуя ДНК-зависимому синтезу соответствующей и-РНК или обеспечивая формирование протромбина на полисомах. Существуют и другие воззрения.

Считается, что стимулирование биосинтеза прокоагулянтов служит лишь одним из проявлений общебиологической функции витамина К. Витамин К участвует в процессе тканевого дыхания, в реакциях, связанных с окислительным фосфорилированием и образованием АТФ в животном организме, а также в фотосинтетическом фосфорилировании, входя в состав фотосинтетической системы растения.

Благодаря участию в энергетическом обеспечении биосинтеза многих соединений, витамин К обладает многосторонним анаболическим действием, обеспечивая обновление белков, включая ряд ферментов (протеиназ, аминокотрансфераз и др.), а также синтез некоторых биологически активных веществ небелковой природы (серотонина, гистамина, ацетилхолина).

Витамин К, подобно другим жирорастворимым витаминам, входит в состав липидной фракции клеточных и субклеточных мембран и, следовательно, имеет существенное значение для их нормального функционирования, а также участвует как кофермент в транспорте через мембраны сахаров.

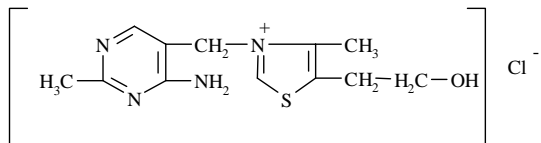
Отмечено, что витамин К способен активировать эндокринную активность некоторых желез внутренней секреции (коры надпочечников, гипофиза,



щитовидной железы). Положительное влияние витамина К на разнообразные процессы биосинтеза и работу некоторых физиологических систем обусловило его профилактическое и лечебное применение.

Наиболее широко применяют витамин К при кровотечениях разной этиологии и геморрагических диатезах, при заболеваниях, сопровождаемых снижением уровня протромбина крови.

**Витамин В<sub>1</sub>** (тиамин, аневрин, антиневритный) можно рассматривать как соединение, построенное из пиримидинового и тиазолового колец и оксипропилового радикала.



ВИТАМИН В<sub>1</sub>(ТИАМИНХЛОРИД)

При В<sub>1</sub>-авитаминозе развивается заболевание, получившее название полиневрит (болезнь бери-бери). Оно проявляется прогрессирующей дегенерацией нервных окончаний и проводящих нервных пучков, следствием чего являются потеря кожной чувствительности, нарушение сердечной деятельности, нарушение нормальной моторной и секреторной функции желудочно-кишечного тракта, нарушение водного обмена. В конце концов наступает паралич и смерть.

Имеются наблюдения, указывающие на возможность возникновения гипervитаминозов при чрезмерных и длительных приемах витамина В<sub>1</sub>, особенно при парентеральном введении. Для В<sub>1</sub>-гипervитаминоза характерны аллергические реакции (крапивница, кожный зуд, отек, одышка, кровоизлияния, судороги и т.п.) вплоть до возникновения анафилактического шока.

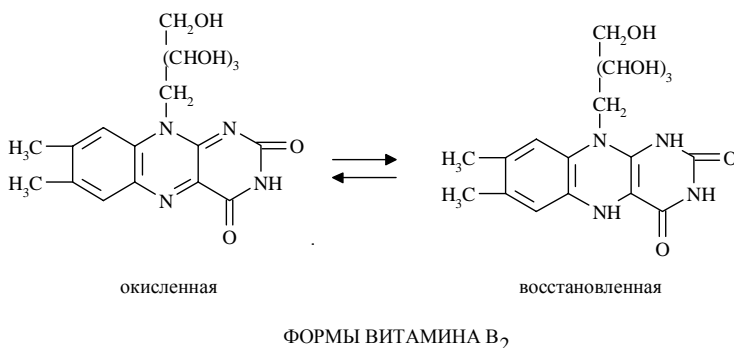
Механизм действия витамина В<sub>1</sub> хорошо изучен. В организме человека и животных тиамин, получаемый с пищей, превращается в тиаминпирофосфат. Последний в качестве коферментов дегидрогеназ участвует в окислительном декарбоксилировании пирувата, кетоглутарата, глиоксилата и γ-окси-α-кетоглутарата. Кроме того, тиаминпирофосфат является коферментом транскетолаз – ферментов, участвующих в пентозном цикле превращения углеводов.

Таким образом, тиаминпирофосфат принимает участие в ключевых реакциях на путях превращения углеводов, в реакциях лимоннокислого цикла и связи этого цикла с белковым обменом через трансаминирование α-кетоглута-

рата, в реакциях, связанных с синтезом азотистых оснований нуклеиновых кислот.

За последние годы получены данные, что, помимо каталитической роли тиаминпирофосфата, возможно участие различных фосфорных эфиров тиамин в активном переносе богатых энергией фосфатных групп, а также данные, говорящие об участии тиамин в окислительно-восстановительных реакциях, в биосинтезе полиненасыщенных высших жирных кислот, о связи с обменом катехоламинов.

**Витамин В<sub>2</sub>** – (рибофлавин, витамин роста). Основу молекулы рибофлавина составляет система изоаллоксазина.



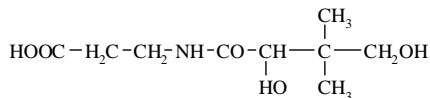
Недостаточное поступление в организм рибофлавина с пищей вызывает характерные патологические изменения. Полное отсутствие рибофлавина в пище вызывает острый авитаминоз, характеризующийся развитием коматозного состояния со смертельным исходом. При гиповитаминозе В<sub>2</sub>, помимо задержки роста, наблюдается дерматит на коже головы, выпадение волос, поражение слизистых оболочек (глосситы, стоматиты, кератиты, конъюнктивиты), васкуляризация роговой оболочки глаз, помутнение хрусталика, гипохромная анемия, поражение нервной системы, проявляющееся мышечной слабостью, нарушением походки, гиперкинезами, нистагмом, отмечается нарушение процессов регенерации (задержка заживления ранений, трофические язвы) и светобоязнь.

При введении в организм больших доз рибофлавина существенных нарушений не развивается, так как рибофлавин малотоксичен и не вызывает аллергических реакций.

Разнообразная картина нарушений, возникающая при дефиците витамина В<sub>2</sub> в организме, связана с его важной ролью в биохимических процессах. Рибофлавин, всосавшись в кишечнике, подвергается фосфорилированию с образованием двух коферментных форм: флавинмононуклеотида (ФМН) и флави-

надениндинуклеотида (ФАД). Флавопротеиды (флавинзависимые дегидрогеназы), включающие в качестве коферментов ФМН или ФАД, являются окислительно-восстановительными ферментами. Ряд флавопротеидов участвует в качестве катализаторов в лимонно-кислом цикле, в процессе окислительного фосфорилирования,  $\beta$ -окислении жирных кислот, а также в реакциях биосинтеза пуриновых нуклеотидов, а косвенно и белка.

**Витамин В<sub>3</sub>** (пантотеновая кислота, антидерматитный фактор) состоит из остатков  $\alpha, \gamma$ -диокси- $\beta, \beta$ -диметилмасляной кислоты и  $\beta$ -аланина, связанных между собой пептидной связью:



пантотеновая кислота (витамин В<sub>3</sub>)

Гиповитаминоз В<sub>3</sub> у взрослого человека встречается чрезвычайно редко в связи с широким распространением пантотеновой кислоты в природе и достаточным ее содержанием в обычных продуктах питания. При недостаточности пантотеновой кислоты у человека и животных имеют место разнообразные патологические изменения: поражения кожных покровов (дерматиты), потеря волосяного покрова и депигментация волос и перьев, поражение слизистых оболочек внутренних органов, проявляющиеся в глоссите, стоматите, в гастроэнтеритах, колитах, язвах кишечника, дегенеративные изменения миелиновой оболочки спинного мозга и поражение центральной нервной системы, приводящие к нарушению походки, к параличам, судорогам, коллапсу, дегенеративные изменения со стороны внутренних органов (органов размножения, надпочечников – с нарушением их функций), анемия, понижение образования антител, замедление роста, потеря веса и в далеко зашедших случаях – коматозное состояние и смерть.

Гипервитаминоз В<sub>3</sub> неизвестен, так как токсичность пантотеновой кислоты мала.

Развитие разнообразных нарушений при В<sub>3</sub>-авитаминозе связывают с выпадением в обмене веществ функции кофермента А, концентрация которого в тканях существенно снижается при дефиците пантотеновой кислоты, которая входит в его структуру. Как известно, кофермент А играет фундаментальную роль в обмене веществ, принимая участие в осуществлении таких биохимических процессов как окисление и биосинтез жирных кислот, окислительное декарбоксилирование кетокислот, лимоннокислый цикл, биосинтез стерина, стеридов и стероидов, нейтральных жиров, фосфатидов, порфиринов, синтез ацетилхолина, ацилирование ароматических аминов, глюкозамина и синтез мукополисахаридов, синтез гиппуровой кислоты и др. превращения. Наруше-

ние этих первичных биохимических превращений, связанных с функцией кофермента А, в существенной мере и обуславливает внешние симптомы пanto-тевой недостаточности.

**Витамин В<sub>5</sub>** – (ниацин, никотиновая кислота и никотинамид, витамин РР, антипеллагрический витамин) по химическому строению является β-пиридин-карбоновой кислотой, а никотинамид – амидом β-пиридинкарбоновой кислоты.



Недостаточность витамина В<sub>5</sub> обозначается как особое болезненное состояние, получившее название пеллагры (итал. pellagre – жесткая, шершавая кожа). От этого последнего произошло одно из названий самого витамина – витамин РР (preventive pellagre – предотвращающий пеллагру).

Установлено, что до 5% никотиновой кислоты синтезируется из триптофана при участии витамина В<sub>6</sub>. Поэтому пеллагру расценивают не как чисто В<sub>5</sub>-авитаминоз, а как поливитаминоз, вызванный отсутствием витаминов В<sub>5</sub> и В<sub>6</sub> и зависящий от количества триптофана в диете.

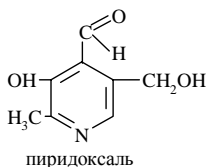
Начальные стадии заболевания пеллагрой выражаются воспалением слизистой оболочки рта, языка (глосситы) и желудочно-кишечного тракта (поносы, сменяемые запором). В последующем появляются симметричные участки воспаленной кожи (дерматиты), чаще на участках тела, подвергающихся освещению солнцем. Пеллагрические эритемы кожи сменяются либо атрофической, либо гипертрофической стадией с гиперкератозом и пигментацией. Развивается гипохромная анемия. Нарушается азотистый, липидный и углеводный обмены. Отмечается атрофия коркового слоя надпочечников и их гипопункция. Возникают глубокие нарушения центральной и периферической нервной системы вплоть до парезов, мышечной атрофии и нарушений психики (потеря памяти, галлюцинации, бред), при этом в ткани мозга имеют место атрофические и склеротические изменения.

Чрезмерные введения никотиновой кислоты и ее амида (несколько граммов на кг веса) могут вызвать токсические явления (причем, никотинамид вдвое токсичнее никотиновой кислоты). При введении больших доз никотиновой кислоты иногда наступает реакция со рвотой, поносом, судорогами, астенией; может также развиваться жировая инфильтрация печени, так как метаболиты никотиновой кислоты захватывают свободные метильные группы, что может привести к недостаточности липотропных факторов (холина и др.). Повышенные дозы никотиновой кислоты вызывают фармакологический эффект –

расширение сосудов с покраснением кожных покровов без патологических явлений.

Механизм действия витамина  $B_5$  известен. Никотиновая кислота в виде амида входит в состав коферментов НАД и НАДФ, которые вместе с соответствующими апоферментами катализируют окислительно-восстановительные реакции в организме. Наиболее важная биологическая функция никотинамидных коферментов заключается в их участии в переносе электронов и водорода от окисляющихся субстратов к кислороду в процессе тканевого дыхания. Никотинамидные коферменты входят в состав важнейших ферментов, таких как алкогольдегидрогеназа, альдегиддегидрогеназа, глутаматдегидрогеназа, фосфоглицеринальдегиддегидрогеназа, лактатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа и др., чем и обуславливается существенная роль витамина  $B_5$  в обмене веществ.

**Витамин  $B_6$**  (пиридоксин, антидерматитный) представляет собой по химической структуре 2-метил-3-окси-4,5-диоксиметил-пиридин. Кроме пиридоксина, пиридинной активностью обладают еще два производных 3-оксипиридина, имеющих в положении 4 пиридинового ядра альдегидную или аминную группу, обозначаемых соответственно пиридоксальем и пиридоксамином. Все три вещества (производные 3-оксипиридина) получили общее (родовое) название «витамин  $B_6$ ».



Недостаточность витамина  $B_6$  сопровождается возникновением дерматитов, стоматита, глоссита, конъюнктивита, гипохромной анемии, остановкой роста. Развитие гиповитаминоза  $B_6$  может быть связано как с его недостаточным поступлением с пищей, так и с нарушением биосинтеза пиридоксальфосфата в организме в результате введения некоторых фармакологических препаратов, поступления с пищей алиментарных антиметаболических витаминеров, нарушения гормональной регуляции и пр. Хотя витамин  $B_6$  относится к малотоксичным веществам, тем не менее при больших суточных дозах пиридоксина (250-500 мг) отмечаются кожные высыпания, головокружение, судороги, повышается свертываемость крови, что рассматривается как гипервитаминоз  $B_6$ .

Механизм участия пиридоксина в обмене веществ в настоящее время хорошо изучен. Установлена его коферментная функция в виде пиридоксаль-

фосфата в ряде важнейших биохимических реакций превращения аминокислот. В частности, пиридоксальфосфат является составной частью ферментов, катализирующих декарбоксилирование и переаминирование аминокислот. Появились данные, указывающие на участие пиридоксальфосфата в действии фосфорилазы, играющей, как известно, центральную роль в метаболизме гликогена в организме. Предполагается участие пиридоксальфосфата в обмене липидов.

**Витамин В<sub>12</sub>** – (цианкобаламин, антианемический). Молекула витамина В<sub>12</sub> состоит из так называемой планарной (плоскостной) группы, которая сложена восстановленными пиррольными кольцами с атомом кобальта в центре, связанным с CN-группой, и расположенной перпендикулярно к ней нуклеотидной группы, содержащей диметилбензимидазол в качестве основания и Д-рибофуранозу в качестве углевода.

Установлено большое число производных витамина В<sub>12</sub>, у которых цианогруппа замещена другим радикалом. При замене цианогруппы на гидроксил образуется оксикобаламин, являющийся природной физиологической формой витамина В<sub>12</sub>. Среди аналогов витамина В<sub>12</sub> наибольший интерес вызывает метилкобаламин, у которого цианогруппа замещена на металльный радикал. Метилкобаламин – метаболически активное соединение.

В 1956 году Barker с сотрудниками открыл коферментную форму витамина В<sub>12</sub> – кофермент В<sub>12</sub>, в которой витамин участвует как кофактор в ферментных реакциях. От цианкобаламина кофермент В<sub>12</sub> отличается тем, что вместо циана в молекуле имеется 5'-дезоксиаденозин (нуклеотидный лиганд). Кофермент В<sub>12</sub> является 5'-дезоксиаденозилкобаламином.

Гипо- и авитаминоз В<sub>12</sub> у человека может развиваться вследствие как недостаточного поступления витамина с пищей, так и в результате нарушения его всасывания и усвоения.

Характерным признаком недостаточности витамина В<sub>12</sub> является нарушение нормального кроветворения в костном мозге, приводящее к развитию анемии гиперхромного типа.

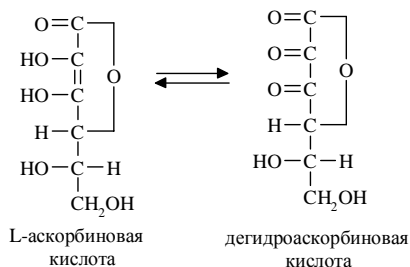
Наиболее тяжелой формой авитаминоза В<sub>12</sub> является гастрогенный авитаминоз, причиной которого является отсутствие или недостаточность синтеза в слизистой оболочке желудка внутреннего фактора (транскоррина) – особого соединения белковой природы, соединяющегося с витамином В<sub>12</sub> («внешний фактор») и образующего таким путем всасываемую и усваиваемую форму витамина. Гастрогенный В<sub>12</sub>-авитаминоз лежит в основе болезни Аддисона – Бирмера (пернициозной, злокачественной анемии). При пернициозной анемии как правило имеет место резкое снижение кислотности желудочного сока (гистамин – рефлаторная ахлоргидрия), расстройство нервной системы на почве дегенерации и склероза спинного мозга, нарушение функции кишечника, поражение слизистой оболочки рта и языка, одышка, сердцебиение, слабость,

потеря аппетита, резкое нарушение картины крови, как следствие нарушения эритропоэза в костном мозге, гипопроотеинемия. При недостаточности витамина В<sub>12</sub> отмечаются глубокие нарушения в белковом, углеводном и жировом обменах.

Введение высоких доз витамина В<sub>12</sub> может вызвать токсический эффект. В частности, витамин В<sub>12</sub> при приеме в лечебных дозах иногда вызывает аллергическую реакцию с крапивницей, отеком, воспалением слизистой оболочки рта.

Установлено, что витамин В<sub>12</sub> может принимать участие в двух группах биохимических реакций. К первой группе относятся реакции трансметилирования. Характерным для этих реакций является образование метилкобаламина как промежуточного переносчика метильной группы. К числу этих реакций относятся синтез метионина, образование метана и синтез ацетата из двуокиси углерода. Вторая группа реакций охватывает превращения, в которых участвует непосредственно кофермент В<sub>12</sub>. Эти реакции сводятся к переносу водорода и образованию новой углерод – водородной связи. Сюда относятся глутамат-мутазная реакция, метилмалонил-коэнзим-А-мутазная реакция, т.е. образование из метил-малонил-КоА сукцинил-КоА, глицерол- и диолдегидразные и этаноламидеземиназные реакции, восстановление рибонуклеотидов до дезоксирибонуклеотидов и две реакции изомеризации. Особенно существенно участие витамина В<sub>12</sub> в синтезе нуклеиновых кислот (в активации одноуглеродных фрагментов, необходимых для образования пуриновых и пиримидиновых оснований и в восстановлении рибонуклеотидов и дезоксирибонуклеотидов) и в синтезе метионина.

**Витамин С** (аскорбиновая кислота, антискорбутный) по своему строению является производным углеводов (гексоз). Существует четыре оптических изомера, из которых природная биологически активная аскорбиновая кислота имеет L-конфигурацию. Д-аскорбиновая кислота является антагонистом витамина С.



Наличие в аскорбиновой кислоте двух сопряженных двойных связей обуславливает ее способность к обратимому окислению, продуктом которого является дегидроаскорбиновая кислота.

Проявлением недостаточности витамина С у человека является развитие специфического заболевания – цинги (скорбута). Болезнь вначале проявляется повышенной ломкостью кровеносных капилляров, общей слабостью, повышенной утомляемостью, снижением аппетита, задержкой роста, кровоточивостью десен при чистке зубов, кариесом зубов, повышенной восприимчивостью к инфекциям (главным образом – дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта). В дальнейшем нарастают явления гингивита, сопровождаемого изъязвлением десен, расшатыванием и выпадением зубов. Наблюдается сухость кожи, фолликулярный гиперкератоз, геморрагические высыпания, кровоизлияния в толщу мышц, эпикард и перикард, конъюнктиву, сетчатку, камеру глаз, различные кровотечения (маточные, носовые), выпот в суставы, разрушаются длинные кости нижних конечностей, что проявляется клинически периоститом. В основе патоморфологии скорбута лежит дистрофия коллагеновых волокон, остеодистрофия, перерождение высокоспециализированных остеобластов в соединительнотканые клетки.

Гипервитаминоз С не описан. Однако большие дозы аскорбиновой кислоты могут вызвать побочное действие: глюкозурию, повышение свертываемости крови, тахикардию, обострение гиперацидного гастрита.

При оценке механизма действия аскорбиновой кислоты большое значение придается ее способности участвовать в переносе электронов, поскольку L-аскорбиновая кислота, дегидроаскорбиновая кислота и ее промежуточный продукт – ион-радикал семихинонного типа образуют окислительно-восстановительную систему, которая может как отдавать, так и принимать водородные атомы. Полагают, что в этой связи аскорбиновая кислота способствует наиболее оптимальному ходу тканевого обмена, а в эритроцитах оказывает защитное действие на гемоглобин, препятствуя его окислению (аскорбиновая кислота, кроме того, способна непосредственно восстанавливать метгемоглобин в гемоглобин).

Аскорбиновая кислота принимает участие в формировании основного вещества соединительной ткани. Показано, что гидроксилирование пролина (образование оксипролина) при синтезе коллагена, белка соединительной ткани, требует свободных радикалов аскорбиновой кислоты, образующихся при ее окислении.

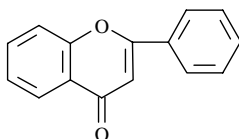
Аскорбиновая кислота также влияет на образование сульфатированных мукополисахаридов соединительной ткани. Аскорбиновая кислота принимает также участие в обмене тирозина, ферритина (железосодержащего белка), в образовании окисленных форм НАД и НАДФ, предохраняет адреналин от окисления, участвует в гидроксилировании и окислении кортикостероидов, в



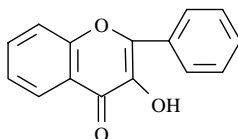
обмене стерина (холестерина), активирует некоторые ферменты (аргиназу, эстеразу, катепсины и др.).

Все перечисленные эффекты действия аскорбиновой кислоты нельзя считать специфическими. Считают, что они определяются, прежде всего редуцирующими свойствами аскорбиновой кислоты, в силу которых она оказывает влияние на тиоловые и дисульфидные группы, на валентность металлов и тем самым оказывает влияние на активность ферментов. Коферментная форма витамина С (аскорбиновой кислоты) не установлена.

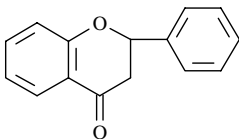
**Витамин Р** (биофлавоноиды, полифенолы, рутин, цитрин, капилляроукрепляющий, витамин проницаемости) по химической природе не составляет общей группы соединений, но все они имеют дифенилпропановый углеродный скелет и являются преимущественно производными хромона или флавана. Витаминными свойствами обладают следующие группы соединений: флавоны, флавонолы, флавононы, флавононолы, катехины, лейкоантоцианы, некоторые кумарины, халконы, дегидрохалконы и другие полифенолы.



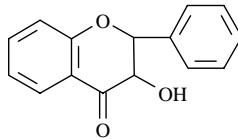
флавоны



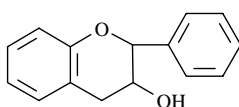
флавонолы



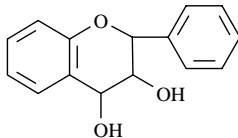
флавононы



флавононолы

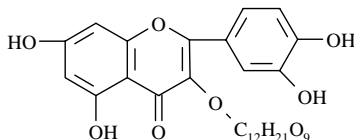


катехины



лейкоантоцианы

В растениях флавоноидные соединения, кроме катехинов и лейкоантоцианов, встречаются главным образом в форме гликозидов, где к агликону в нескольких положениях могут присоединяться различные сахара. В частности, таким гликозидом, обладающим Р-витаминной активностью, является рутин. Аггликоном рутина служит кверцетин, относящийся по своему строению к группе флавонолов, а в качестве сахара – дисахарид рутиноза.



рутин

Сравнительное изучение различных биофлавонолов показало, что при недостаточности витамина Р в пище у животных и человека снижается резистентность и повышается проницаемость капилляров, что проявляется кровоизлияниями после сдавливания ткани, болью в конечностях, общей слабостью и быстрой утомляемостью.

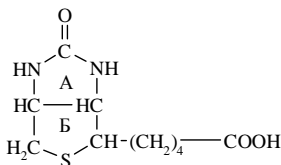
Случаи гипervитаминоза Р не известны. Длительное применение больших доз биофлавоноидов не вызывало побочных явлений, поэтому принято считать, что флавоноиды не токсичны.

Физиологическое влияние биофлавоноидов на сосудистую стенку связывают с их участием в тканевом дыхании, со способностью воздействовать на некоторые ферментные системы (в частности, гиалуронидазу, пролиноксидазу и др.), с возможностью осуществлять влияние через эндокринные железы (надпочечники, щитовидную железу, поджелудочную железу).

Считают, что флавоноиды и другие фенольные соединения участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, в частности – в тканевом дыхании, обеспечивая, таким образом, нормальный ход биологического окисления. Активность биофлавоноидов в животном организме проявляется в результате их участия в тканевом дыхании.

Действие витаминов Р и С взаимосвязано: каждый из них в присутствии другого обладает гораздо более высоким терапевтическим эффектом, чем в отдельности. По-видимому, эти витамины функционируют в окислительно-восстановительных процессах совместно, образуя парное звено в соответствующей системе.

**Витамин Н** (биотин, антисеборейный) по своей химической природе является монокarбоновой кислотой гетероциклического строения.



биотин

Гетероциклическая часть молекулы состоит из имидазольного (А) и тиофенового (В) циклов, а боковая цепь представлена остатком валериановой кислоты. Гетероцикл можно рассматривать как тиофеновое кольцо, связанное с остатком мочевины.

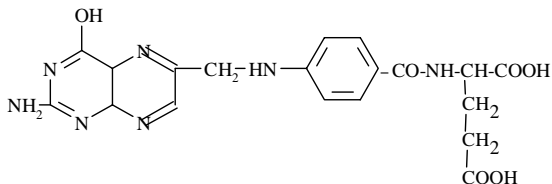
При недостаточности биотина у животных и человека развивается характерная картина нарушений. У животных Н-авитаминоз характеризуется прекращением роста, падением веса тела, покраснением и шелушением кожи, выпадением шерсти или перьев и др.

Н-гиповитаминоз у человека встречается очень редко, так как потребность в витамине удовлетворяется за счет синтеза его микрофлорой кишечника. Недостаточность биотина может возникнуть в результате нарушений его всасывания из желудочно-кишечного тракта при употреблении в пищу больших количеств сырого яичного белка, содержащего авидин – ингибитор биотина.

При недостатке этого витамина у человека наступает ряд патологических изменений: воспаление кожных покровов, выпадение волос, усиленное выделение жира сальными железами кожи, что обозначается как себорея (от лат. себум – сало, рео – теку).

Механизм действия биотина многообразен и не до конца изучен. Доказана коферментная функция биотина в реакциях карбоксилирования и транскарбоксилирования, в связи с чем биотин вовлекается в метаболизм жиров, углеводов, белков, нуклеиновых кислот и их метаболитов, в синтез жирных кислот, образование дикарбоновых кислот – субстратов лимоннокислого цикла, образование мочевины, синтез пуринов и др.

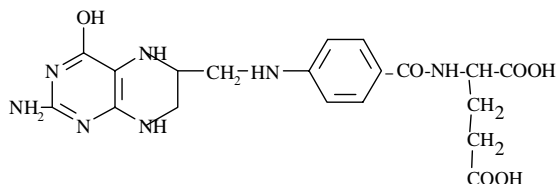
**Витамин В<sub>с</sub>** (фолацин, птероилглутаминовая кислота, фолиевая кислота, антианемический) включает в построение своей молекулы остатки птеридина, парааминобензойной кислоты и глутаминовой кислоты.



Термин «фолиевая кислота» объединяет обширную группу соединений, в основе которой лежит птероилглутаминовая кислота. Помимо птероилмоноглутаминовой кислоты имеются фолиевые кислоты, содержащие несколько (от 3 до 6) остатков глутаминовой кислоты.

Фолиевая кислота метаболически неактивна, но может превращаться после восстановления птеридинового кольца в 5,6,7,8-тетрагидрофолиевую

(тетрагидроптероилглутаминовую) кислоту, обладающую коферментными свойствами.



5,6,7,8 - тетрагидрофолиевая кислота

Недостаточность фолиевой кислоты проявляется у животных и человека характерной картиной заболевания. У человека развивается мегалобластическая анемия. В тяжелых случаях фолиевой недостаточности отмечаются тромбоцитопения и лейкопения. В крови снижается количество альбуминов и глобулинов.

Наряду с нарушением кроветворения, наблюдается нарушение деятельности органов пищеварения, кожи и органов размножения. У животных задерживается рост.

Следует заметить, что человек редко страдает авитаминозом В<sub>9</sub>, так как фолиевая кислота синтезируется микрофлорой кишечника. Этот авитаминоз может возникнуть в случае подавления микрофлоры кишечника при лекарственной терапии (антибиотиками, сульфаниламидными препаратами) или при нарушении всасывания витаминов в желудочно-кишечном тракте при его заболевании (спру и др.).

Введение высоких доз фолиевой кислоты (свыше 100 мг) может вызвать токсические явления и появление аллергических и вегетативных реакций (зудящей сыпи, резкого покраснения лица, головокружения, одышки, тахикардии).

Фолиевая кислота в виде тетрагидрофолиевой кислоты, являющейся ее коферментной формой, участвует в важнейших биохимических процессах, осуществляя перенос одноуглеродных групп и в ряде случаев – атомов водорода. Известно несколько одноуглеродных фрагментов (формил –  $\text{CH=O}$ ; формимино –  $\text{CH=NH}$ ; метенил –  $\equiv\text{CH}$ ; метилен –  $=\text{CH}_2$ ; метил –  $\text{CH}_3$ ; оксиметил –  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), которые могут включаться в сложные биохимические превращения в организме, протекающие с участием тетрагидрофолиевой кислоты.

С помощью тетрагидрофолиевой кислоты происходит перенос метильной группы при биосинтезе метионина и тиамина, оксиметильной группы – при биосинтезе серина, формильной группы – при биосинтезе пуриновых оснований и т.д. При переносе метильного радикала тетрагидрофолиевая кислота взаимодействует с витамином В<sub>12</sub>. Таким образом, путем включения фолиевых

коферментов в составе соответствующих ферментов в обмен одноуглеродных соединений осуществляется их участие в биосинтезе таких важных предшественников нуклеиновых кислот как пуриновые и пиримидиновые основания, а также участие в обмене ряда аминокислот (серина, глицина, гистидина, метионина, триптофана и др.). Тесная связь фолиевых коферментов и нуклеиновым обменом объясняет существенную роль витамина В<sub>с</sub> в жизнедеятельности организма.

## 4. Ферменты

### 4.1. *Общее понятие о ферментах*

Вещества белковой природы, биологическая функция которых состоит в катализе, т.е. ускорении течения химических реакций в организме, называются ферментами (от лат. ферментум – закваска) или энзимами (от греч. «эн» – внутри, «зим» – закваска).

Как говорит само происхождение названия этих веществ, начальные сведения об их существовании были получены при изучении процессов брожения. Первое вполне научное описание действия фермента было дано в 1914 г. петербургским ученым К.С. Кирхгоффом. Л. Пастер, связывая процесс брожения с действием ферментов, считал, что эти ферменты не отделимы от дрожжевых клеток и от всего того, что поддерживает клетку в живом состоянии. Лишь благодаря работам русских ученых М.М. Манассеиной, А.Н. Лебедева, а также Э. Бухнера, было доказано, что эти важнейшие ферменты, катализирующие основные метаболические процессы, могут функционировать вне клетки. Тем самым был положен конец виталистической теории брожения.

Наиболее крупные достижения в учении о ферментах принес XX век. В 1926 году Самнером был получен первый кристаллический фермент – уреаза и доказана его белковая природа. Самнер высказал мнение, что все ферменты являются белками. Белковая природа ферментов была окончательно выяснена после того, как Нортроп с сотрудниками выделили в кристаллическом виде пепсин, трипсин и химотрипсин.

К настоящему времени идентифицировано более двух тысяч различных ферментов, из которых около 200 ферментов получено в кристаллическом виде и изучены их свойства. В этом большая заслуга таких исследователей как А.Н. Бах, В.И. Палладин, Варбург, Вилланд, Самнер, Диксон, Уэбб, Кошланд и др.

Успехи, достигнутые в изучении строения и функции ферментов позволяют считать, что ферменты являются тем рабочим аппаратом, при помощи которого реализуется генетическая информация, зашифрованная в последовательности нуклеотидов ДНК.

Ферменты катализируют тысячи химических реакций, из которых складывается в организме обмен веществ и энергии.

При этом биокатализаторы (ферменты) отличаются исключительной эффективностью. При оптимальных условиях большинство ферментативных реакций протекает во много миллионов раз быстрее, чем те же реакции в отсутствии ферментов.

Число оборотов (т.е. число молекул субстрата, превращаемых за одну минуту, на одну молекулу фермента) для большинства ферментов равно приблизительно 1000, а в некоторых случаях может превышать 1 млн. Из всех известных ферментов максимальным числом оборотов обладает карбоангидраза, для которой оно составляет 36 млн.

Многие химические реакции, которые обычно протекают только при высоких температурах или только в сильно кислой или щелочной среде, в присутствии соответствующих ферментов могут идти быстро и количественно при комнатной температуре и при значениях pH, близких к нейтральному. К примеру, гидролитический распад белка до аминокислот в присутствии неорганических катализаторов (крепких кислот или щелочей) осуществляется при температуре 100°C и выше за несколько десятков часов. Этот же процесс при каталитическом участии специфических ферментов требует всего несколько десятков минут и идет при температуре 30-40°C.

Ферменты обеспечивают способность живых организмов осуществлять необходимые для их жизнедеятельности превращения веществ как поступающих из внешней среды, так и образующихся внутри организма. Питание организма, усвоение им веществ внешней среды происходит при участии ферментов, находящихся в пищеварительных соках, т.е. функционирующих внеклеточно. Дальнейшее использование питательных веществ клетками, освобождение химической энергии высокомолекулярных соединений в процессе биологического окисления и образование структурных элементов клеток и тканей в процессе их развития и дифференцировки совершается при обязательном участии внутриклеточных ферментов. Складываясь в единый ансамбль биохимических процессов, эти ферментативные реакции преобразования веществ составляют материальную и энергетическую основу жизнедеятельности организма. Поэтому ферменты заслуженно считают истинными двигателями всех жизненных процессов. Блокирование деятельности ферментов микробными токсинами и иными ядами ведет к гибели организма.

Благодаря контакту ферментов с лекарственными веществами в больном организме достигается такое изменение ферментативных процессов, которое способствует излечению от болезней. Стимулирование развития животных и растений, осуществляемое разнообразными препаратами, в большинстве случаев основано на действии их на те или иные ферменты.

В тончайших различиях строения ряда ферментов кроется причина видовых особенностей организмов, а в нарушении биосинтеза некоторых ферментов – исходное звено в возникновении наследственных и других заболеваний.

На свойстве ферментов сохранять свои специфические функции вне организма основано их практическое применение в медицине, химической, пищевой, легкой и фармацевтической промышленности.

В последние годы все большее применение в различных областях промышленности, в фармации, медицине получили искусственно иммобилизованные ферменты. Путем иммобилизации, т.е. связывания, фиксирования ряда ферментов на различных носителях (полиамиде, стекле, силастике, целлюлозе, полистироле, полиуретане, целлофане и др.) создаются нерастворимые катализаторы, которые не только сохраняют специфичность и активность типичных биокатализаторов, но и превышают их стойкостью и длительностью действия.

Иммобилизованные ферменты получили применение в непрерывных реакторах в химической промышленности и биотехнологических процессах. С их помощью созданы новые аналитические методы (афинная хроматография), повысилась эффективность медицинского применения ферментов. В частности, ферменты, включенные в микрокапсулы, липосомы и другие «контейнеры», используются для удаления из крови мочевины, возмещения врожденной ферментной недостаточности, терапии различных опухолей, растворении тромбов, используются в аппаратах «искусственная почка и печень» и для наработки коферментов и кофакторов, аминокислот, гормонов, антител, вакцин в мультимерных реакторах. Ферменты, включенные в волокна или трубки, используются в медицине в экстракорпоральных шунтах при терапии некоторых аспарагин-зависимых опухолей и для удаления вредных метаболитов из крови, а также при диагностических определениях. Разрабатывается использование полых волокон с иммобилизованными ферментами в качестве капиллярных подложек в культурах клеток при решении проблем биотехнологического характера, для наработок гормонов, вирусов, вакцин и антител с целью их терапевтического или диагностического использования. Большие перспективы открываются для медицинского использования липосом (микропузырьков из фосфолипидов) с включенными в них ферментами. Их использование дает в ряде случаев уникальную возможность целенаправленного транспорта активного начала внутрь клетки. Использование иммобилизованных ферментов в составе липосом возможно для лечения многих наследственных, онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний. Широки перспективы для клинического использования ферментов, связанных с водорастворимыми полимерами.

Уже достигнуты определенные успехи в использовании в клинике на пациентах иммобилизованных протеаз в качестве фибринолитических и противовоспалительных препаратов. Созданы на биodeградирующих носителях (гепарине, антителах и др.) препараты стрептокиназы, фибринолизина, трипсина, урокиназы. Особое значение приобрело применение препарата иммобилизованной стрептокиназы (стрептодеказы) для лечения инфаркта миокарда и тромбозов.



#### **4.2. Выделение ферментов и определение их активности**

Ферменты обычно присутствуют в тканях в малых количествах. Для изучения их строения и свойств требуется их извлечение из тканей особыми методами и очистка от сопутствующих веществ. Очень удобным источником извлечения некоторых ферментов являются пищеварительные соки животных и человека, поскольку их можно рассматривать как достаточно концентрированные водные растворы ферментов. Из тканей и органов животных и растительных организмов ферменты извлекают путем разрушения этих тканей (измельчением, растиранием с кварцевым или стеклянным песком, гомогенизацией и др.) на холоду с последующей экстракцией той или иной жидкостью: солевыми растворами или буферными смесями, спирто-солевыми смесями, глицерином, бутиловым спиртом. Чаще всего ферменты получают путем адсорбции (связывания на поверхности) с последующей элюцией (снятием с поверхности) с адсорбента. Этот метод был введен в химию ферментов А.Я. Данилевским и дал мощный толчок развитию ферментологии. Наряду с ним широко применяется метод ионообменной хроматографии, метод молекулярных сит и электрофорез. Словом, ферменты выделяют также, как и другие белки. Причем, при изучении ферментов окислительно-восстановительных процессов, биосинтеза белка и т.д. весьма важное значение приобрели методы дифференциального центрифугирования субклеточных структур – митохондрий, рибосом, ядер, гиалоплазмы, где эти ферменты сосредоточены. Особое внимание при выделении ферментов уделяют проведению всех операций в условиях, при которых была бы исключена денатурация белка, так как она всегда связана с потерей ферментативной активности.

О степени чистоты ферментативного препарата судят по его биологической активности. Если активность при дальнейшей обработке не возрастает, препараты можно считать гомогенными.

Наличие фермента обычно распознается по проявлениям катализируемой им химической реакции; количество присутствующего фермента можно определить путем измерения скорости этой реакции. Таким образом, о количестве фермента судят по его активности.

Активность ферментов определяется большим числом факторов, которые можно схематически подразделить на три группы:

1. Количество самого ферментного белка в клетке, т.е. уровень его биосинтеза.

2. Наличие факторов, изменяющих скорость ферментативной реакции, т.е. наличие субстратов, кофакторов, активаторов, ингибиторов, влияющих на конформацию апофермента, денатурирующих влияний, метаболическое взаимопревращение ферментов, величина температуры, гидратации, pH, осмолярности, наличие электролитов и т.д.

3. Локализация ферментов и зависящие от проницаемости мембран доступность субстратов ферментативному воздействию и скорость удаления продуктов ферментативной реакции.

Учитывая эту разностороннюю зависимость активности ферментов, определение активности ферментов проводят в буферных растворах, имеющих значение pH, близкое к оптимальному для данного фермента, при температуре в пределах 25-40°C (обычно при 37°C). В состав опытных смесей добавляют необходимые коферменты (в концентрациях, превышающих концентрацию насыщения), активаторы и стабилизаторы (последние препятствуют денатурации ферментативного белка). Используются концентрации субстрата, превышающие концентрацию насыщения. Основными современными методами определения активности ферментов являются спектрофотометрические, флуориметрические, полярографические, колориметрические, монометрические и др. В основном, эти методы определяют убыль субстрата или появление продуктов его ферментативного расщепления и дают оценку относительных количеств фермента. Однако с помощью спектрофотометрии и флуориметрии можно получать информацию об абсолютном количестве фермента (по степени поглощения растворами фермента лучей света с определенной длиной волны – в первом случае и по степени флуоресценции простетических групп фермента – во втором случае).

До недавнего времени в работах по определению активности ферментов не было единообразия ни в выборе условий измерения активности ферментов, ни в способе выражения единиц активности ферментов.

Комиссия по ферментам Международного биохимического союза в 1961 году рекомендовала общие правила и величины, в которых выражается количество ферментов. Согласно этим рекомендациям за единицу (Е) фермента принимается такое его количество, которое катализирует превращение одного микромоля субстрата в минуту при 25°C в оптимальных условиях. Удельная активность ферментного препарата выражается числом единиц ферментативной активности в расчете на 1 мг белка, а концентрация фермента в растворе – числом этих единиц на 1 мл раствора.

В дальнейшем комиссия по биохимической номенклатуре рекомендовала выражать скорость реакций в молях в секунду, придерживаясь единиц международной системы мер. Согласно рекомендациям международного биохимического союза (1972) и номенклатуре ферментов (1978) предложено вместо безымянной ферментной единицы ввести для выражения каталитической активности ферментов новую единицу под названием катал. Катал (символ – кат) есть каталитическая активность, способная осуществлять реакцию со скоростью, равной 1 молю субстрата в секунду, в заданной системе измерения активности.

1 единица соответствует 16,67 нкат. Удельная каталитическая активность фермента выражается в каталах на 1 г-моль фермента.

### **4.3. Химическое строение ферментов**

По химическому строению ферменты могут быть протеинами (т.е. простыми белками) и протеидами (сложными белками). Если активность ферментов-протеинов зависит только от структуры самого белка, то активность ферментов-протеидов связана с присутствием определенных групп небелковой природы – так называемых кофакторов. В роли кофакторов могут выступать или ионы металлов или сложные органические соединения, входящие как добавочная группа небелковой природы в состав фермента-протеида. Фермент в целом получил название фермент-протеид или симплекс или холофермент; белковая часть получила название белковый компонент или ферон (носитель) или апофермент; наконец, добавочная группа получила название простетическая группа или агон (активная группа) или кофермент.

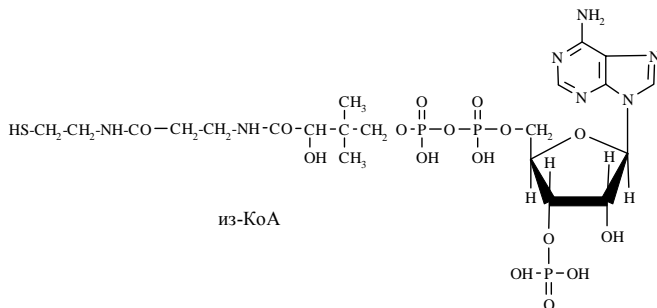
Кофакторы, как правило, термостабильны, тогда как большинство ферментов при нагревании инактивируется.

Связывание кофакторов с ферментами характеризуется разной степенью родства.

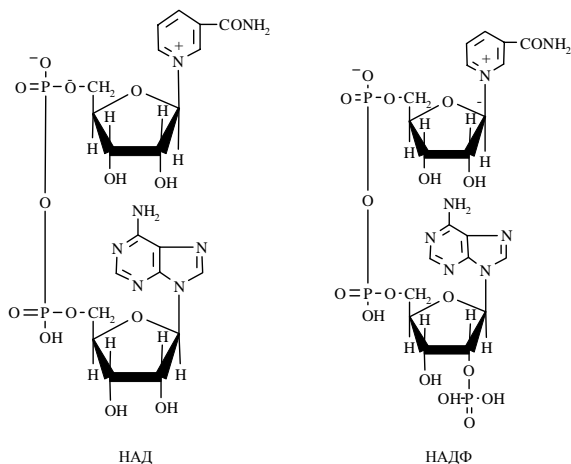
Под простетической группой часто подразумевают добавочную группу прочно связанную, не отделяемую от белковой части. Примером может служить гемогруппа цитохрома С, ковалентно связанная с его полипептидной группой.

Под коферментом подразумевают добавочную группу, легко отделяющуюся от апофермента, обслуживающую два или несколько ферментов и способную к самостоятельному существованию. Так, коферменты НАД и НАДФ соединены с апоферментом только в период переноса протонов и электронов от субстрата на кофермент. После этого они отщепляются и находятся в жидкостях клеток в свободном состоянии. Коферменты играют роль промежуточных переносчиков электронов и протонов (первая группа коферментов), различных химических групп (аминогрупп, метильных, ацетильных групп и др.) – вторая группа коферментов, наконец, принимают участие в реакциях синтеза, изомеризации и расщепления С-С связей (третья группа коферментов). Роль коферментов в ферментах-протеидах играют большинство витаминов и витаминоподобных веществ (Q, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, B<sub>c</sub> и др.) или соединения, построенные с участием витаминов (кофермент А, НАД, НАДФ, ФАД). К настоящему времени известно свыше 300 отдельных ферментов, в состав которых входят в качестве коферментов витамины и их производные. Поэтому при гиповитаминозах нарушается деятельность многих ферментных систем.

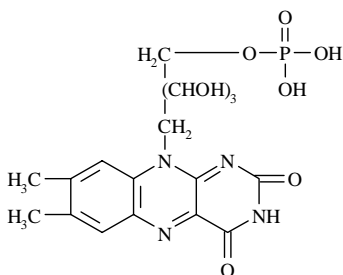
Рассмотрим ряд коферментов. Так, кофермент А или коэнзим А (КоА или Hs-KoA) – важнейший из коферментов, переносящий ацетильные и ацильные группы, содержит в своей молекуле витамин В<sub>3</sub> (пантотеновую кислоту).



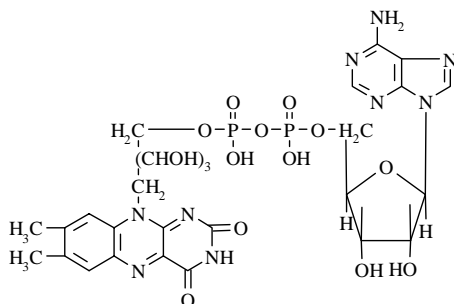
Коферменты никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ), переносящие водородные атомы, содержат витамин В<sub>5</sub> (никотинамид).



Коферменты флавиномононуклеотид (ФМН) и флавинадениндинуклеотид (ФАД), переносящие водородные атомы, содержат витамин В<sub>2</sub> (рибофлавин).

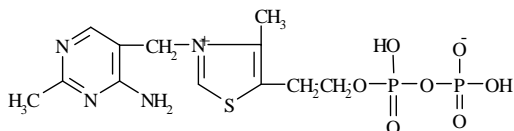


ФМН



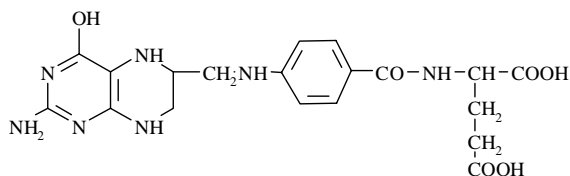
ФАД

Кофермент тиаминпирофосфат (ТПФ), участвующий в переносе альдегидных групп и декарбоксилировании кетокислот, является фосфорным эфиром витамина В<sub>1</sub> (тиамина). ТПФ в качестве кофермента входит в состав пируватдегидрогеназы, α-кетоглутаратдегидрогеназы, транскетолазы.



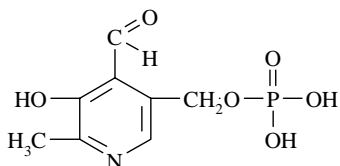
ТПФ

Кофермент тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК), переносящая одноуглеродные фрагменты при биосинтезе ряда веществ (метильные – CH<sub>3</sub>, оксиметильные – CH<sub>2</sub>OH, формильные – O=C-H и другие группы), является восстановленной фолиевой кислотой (витамином В<sub>9</sub>).

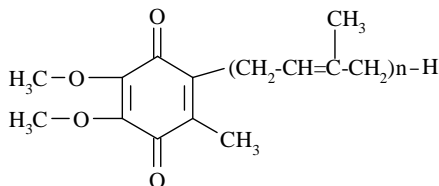


ТГФК

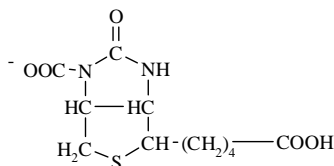
Кофермент пиридоксальфосфат, участвующий в реакциях декарбоксилирования аминокислот и переаминирования аминокислот с кетокислотами, содержит витамин В<sub>6</sub> (пиридоксин), представитель второй группы коферментов. Кофермент Q (убихинон), переносящий электроны в окислительно-восстановительных реакциях, относят к числу витаминов. Витамин Н (биотин) в виде карбоксибиотина, служит коферментом в двух типах ферментативных реакций: в АТФ-зависимом карбоксилировании и транскарбоксилировании. Наконец, кобамидный кофермент 5'-дезоксиаденозилкобаламин, участвующий в переносе атомов водорода и одноуглеродных фрагментов, содержит в своей молекуле витамин В<sub>12</sub> (цианкобаламин).



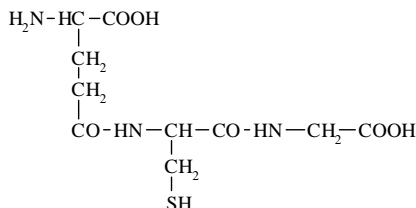
Пиридоксальфосфат.



Кофермент Q (убихинон).



биотин



HS-глутатион

Наряду с витаминами, функцию коферментов выполняют некоторые пептиды, например, HS-глутатион (γ-глутаминилцистеинилглицин), принимающий участие в окислительно-восстановительных процессах в клетках, а также многочисленная группа нуклеотидов и их производных (аденозиновые, гуанозиновые, уридиновые, цитидиновые нуклеотиды). В частности, аденозинтрифосфат (АТФ) является переносчиком остатков фосфата и адениловой кислоты, 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС) – переносчиком сульфатных групп, S-аденозилметионин-переносчиком метильных групп, уридиндифосфат (УДФ) – переносчиком гликозидных остатков и уроновых кислот в виде УДФГ и УДФГК, цитидиндифосфат (ЦДФ) – переносчиком фосфохолина (в виде ЦДФХ).

Транспортные РНК являются коферментом аминоксил-т-РНК-синтетазы – фермента, активирующего и переносящего аминокислоты в процессе биосинтеза белка. Наконец, коферментами могут служить фосфорные эфиры некоторых моносахаридов (глюкозо-1,6-дифосфат; 2,3-дифосфоглицерат), липоевая кислота, металлопорфирины (гем), и ряд других веществ, а также ионы металлов.

В случае, если в качестве кофактора выступают ионы металлов, они выполняют функцию мостика, связывающего фермент с субстратом в результате образования координационного комплекса, или непосредственно выполняют каталитическую функцию.

Характерной особенностью ферментов-протеидов является то, что ни белковая часть (т.е. апофермент), ни добавочная группа (кофермент) по отдельности не обладают заметной каталитической активностью. Только их комплекс проявляет выраженные ферментативные свойства. При этом белок резко повышает каталитическую активность добавочной группы, присущую ей в свободном состоянии в очень малой степени; добавочная группа, в свою очередь, стабилизирует белковую часть и делает ее более стойкой к денатурирующим воздействиям. Непосредственным исполнителем каталитической функции ферментов-протеидов является добавочная группа (кофермент, простетическая группа, ионы металлов), выступая в роли активного центра фермента, но ее действие невозможно без участия полипептидных фрагментов белковой части фермента, которая определяет специфичность реакции на этапе фиксации субстрата. Другая особенность ферментов-протеидов состоит в том, что один и тот же кофермент, присоединяясь к различным белкам, может катализировать совершенно различные процессы. Так, пиридоксальфосфат в одном случае ускоряет трансаминирование, а в другом – декарбоксилирование аминокислот. Различный характер реакций связан с разницей в природе соответствующих апоферментов.

Иначе обстоит дело у ферментов-протеинов, не имеющих добавочной группы, которая могла бы входить в непосредственный контакт с субстратом (т.е. преобразуемым соединением). Считают, что эту функцию выполняет часть белковой молекулы, получившая название **активного (каталитического) центра**. Предполагается, что активный центр фермента-протеина представляет собой уникальное сочетание определенных аминокислотных остатков, входящих в состав полипептидной цепи фермента. В составе активных центров обычно встречаются остатки:

- 1) серина,
- 2) тирозина,
- 3) цистеина,
- 4) триптофана,
- 5) аргинина,

- б) лизина,
- 7) гистидина,
- 8) глутаминовой кислоты,
- 9) аспарагиновой кислоты.

Радикалы этих аминокислот (ОН-, SH-, COOH-, NH<sub>2</sub>-группы, индольная группа, имидазольная группа, гуанидиновая группа) выполняют здесь ту же функцию, что и кофермент в составе фермента-протеида.

Аминокислотные остатки, образующие активный центр фермента-протеина, расположены в различных точках единой полипептидной цепи. Поэтому активный центр формируется в тот момент, когда белковая молекула приобретает присущую ей третичную структуру, что приводит к пространственному совмещению функциональных групп необходимых для катализа, в активном центре.

Изменение третичной структуры белка-фермента под влиянием тех или иных факторов может привести к деформации активного центра и к изменению каталитической активности.

Кроме активного центра, у ферментов различают еще два: *субстратный* и *аллостерический* центры.

Под субстратным центром понимают участок молекулы фермента, ответственный за присоединение вещества, подвергающегося ферментативному превращению (т.е. субстрата). Его можно сравнить с якорем, на который становится корабль-субстрат, поэтому его часто называют «якорной площадкой». Установлено, что прикрепление субстрата к субстратному центру идет за счет взаимодействия со второй аминогруппой остатка лизина или со второй карбоксильной группой остатка глутаминовой кислоты или с сульфгидрильной группой остатка цистеина. Это говорит о том, что природа субстратного центра у разных ферментов, по-видимому, различна. Часто субстратный и активный центры трудно разделить – это единое целое.

Аллостерический центр представляет участок молекулы фермента, пространственно отделенный от активного центра, присоединение к которому определенного низкомолекулярного вещества (лиганда, эффектора) ведет к изменению третичной структуры белковой молекулы. Последнее, в свою очередь, ведет к изменению конфигурации активного центра, сопровождающееся увеличением или уменьшением каталитической активности фермента. Это явление лежит в основе так называемой аллостерической регуляции ферментативной активности.

Понятие об активном, субстратном и аллостерическом центре не следует абсолютизировать. В ферментах субстратный центр может совпадать (или перекрываться) с активным центром, а видоизменение третичной структуры белковой молекулы фермента может возникнуть не только при воздействии на ал-



лостерический центр, но и в момент присоединения субстрата к субстратному центру. Согласно гипотезе Кошланда индуцирующего соответствия фермента субстрату субстрат меняет конформацию активного центра фермента таким образом, чтобы обеспечить наилучшую адаптацию активного центра к субстрату.

Размеры молекул ферментов различны. Молекулярные массы ферментов колеблются от нескольких тысяч до миллионов. Многие ферменты представлены белками высокой молекулярной массы, построенными из субъединиц и называемыми мультиэнзимами.

Так, например, фермент уреазы, имеющая  $M=480$  тыс. составлена из 8 субъединиц с молекулярной массой в 60 тыс. каждая. Полная молекула глутаматдегидрогеназы ( $M=1$  млн.), построена из четырех фрагментов ( $M=250$  тыс.), каждый из которых образован в свою очередь шестью субъединицами с  $M=42$  тыс. Способы соединения протомеров в мультимеры (мультиэнзимы) разнообразны.

Построенный из субъединиц фермент проявляет максимальную каталитическую активность именно в виде мультимера: диссоциация на протомеры резко снижает активность фермента, а в ряде случаев изменяет его специфичность.

Полагают, что здесь осуществляется своеобразный тип аллостерической регуляции, при которой одна субъединица выступает как аллостерический регулятор каталитической активности другой субъединицы. Высказано также мнение, что ферментативная деятельность субъединиц синхронизирована со сдвигом по фазе. В результате энергетически невыгодная стадия реакции на одной субъединице оказывается сопряженной со стадией, связанной с выделением энергии на другой. Это повышает эффективность ферментативного процесса в целом.

Молекулы ферментов-мультимеров составлены, как правило, из субъединиц (протомеров) двух типов и образуют изомеры. Возникновение изоэнзимов обусловлено генетическим контролем первичной структуры белка.

В качестве примера можно привести хорошо изученные изомеры фермента лактатдегидрогеназы, катализирующей превращение молочной кислоты в пировиноградную и обратно. Молекула лактатдегидрогеназы ( $M=140$  тыс.) составлена из 4 субъединиц ( $M=35$  тыс.), среди которых различают два типа (Н и М), кодируемых двумя различными генами. Следовательно, фермент лактатдегидрогеназа имеет пять изомеров. Один из них, преобладающий в сердце (где преобладает аэробный распад глюкозы), составлен из четырех идентичных Н-субъединиц (Н-полипептидных цепей) и его обозначают НННН (или ЛДГ<sub>1</sub>). Другой, преобладающий в печени (в ткани которой преобладает анаэробный гликолиз) содержит четыре идентичные М-субъединицы (М-полипептидные цепи) и его обозначают ММММ (или ЛДГ<sub>5</sub>). Остальные три изофермента лак-

татдегидрогеназы представляют собой три различных сочетания Н- и М-субъединиц, а именно: МММН (или ЛДГ<sub>4</sub>), ММНН (или ЛДГ<sub>3</sub>), МННН (или ЛДГ<sub>2</sub>). Все они отличаются друг от друга по степени активности, некоторым физико-химическим свойствам (молекулярной массе, электрофоретической подвижности, изоэлектрической точке и др.), по некоторому аминокислотному составу и аминокислотной последовательности, локализации в органах и тканях и др.

В биохимических исследованиях широко используют определение изоферментов ЛДГ путем электрофореза. ЛДГ<sub>1</sub> имеет выраженный отрицательный заряд и имеет наибольшую электрофоретическую подвижность. ЛДГ<sub>5</sub> имеет наименьшую электрофоретическую подвижность.

Изоферменты описаны и для большого числа других ферментов: гексокиназы, щелочной фосфатазы, альдолазы, пируваткиназы и др.

В зависимости от возраста, физиологического состояния и др. причин в организме устанавливается то или иное соотношение изоферментов, которому соответствует определенный уровень активности фермента в целом. Изменение соотношения изоферментов в организме или в отдельных тканях выступает, таким образом, как один из способов регуляции активности ферментов. Определение изоферментов приобрело большое диагностическое значение в медицинской практике благодаря их различной локализации в тканях и органах (например, при диагностике инфаркта миокарда).

В клетках организма ферменты функционируют обычно в составе мультимерных систем или комплексов, катализирующих определенные последовательности биохимических реакций. При этом продукт, полученный при участии первого фермента, оказывается в роли субстрата для следующего фермента и т.д.

Такие системы часто организованы в виде комплексов, состоящих из нескольких ферментов. Так, дегидрогеназа пировиноградной кислоты – мультиэнзимный комплекс (М=4 млн. 500 тыс.), состоящий из трех белков-ферментов (пируватдекарбоксилазы, липоилредуктазыацетилтрансферазы, дигидролипиддегидрогеназы), соединенных с различными коферментами: тиаминпирозфосфатом, коэнзимом А, ФАД, НАД и липоевой кислотой.

Мультиэнзимные комплексы могут быть связаны с мембранами или клеточными органеллами. Хорошим примером такой мультиферментной системы является цепь дыхательных ферментов, осуществляющих перенос электронов с субстрата на кислород. Отдельные ферменты этой цепи находятся на внутренней мембране митохондрий и представляют по существу часть ее структуры.

Вообще следует подчеркнуть, что в клеточном содержимом ферменты распределены не хаотически, а строго упорядоченно. В соответствии с приуроченностью биохимических процессов к органоидам клетки в последних ло-

кализованы те или иные индивидуальные ферменты, мультиэнзимные или полиферментные блоки. Так, разнообразные гидролазы и лиазы сосредоточены преимущественно в лизосомах. Сложные ансамбли окислительно-восстановительных ферментов тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования находятся в митохондриях, здесь же сосредоточены ферменты лимоннокислого цикла, пироват-дегидрогеназной системы, синтеза мочевины, окисления жирных кислот. Ферменты биосинтеза белка сосредоточены в рибосомах. В гиалоплазме присутствуют ферменты активирования аминокислот, гликолиза, пентозного цикла, синтеза жирных кислот и мононуклеотидов, глюконеогенеза. В эндоплазматическом ретикулуме сосредоточены ферменты синтеза липидов, ферменты, участвующие в гидроксилировании (в т.ч. ксенобиотиков). Ферменты биосинтеза нуклеиновых кислот локализованы в основном в ядерном аппарате клетки. С плазматической мембраной связаны АТФ-аза, транспортная  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , аденилатциклаза и другие ферменты.

Таким образом, системы ферментов, сосредоточенные в тех или иных структурах клетки, обеспечивают осуществление отдельных циклов реакций. Благодаря такой структуре ферментных систем процесс ферментативного катализа представляется как серия последовательных элементарных превращений вещества, строжайшим образом организованных в пространстве и времени. Будучи тонко скоординированы друг с другом, эти отдельные циклы охватывают широкий круг реакций преобразования веществ в организме (гидролиза, фосфолиза, переноса различных групп, окисления и восстановления, изомеризации и др.), тем самым обеспечивая жизнедеятельность клеток, тканей, органов и организма в целом.

#### **4.4. Механизм действия ферментов**

Ферменты, как и катализаторы неорганической природы, не вызывают каких-либо необычных химических реакций, невозможных по термодинамическим соображениям, а лишь ускоряют существующие. Каждая химическая реакция должна быть термодинамически возможной, т.е. реакция будет происходить только тогда, когда конечные продукты ее по своему энергосодержанию приблизительно равны или меньше, чем исходные вещества. Иначе говоря, реакция всегда идет в сторону уменьшения свободной энергии.

Однако, несмотря на большое различие в энергосодержании исходных компонентов и конечных продуктов, реакция может и не идти. Для начала реакции нужно преодолеть ее энергетический барьер. Это можно сделать, подводя к системе энергию, необходимую для перевода в активированное (возбужденное) состояние компоненты реакции. Энергия, необходимая для запуска химической реакции, без которой реакция не начинается, несмотря на ее тер-

модинамическую вероятность, называется энергией активации. Она используется для преодоления энергетического барьера реакции.

При химических процессах в реакцию могут вступать лишь те молекулы, запас энергии которых превышает энергетический барьер данной реакции. Таким запасом энергии обладают немногие молекулы реагирующих веществ. Для повышения реакционной способности молекул или иначе – чтобы повысить скорость химической реакции, необходимо снизить энергетический барьер реакций, или другими словами, понизить энергию активации молекул. Установлено, что катализатор способен снижать энергию активации (энергетический барьер), причем эта способность, по сравнению с обычным катализатором, значительно выше у биокатализатора-фермента. К примеру, для разложения перекиси водорода на воду и кислород необходима энергия активации 75,2 кДж/моль. При применении в качестве катализатора коллоидной платины энергия активации составит 50,2 кДж/моль, в присутствии же фермента каталазы энергия активации равна 8,3 кДж/моль.

Каким образом фермент вызывает уменьшение энергии активации?

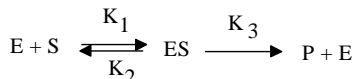
Решающим здесь является то, что фермент соединяется с субстратом и образуется фермент-субстратный комплекс. В этом соединении, очевидно, происходит зависящее от специфичности фермента ослабление определенных связей, которое приводит одновременно к активированию субстрата и повышению его реакционной способности.

Ряд наблюдений показывает, что в фермент-субстратном комплексе одновременно протекают два процесса: во-первых, изменение электронной плотности комплекса, вызывающее поляризацию связей; во-вторых, геометрическая деформация (напряжение) отдельных связей как в молекуле субстрата, так и в активном центре фермента. Деформация и поляризация связей способствуют преодолению активационного барьера переходного состояния фермент-субстратного комплекса.

Условно можно считать, что на первой фазе ферментативного катализа между субстратом (или субстратами) и ферментом возникает соединение, в котором первый и второй связаны друг с другом ковалентной или иного типа связью. Затем (вторая фаза) субстрат под действием присоединенного к нему фермента претерпевает изменение, делающее его более доступным для соответствующей химической реакции, т.е. происходит деформация и поляризация связей. На третьей фазе происходит сама химическая реакция (на поверхности фермента) и, наконец, образовавшиеся продукты реакции освобождаются из фермента продуктами реакции. Если обозначить фермент буквой Е, субстрат – S, активированный субстрат – S' и продукт реакции – Р, то указанная последовательность процессов выразится нижеследующей схемой:



В общем виде ферментативные реакции могут быть записаны следующим образом:



Фермент  $E$  связывается с субстратом  $S$  в обратимой реакции (константы скоростей реакции  $K_1$  и  $K_2$ ) с образованием фермент-субстратного комплекса  $ES$ . Последний распадается в реакции с константой скорости  $K_3$  на фермент и продукт реакции.

В процессе образования фермент-субстратного комплекса и на дальнейших фазах ферментативного катализа происходят неоднократные изменения третичной структуры фермента, приводящие к последовательному сближению с субстратом и ориентации в пространстве тех активных групп, которые взаимодействуют друг с другом на различных этапах преобразования субстрата. Изменение третичной структуры белка невозможно без участия всей или почти всей полипептидной цепи, образующей белковую молекулу. Следовательно, в каталитическом акте принимает участие по существу вся или почти вся молекула фермента при упорядоченном взаимодействии его субстратного, активного и аллостерического центров, что обеспечивает кооперативное осуществление многостадийных процессов ферментативного катализа.

Представление о возникновении короткоживущего и быстро распадающегося на свои составные части (фермент и продукт реакции) фермент-субстратного комплекса было развито Михаэлисом и Ментеном на основании кинетического анализа ферментативных реакций.

С энергетической точки зрения, ускорение ферментативного процесса, согласно этой теории, происходит за счет обхода энергетического барьера прямой реакции с помощью образования нестойкого фермент-субстратного комплекса, в процессе образования и распада которого промежуточные реакции имеют более низкий энергетический барьер, чем прямая реакция.

В основе теории Михаэлиса-Ментена лежит представление о том, что константа скорости распада фермент-субстратного комплекса на фермент и продукт реакции определяет скорость всей реакции. Поэтому общая скорость реакции равна произведению этой константы на концентрацию фермент-субстратного комплекса ( $V = K_3 [ES]$ ). Имеется зависимость: скорость реакции при низкой концентрации субстрата зависит от концентрации его и пропорциональна ей. С повышением концентрации субстрата пропорциональность нарушается и в конце концов наступает момент, когда скорость реакции вооб-

ще перестает зависеть от концентрации субстрата. При высокой концентрации субстрата скорость реакции зависит только от концентрации фермента.

Работа Михаэлиса и Ментена получила подтверждение благодаря непосредственному обнаружению спустя 40 лет после своего появления фермент-субстратных комплексов для некоторых ферментов как прямыми методами (химическое выделение), так и косвенными (спектрофотометрией). Говоря о механизме действия ферментов, следует сказать, что несмотря на огромные достижения в этой области, многие вопросы требуют уточнения.

#### **4.5. Свойства ферментов**

Ферменты характеризуются рядом как неспецифических, так и специфических свойств, определяющих (регулирующих) их активность. Ферменты, как и все катализаторы, обладают свойством не расходоваться в процессе катализируемых ими реакций, ускорять эти реакции в малых количествах и, наконец, одинаково ускорять обратимые реакции в обоих направлениях. Свойство ферментов ускорять как прямую, так и обратную реакцию получило название обратимости действия фермента. Направление реакции зависит от изменений энергии при реакции, от разности свободных энергий исходных и образующихся веществ (реакция всегда идет в сторону уменьшения свободной энергии). Фермент ускоряет достижение положения равновесия реакции. В 1886 г. А.Я. Данилевский впервые доказал обратимость действия пепсина. Позже была доказана обратимость действия мальтазы, липазы и многих других ферментов. С обратимостью действия ферментов часто встречаются при изучении внутриклеточных процессов обмена веществ. Однако из продуктов распада синтез сложного начального вещества в организме происходит более сложным путем, при участии иных ферментов и по другому механизму. В живом организме расщепление и синтез катализируются в большинстве случаев разными ферментами даже тогда, когда данный фермент способен ускорять реакцию в обоих направлениях. Синтез осуществляют ферменты, использующие энергию АТФ или аналогичного макроэргического соединения. Так, при ферментативном гидролизе в печени с помощью амилазы и мальтазы из гликогена образуется глюкоза. Из глюкозы в печени может синтезироваться гликоген, но этот синтез не является следствием обратимости реакций гидролиза. При синтезе глюкоза при участии одного фермента присоединяет к себе фосфорную кислоту, а затем уже при участии других ферментов превращается в гликоген. При этом используется энергия АТФ.

Наряду с неспецифическими свойствами ферментам присущ ряд специфических свойств. К характерным свойствам ферментов относится их чувствительность к изменению реакции среды. Для каждого фермента существует оптимальное значение рН среды, при котором он проявляет максимальную ак-

тивность. Большинство ферментов имеет максимальную активность в зоне pH поблизости от нейтральной точки и соответствующей изоэлектрической точке фермента. В резко кислой или резко щелочной среде хорошо работают лишь некоторые ферменты (пепсин –  $\text{pH}=1,5-2,5$ ; аргиназа –  $\text{pH}=9,5-9,9$ ). Переход к большей или меньшей, по сравнению с оптимальной, концентрации водородных ионов сопровождается более или менее равномерным падением активности фермента.

Влияние pH на каталитическую активность ферментов состоит в воздействии на их активный центр. При различных значениях pH в реакционной среде активный центр может быть слабее или сильнее ионизирован, больше или меньше экранирован соседними с ним фрагментами полипептидной цепи белковой части фермента. Кроме того, pH среды влияет на степень ионизации субстрата, фермент-субстратного комплекса и продуктов реакции, а также оказывает большое влияние на состояние ферментного белка, определяя соотношение в нем катионных и анионных групп, что сказывается на третичной структуре белковой молекулы, с которой связана активность фермента.

Для ферментов характерна зависимость их активности от температуры. Скорость химических реакций, в том числе и реакций, катализируемых ферментами, быстро возрастает по мере повышения температуры, что объясняется увеличением подвижности реагируемых молекул. Однако при достаточно высоких температурах скорость ферментативных реакций снижается из-за денатурации ферментного белка и потери им каталитических свойств. Зависимость активности ферментов от температуры получила название термолабильности ферментов.

Температура, при которой каталитическая активность фермента максимальна, называется его температурным оптимумом. Температурный оптимум для различных ферментов неодинаков. В общем для ферментов животного происхождения он лежит между 37 и 40°C, а растительного – между 50 и 60°C. Однако есть и исключения: папаин имеет температурный оптимум при 80°C, а каталаза – в пределах 0-10°C. При температуре выше 70°C большинство ферментов полностью теряют активность.

Помимо температуры и pH, большое влияние на активность ферментов оказывает присутствие в растворе ряда химических соединений, так называемых активаторов и ингибиторов. Первые сведения о них были получены А.И. Данилевским еще в прошлом столетии. К числу активаторов, повышающих активность ферментов, относятся ионы многих металлов и некоторые анионы. Особенно часто активаторами ферментов бывают ионы магния, марганца, цинка, железа, натрия, кальция, калия и кобальта, а из анионов – хлора. Например, аденозинтрифосфатаза (АТФ-аза) мышц, катализирующая расщепление аденозинтрифосфата (АТФ) на АДФ и неорганический фосфат, активируется ионами  $\text{Ca}^{++}$ .

Амилаза слюны и амилаза поджелудочной железы активируются анионом хлора,  $\text{HCl}$  активирует действие пепсина.

В одних случаях ионы металлов (кобальт, железо, магний, цинк и др.) входят в состав простетической группы фермента и облегчают образование фермент-субстратного комплекса, в других – способствуют присоединению кофермента к апоферменту или обеспечивают становление четвертичной структуры фермента и т.п.

Активаторами ферментов могут служить также органические вещества. Например, действие липазы поджелудочного сока активируется желчными кислотами. Некоторые тканевые ферменты (катепсины, аргиназа и др.) активируются соединениями, содержащими свободные  $\text{HS}$ -группы (глутатион, цистеин). Для ряда ферментных систем открыты белковые модуляторы их активности (активаторы или ингибиторы). Многие из белков-ингибиторов ферментов являются гликопротеидами.

Активирующее влияние ряда простых химических соединений (в частности, металлов) объясняют их действием как аллостерических активаторов. Аллостерические активаторы присоединяются по аллостерическому центру фермента и изменяют третичную структуру белковой молекулы. В результате этого субстратный и каталитический центры фермента приобретают наиболее выгодную для осуществления своих функций конфигурацию.

Ингибиторы тормозят действие ферментов, снижают их активность. Механизм ингибирующего действия разнообразен, но в большинстве сводится к двум типам торможения: конкурентному и неконкурентному, обратимому и необратимому.

При конкурентном торможении ингибитор, обладающий структурным сходством с субстратом, соединяется с ферментом, подменяя собой субстрат, конкурирует с ним. Так как часть фермента расходуется на образование комплекса фермент-ингибитор, количество образующегося фермент-субстратного комплекса снижается и, следовательно, снижается ферментативная активность.

Конкурентные ингибиторы обратимо связываются с ферментом. Поэтому действие конкурентных ингибиторов может быть ослаблено или устранено путем увеличения концентрации субстрата. Примером такого торможения может служить угнетение действия холинэстеразы при помощи диизопропилфторфосфата, который структурно близок к ацетилхолину и легко присоединяется вместо него к ферменту, блокируя его активный центр, или ингибирование сукцинатдегидрогеназы малонатом и другими дикарбоновыми кислотами.

Конкуренты природных субстратов получили название антиметаболитов и широко используются в терапии ряда заболеваний. Так, аналоги пуриновых и пиримидиновых оснований (2-аминоаденин, 5-фторурацил) или аминокислот (фторфенилаланин), а также меркаптопурин, метотрексат, фторафур, будучи



введенными в организм, могут приводить к синтезу таких нуклеиновых кислот и белков, дальнейший метаболизм которых оказывается блокированным из-за нарушения самой структуры их или отсутствия в организме ферментов, способных катализировать их обмен. Применение таких антиметаболитов позволяет, например, задержать развитие некоторых злокачественных новообразований, так как синтезируемая в этих случаях ДНК не способна к редупликации.

Ряд применяемых в медицинской практике лекарственных препаратов оказались по своему механизму действия конкурентными ингибиторами важных ферментов. К примеру, теофиллин, дибазол и папаверин (сосудорасширяющие препараты) являются конкурентными ингибиторами фосфодиэстеразы цикло-АМФ. Амбен угнетает фибринолиз путем конкурентного торможения плазминоактивирующего фермента и угнетения образования плазмينا. Прозерин, физостигмин являются конкурентными ингибиторами холинэстеразы. Антидепрессанты являются ингибиторами моноаминоксидазы, антигипертензивные препараты – ингибиторами ДОФА – декарбоксилазы, а противоопухолевые препараты – ингибиторами дегидрофолатредуктазы.

На антиферментной активности обосновано лечебное применение аминокaproновой кислоты (угнетение фибринолиза), пантрипина, трасилола, гордокса (угнетение активности трипсина при панкреатитах), сульфаниламидов (угнетение синтеза ферментов в мембране микроорганизмов – возбудителей заболеваний).

Некоторые ингибиторы образуют комплекс не со свободным ферментом, а с фермент-субстратным комплексом. В этом случае повышение концентрации субстрата не уменьшает действие ингибитора. Такие ингибиторы называются бесконкурентными.

При неконкурентном торможении ингибитор взаимодействует с апоферментом или простетической группой, связывая существенные для ферментативной активности группировки, например, НО- и HS-группы. Неконкурентное ингибирование не может быть снято добавлением субстрата. Так, соли тяжелых металлов (серебра, меди, свинца) в малых концентрациях, не вызывающих денатурацию белка, связывают HS-группы в полипептидной цепи фермента. Диизопропилфторфосфат (ДФФ) связывает НО-группу серина в активном центре холинэстеразы, трипсина и др., окись углерода присоединяется к железосодержащим простетическим группам, что тормозит активность фермента. Цианиды прочно связываются с атомом железа цитохромоксидазы и блокируют ее активность.

Установлено, что лечебное действие пенициллина связано с ингибированием активности ферментов бактерий за счет блокирования функциональных групп их активных центров путем ацилирования.

В качестве другого варианта неконкурентного торможения активности ферментов следует отметить аллостерическое ингибирование, механизм которого подобен описанному выше аллостерическому активированию.

Торможение ферментативной реакции, вызванное избытком субстрата, получило название субстратного ингибирования. В этом случае образуется фермент-субстратный комплекс, неспособный подвергаться каталитическим превращениям. Если при действии ингибитора образуется продукт, который не может отделиться от фермента, то такое состояние обозначается как необратимое ингибирование, или инактивация.

Ингибиторы ферментов встречаются в тканях организма. В поджелудочной железе обнаружено вещество белковой природы, тормозящее действие трипсина. Известно также вещество белковой природы, тормозящее действие пепсина. Часто эти вещества называются антиферментами. Действие ингибиторов ферментов в некоторых случаях носит обратимый характер. Это относится в первую очередь к антиферментам. При известных условиях антиферменты легко отделяются от ферментов, что ведет к восстановлению активности ферментов. Некоторые исследователи полагают, что к такому типу взаимодействий следует причислить и переход так называемых проферментов в активные ферменты, что было впервые отмечено И.П. Павловым на примере перехода трипсиногена в трипсин под влиянием энтерокиназы.

Многие мультиферментные системы обладают способностью автоматически саморегулировать скорость ферментативной реакции. В большинстве таких систем конечный продукт последовательных ферментативных реакций оказывает ингибирующее действие на первый фермент системы путем связывания с его аллостерическим центром, в результате чего скорость всего ферментативного процесса в целом определяется постоянной концентрацией конечного продукта. Первый фермент такой мультиферментной системы получил название регуляторного или аллостерического фермента, а ингибирующий метаболит – эффектора или модулятора. Регуляторный фермент может подвергаться действию не только отрицательного модулятора, т.е. вызывающего его ингибирование, но и положительного модулятора. Таким положительным модулятором часто выступает субстрат данного регуляторного фермента.

Таким образом, активность ферментов в клетке строго регулируется. Эта регуляция осуществляется прежде всего субстратами или продуктами реакции по аллостерическому механизму. В регуляции ферментативной активности принимают участие также различные по своему строению вещества, в том числе белковой природы, способные активировать или ингибировать ферменты путем модификации структуры молекул фермента (связывание функционально важных групп, частичный протеолиз, фосфорилирование – дефосфорилирование и др.). Скорость синтеза ферментов, как и других белков, их конечная концентрация в клетке, а следовательно – скорость ферментативных реак-

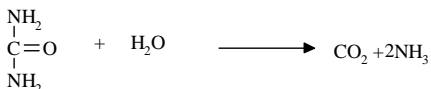
ций, находится под генетическим контролем. Ферментативная активность зависит от наличия структурной компартиментализации ферментов (т.е. их локализации) в определенных органоидах клетки и существования биологических мембран, влияния различных систем (эндокринной, нервной и др.) и влияния на клетку внешних факторов среды.

К числу весьма характерных свойств ферментов принадлежит их ярко выраженная специфичность действия. Ферменты специфичны в отношении, как типа катализируемой реакции, так и структуры субстратов, на которые они действуют. Специфичность ферментов определяется их строением, наличием определенных функциональных групп, которые могут участвовать в образовании фермент-субстратных комплексов.

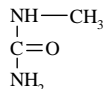
Изучение субстратной специфичности привело к заключению, что, во-первых, субстрат должен обладать специфической химической связью, которая может быть атакована ферментом, во-вторых, субстрат должен иметь еще одну или несколько функциональных групп, связывающихся с ферментом и ориентирующих субстрат надлежащим образом относительно каталитического центра фермента.

При этом конформация некоторых ферментов при связывании с субстратом несколько изменяется. Предполагается, что в результате такой «подгонки» конформации фермента к структуре субстрата обеспечивается точное взаиморасположение и надлежащая ориентация каталитического и субстратного центров относительно тех функциональных групп, на которые они должны действовать. Эти изменения могут приводить к напряжению в структуре субстрата, что повышает его восприимчивость к действию каталитических групп фермента. Эти конформационные изменения получили название индуцированного соответствия фермента субстрату. Значительный вклад в разработку этих вопросов внес Кошланд.

Детальное изучение специфичности ферментов показало их различные пределы у разных ферментов. Известны ферменты, катализирующие только одну реакцию превращения определенного вещества. Уже небольшие изменения в структуре вещества делают его недоступным для действия фермента. Это – абсолютная специфичность. Например, фермент уреаза катализирует реакцию гидролитического расщепления мочевины, но совершенно не действует на метилмочевину.



МОЧЕВИНА



МЕТИЛМОЧЕВИНА

Существуют ферменты, субстратами для которых являются несколько химических соединений, построенных по одному типу, действие этих ферментов адаптировано к типу химической реакции, в которую вовлекаются эти вещества. Это – ферменты с абсолютной групповой специфичностью. В качестве примера можно привести дегидрогеназы. Все они катализируют одну и ту же реакцию отщепления водорода (окисление), но в зависимости от субстрата проявляется специфичность действия отдельных дегидрогеназ (малатдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа и т.д.).

Существуют также ферменты, специфичность которых заключается в том, что они действуют на определенные связи с помощью которых соединены отдельные части молекул (эфирные, гликозидные и др.). Химическая же структура молекул для действия этих ферментов роли не играет. Это – относительная групповая специфичность (эстеразы, гликозидазы и др.).

Некоторые ферменты отличаются стереохимической специфичностью, т.е. действуют только на один из пространственных изомеров. Так, лактатдегидрогеназа специфична к L-лактату, а оксидаза D-аминокислот – к D-аминокислотам.

Наконец, выделяют ферменты с относительной субстратной специфичностью, у которых субстратами служат вещества относящиеся к различным химическим группам (например, цитохром P-450).

#### **4.6. Номенклатура и классификация ферментов**

Выше уже говорилось, что живая клетка содержит более 2 тыс. различных ферментов, каждый из которых ускоряет ту или иную химическую реакцию. Большое разнообразие ферментного действия и ферментных механизмов требует строгой классификации и номенклатуры ферментов. Надо сказать, что ферментология (т.е. наука о ферментах) очень долго не располагала строго научной номенклатурой ферментов. Наименование ферментам давали по случайным признакам, по названию субстрата, по химическому составу фермента и, наконец, по типу катализируемой реакции и характеру субстрата.

В 1961 году 5-ый международный биохимический конгресс, проходивший в Москве, утвердил номенклатуру ферментов, построенную на строго научных принципах. В последующем международный биохимический союз и его комиссии по биохимической номенклатуре в основном сохранили эти принципы. В 1979 году вышла «Номенклатура ферментов» (под ред. акад. А.Е. Браунштейна), согласно которой в основу номенклатуры и классификации положены следующие общие принципы:

1) Названия, предназначенные для обозначения ферментов, особенно те, которые оканчиваются на -аза, должны употребляться только для индивидуальных белков-катализаторов; их не следует применять для систем, содержа-

щих более одного фермента. Если обозначается такая система термином, основанным на катализируемой ею суммарной реакции, то в наименование включается слово «система» (например, пируватдегидрогеназная система, но не пируватдегидрогеназа).

2) Классификация и номенклатура ферментов основывается на реакции, которую они катализируют. За основу номенклатуры принимается суммарная реакция, выражаемая суммарным уравнением. Определенное название фермента обозначает не индивидуальный ферментный белок, а группу белков с одинаковым каталитическим действием. Ферменты из различных источников (разные виды бактерий, растений, животных) классифицируются под единым названием. Это относится также к изоэнзимам.

3) Ферменты подразделяются на группы в соответствии с типом катализируемой реакции, и этот тип реакции в сочетании с названием субстрата (ов) служит основой для построения названий отдельных ферментов.

На типе реакций базируются также классификация и кодовая нумерация (шифры) ферментов.

В списке ферментов одновременно приводятся систематическое название, по возможности точно указывающее действие фермента и тем самым точно его идентифицирующее, и тривиальное (рабочее) название, краткое, которым пользуются в повседневной практике. Указан химизм катализируемой ферментом реакции. Каждому ферменту присвоен индивидуальный номер (шифр) из 4 цифр, в котором указан класс, подкласс, подподкласс фермента и его порядковый номер в этом подподклассе.

Так, вместо тривиального названия лактатдегидрогеназа используется систематическое название: L-лактат-НАД-оксидоредуктаза.

В этом названии отмечены сразу три особенности: во-первых, что субстратом служит лактат (молочная кислота), во-вторых, что коферментом-акцептором водорода служит НАД (никотинамидадениндинуклеотид), в третьих, что от субстрата к акцептору передается водород (протон), т.е. указан тип реакции.

Лактатдегидрогеназа имеет шифр 1.1.1.27, т.е. относится к 1-му классу ферментов (оксидоредуктазы), 1-му подклассу (оксидоредуктазы, использующие СН-ОН-группировки в качестве доноров атомов водорода), 1-му подподклассу (акцептором атомов водорода служит НАД) и занимает 27-ое место в перечне ферментов этого подподкласса. Таким образом, шифр абсолютно точно указывает место фермента в общем списке.

Одновременно с номенклатурой утверждена систематическая классификация ферментов, основанная на типе реакций, подвергающихся каталитическому воздействию. Согласно этой классификации ферменты подразделяются на 6 классов:

- |                    |                       |
|--------------------|-----------------------|
| 1. Оксидоредуктазы | 2. Трансферазы        |
| 3. Гидролазы       | 4. Лиазы              |
| 5. Изомеразы       | 6. Лигазы (синтетазы) |

Каждый класс ферментов подразделяется на подклассы и подподклассы в зависимости от природы индивидуальных превращений. Рассмотрим отдельные классы ферментов.

**1. Оксидоредуктазы.** Их также называют дегидрогеназами, в качестве альтернативы можно использовать термин редуктаза. Термин оксидаза употребляется только в случаях, где акцептором является  $O_2$ .

Данными терминами обозначается большое число ферментов. Весь класс оксидоредуктаз подразделяется на 17 подклассов. Оксидоредуктазы катализируют окислительно-восстановительные реакции. Окисление протекает как процесс отнятия атомов водорода (электронов) от субстрата, а восстановление – как присоединение атомов водорода (электронов) к акцептору.

Имеется несколько особенностей этих ферментов, отличающих их от ферментов других классов.

Оксидоредуктазы в живой клетке образуют системы (так называемые цепи окислительно-восстановительных ферментов), в которых осуществляется многоступенчатый перенос атомов водорода, электронов от первичного субстрата к конечному акцептору, которым является, как правило, кислород. В конце концов атомы водорода переносятся на кислород и образуется вода.

Те оксидоредуктазы, которые переносят атомы водорода или электроны непосредственно на кислородные атомы, носят название аэробных дегидрогеназ или оксидаз. В отличие от них оксидоредуктазы, переносящие атомы водорода и электроны от одного компонента окислительной цепи ферментов к другому без передачи их на кислородные атомы, называются анаэробными дегидрогеназами. Если фермент катализирует реакцию отнятия водорода непосредственно от окисляемого вещества (первичного субстрата), то его называют первичной дегидрогеназой. Если фермент ускоряет снятие водородных атомов со второго субстрата, который получил атомы водорода при посредстве первичной дегидрогеназы (вторичным субстратом может быть сама первичная оксидоредуктаза), его называют вторичной дегидрогеназой.

Особенностью оксидоредуктаз является также то, что будучи двухкомпонентными ферментами (т.е. ферментами-протеидами) с весьма ограниченным набором коферментов, они способны ускорять большое число самых разнообразных окислительно-восстановительных реакций. Это достигается за счет того, что один и тот же кофермент способен соединяться со многими апоферментами, образуя каждый раз оксидоредуктазу, специфичную по отношению к тому или иному субстрату.

Третья особенность оксидоредуктаз заключается в том, что они ускоряют протекание химических процессов, связанных с высвобождением энергии. Последняя используется как для обеспечения синтетических процессов в организме, так и для других нужд.

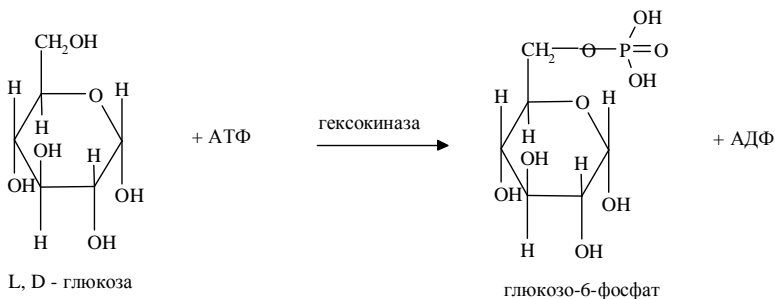
**2. Трансферазы** составляют класс ферментов, ускоряющих реакции переноса атомных групп и молекулярных остатков от одного соединения к другому. В класс трансфераз входит несколько сот индивидуальных ферментов, подразделяемых на 8 подклассов.

В зависимости от вида переносимых группировок различают подклассы, переносящие одноуглеродные остатки, альдегидные и кетонные остатки, ацильные остатки, гликозидные остатки, алкильные группы, азотистые группы, группы, содержащие фосфор и группы, содержащие серу.

Рассмотрим некоторые важные трансферазы.

Фосфотрансферазы ускоряют реакцию переноса остатка фосфорной кислоты, обеспечивая превращение ряда органических соединений в фосфорные эфиры, обладающих повышенной химической активностью. Это имеет большое значение для жизнедеятельности организма.

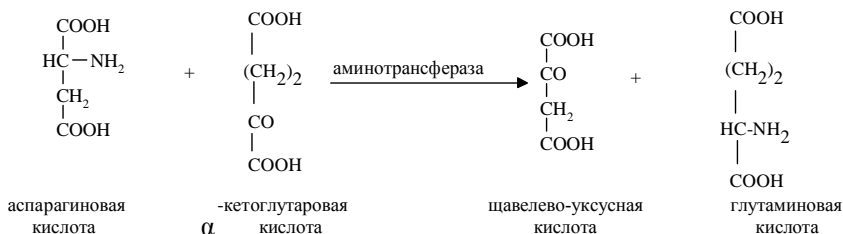
Перенос фосфатных групп происходит на спиртовые, карбоксильные, азотсодержащие, фосфорсодержащие и др. группы тех или иных органических соединений. Донором фосфатных остатков в этих реакциях является обычно АТФ, но возможны и другие источники. Причем, АТФ рассматривают как кофермент фосфотрансфераз. В качестве примера можно привести перенос остатка фосфорной кислоты от молекулы АТФ к глюкозе, катализируемой фосфотрансферазой – гексокиназой (с этой реакции обычно начинается преобразование глюкозы):



Аминотрансферазы (или аминотрансферазы) ускоряют реакцию переаминирования аминокислот с кетокислотами, т.е. перенос аминогрупп ( $-\text{NH}_2$ ) с аминокислот на кетокислоты. Аминотрансферазы в качестве простетических групп содержат пиридоксальфосфат.

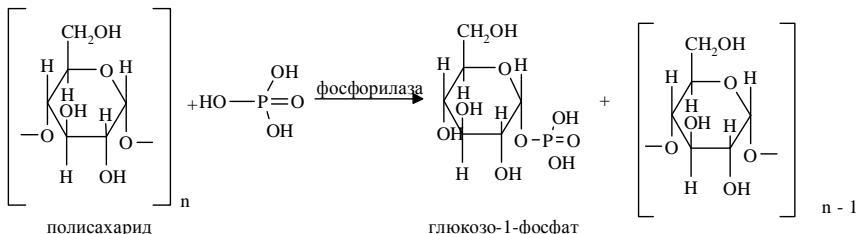
В качестве примера реакции, катализируемой аминотрансферазой, рассмотрим перенос аминогруппы с аспарагиновой кислоты на  $\alpha$ -кетоглутаровую кислоту.

В результате последовательных реакций с обязательным образованием фермент-субстратных комплексов аминокислота (аспарагиновая кислота) переходит в кетокислоту (в щавелево-уксусную), а кетокислота ( $\alpha$ -кетоглутаровая) в аминокислоту (глутаминовую), что можно выразить суммарной реакцией таким образом:



Гликозилтрансферазы ускоряют реакции переноса гликозидных остатков от молекул фосфорных эфиров или других соединений к молекулам моносахаридов, полисахаридов или иных веществ. Эти ферменты обеспечивают реакции биосинтеза олиго- и полисахаридов в животном и растительном мире. Реакция переноса гликозидного остатка обратима. Установлено, что в качестве кофермента в этих реакциях служат нуклеозиддифосфосахара (УДФГ). Часто гликозилтрансферазу, переносящую остаток глюкозы от молекулы гликогена на фосфорную кислоту с образованием глюкозо-1-фосфата, называют фосфорилазой, потому что расщепление гликозидных связей путем присоединения остатков фосфорной кислоты называется фосфоролизом.

В качестве реакции, катализируемой гликозилтрансферазой, приведем эту реакцию.

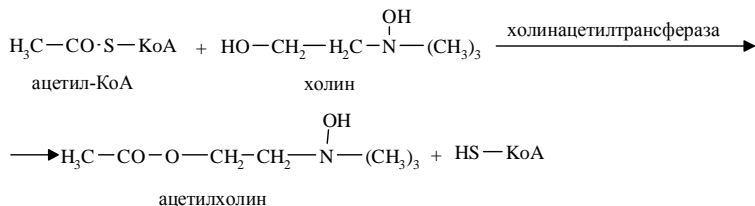


Важной группой класса трансфераз являются ацилтрансферазы – ферменты, ускоряющие перенос ацилов (остатков карбоновых кислот) на аминокис-



лоты, амины, спирты и др. соединения. Универсальным источником ацильных групп во всех реакциях является ацил-коэнзим А, который с полным основанием можно считать коферментом ацилтрансфераз. Чаще всего переносу в биологических объектах подвергается ацил уксусной кислоты – ацетил. Коэнзим А, соединяясь с ацетильными остатками, которые занимают место водорода в его HS группе, образует ацетил-коэнзим А ( $\text{CH}_3\text{-CO-S-KoA}$ ).

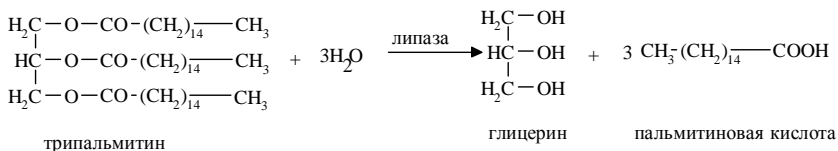
Ацетил-коэнзим А служит кофактором в соответствующей реакции переноса ацильного остатка. В качестве примера приведем реакцию трансацилирования, ведущую к образованию ацетилхолина:



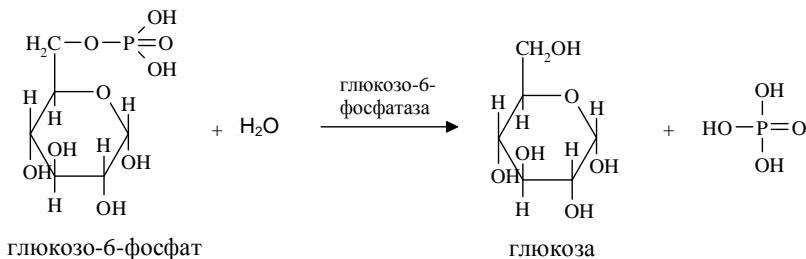
**3. Гидролазы** – ферменты, ускоряющие реакции расщепления (а иногда и синтеза) различных связей органических соединений при участии воды.

В составе гидролаз насчитывается, несколько сот ферментов, которые распределены по 11 подклассам в зависимости от характера подвергающихся гидролизу связей. К их числу относятся гидролазы, действующие на сложноэфирные связи, на гликозильные соединения, на простые эфирные связи, на пептидные связи, на C-N-связи, отличающиеся от пептидных, на ангидриды кислот, на C-C-связи, на галогидные связи, на P-N-связи, на S-N-связи, на C-P-связи. Рассмотрим несколько основных подклассов гидролаз: эстераз, гликозидаз, пептидгидролаз, амидогидролаз (амилаз). Это ферменты – протеины.

**Эстеразы** – это ферменты, ускоряющие реакции гидролиза и синтеза сложных эфиров. Так, карбоксиэстеразы гидролизуют сложные эфиры карбоновых кислот, в частности, липаза ускоряет гидролиз (и синтез) глицеридов, в том числе триглицеридов на глицерин и высшие жирные кислоты:



Фосфатазы (гидролазы фосфомоноэфиров) катализируют гидролиз фосфорных эфиров. Например, глюкозо-6-фосфат расщепляется следующим образом:

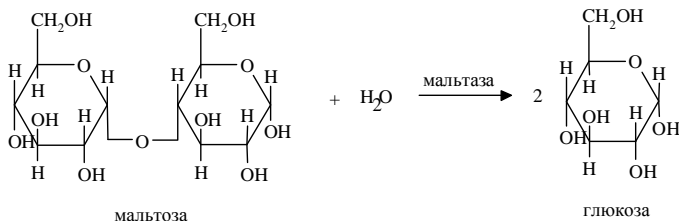


К фосфатазам относятся щелочная и кислая фосфатазы, глюкозо-1-фосфатаза, глюкозо-6-фосфатаза, нуклеотидазы, рибонуклеазы и дезоксирибонуклеазы и др.

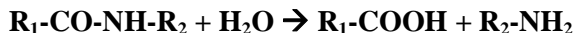
К числу эстераз относят также сульфэстеразы (сульфатазы) – гидролизующие сложные эфиры серной кислоты и тиоэстеразы – гидролизующие сложные эфиры органических кислот и тиоспиртов.

*Второй подкласс гидролаз – гликозидазы.* Эти ферменты ускоряют реакцию гидролиза гликозидов, олиго- и полисахаридов. В зависимости от того, на какой пространственный изомер ( $\alpha$ - или  $\beta$ -) действует фермент, его относят к  $\alpha$ -гликозидазам или к  $\beta$ -гликозидазам. Из числа гликозидаз можно назвать  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилазы, сахаразу, мальтазу.

В качестве примера приведем гидролиз мальтозы:



*Третий подкласс гидролаз – пептидгидролазы* – ускоряют гидролиз пептидных связей в белках и пептидах, а при определенных условиях также и синтез пептидных связей. В последние годы им придают большое значение в постсинтетической модификации молекулы полипептидов и белков. Схема гидролиза:



Среди пептидгидролаз различают две группы – пептидазы и протеиназы, каждая из которых включает несколько подподклассов. Пептидазы являются экзопептидазами, т.е. ускоряют реакции гидролитического отщепления amino-

кислот или дипептидов с N- или С-конца полипептидной цепи. Протеиназы являются эндопептидазами, т.е. катализируют гидролиз небольшого числа внутренних связей в белковой молекуле, в результате чего последняя распадается до пептидов. Пептидазы представлены в соответствии с современной номенклатурой и классификацией следующими подподклассами.

- 1)  $\alpha$ -аминоацилпептидгидролазы (аминопептидазы), ускоряющие реакцию гидролитического отщепления аминокислот с N-конца пептида;
- 2) пептидиламиноацилгидролазы (карбоксипептидазы), ускоряющие реакцию гидролитического отщепления аминокислот с С-конца пептида;
- 3) дипептидгидролазы (дипептидазы), ускоряющие гидролиз дипептидов;
- 4) пептидильдипептидгидролазы, ускоряющие реакцию гидролитического отщепления дипептида с N-конца полипептида;
- 5) пептидильдипептидгидролазы, ускоряющие реакцию гидролитического отщепления дипептида с С-конца полипептида.

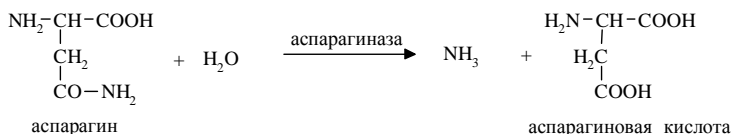
Большой вклад в изучении пептидильдипептидгидролаз и их роли в регуляции кровяного давления (через систему ангиотензин-брадикинин) внесли работы академика АМН СССР В.Н. Ореховича и его сотрудников.

Протеиназы (протеолитические ферменты, эндопептидазы, пептидильпептидгидролазы) разделены на подклассы на основании механизма катализа, выявленного изучением активного центра или влияния рН на активность:

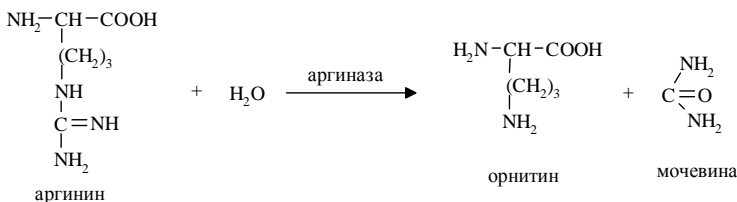
- 1) сериновые протеиназы (в активном центре имеются остатки серина и гистидина; представители – трипсин, химотрипсин и другие);
- 2) HS-протеиназы (в активном центре имеется остаток цистеина, представители – папаин, катепсин В и др.);
- 3) кислые протеиназы (в активном центре представлены остатки дикарбоновых кислот, оптимум рН ниже 5,0; представители – пепсин, катепсин Д и др.);
- 4) металлопротеиназы (в механизме катализа участвует ион металла; представители – коллагеназа, микробные металлоферменты и другие).

*Четвертый подкласс гидролаз – амидазы* (амидогидролазы) ускоряют гидролиз амидов кислот. Из них важную биологическую роль играют уреаза, аспарагиназа и глутаминаза.

Аспарагиназа и глутаминаза ускоряют гидролиз амидов дикарбоновых кислот по схеме:



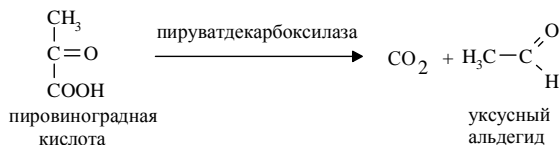
К числу амидаз относятся амидиназы. Амидиназы катализируют гидролиз C-N-связей в линейных амидинах. К их числу принадлежит аргиназа.



Эта реакция широко представлена в природе, так как она является заключительной стадией биосинтеза мочевины – одного из конечных продуктов распада азотсодержащих веществ. Для аргиназы характерна абсолютная специфичность действия.

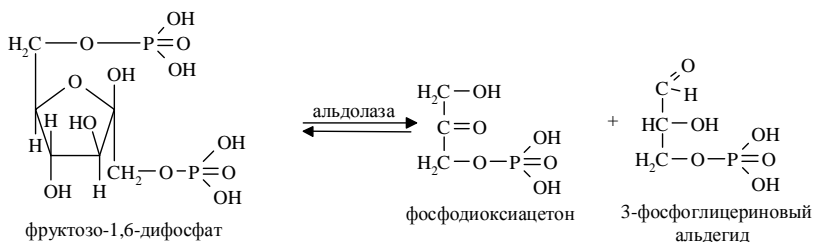
**4. Лиазы** – класс ферментов, катализирующих негидролитические реакции распада органических соединений по связям C-C, C-O, C-N, C-S, P-O. При этом часто замыкаются двойные связи и выделяются такие простейшие продукты как CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, NH<sub>3</sub> и т.д. Некоторые из этих реакций обратимы, и соответствующие ферменты катализируют не только распад, но и синтез. Этот класс ферментов включает 7 подклассов.

Одной из важнейших групп ферментов этого класса являются углерод-углерод-лиазы (C-C-лиазы). Среди них большое значение имеют декарбоксидазы (карбоксилиазы), катализирующие реакции по следующей схеме:

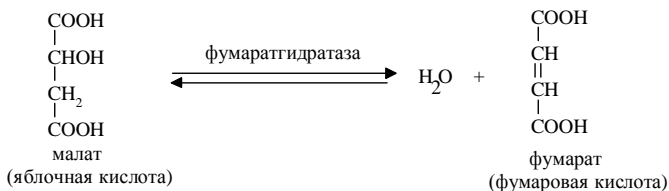


Декарбоксилазы являются фермент-протеидами, простетическая группа которых представлена фосфорными эфирами водорастворимых витаминов: тиамина (В<sub>1</sub>) – в карбоксилазах кетокислот и пиридоксаль (В<sub>6</sub>) – в карбоксилазах аминокислот.

Характерным представителем C-C-лиаз является альдолаза, катализирующая обратимую реакцию расщепления фруктозоdifосфата до фосфотриоз:

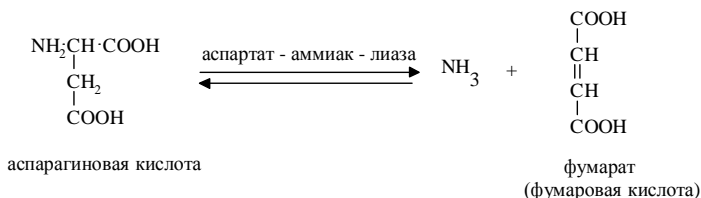


Важную группу лиаз составляют углерод-кислород-лиазы (гидролиазы), ускоряющие реакции гидратирования и дегидратирования органических соединений. К числу этих ферментов относится фумаратгидролиаза (фумарат-гидратаза):



Реакции гидратирования и дегидратирования постоянно идут при распаде и синтезе углеводов и высших жирных кислот, поэтому гидратазы (гидролиазы) играют большую роль в жизнедеятельности организма.

Представителем следующей группы лиаз – углерод-азот-лиаз – может служить аспартат-аммиак-лиаза, ускоряющая реакцию внутримолекулярного дезаминирования аспарагиновой кислоты:



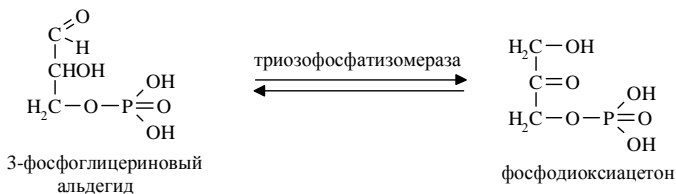
Этот фермент характерен для бактерий и растений.

Наконец, некоторые лиазы ускоряют реакции не только распада, но и синтеза. Они получили название синтазы. Представителем их является L-серингидролиаза (цистеинсинтаза).

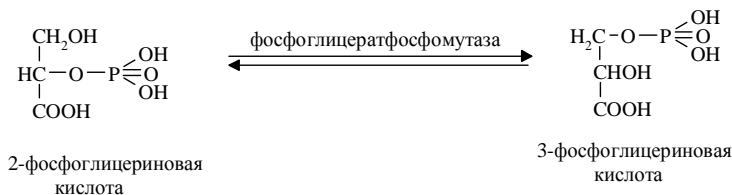
5. Ферменты класса **изомераз** ускоряют процессы внутримолекулярных превращений. Эти превращения состоят во внутримолекулярном переносе водорода, фосфатных и ацильных групп, в изменении пространственного распо-

ложения атомных группировок, в перемещении двойных связей и т.д. В соответствии с типом реакции изомеризации ферменты могут обозначаться как рацемазы, эпимеразы, цис-транс-изомеразы, таутомеразы, мутазы, цикло-изомеразы. Класс изомераз включает несколько десятков индивидуальных ферментов, которые подразделяются на 6 подклассов. Важнейшими из них являются триозофосфатизомераза, фосфоглицерат-фосфомутаза и другие.

Так, триозофосфатизомераза ускоряет перенос атомов водорода в процессе превращения 3-фосфоглицеринового альдегида в фосфодиоксиацетон и обратно:



Фосфоглицератфосфомутаза обеспечивает превращение 2-фосфоглицериновой кислоты в 3-фосфоглицериновую кислоту и обратно:



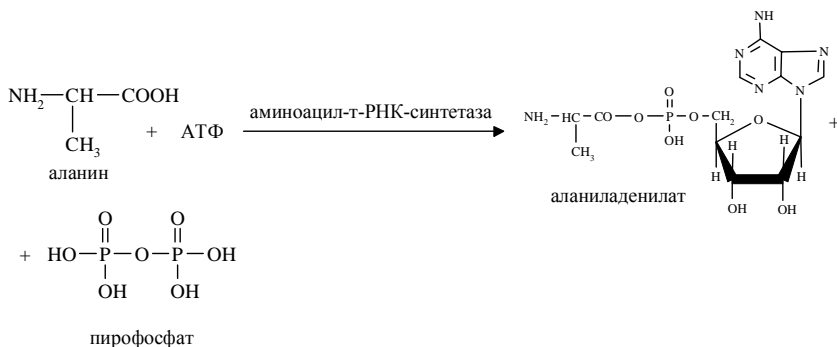
Оба процесса представляют важнейшие стадии распада и синтеза углеводов.

**6. Лига́зы** (синтета́зы) – *ферменты*, ускоряющие реакции синтеза органических веществ, т.е. соединение друг с другом двух молекул, сопряженное с распадом донаторов энергии для осуществления биосинтетического процесса. Одним из таких природных донаторов энергии является аденозинтрифосфорная кислота (АТФ). Выделяющаяся энергия при отщеплении остатков фосфорной кислоты используется для активирования реагирующих веществ. Образующиеся связи часто принадлежат к типу высокоэнергетических связей. Этот класс включает 5 подклассов ферментов.

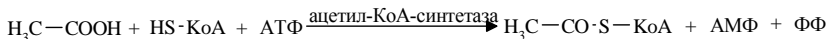
Механизм действия лигаз весьма сложен и не до конца изучен. В ряде случаев доказано, что одно из участвующих в основной реакции веществ сначала дает промежуточное соединение с фрагментом распадающейся молекулы

АТФ, а затем промежуточный продукт взаимодействует со вторым партнером реакции с образованием конечного продукта. В этих реакциях АТФ выступает как кофермент.

Лигазы катализируют образование связей C-N, C-C, C-S, C-O, фосфоэфирных связей (P-O). В частности, лигазам, катализирующим синтез C-O-связей, принадлежит важнейшая роль в биосинтезе белков, так как они ускоряют реакции активирования аминокислот перед вступлением последних в пептидную связь при синтезе полипептидных цепей в рибосомах. Одной из простейших реакций этого типа является образование аминоксил-аденилатов. В качестве примера может служить реакция образования аланиладенилата:



Действие ферментов разных классов, как уже говорилось выше, тесно увязано между собой в результате образования мультиферментных систем. Примером может служить образование ацетил-коэнзима А, протекающее сопряжено с распадом АТФ при каталитическом участии ацетил-коэнзим-А-синтетазы:



Ацетил-коэнзим-А служит коферментом в реакциях трансацилирования, поэтому действие лигаз и ацилтрансфераз в живых системах тесно увязано друг с другом. Аналогичные взаимодействия характерны и для многих других ферментов.

#### 4.7. Ферменты как лекарственные препараты и диагностические средства

Широкий круг химических реакций, катализируемых ферментами, и способность ферментов сохранять и осуществлять свою каталитическую функцию вне организма обусловили использование ряда ферментных препаратов в раз-

личных областях человеческой практики, в том числе и медицине. В медицинской практике препараты ферментов применяются зачастую в качестве заместительной терапии (пепсин и др.), для растворения тромбов (фибринолизин и др.), некротических тканей (трипсин), размягчения рубцов и соединительной ткани, разжижения гноя (дезоксирибонуклеаза).

Ферменты как лечебные препараты находят большое применение для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта. С этой целью используют пепсин, трипсин и другие индивидуальные ферменты и их смеси (абомин и т.п.). Пепсин (протеолитический фермент желудочных желез) используется либо в составе естественного желудочного сока, либо искусственного желудочного сока (в виде пепсина в растворе соляной кислоты или водного экстракта слизистой желудка свиней), либо в виде препарата ацидинпепсина (смесь пепсина с бетаином гидрохлоридом), либо, наконец, в виде чистого кристаллического препарата. Последний получил особое распространение при лечении диспепсий.

Трипсин и химотрипсин (протеолитические ферменты поджелудочной железы) также широко используются для лечения заболеваний, связанных с недостаточностью функций поджелудочной железы и заболеваний желудочно-кишечного тракта. В этих случаях применяют препараты, такие как, например, панкреатин, представляющий собой высушенный сок поджелудочной железы, включающий смесь ферментов (липазы, амилазы и трипсина), химопсин (смесь химотрипсина и трипсина), трипсин кристаллический, трипсин аморфный, химотрипсин кристаллический.

Трипсин применяют также при лечении ожогов и трофических язв с целью очищения раневых поверхностей от омертвевшей ткани, для разжижения вязких секретов, экссудатов, сгустков крови. Трипсин используется также как противовоспалительное средство. В этих случаях нашли употребление и препараты коллагеназы и рибонуклеаза – ферментные препараты, получаемые из поджелудочной железы крупного рогатого скота.

Для лечения заболеваний суставов применяют гиалуронидазу (в виде препарата лидазы или ринидазы) – фермент, ускоряющий гидролиз гиалуроновой кислоты. Получают гиалуронидазу из семенников крупного рогатого скота.

Для ликвидации тромбозов (закупорки) кровеносных сосудов путем растворения тромбов применяют иммобилизованные тромболитические ферменты, в частности, фибринолизин, тромболитин (комплекс трипсина и гепарина). Применение этих ферментов позволяет создавать при одномоментном введении препарата длительную устойчивую концентрацию его в крови, либо в определенной области сосудистой системы. В настоящее время получен и экспериментально изучен целый ряд иммобилизованных ферментов – стрептокиназа, фибринолизин, трипсин, урокиназа, химотрипсин и др. Получены ферменты, иммобилизованные на гепарине. Впервые в клинике для лечения тромбо-



зов и инфаркта миокарда был с успехом применен созданный в СССР препарат иммобилизованной стрептокиназы – стрептодеказа.

Достигнуты успехи в лечении вирусных заболеваний при посредстве ферментов, ускоряющих распад нуклеиновых кислот. В этом случае оказалась эффективной дезоксирибонуклеаза – ферментный препарат, полученный из поджелудочной железы крупного рогатого скота. Дезоксирибонуклеаза способна также вызывать деполимеризацию и разжижение гноя, что также нашло применение в медицинской практике.

В качестве лечебных препаратов применяют некоторые коферменты, в частности, кокарбоксилазу (тиаминпирофосфат) и липоевую кислоту – коферменты, которые принимают участие в окислительном декарбоксилировании пировиноградной кислоты и других  $\alpha$ -кетокислот. Улучшая углеводный обмен, эти препараты оказались показанными при целом ряде заболеваний (атеросклерозе, поражениях печени, ацидозах, недостаточности кровообращения и т.п.). Широкое применение получили также витамины, входящие в состав коферментов, в виде препаратов: рибофлавина мононуклеотида (готовая форма кофермента), рибоксина, флавината, никотиновой кислоты, никотиамида, пантотената кальция, пиридоксина, цианкобаламина в виде кобаламида и др.

Нельзя также не сказать о применении ферментов в диагностике болезней. Эта диагностика основывается либо на применении ферментных препаратов для определения содержания различных веществ в биологическом материале (крови, моче, тканях), либо на непосредственном определении некоторых ферментов в биологическом материале. Широкое применение получил глюкозооксидазный метод для определения глюкозы. С помощью специфических ферментов определяют также молочную и пировиноградную кислоту, мочевины, АТФ, АДФ, АМФ, аминокислоты и др.

Широко используют в клинике определение в крови ферментов, позволяющих диагностировать то или иное заболевание, особенно если фермент обнаруживается только в определенных органах или тканях или его изомер преимущественно находится в каком-то одном органе (АсТ, АлТ, ЛДГ и его изоферменты и др.).

## **5. Введение в обмен веществ. Энергетика обмена веществ**

### **5.1. Общие понятия об обмене веществ и энергии**

Жизнедеятельность организма, само существование его связано с постоянным поглощением организмом веществ и энергии из окружающей среды в удобной для утилизации форме и выделением эквивалентного количества энергии и веществ в эту среду в форме, менее удобной для утилизации. Совокупность химических реакций, обеспечивающих этот процесс, именуется обменом веществ и энергии (метаболизмом).

Назначение обмена веществ и энергии заключается, во-первых, в восстановлении постоянно теряемых организмом веществ, входящих в состав тканей и тканевых жидкостей, и, во-вторых, в обеспечении организма энергией, необходимой для образования ряда веществ, присущих организму, для движения, секреции, экскреции, электрических явлений и др. проявлений жизни.

Обмен веществ представляет собой сочетание многих разнообразных и противоположных процессов. Одни из них представляют процессы физиологические (питание, выделение и др.), другие – физические (сорбция, диффузия и др.), третьи – химические (распад и синтез веществ и др.).

При этом все эти процессы образуют непрерывный, самосовершающийся и саморегулируемый круговорот веществ в живых телах, сопровождающийся постоянным самообновлением живой материи.

Обмен веществ осуществляется при условии и в результате постоянного взаимодействия живой и неживой материи, организма и среды. Естественно поэтому, что ход обмена веществ в организме, а часто и сам характер этого обмена находятся в тесной зависимости от условий внешней среды. Присущие организмам молекулярные механизмы преобразования, воспроизводства и разрушения специфических органических соединений (белков, нуклеиновых кислот, липидов, углеводов и др.), действуют лишь в определенных, ограниченных интервалах температуры, давления, радиации и других параметров. В силу этого тип обмена веществ складывается в процессе жизнедеятельности организма, как единство внутренних и внешних факторов.

Обмен веществ объединяет два противоположных процесса. Та часть общего процесса обмена веществ, которая выражается в поглощении, накоплении, усвоении организмом веществ окружающей среды, в создании, синтезе за счет их структурных единиц своего тела, называется анаболизмом или ассимиляцией.

Та часть общего процесса обмена веществ, которая состоит в разрушении веществ, составляющих организм, в распаде элементов живого тела и выделе-

нии продуктов этого распада из организма, называется катаболизмом или диссимиляцией.

В совокупности обе части составляют единый процесс обмена веществ.

**Катаболизм** – это прежде всего ферментативное расщепление крупных молекул (белков, нуклеиновых кислот, жиров, углеводов), осуществляемое преимущественно за счет реакций гидролиза и окисления. В ходе катаболизма образуются более мелкие молекулы, что сопровождается выделением свободной энергии и запасанием ее в форме, главным образом, энергии фосфатных связей АТФ.

**Анаболизм** – это ферментативный синтез сравнительно крупных молекул и надмолекулярных комплексов из простых предшественников, что связано с потреблением энергии, поставляемой, главным образом, в форме энергии фосфатных связей АТФ.

Катаболизм и анаболизм протекают в клетках одновременно и тесно переплетаются друг с другом. Например, в ходе распада глюкозы первой реакцией является синтез более сложного вещества – глюкозо-6-фосфата и т.п.

Сочетание катаболических и анаболических реакций приводит к постоянному обновлению состава тела. При этом надо иметь в виду, что хотя в процессе обмена веществ состав тела все время обновляется, общий его состав у взрослых организмов в течение кратких отрезков времени почти не меняется.

### **5.2. Энергетика обмена веществ**

Обмену веществ, каждой ферментативной реакции превращения вещества сопутствует превращение энергии. На некоторых этапах катаболизма химическая энергия выделяется и запасается, главным образом, в форме энергии фосфатных связей АТФ, а на определенных этапах анаболизма она используется, расходуется. Энергетические отношения обуславливают тесную взаимосвязь анаболических и катаболических процессов: всякий раз, когда происходит синтез более сложных веществ, требующих затраты энергии, одновременно с ним должны идти процессы, поставляющие энергию – процессы распада или окисления. Процессы, протекающие с выделением энергии, получили название экзоргических, а процессы, протекающие с потреблением энергии – эндергических. Основной экзоргической реакцией организма является синтез воды в процессе тканевого дыхания, а основной эндергической реакцией – синтез АТФ из АДФ и фосфата, сопряженный с выделением энергии при тканевом дыхании.

У зеленых растений энергия поступает в организм и улавливается в виде квантов света. Такие организмы способны создавать органические вещества своего тела из неорганических веществ путем фотосинтеза и их называют аутоτροφными организмами. Другие организмы, главным образом, животные,

нуждаются в уже готовых органических веществах и их называют гетеротрофами.

Энергия в эти организмы поступает главным образом в виде энергии химических связей органических веществ пищи. Образованию вещества тела гетеротрофов происходит путем химиосинтеза, т.е. синтеза, энергия для которого черпается за счет энергии химических связей органических веществ; в процессе их расщепления и выделяется необходимая для синтеза энергия. Следовательно, между аутоотрофами (растениями) и гетеротрофами (животными) существует тесная взаимосвязь. Растительные аутоотрофы за счет энергии солнечных лучей с помощью хлорофилла и других пигментов в хлоропластах восстанавливают  $\text{CO}_2$  в сложные органические вещества с использованием воды и с высвобождением кислорода. Гетеротрофы питаются растениями (непосредственно или опосредованно). Питательные вещества (сложные органические вещества – углеводы, липиды, белки) гидролизуются в желудочно-кишечном тракте до моносахаридов, жирных кислот, глицерина, аминокислот. Эти продукты гидролиза всасываются в кровь и доставляются кровью к различным клеткам, где в ходе специфических реакций они частично расщепляются еще на более мелкие молекулы. Последние поступают в митохондрии, где расщепляются далее в лимоннокислом цикле и окисляются в дыхательной цепи ферментов (тканевом дыхании). Одновременно с этим кислород, выделяемый растениями в процессе фотосинтеза в воздух, поступает через легкие в кровь животных и транспортируется с помощью гемоглобина в клетки, а затем в митохондрии. Этот кислород используется в тканевом дыхании. В реакциях тканевого дыхания высвобождается энергия, которая путем окислительного фосфорилирования аккумулируется в молекулах АТФ, а также образуется вода. В лимоннокислом цикле также образуется  $\text{CO}_2$ , который с помощью крови транспортируется из клеток в легкие, а затем выдыхается животным. Вода, образующаяся в процессе тканевого дыхания, удаляется из организма. Вода и  $\text{CO}_2$ , выделенные животными, используются растениями для образования органических веществ в процессе фотосинтеза.

Каждое органическое соединение, входящее в состав живой материи, обладает определенными запасами потенциальной энергии, за счет которой может быть совершена работа. Эту энергию принято называть свободной энергией. Свободная энергия является частью общей (полной) энергии (энтальпии). Полная энергия определяется как тепло, которое высвобождается при сгорании данного соединения в колориметре. Если сгорание происходило при постоянном давлении, то эту величину называют энтальпией. Разница между свободной энергией и общей энергией (энтальпией) зависит от температуры и является функцией энтропии системы (S). Энтропия тем выше, чем менее упорядочена система. Знание изменения свободной энергии ( $\Delta F$ ) системы при переходе ее из одного состояния в другое является критерием, позволяющим су-

доть о возможности химического превращения в соответствии с законами термодинамики. Клетка использует лишь часть общей энергии (H). Соотношение между этими величинами можно выразить уравнением:  $\Delta H = \Delta F + T\Delta S$ . Из уравнения видно, что изменение общей энергии ( $\Delta H$ ) складывается из изменения свободной энергии ( $\Delta F$ ), т.е. энергии, которая может быть использована клеткой, и изменения той части энергии, которая рассеивается в виде тепла (в уравнении: T – абсолютная температура, S – энтропия системы). Из уравнения также следует, что с увеличением энтропии количество используемой энергии возрастает и процесс становится менее обратимым. Согласно второму закону термодинамики, энтропия изолированной системы реакций стремится к некоторому максимальному значению, при котором достигается равновесие и реакция прекращается. Во время химической реакции, когда молекулярная упорядоченность нарушается, энтропия системы возрастает. Если приложить энергию, чтобы заставить реакцию идти в обратном направлении (с более низкого энергетического уровня на более высокий), то энтропия уменьшается. Однако, такого рода процессы термодинамически невозможны, если они не связаны с другой системой, в которой энтропия соответственно увеличивается, тем самым компенсируя ее уменьшение в первой системе.

Следует напомнить, что с точки зрения термодинамики живые организмы являются неравновесной открытой системой, находящейся в стационарном состоянии; системой, извлекающей из внешней среды утилизируемую в процессе жизнедеятельности свободную энергию, в результате чего происходит возрастание энтропии (т.е. неупорядоченности) среды. Эта закономерность прослеживается в процессе обмена веществ организма, благодаря тесной взаимосвязи анаболических и катаболических реакций.

Главным материальным носителем свободной энергии в органических веществах являются химические связи между атомами. Поэтому при преобразовании химических связей в молекуле уровень свободной энергии соединения изменяется. Нормальным энергетическим уровнем при возникновении или распаде химической связи преобразуемого вещества считается изменение уровня свободной энергии, равное порядку 3 ккал/моль (или 12,5 кДж/моль). Именно такой уровень свободной энергии отмечается при видоизменении большинства связей в органических соединениях. Однако при новообразовании и распаде некоторых связей уровень свободной энергии в молекулах ряда органических соединений выражается величинами 6-10 ккал/моль (или 25 кДж/моль) и более (табл. 1). Такие соединения, молекулы которых содержат связи, отдающие при распаде значительные количества свободной энергии, получили название макроэргических соединений, а связи, при преобразовании которых наступают такие крупные изменения в энергетическом балансе веще-

ства – макроэргических связей. Последние обозначаются специальным знаком ~.

Макроэргические связи представлены преимущественно сложноэфирными (в том числе и тиоэфирными), ангидридными и фосфоамидными связями. При этом почти все известные соединения с макроэргическими связями содержат атомы фосфора и серы, по месту которых в молекуле и локализованы макроэргические связи.

**Таблица 1 – Изменение стандартной свободной энергии (в ккал) гидролиза некоторых фосфорилированных соединений (термодинамическая шкала фосфорилированных соединений)**

Соединение	Ккал
Фосфоенолпируват	14,80×4,1
1,3-дифосфоглицерат	11,80
Креатинфосфат	10,30
Ацетилфосфат	10,10
Аргининфосфат	7,70
АТФ	7,30
Глюкозо-1-фосфат	5,00
Фруктозо-6-фосфат	3,80
Глюкозо-6-фосфат	3,30
Глицерол-1-фосфат	2,20

Энергия, высвобождаемая при разрыве макроэргических связей, поглощается при синтезе органических соединений с более высоким уровнем свободной энергии, чем исходные. В то же время запасы макроэргических веществ в организме постоянно пополняются путем аккумулялирования энергии, выделяющейся при понижении энергетического уровня распадающихся соединений. Следовательно, макроэргические вещества выполняют функцию и доноров, и акцепторов энергии в обмене веществ.

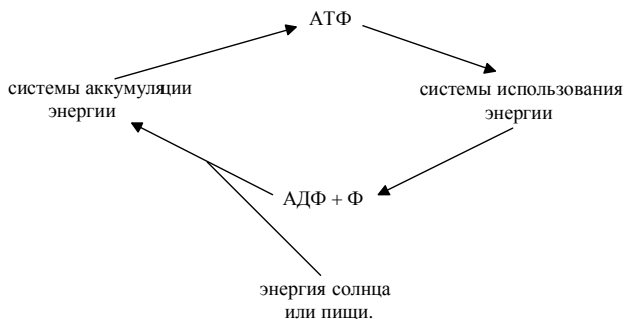
Наряду с функцией доноров и акцепторов макроэргическим соединениям свойственна очень важная роль трансформаторов энергии, так как они способны преобразовывать стационарную форму энергии, присущую химической связи, в мобильную, т.е. в энергию возбужденного состояния молекул, обеспечивая тем самым реакционную их способность. Преобразование мобильной формы энергии снова в стационарную форму энергии новой химической связи ведет к видоизменению веществ. Этим путем обмен веществ обеспечивается в организме энергией.

Таким образом, обмен веществ и энергии представляет единый, непрерывный процесс, где видоизменение вещества сопровождается выделением или поглощением свободной энергии и где выделившаяся или поглотившаяся в том или ином количестве энергия обеспечивает осуществление распада или

синтеза химических связей, т.е. по существу видоизменение самих веществ. При этом следует иметь в виду, что свободная энергия, которая выделяется при распаде макроэргических соединений и за счет которой может быть совершена та или иная работа, используется не только для химического синтеза, но и служит в организме для теплообразования, свечения, накопления электричества, выполнения механической работы и т.п. В этих случаях химическая энергия преобразуется при обязательном участии макроэргических соединений (в частности, АТФ и др.). в тепловую, лучистую, электрическую, механическую и т.п.

Выдающуюся роль в биоэнергетических процессах играет аденозинтрифосфорная кислота (АТФ). Способность АТФ как запасать, так и отдавать энергию, т.е. образовывать систему АТФ-АДФ, занимая промежуточное положение в термодинамической шкале фосфорилированных соединений, определяет функций этой системы, как посредника, переносчика богатых энергией фосфатных групп от высокоэнергетических фосфорилированных соединений, стоящих в термодинамической шкале выше АТФ, к менее богатым энергией соединениям, которые, акцептируя фосфат, активируются.

АТФ играет важную роль и в обмене самих макроэргических соединений. Синтез в организме многих других макроэргических соединений протекает при посредстве АТФ. Важное значение в этом обмене имеет образование креатинфосфата и нуклеозидтрифосфатов (гуанозинтрифосфата, уридинтрифосфата, цитидинтрифосфата), которые могут, как и АТФ, служить источником энергии при биосинтетических процессах. Описанные взаимоотношения можно выразить в виде схемы:



Интересны некоторые расчеты, характеризующие количество синтезируемого АТФ в организме человека<sup>4</sup>. Оказывается человек массой 70 кг производит за день 75 кг АТФ, т.е. больше своего собственного веса. Конечно, надо

<sup>4</sup> Э. Брода. Эволюция биоэнергетических процессов. Изд. Мир, М., 1978.

иметь в виду, что молекулы АТФ все время расходуются для совершения работы, а на их место образуются новые, только что синтезированные молекулы АТФ (75 кг выпускаемой промышленностью АТФ стоит 150 тысяч долларов). Удивителен факт, что живые организмы производят на единицу массы значительно больше энергии, чем солнце (человек весом 70 кг производит энергии  $2 \cdot 10^4$  эрг/г.сек против 2 эрг/г.сек, производимых солнцем).

При рассмотрении обмена веществ различают внешний (или общий) обмен веществ, учитывающий поступление в организм веществ и их выделение, т.е. учитывающий баланс и промежуточный обмен веществ, который охватывает превращения этих веществ в организме.

### ***5.3. Общая характеристика промежуточного обмена веществ***

Под промежуточным или межучточным обменом веществ понимают превращения веществ с момента поступления их в организм и кончая образованием конечных продуктов обмена. Промежуточный обмен выполняет 4 функции:

- извлечение энергии из окружающей среды, поступающей либо в форме энергии химических связей органических веществ, либо в форме квантов солнечного света;
- превращение экзогенных веществ (т.е. веществ пищи) в простые низкомолекулярные вещества;
- образование из этих простых веществ, являющихся как бы строительными блоками, высокомолекулярных веществ: белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов, липидов и др. клеточных компонентов, свойственных организму;
- синтез и распад тех биомолекул, которые необходимы для выполнения различных специфических функций клетки.

Первым этапом обмена веществ является превращение поступивших веществ пищи в желудочно-кишечном тракте. Большинство питательных веществ являются полимерами (протеины и протеиды, полисахариды, липиды) и для того, чтобы быть усвоенными организмом, должны подвергнуться гидролитическому расщеплению пищеварительными ферментами до мономеров. Следовательно, пищеварение белков, жиров и углеводов – основных питательных веществ – является биологически необходимым процессом превращения питательных веществ в легко всасываемое, усвояемое состояние. Этот процесс обеспечивается пищеварительными ферментами.

Все пищеварительные ферменты характеризуются относительной специфичностью своего действия. Это имеет большое значение для приспособления организма к различному составу питательных веществ.



Пищеварительные ферменты вырабатываются особыми железами (слюнными, желудочными, поджелудочной железой и др.), или отдельными клетками. Ежедневно в желудочно-кишечном тракте секретируется примерно 8 л пищеварительных секретов, содержащих все необходимые ферменты для гидролиза пищевых веществ. В секретах содержится от 6 до 10 г ферментных белков. Вырабатываемое количество ферментов обеспечивает полное пищеварение углеводов и белков пищи. У человека ежедневно синтезируется 1 г пепсина, достаточного для расщепления 60,0 кг яичного белка, и около 1,6 г амилазы, достаточной для расщепления 175 кг крахмала. Расщепление и всасывание жиров более ограничено, чем пищеварение углеводов и белков.

Наряду с пищеварением протеинов, протеидов, углеводов, липидов, всасыванием продуктов их гидролиза, желудочно-кишечный тракт осуществляет выделение продуктов обмена веществ, например, продуктов распада холестерина и желчных пигментов, а также продуктов обмена кишечной микрофлоры, самих кишечных микробов и невоссавшихся частей пищи.

Пищеварение начинается в ротовой полости, куда выделяется секрет слюнными железами. Слюна представляет собой гипотоническую жидкость, которая отличается повышенным содержанием калия, кальция и бикарбоната. В ней в небольшом количестве содержатся различные ферменты (до 30-ти), однако, преимущественно содержатся амилолитические ферменты. В слюне содержится большое количество амилазы, мальтазы, которое составляет около 10% всего белка слюны. Наличие большого количества амилолитических ферментов в слюне обуславливает пищеварение в полости рта углеводов. Поскольку пища находится в ротовой полости непродолжительное время, то амилаза действует также в желудке, где она сохраняет активность до момента денатурирования, обусловленного кислотами желудка.

В желудке важнейшим физиологическим процессом является пищеварение белков. Оно осуществляется в первую очередь за счет действия пепсина, а также гастриксина и химозина, имеющего большое значение в желудочном соке ребенка и молодых животных.

Желудочный сок, кроме того, содержит липазу, имеющую ограниченное значение для пищеварения жиров (катализирует гидролиз жиров молока).

В состав желудочного сока входят также такие важные для пищеварения составные части как соляная кислота, слизистые вещества и др.

Основные пищеварительные процессы протекают в тонком кишечнике. В двенадцатиперстной кишке пища смешивается с секретом поджелудочной железы, желчью и кишечным соком. Благодаря наличию в секретах поджелудочной железы и кишечных желез пептид-гидролаз (трипсина, химотрипсина, пептидаз), активной липазы, амилазы, декстриназы и др. ферментов, в тонком кишечнике завершается ферментный гидролиз белков до аминокислот, углеводов (полисахаридов) до моносахаридов, жиров до жирных кислот и глице-

рина, происходит их всасывание слизистой оболочкой тонкого кишечника в кровь или лимфу и последующий перенос с кровью в ткани и клетки организма, где они включаются во внутриклеточный метаболизм.

Питание является важной составной частью обмена веществ, призванное обеспечить организм необходимыми ему веществами и источниками энергии. Для взрослого человека при средней по утомляемости работе требуется суточный рацион в 3000 ккал (или 12570 кДж). При этом важное значение придается сбалансированности питания. Существует понятие о сбалансированном рациональном питании. Согласно этому понятию соотношение по массе белков, жиров и углеводов в рационе должно быть 1:1:4. 15% суточной калорийности должны составлять белки, причем, на белки животного происхождения должно приходиться не менее половины общего их количества; 30% суточной калорийности должно приходиться на жиры, причем 75-80% должны составлять животные жиры и 20-25% – растительные масла; 55% суточной калорийности должно приходиться на углеводы. В пищевой рацион обязательно должны включаться, как основные источники белков и липидов, мясо, рыба, молочные продукты, а как источники углеводов, витаминов, минеральных веществ в рацион должны входить овощи и фрукты.

За исключением процессов переваривания и всасывания в желудочно-кишечном тракте, а также образования минеральных веществ в костной ткани и образования межклеточных веществ и жидкостей, все остальные процессы промежуточного обмена совершаются внутри клеток и понятие внутриклеточного обмена почти совпадает с понятием промежуточного обмена.

Промежуточный обмен включает в себя сотни различных взаимосвязанных ферментативных реакций, так как продукты одной ферментативной реакции служат субстратом другой реакции, которая является следующим этапом метаболизма. Существование такой преемственности связано с тем, что в ферментативных реакциях происходит отщепление определенных функциональных групп от субстрата и перенос их на акцепторные молекулы, которые в свою очередь становятся субстратом для последующей реакции. В качестве таких функциональных групп в большинстве реакций промежуточного обмена выступают аминные, ацетильные, фосфатные, метильные, формильные, карбоксильные группы или же атомы водорода.

Ферментативные реакции, лежащие в основе обмена веществ и энергии, представляют собой кооперативный, четко организованный в пространстве и времени единый многоступенчатый процесс.

При этом последовательности реакций метаболического процесса сходны у всех живых форм, особенно в части центральных метаболических путей.

В настоящее время периодически составляют так называемые метаболические карты, схематично изображающие все известные в организме фермен-

тативные реакции в их взаимосвязи (к примеру – «Метаболические пути» Д. Никольсона или А.Г. Малыгина под ред. Л.М. Гинопдмана).

Для промежуточного обмена характерна ступенеобразность ферментативных процессов.

В процессе промежуточного обмена при катаболизме высокомолекулярных веществ проследживается три основные ступени или стадии. На первой стадии (стадия гидролиза) белки, нуклеиновые кислоты, липиды, углеводы расщепляются путем гидролиза на сравнительно низкомолекулярные составные части, служащие их «строительными блоками»: белки – на аминокислоты, липиды – на жирные кислоты, глицерин и др. компоненты, полисахариды – на моносахариды. Это происходит, главным образом, в желудочно-кишечном тракте, но может происходить (в случае катаболизма высокомолекулярных компонентов самого организма) и внутриклеточно.

На второй стадии продукты, образовавшиеся на первой стадии, путем, главным образом, анаэробного окисления (стадия анаэробного окисления) превращаются в более простые молекулы, число которых невелико. Так, жирные кислоты, глицерин, моносахариды расщепляются до ацетил-КоА, а аминокислоты – до ацетил-КоА,  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты, янтарной кислоты, фумаровой кислоты, щавелево-янтарной кислоты, т.е. образуют субстраты третьей стадии катаболизма.

Следует иметь в виду, что если жирные кислоты с четным числом С-атомов путем  $\beta$ -окисления непосредственно превращаются в ацетил-КоА, то моносахара, распадающиеся на второй стадии катаболизма путем гликолиза или пентозофосфатного цикла, глицерин, некоторые аминокислоты, жирные кислоты с нечетным числом углеродных атомов непосредственно не дают указанных субстратов лимоннокислого цикла. Моносахара, некоторые аминокислоты и глицерин расщепляется вначале до пировиноградной кислоты, которая затем путем окислительного декарбоксилирования превращается в ацетил-КоА. Другие аминокислоты и жирные кислоты с нечетным числом углеродных атомов дают пропионил-КоА, который затем превращается в сукцинил-КоА.

Продукты, образовавшиеся на второй стадии, вступают в третью стадию, стадию аэробного окисления, которая для всех них является общей и в которой они аэробно окисляются до двуокиси углерода и воды. Этой общей третьей стадией является так называемый лимоннокислый цикл, сопряженный с дыхательной цепью ферментов.

Процесс анаболизма, происходящий в клетках одновременно с катаболизмом, также включает три стадии. Исходные вещества для синтетических процессов составляет третья стадия катаболизма. Таким образом, лимоннокислый цикл, сопряженный с тканевым дыханием, одновременно является третьей стадией катаболизма и первой, исходной стадией анаболизма. Этот цикл поставляет  $\alpha$ -кетокислоты (для синтеза аминокислот), ацетил-КоА и дву-

окись углерода (для синтеза жирных кислот и сахаров). На второй стадии анаболизма из этих исходных продуктов образуются аминокислоты, моносахара, жирные кислоты и др. «строительные блоки», из которых на третьей стадии анаболизма синтезируются белки, липиды, углеводы и др.

Хотя анаболизм и катаболизм проходят в клетках одновременно и ферментам свойственна обратимость катализируемых реакций, полного совпадения катаболических и анаболических путей между данным предшественником и соответствующим ему продуктом не происходит в силу:

- 1) значительного различия ферментативных этапов этих путей;
- 2) различной локализации в клетке ферментативных систем катаболизма и анаболизма;
- 3) наконец, различия в механизмах их регуляции.

Катаболические и анаболические пути метаболизма связывает, как уже указывалось выше, общая стадия, представленная лимоннокислым циклом, сопряженным с тканевым дыханием, которая обозначается как центральные или амфиболические пути метаболизма. Амфиболические пути, с одной стороны, используются для катаболизма с целью завершения разрушения молекул, образовавшихся на второй стадии катаболизма, и одновременно эти пути поставляют молекулы – предшественники для второй стадии анаболизма.

Одновременно с превращением веществ в ферментативных реакциях промежуточного обмена происходит выделение и потребление энергии, т.е. имеет место обмен энергии.

Освобождение химической энергии при катаболизме происходит в разной степени на трех его стадиях.

При гидролитическом распаде высокомолекулярных веществ освобождается незначительное количество энергии (менее 1% энергии окисления этих веществ). Значительное количество энергии освобождается в реакциях гликолиза, окисления молочной кислоты, глицерина, жирных кислот, аминокислот, т.е. на стадии расщепления «строительных блоков» белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов, липидов. В конечном счете, в этих реакциях образуются субстраты лимоннокислого цикла, из которых три имеют основное энергетическое значение: ацетилкоэнзим А,  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота и щавелевоуксусная кислота. Эти вещества подвергаются дальнейшему окислению в цикле лимонной кислоты, функционирующей сопряжено с деятельностью аэробного звена дыхательной цепи. В результате на этом этапе высвобождаются 2/3 всей энергии расщепления веществ.

Высвободившаяся энергия частично превращается в тепло, а около 40% ее аккумулируется путем синтеза макроэргических веществ – главным образом, в форме энергии фосфатных связей аденозинтрифосфата (АТФ), а также гуано-

зинтрифосфата (ГТФ), уридинтрифосфата (УТФ), цитидинтрифосфата (ЦТФ) и др.

АТФ синтезируется ферментативным путем из аденозиндифосфата (АДФ) и неорганического фосфата (Ф). Ферментативные реакции, в которых совершается перенос фосфатных групп на АДФ с образованием АТФ сопряжены с определенными этапами высвобождения энергии в окислительных реакциях в процессе катаболизма (т.н. окислительное фосфорилирование).

Молекулы АТФ могут далее перемещаться в те участки клетки, которым необходима энергия. Иначе говоря, в живых системах энергия, необходимая для осуществления химической реакции, будучи высвобождена в одной точке, может быть передана в виде макроэргического соединения в другую точку, где она непосредственно используется.

При переносе концевой фосфатной группы<sup>5</sup> с АТФ на определенные акцепторные молекулы происходит высвобождение химической энергии АТФ, при этом АТФ превращается в АДФ, а акцепторная молекула, получившая энергию в форме энергии фосфатной связи, имеет возможность совершать работу.

АТФ, используемый в биосинтетических реакциях, может отдавать не только ортофосфорную, но и пирогосфорную группу, в результате чего образуется аденозинмонофосфорная кислота (АМФ) и высвобождается большое количество энергии.

Таким путем энергия, высвободившаяся в процессе катаболизма в окислительных реакциях и аккумулированная в макроэргических связях, может быть использована в различных синтетических реакциях в процессе анаболизма.

Помимо передачи энергии в форме энергии фосфатных связей, существует передача энергии в форме переноса электронов, богатых энергией. Электроны, отнимаемые при катаболизме в реакциях окисления, передаются восстанавливаемым группам в реакциях анаболизма с помощью коферментов, играющих роль переносчиков электронов. Наиболее важным переносчиком богатых энергией электронов в этих реакциях являются никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ), участвующий, к примеру, в переносе энергии, высвобождающейся при окислении углеводов в апотомическом цикле, для реакций синтеза жирных кислот.

---

<sup>5</sup> Переносится не фосфатная группа –  $\text{—O—P} \begin{smallmatrix} \text{OH} \\ \diagup \\ \text{O} \\ \diagdown \\ \text{OH} \end{smallmatrix}$ , а фосфорильная,  $\text{—P} \begin{smallmatrix} \text{OH} \\ \diagup \\ \text{O} \\ \diagdown \\ \text{OH} \end{smallmatrix}$ , хотя выражение «перенос фосфатных групп» общепринято.

## 6. Биологическое окисление

### 6.1. Общая характеристика

Под биологическим окислением понимают совокупность множества разнообразных окислительно-восстановительных реакций, совершающихся в биологических объектах под влиянием ферментов.

Процессы биологического окисления являются основным источником энергии в организме.

Современное представление о биологическом окислении основывается на классических теориях так называемой «активации» водорода В.И. Палладина и Виланда и «активации» кислорода А.Н. Баха и Варбурга.

Об окисляющем веществе говорят, имея в виду потерю им электронов ( $e^-$ ) или одновременную потерю электронов и протонов (т.е. потерю водородных атомов) или, наконец, присоединение кислорода. Противоположное превращение вещества обозначается как его восстановление. Иногда для обозначения группы, принимающей участие в окислительно-восстановительном процессе. (т.е. электронов, протонов, кислорода) используют обобщенный, «нейтральный» термин: восстановительный эквивалент.

При решении вопроса, какое соединение из участников реакции является окислителем, а какое восстановителем, необходимо знать способность восстановителя отдавать электроны окислителю, что выражается величиной окислительно-восстановительного потенциала (стандартного восстановительного потенциала, редокс-потенциала). Редокс-потенциал определяется путём измерения электродвижущей силы (э.д.с.) в вольтах, возникающий в полуэлементе, в котором восстановитель и окислитель, присутствующие в 1,0 М концентрациях при 25°C и при рН 7,0, находятся в равновесии с электродом, способным обратимо принимать электроны от восстановителя.

В качестве стандарта принят редокс-потенциал реакции  $H_2 \rightarrow 2H^+ + 2e^-$ , который при давлении газообразного водорода в 1 атмосферу (760 мм рт. ст.), при 1,0 М концентрации ионов  $H^+$  (что соответствует рН=0) и при 25°C условно принят за нуль. В условиях физиологического значения рН, т.е. при рН=7,0 редокс-потенциал водородного электрода (системы  $H_2 - 2H^+$ ) равен -0,42 вольта. Значения редокс-потенциала некоторых биологических окислительно-восстановительных систем приведены в табл. 2.

**Таблица 2 – Редокс-потенциал ( $E_o^1$ ) некоторых биологических окислительно-восстановительных систем**

Восстановитель	Окислитель	$E_o^1$
$H_2$	$2H^+$	-0,42
Изоцитрат	2-кетоглутарат + $CO_2$	-0,38
НАДФН <sub>2</sub>	НАДФ <sup>+</sup>	-0,324
НАД <sub>2</sub> .Н <sub>2</sub>	НАД <sup>+</sup>	-0,320
$\beta$ -оксимасляная кислота	Ацетоуксусная кислота	-0,282
Лактат	Пируват	-0,175
Малат	Оксалоацетат	-0,160
Этанол	Ацетальдегид	-0,090
Флавопротеид восстановленный	Флавопротеид окисленный	-0,060
Цитохром восстановленный	Цитохром окисленный	-0,040
Сукцинат	Фумарат	-0,000
Цитохром С восстановленный	Цитохром С окисленный	+0,260
$H_2O$	$\frac{1}{2} O_2$	+0,810

Системы с более отрицательным редокс-потенциалом, чем в системе  $H_2 \rightarrow 2H^+ + 2e^-$  обладают большей, чем водород, способностью отдавать электроны, а у систем с более положительным редокс-потенциалом эта способность менее выражена, чем у водорода. Наибольший положительный редокс-потенциал имеется в системе  $H_2O - \frac{1}{2}O_2$ . Именно этим обстоятельством следует объяснить, что  $H_2O$  обладает очень слабой способностью отдавать электроны, тогда как молекулярный кислород характеризуется очень высоким сродством к электронам, превышающим такую у важнейших биологических акцепторов-переносчиков электронов НАД, НАДФ, ФМН, ФАД, цитохромы, участвующих в окислительно-восстановительных процессах в организме.

Величина редокс-потенциалов биологических окислительно-восстановительных систем обуславливает направление переноса электронов от системы  $H_2 - 2H^+$  к системе  $H_2O - \frac{1}{2}O_2$ . Знание редокс-потенциалов различных биологических окислительно-восстановительных систем позволяет предсказывать направление потока электронов от одной системы к другой системе при ферментативном превращении веществ в процессе биологического окисления.

Установлено, что большинство биологических окислений в организме, приводящих к образованию конечных продуктов, осуществляется путем дегидрирования субстратов при участии специфических ферментов-дегидрогеназ. Отщепившийся водород присоединяется к тому или иному акцептору, что приводит к его восстановлению. Если роль акцептора выполняет не кислород, а какое-нибудь другое вещество, то говорят об анаэробном окислении. В

случае же, если акцептором водорода служит кислород, что приводит к образованию воды, биологическое окисление именуют аэробным окислением или тканевым дыханием. При тканевом дыхании происходит потребление кислорода с образованием конечных продуктов:  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{CO}_2$ . Для обозначения величины тканевого дыхания пользуются показателями  $\text{QO}_2$  и  $\text{QCO}_2$  определяемых с помощью манометрического метода на аппарате Варбурга.  $\text{QO}_2$  обозначает количество микролитров кислорода, потребленного за 1 час при расчете на 1 мг сухого веса ткани, а  $\text{QCO}_2$  – количество микролитров углекислоты, выделившейся в тех же условиях.

Конечными продуктами тканевого дыхания в случае окисления жиров и углеводов являются двуокись углерода и вода, а белков –  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  и мочеви́на.

Следует сказать, что белки (протеины и протеиды), нуклеиновые кислоты, полисахариды, липиды не являются непосредственными субстратами биологического окисления. Субстраты биологического окисления образуются в процессе метаболизма в различной степени на разных его стадиях. Первичными субстратами биологического окисления являются аминокислоты, моносахариды, жирные кислоты, спирты, азотистые основания и др. продукты, образовавшиеся в результате ферментативного гидролиза высокомолекулярных соединений – белков, полисахаридов, липидов, нуклеиновых кислот; иначе говоря, первичные субстраты окисления образуются на первой стадии катаболизма.

На последующих стадиях катаболизма в процессе расщепления веществ до конечных продуктов реакции окисления, катализируемые оксидоредуктазами, перемежаются с другими видами ферментативного преобразования веществ.

Окисление, сопряженное с производством в организме энергии, почти во всех без исключения клетках проходит три стадии.

*На первой стадии* имеет место окислительное образование ацетил-коэнзима А из первичных субстратов биологического окисления – глюкозы, жирных кислот, аминокислот и др.

*На второй стадии* происходит расщепление ацетил-коэнзима А в лимоннокислом цикле. При этом в результате дегидрирования субстратов высвобождаются атомы водорода, восстанавливающие пиридинзависимые и флави́нзависимые дегидрогеназы с образованием НАД. $\text{H}_2$ , НАДФ. $\text{H}_2$ , ФАД. $\text{H}_2$ .

Кроме того, анаэробно путем декарбоксилирования субстратов образуется  $\text{CO}_2$ .

*Третья стадия* включает окисление НАД. $\text{H}_2$ , НАДФ. $\text{H}_2$  и ФАД. $\text{H}_2$ , т.е. перенос протонов и электронов на кислород с образованием воды и энергии в дыхательной цепи, состоящей из системы окислительно-восстановительных ферментов.



Следовательно, процесс биологического окисления можно представить как процесс дегидрирования с последующей передачей протонов и электронов через ряд промежуточных передатчиков на кислород с образованием воды.

На первой стадии биологического окисления образование ацетил-коэнзима А происходит различными путями в зависимости от вида первичных субстратов. Например, глюкоза путем гликолиза распадается до пировиноградной кислоты, а последняя – до ацетил-коэнзима А путем последующего окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты; жирные кислоты превращаются в ацетил-коэнзим А путем  $\beta$ -окисления и т.д. Эти специфичные пути соответствуют II стадии катаболизма и рассматриваются в соответствующих разделах обмена веществ (обмена углеводов, обмена жиров и др.).

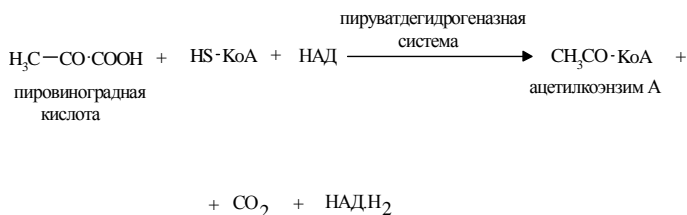
Вторая стадия окисления, связанная с превращением ацетил-коэнзима-А в лимоннокислом цикле, в результате которого образуется НАД.Н<sub>2</sub>, НАДФ.Н<sub>2</sub> и ФАД.Н<sub>2</sub>, и третья стадия окисления, включающая окисление образовавшихся в лимоннокислом цикле восстановленных пиридинпротеидов и флавопротеидов (т.е. НАД.Н<sub>2</sub>, НАДФ.Н<sub>2</sub>, ФАД.Н<sub>2</sub>) в дыхательной цепи являются унифицированным общим участком биологического окисления, независимо от того, каким путем и от какого первичного субстрата образовался ацетил-коэнзим-А. Эти стадии биологического окисления соответствуют III стадии катаболизма. Это так называемые центральные пути метаболизма (амфиболические пути).

### **6.2. Лимоннокислый цикл и окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты**

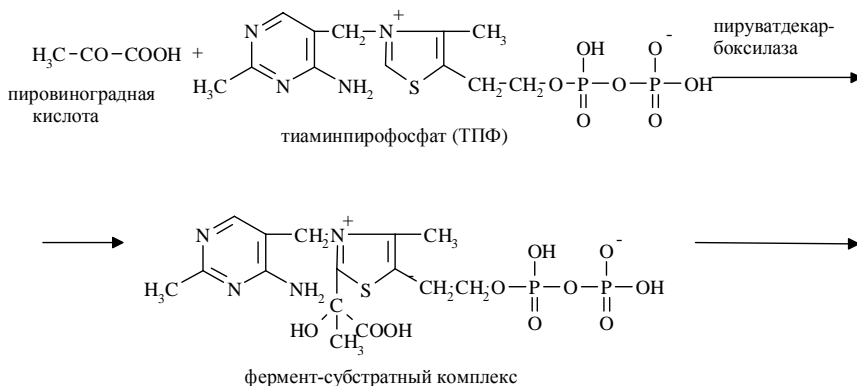
Детальное рассмотрение центральных путей метаболизма целесообразно начать с разбора предварительной реакции, поставляющей в лимоннокислый цикл ацетилкоэнзим-А – реакции образования ацетил-коэнзима А из пировиноградной кислоты. Эта важная подготовительная реакция лимоннокислого цикла непосредственно не входит в число реакций лимоннокислого цикла, но их совместное рассмотрение облегчает понимание важнейших аэробных превращений веществ в организме. При этом следует помнить, что в пировиноградную кислоту на второй стадии катаболизма (или первой стадии биологического окисления) превращаются многие вещества (моносахара, глицерин, 5 аминокислот) и таким образом, этап превращения пировиноградной кислоты в ацетил-КоА выступает как общий этап катаболизма для этих веществ.

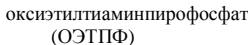
Реакция образования ацетилкоэнзима-А из пировиноградной кислоты катализируется специальным ферментом – дегидрогеназой пировиноградной кислоты (пируватдегидрогеназной системой, локализованной внутри митохондрий). Это – мультиэнзимная система с  $M=4$  млн. 500 тыс. состоящая из белковых субъединиц, образующих три апофермента (пируватдекарбоксилазу, ли-

пируватдегидрогеназу и дигидролипоилдегидрогеназу), соединенных с различными коферментами – тиаминпирофосфатом, коэнзимом А, липоевой кислотой, ФАД и НАД. При этом коэнзим-А и НАД – внешние коферменты. Дегидрогеназа пировиноградной кислоты осуществляет как декарбоксилирование (с помощью пируватдекарбоксилазы), так и дегидрирование (с помощью липоилредуктазы – ацетилтрансферазы) пировиноградной кислоты. Этот процесс получил название окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты. Суммарно весь процесс можно изобразить в виде:

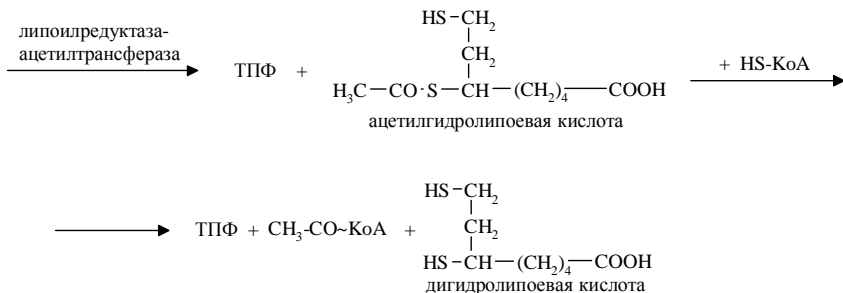


Механизм окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты сложен и состоит из нескольких фаз (пяти фаз или этапов). Первая фаза указанного комплексного процесса состоит в декарбоксилировании пировиноградной кислоты при участии тиаминпирофосфата в качестве кофермента пируватдекарбоксилазы:

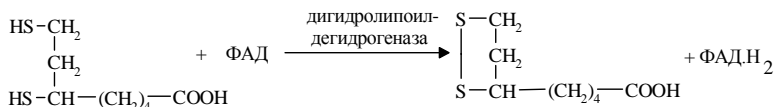



$$\begin{array}{c}
 \text{H}_3\text{C}-\text{N}=\text{C}_6\text{H}_3-\text{NH}_2 \\
 | \\
 \text{CH}_2-\text{N}^+-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})_2 \\
 | \\
 \text{HO}-\text{C}-\text{CH}_3 \\
 | \\
 \text{H}
 \end{array} + 
 \begin{array}{c}
 \text{S}-\text{CH}_2 \\
 | \\
 \text{CH}_2 \\
 | \\
 \text{S}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_4-\text{COOH}
 \end{array} \longrightarrow$$

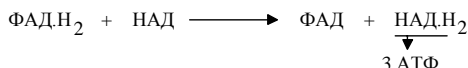
оксипропилтиаминапирофосфат (ОПТ)      липовая кислота



Возникший при распаде оксидэтилтиаминпирофосфата ацетильный радикал присоединяется сначала к липоевой кислоте с образованием ацетилгидролипоевой кислоты (вторая фаза), а затем передается на коэнзим-А с образованием ацетилкоэнзима-А и дигидролипоевой кислоты (третья фаза). Далее при посредстве третьего компонента мультиэнзимного комплекса дигидролипоилдегидрогеназы, содержащего в качестве простетической группы ФАД, дигидролипоевая кислота переходит в липоевую кислоту, а ФАД восстанавливается (четвертая фаза).



Восстановленный ФАД дигидролипоилдегидрогеназы обладает исключительной способностью передавать атомы водорода окисленной форме НАД (пятая фаза):



Поэтому в приведенном выше суммарном уравнении окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты в качестве акцептора атомов водорода выступает НАД.

Таким образом, в итоге окисления пировиноградной кислоты в ацетилкоэнзим-А осуществляется одно декарбоксилирование и одно дегидрирование субстратов с приростом свободной энергии (~8,0 ккал, ~33,5 кДж). Поскольку окисление пировиноградной кислоты в ацетилкоэнзим-А – сильно экзергоническая реакция, в клетке она практически необратима.

Восстановленный пиридинпротеид (НАДН<sub>2</sub>) подвергается последующему окислению в дыхательной цепи.

Ацетилкоэнзим-А, несущий макроэргическую связь, энергично обменивается далее в лимоннокислом цикле.

Установлено, что пируватдегидрогеназная система может ингибироваться АТФ. Когда содержание АТФ в клетке начинает превышать определенный уровень, пируватдегидрогеназная система, поставляющая «топливо» для лимоннокислого цикла, выключается путем фосфорилирования с помощью протеинкиназы. Активация пируватдегидрогеназы стимулируется инсулином.

Лимоннокислый цикл (его также называют циклом трикарбоновых кислот, циклом ди- и трикарбоновых кислот, циклом Сент-Дьерди-Кребса, циклом Кребса, метаболическим котлом Кребса) занимает особое место в обмене веществ, так как является общим конечным путем окислительного катаболизма всех видов веществ в аэробных условиях.

Главная функция цикла заключается в дегидрировании уксусной кислоты (поступающей в цикл в виде ацетилкоэнзима А), которое в конечном итоге приводит к образованию четырех пар атомов водорода и образованию двух молекул СО<sub>2</sub>, что можно выразить следующей суммарной реакцией:

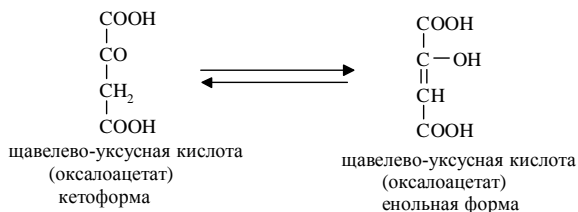


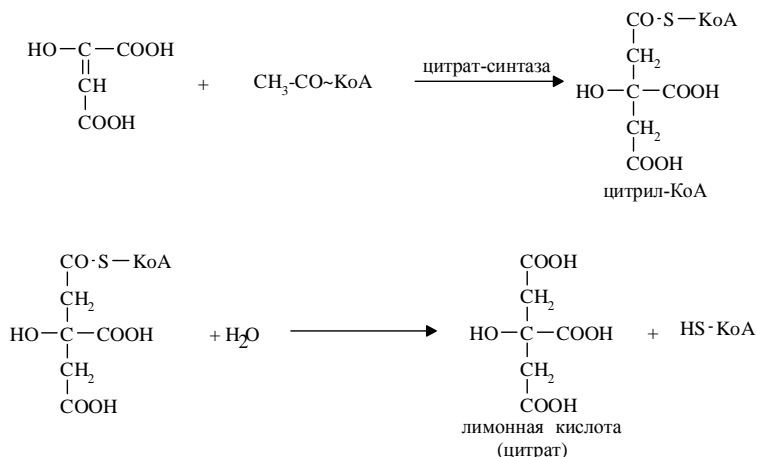
Этот процесс включает ряд последовательных ферментативных реакций, замкнутых в цикл.

Лимоннокислый цикл протекает в митохондриях клеток. Вступая в лимоннокислый цикл, образовавшийся в результате окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты или иным путем ( $\beta$ -окисление жирных кислот) ацетилкоэнзим-А конденсируется со щавелево-уксусной кислотой, которая всегда есть в клеточном содержимом. Образуется лимонная кислота и высвобождается коэнзим-А. Это есть начальная реакция лимоннокислого цикла, протекающая при участии так называемого – конденсирующего фермента (цитратсинтазы). Цитратсинтаза содержится в значительном количестве в тканях, обладающих высокой интенсивностью окислительных превращений. Цитратсинтаза относится к регуляторным ферментам; она ингибируется АТФ (конечным продуктом, в форме которого запасается энергия, высвобождающаяся в процессе дыхания) и НАД $\cdot$ H $_2$  (конечным продуктом реакций лимоннокислого цикла, связанных с дегидрированием).

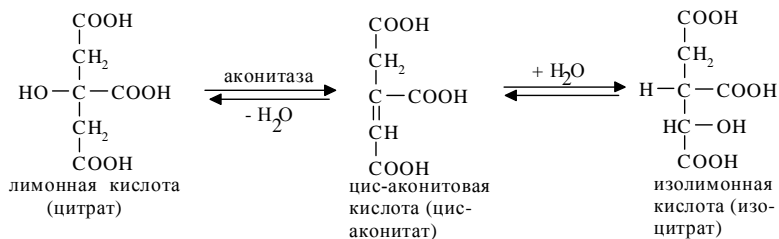
Вследствие большого изменения свободной энергии ( $\sim 7720$  кал; 32,3 кДж) реакция конденсации является практически необратимой.

Освободившаяся энергия выделяется в виде тепла, образования АТФ не происходит. Предполагается, что реакция конденсации идет в несколько стадий:



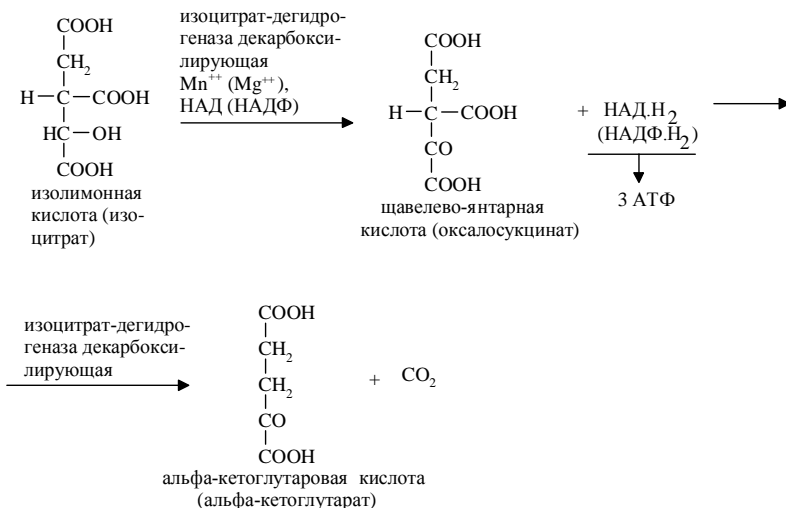


Под действием фермента аконитазы (иначе его называют аконитатгидратазы) в реакции изомеризации лимонная кислота превращается в изолимонную, причем в качестве промежуточного продукта образуется цисаконитовая кислота. Аконитаза по своему механизму действия является одновременно и гидратазой и изомеразой:

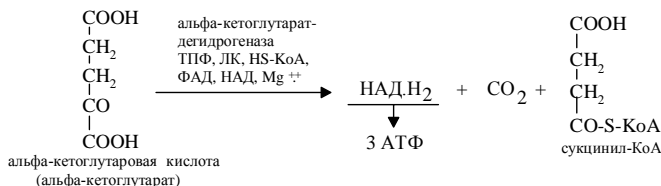


В следующей реакции под действием фермента изоцитратдегидрогеназы изолимонная кислота дегидрируется в щавелево-янтарную кислоту. Имеются НАДФ- и НАД-зависимые изоцитратдегидрогеназы. НАД·Н<sub>2</sub> или НАДФ·Н<sub>2</sub> подвергаются последующему окислению в дыхательной цепи с приростом свободной энергии и аккумулялированием ее в АТФ. Этот ферментный белок катализирует также реакцию декарбоксилирования щавелево-янтарной кислоты в α-кетоглутаровую кислоту, т.е., этот фермент обладает двойным действием. Поэтому его также называют изоцитратдегидрогеназа декарбоксилирующая. Для обеих реакций необходимы ионы Mg<sup>++</sup> или Mn<sup>++</sup>. Изоцитратдегидрогеназа – аллостерический фермент, обычно лимитирующий скорость всего лимоннокислого цикла в целом. Фермент активируется АДФ и ингибируется

АТФ, а также НАД.Н<sub>2</sub>, при накоплении их в клетке выше определенного уровня.



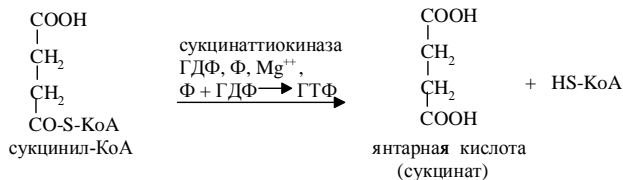
Следующая реакция – превращение α-кетоглутаровой кислоты в янтарную – происходит с помощью фермента α-кетоглутаратдегидрогеназы. Это реакция окислительного декарбоксилирования. Она протекает принципиально по тому же механизму, что и декарбоксилирование пировиноградной кислоты. При участии коэнзимов окислительного декарбоксилирования (тиаминпирозофосфата, HS-КоА, липоевой кислоты, НАД, ФАД) возникает активный сукцинат, т.е. сукцинил-КоА. Для реакции необходимы ионы Mg<sup>++</sup>.



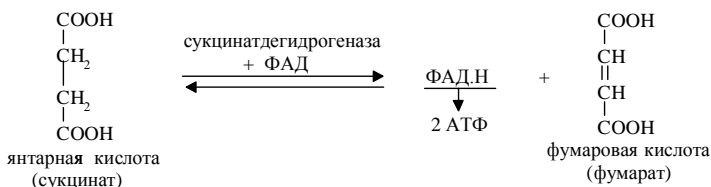
НАД.Н<sub>2</sub> подвергается последующему окислению в дыхательной цепи с выделением энергии, аккумулируемой в процессе окислительного фосфорилирования в 3 молекулах АТФ.

Сукцинил-КоА затем расщепляется на янтарную кислоту и коэнзим А. Реакция катализируется ферментом сукцинаттиокиназой.

Энергия расщепления сукцинилкоэнзима-А накапливается в гуанозин-трифосфате.



Вслед за этим в сопряженной реакции перефосфорилирования АДФ фосфорилируется в АТФ, так что освобождающаяся в реакции ГДФ может вновь фосфорилироваться. Таким образом энергия, выделяющаяся при окислении α-кетоглутарата, частично накапливается сначала в сукцинил-КоА и затем переносится через ГТФ на АТФ. Эта реакция является примером субстратного фосфорилирования. В α-кетоглутаратдегидрогеназной системе, следовательно, происходит образование 1-ой молекулы АТФ путем субстратного фосфорилирования и 3-х молекул АТФ путем окислительного фосфорилирования. Образовавшаяся янтарная кислота превращается в фумаровую кислоту:

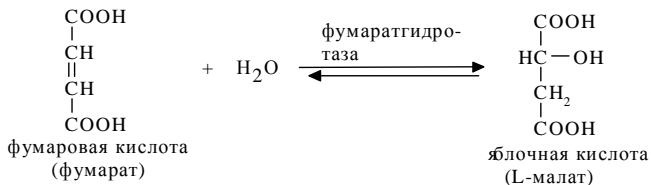


Реакция катализируется ферментом сукцинатдегидрогеназой. Этот фермент очень активен во всех клетках, обладающих способностью поглощать кислород. Он прочно фиксирован в структуре митохондрий. Сукцинатдегидрогеназа в качестве простетической группы содержит производное флавина (ФАД) и кроме того – 4 атома негеминового железа (M=200 тыс.). Восстановленный ФАД в последующем окисляется в дыхательной цепи с выделением энергии, аккумулируемой в процессе окислительного фосфорилирования в 2-х молекулах АТФ. Сукцинатдегидрогеназа обладает свойствами аллостерического фермента, она активируется фосфатом, сукцинатом и фумаратом и конкурентно

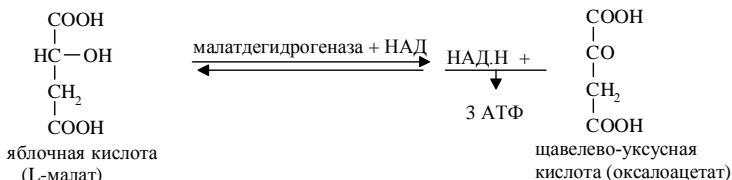


ингибируется оксалоацетатом – последней дикарбоновой кислотой лимоннокислого цикла, накопление которой выше определенного уровня тормозит сукцинатдегидрогеназную реакцию.

Фумаровая кислота, образовавшаяся в результате окисления янтарной кислоты, с помощью фермента фумаратгидратазы (фумаразы) превращается далее в яблочную кислоту. Этот фермент очень специфичен, действует стереоспецифически, образуя только L-яблочную кислоту. Реакция легко обратима.



С помощью фермента малатдегидрогеназы яблочная кислота далее окисляется в щавелево-уксусную кислоту.



Хотя реакция носит эндергический характер, тем не менее в клетке она идет в прямом направлении, так как её продукты (оксалоацетат и восстановленный НАД) быстро удаляются. Оксалоацетат вступает в реакцию с новой молекулой ацетилкоэнзима-А, включающегося в лимоннокислый цикл, а НАД.Н<sub>2</sub> окисляется в дыхательной цепи с аккумуляцией выделившейся энергии в 3-х молекулах АТФ.

Следовательно, с образованием вновь молекулы оксалоацетата цикл замыкается и по существу идет окисление ацетильных остатков, постоянно вносимых в лимоннокислый цикл в виде ацетилкоэнзима-А.

Лимоннокислый цикл – это каталитический механизм, при помощи которого осуществляется полное окисление не только ацетил-Ко-А и всех соединений, способных его образовать, но так же любого компонента цикла или любого соединения, способного превратиться в один из компонентов цикла. К примеру, существуют ферментативные реакции, обеспечивающие превращение некоторых аминокислот в субстраты лимоннокислого цикла: α-кетоглутарат, сукцинат, оксалоацетат и фумарат. Жирные кислоты с нечетным числом углеродных атомов превращаются через пропионил-КоА в сукцинил-КоА.

С другой стороны, лимоннокислый цикл поставляет исходные продукты для синтеза важных промежуточных продуктов метаболизма.

Все реакции лимоннокислого цикла более или менее обратимы. Однако, основное направление лимоннокислого цикла – его протекание в сторону образования щавелево-уксусной кислоты из лимонной через стадии цисаконитовой, изолимонной, щавелево-янтарной,  $\alpha$ -кетоглутаровой, сукцинил-КоА, янтарной, фумаровой и яблочной кислот.

Благодаря наличию лимоннокислого цикла и сопряженной с ним дыхательной цепи происходит полное окисление уксусной кислоты (ацетилкоэнзима-А) до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  с образованием 205 ккал (858,8 кДж) свободной энергии.

В лимоннокислом цикле декарбоксилирование происходит на двух стадиях превращений: щавелево-янтарная кислота –  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота и  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота – сукцинил-КоА.

Необходимое количество молекул воды включается в двух реакциях гидратации (фумаровая кислота – яблочная кислота и цитрил-КоА – цитрат).

Прирост свободной энергии происходит в основном в четырех реакциях дегидрирования, которые поставляют основную часть энергии, благодаря последующему окислению водорода в дыхательной цепи. Это следующие реакции:

- 1) изолимонная – щавелево-янтарная кислоты;
- 2)  $\alpha$ -кетоглутаровая – янтарная кислоты;
- 3) янтарная – фумаровая кислоты;
- 4) яблочная – щавелево-уксусная кислоты.

При окислении в лимоннокислом цикле в реакциях, сопряженных с дыхательной цепью ферментов одной молекулы уксусной кислоты в виде ацетил-КоА образуется 12 молекул АТФ. Образование их происходит в уже указанных реакциях дегидрирования с последующим окислением атомов водорода в дыхательной цепи:

- 1) изолимонная кислота – щавелево-янтарная кислота – 3 мол. АТФ;
- 2)  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота – янтарная кислота – 4 мол. АТФ;
- 3) янтарная кислота – фумаровая кислота – 2 мол. АТФ;
- 4) яблочная кислота – щавелево-уксусная кислота – 3 мол. АТФ.

При окислении  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты происходит образование 1 молекулы АТФ путем субстратного фосфорилирования и 3 молекул АТФ путем окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи. При окислении янтарной кислоты выпадает одно фосфорилирование, так как водород субстрата переносится непосредственно на убихинон (Ко-Q, дыхательной цепи), поэтому при этой реакции образуется 2 молекулы АТФ.

Итак, четыре пары атомов водорода, снятые с субстратов в лимоннокислом цикле, передаются с НАД. $\text{H}_2$  или ФАД. $\text{H}_2$ , на дыхательную цепь, локали-

зованную, как и лимоннокислый цикл, в митохондриях. В конечном счете все четыре пары атомов водорода превращаются в ионы  $H^+$  и соответствующее число электронов (т.е. протоны и электроны) и переносятся по дыхательной цепи на кислород. Следовательно, лимоннокислый цикл, во-первых, функционирует только в аэробных условиях и сопряжен с дыхательной цепью ферментов, а во-вторых, служит главным донором (генератором) водорода для дыхательной цепи. Надо заметить, что кроме лимоннокислого цикла – основного поставщика водорода для дыхательной цепи, в организме функционируют вспомогательные дегидрогеназные реакции, которые выполняют функцию доноров атомов водорода для дыхательной цепи. Это отдельные реакции окисления жирных кислот, гликолиза, пирувата, глутамата, глицерофосфата. Однако эти реакции не могут существовать самостоятельно, так как сопровождаются образованием ряда продуктов обмена, для утилизации которых необходим лимоннокислый цикл.

### 6.3. Дыхательная цепь ферментов

Транспорт протонов и электронов от восстановленных субстратов к кислороду в процессе тканевого дыхания осуществляется с помощью ряда окислительно-восстановительных ферментных систем (редокс-систем). Различают три главных вида оксидоредуктаз – окислительно-восстановительных ферментов:

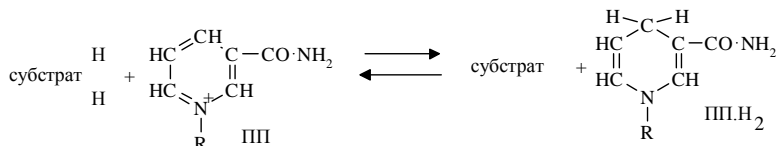
- 1) пиридинзависимые дегидрогеназы (пиридинферменты, пиридинпротеиды или ПП), коферментом которых служат НАД или НАДФ;
- 2) флавинзависимые дегидрогеназы (флавопротеиды или ФП), у которых протетической группой служат ФМН или ФАД;
- 3) цитохромы, содержащие в качестве протетической группы гем.

Последовательность окислительно-восстановительных систем в окислительной цепи определяется величиной их редокс-потенциала, образуя своеобразный ряд биологического окисления. В последовательности окислительно-восстановительных систем пара  $НАД.H_2 - НАД^+$ ,  $(НАДФ.H_2 - НАДФ^+)$  имеет наибольший отрицательный потенциал, меньший отрицательный потенциал имеет пара  $ФАД.H_2 - ФАД^+$  ( $ФМН.H_2 - ФМН^+$ ), в системе цитохром восстановленный – цитохром окисленный появляется уже положительный редокс-потенциал, а пара  $H_2O - 1/2O_2$  имеет наибольший положительный потенциал. В этой связи система  $H_2O - 1/2O_2$  может окислять все компоненты в дыхательной цепи, стоящие перед ней.

Пиридинпротеиды способны отнимать от субстрата (первичных и вторичных спиртов, альдегидов, аминокислот, аминов, насыщенных и ненасыщенных соединений, таких как дикарбоновые кислоты и кетокислоты и др.) атомы водорода, окисляя тем самым указанные соединения. Известно более 150 таких

пиридинзависимых дегидрогеназ. Часть пиридинзависимых дегидрогеназ локализована в цитозоле, часть – в митохондриях, а некоторые присутствуют и здесь и там. Известны пиридинзависимые дегидрогеназы, участвующие в углеводном обмене – гликолизе (фосфоглицеринальдегиддегидрогеназа, лактатдегидрогеназа), в жировом обмене ( $\alpha,\beta$ -гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа), в обмене аминокислот (глутаматдегидрогеназа). Три пиридинзависимые дегидрогеназы участвуют в митохондриях в лимоннокислом цикле (изоцитратдегидрогеназа,  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа и малатдегидрогеназа).

Функция переносчиков водорода выполняется динуклеотидами (НАД) благодаря тому, что они могут существовать в окисленной и восстановленной формах. В окисленной форме атом азота пиридинового кольца амида никотиновой кислоты НАД является четвертичным. При восстановлении в пиридиновом кольце происходит перераспределение электронов, атом азота становится третичным (присоединение электрона), с нормальной электронной конфигурацией, один водород присоединяется – п-положении, а другой водород поступает в среду в виде свободного иона  $H^+$  (т.е. присоединяются два электрона и один протон, а один протон поступает в среду).



Кроме НАД пиридинпротеиды могут содержать в качестве кофермента никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ). Этот кофермент является производным НАД, у которого водород гидроксильной группы второго углеродного атома рибозы замещен на остаток фосфорной кислоты.

НАДФ, соединяясь со специфическими белками, образует большую группу пиридинпротеидов, характеризующуюся своим набором субстратов. Механизм окисления при участии НАДФ в качестве кофермента аналогичен такому при посредстве НАД. Более того, НАД. $H_2$  и НАДФ, равно как НАД и НАДФ. $H_2$ , при каталитическом участии специального фермента – трансдегидрогеназы – способны обмениваться атомами водорода и электронами.

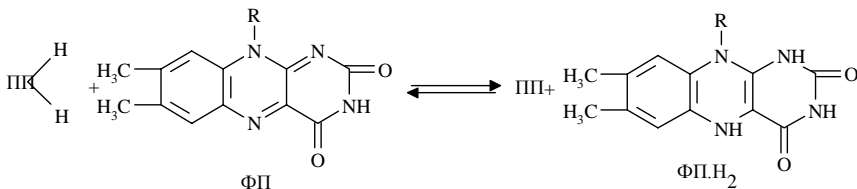
Дегидрогеназы, связанные с НАД, принимают участие главным образом, в процессе тканевого дыхания, т.е. в процессе переноса электронов от субстратов к кислороду, тогда как дегидрогеназы, связанные с НАДФ, участвуют преимущественно в переносе богатых энергией электронов, полученных от субстратов в процессе катаболизма, к восстановительным реакциям биосинтеза.

Все пиридинпротеиды являются анаэробными дегидрогеназами, т.е. они передают атомы водорода на ближайший в окислительной цепи другой фермент, но не на кислород.

Партнером восстановленных форм пиридинпротеидов в окислительной цепи, как правило, служат флавопротеиды. Флавопротеиды (сокращенно ФП) являются оксидоредуктазами с простетической группой изоаллоксазиновой природы в виде флавинадениндинуклеотида (ФАД) и флавиномононуклеотида (ФМН).

ФМН и ФАД, соединяясь с различными апоферментами, дают начало приблизительно десяти флавопротеидам, отличающихся различной специфичностью по отношению к субстратам. Наиболее важную роль среди флавинзависимых дегидрогеназ играют дегидрогеназа лимоннокислого цикла – сукцинатдегидрогеназа, дигидролипоилдегидрогеназа пируватдегидрогеназной и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназной ферментных систем, флавопротеиды, катализирующие первую стадию процесса окисления жирных кислот и др.

Основной функцией флавопротеидов является перенос атомов водорода от восстановленных пиридинпротеидов к другим участникам окислительно-восстановительной цепи. При этом активной частью молекулы ФАД или ФМН является способное восстанавливаться изоаллоксазиновое кольцо рибофлавина. Атомы водорода (электроны) присоединяются по двойным связям изоаллоксазиновой группировки с перераспределением электронов в изоаллоксазине и затем легко отщепляются от восстановленной формы.



Некоторые флавопротеиды, особенно с ФАД в качестве кофермента, могут непосредственно снимать атомы водорода с субстрата, без участия пиридинпротеидов, при этом редокс-потенциал субстрата должен быть более положительным, чем в системе  $\text{НАД.H}_2 - \text{НАД}^+$ .

Дальнейшая судьба водорода, передаваемого по системе окислительно-восстановительных ферментов, может быть различной. Восстановленные формы большинства флавиновых дегидрогеназ с трудом поддаются непосредственному окислению молекулярным кислородом.

Было установлено, что значительно чаще между дегидрогеназами и молекулярным кислородом могут действовать посредники (на что впервые указал В.И. Палладин). Атомы водорода с восстановленной дегидрогеназы сначала

поступают на окисленную молекулу посредника, а потом уже с нее на молекулярный кислород. Самый распространенный вариант окислительно-восстановительного процесса в клетке состоит в окислении атомов водорода, снятых с субстрата дегидрогеназами, с помощью цитохромной системы. Скорость окислительного процесса в цитохромной системе значительно превышает таковую в других путях окисления, вследствие чего она определяет основной (главный) путь терминального окисления и в целом всего биологического окисления.

Цитохромную систему образуют несколько оксидоредуктаз, имеющих в качестве простетических групп железопорфирины. На возможную роль железосодержащих белков в биологическом окислении впервые обратил внимание А.Я. Данилевский, существенный вклад в разработку этого вопроса внес Варбург и Кейлин.

Соединяясь с белками, железопорфирины разных типов дают начало группе хромопротеидов, объединяемых под общим названием цитохромы. Каждый индивидуальный цитохром обозначается строчной латинской буквой а, в, с, и т.д. с соответствующим порядковым индексом (например: а, а<sub>3</sub>; с, с<sub>1</sub>, и т.д.), а класс цитохрома – прописной латинской буквой А, В, С и т.д. Принадлежность цитохрома к определенному классу определяется строением простетической группы (железопорфирина), а окончательная индивидуальность – строением апофермента (белка).

В митохондриях клеток высших животных и растений идентифицировано пять различных цитохромов: в, с<sub>1</sub>, с, а, а<sub>3</sub>. В эндоплазматической сети обнаружены еще цитохромы – в<sub>5</sub> и Р<sub>450</sub>.

Цитохромы очень прочно связаны с митохондриальной мембраной и поэтому их с трудом получают в растворенной гомогенной форме. Исключением является цитохром С, который очень легко экстрагируется из митохондрий. Строение цитохрома С хорошо изучено, он получен в кристаллическом виде и в нем установлена аминокислотная последовательность.

Цитохромы митохондриальной дыхательной цепи образуют цитохромную систему, представляющую упорядоченное сочетание в едином комплексе различных цитохромов (цит. в, цит. с<sub>1</sub>, цит. с., цит. а, цит. а<sub>3</sub>), порядок которых определяется величиной их редокс-потенциала.

Цитохромная система не принимает атомов водорода с флаavin-зависимой дегидрогеназы, а принимает лишь электроны, протоны поступают в среду.

Таким образом, на современном этапе знаний биологическое окисление, т.е. перенос протонов и электронов к кислороду осуществляется с помощью системы различных окислительно-восстановительных ферментов.

Транспорт протонов и электронов на кислород от восстановленного НАД (НАД.Н<sub>2</sub>), образовавшегося при действии на субстрат пиридин зависимых дегидрогеназ, или от восстановленного ФАД (ФАД.Н<sub>2</sub>), образовавшегося при

действии на субстрат флавинзависимых дегидрогеназ в процессе функционирования лимоннокислого цикла и в отдельных реакций окисления продуктов гидролиза белков, жиров и углеводов, осуществляется с помощью дыхательной цепи, локализованной во внутренней мембране митохондрий.

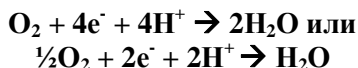
Митохондриальная дыхательная цепь включает следующие компоненты:

- 1) флавопротеид (ФП), содержащий в качестве простетической группы (кофермента) ФМН;
- 2) кофермент Q (или убихинон);
- 3) железосерные белки, содержащие негеминовое железо;
- 4) цитохромы  $b$ ,  $c_1$ ,  $c$ ,  $a$ ,  $a_3$ .

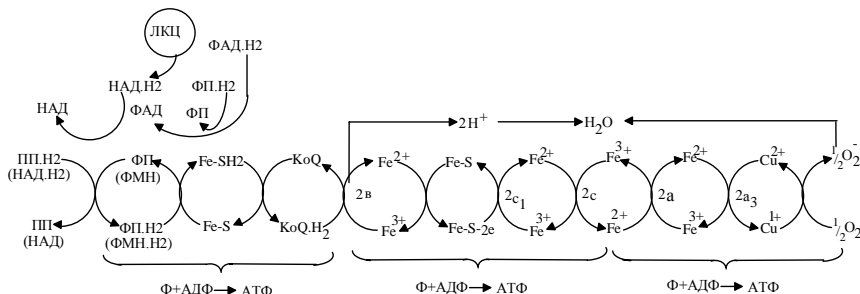
Протоны и электроны от восстановленного НАД ( $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$ ) пиридинзависимых дегидрогеназ как лимоннокислого цикла, так и дегидрогеназ, функционирующих вне лимоннокислого цикла, переносятся на флавопротеид – первый компонент митохондриальной дыхательной цепи. Этот флавопротеид, получивший название  $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$ -дегидрогеназа, находится на внутренней митохондриальной мембране, пересекая ее поперек. Он связан с железосерными белками (железосерными центрами), участвующими в передаче восстановительных эквивалентов (т.е. протонов и электронов) от флавопротеида ( $\text{ФМН}\cdot\text{H}_2$ ) на следующий компонент дыхательной цепи – убихинон. Убихинон – это жирорастворимый хинон, содержащий в большей части тканей млекопитающих боковую цепь из 10-ти изопреновых групп ( $\text{Ко Q}_{10}$ ), способный существовать как в окисленной, так и в восстановленной форме, диффундирующий как поперек, так и вдоль мембран митохондрий. Убихинон выполняет коллекторную функцию, собирая восстановительные эквиваленты не только от флавопротеида ( $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$ -дегидрогеназы), но и от других флавинзависимых дегидрогеназ, находящихся в митохондриях как в составе лимоннокислого цикла, так и вне его (в частности, от сукцинатдегидрогеназы лимоннокислого цикла, от ацил-КоА-дегидрогеназы, участвующей в  $\beta$ -окислении жирных кислот и др.). Электроны от восстановленного убихинона переносятся на кислород с помощью системы цитохромов. Считается, что на участке  $\text{КоQ}$  – цитохром «в» водородпереносящая часть дыхательной цепи сменяется на электронпереносящую часть, а протоны поступают в среду. На этом участке образуется  $2\text{H}^+$  и  $2\text{e}^-$ .

Первый цитохром цитохромной системы – цитохром «в» (присутствующий в двух формах: «в»<sub>562</sub> и «в»<sub>566</sub>, называемые так по максимуму поглощения света), принимает электроны от убихинона и передает их цитохрому « $c_1$ », который в свою очередь, передает их цитохрому «с». Каждый из этих цитохромов, находясь в окисленной форме, присоединяет один электрон и переходит в закисную форму (за счет изменения валентности  $\text{Fe}^{3+}$  в  $\text{Fe}^{2+}$  железопорфириновой простетической группы – гема). В переносе электронов от убихинона на

цитохром «с» (на участке цитохром «в» – «с<sub>1</sub>») принимает участие также белок, содержащий железо и серу (железосерный белок). Последним в ряду переносчиков электронов стоит комплекс – цитохром аа<sub>3</sub>, называемый цитохромоксидазой, поскольку он переносит электроны прямо на кислород. В процессе передачи электронов с цитохромоксидазы на молекулярный кислород вместе с двумя железопорфириновыми группами участвуют связанные с железопорфирином атомы меди, что сопровождается обратимым изменением их валентности (Cu<sup>2+</sup> – Cu<sup>1+</sup>). Электроны последовательно присоединяются к атомам железа цитохромоксидазы, затем к атомам меди, и, наконец, попадают на кислород; поступающий в митохондрии из крови кислород связывается с атомами железа в геме цитохрома «а<sub>3</sub>» в форме молекулы O<sub>2</sub>, (подобно тому, как он связывается с гемоглобином). Каждый из атомов молекулы кислорода присоединяет последовательно два электрона, и два протона, превращаясь в две молекулы воды:



Весь процесс митохондриального тканевого дыхания можно изобразить в виде следующей схемы:



#### 6.4. Окислительное фосфорилирование

Процесс переноса протонов и электронов по дыхательной цепи, локализованной во внутренней мембране митохондрий, к конечному акцептору электронов – молекулярному кислороду – сопровождается очень большим уменьшением свободной энергии. Иначе говоря, передвигаясь от одного переносчика электронов к другому, электроны опускаются, на все более низкие энергетические уровни, отдавая порциями свою энергию. Поскольку известны величины редокс-потенциалов системы НАДН<sub>2</sub> – НАД<sup>+</sup> (E<sub>0</sub> = - 0,32 вольта) и системы H<sub>2</sub>O – 1/2O<sub>2</sub> (E<sub>0</sub> = +0,81), можно рассчитать изменение стандартной сво-



бодной энергии для случая, когда пара электронов переносится от НАД.Н<sub>2</sub> к молекулярному кислороду (т.е. проходит всю дыхательную цепь), используя формулу:

$$\Delta G^{\circ'} = nF\Delta E_0$$

где  $\Delta G^{\circ'}$  – стандартное изменение свободной энергии в калориях;

$n$  – число переносимых электронов;

$F$  – число Фарадея, равное 23062 ккал;

$\Delta E_0$  – разность редокс-потенциалов акцептора и донора электронов.

В нашем случае  $\Delta G^{\circ'} = 2 \times 23062 \times 1,13 = 52,12$  ккал (218,22 кДж). Таким образом, при каждом переносе пары электронов с восстановленного пиридинпротейда (с НАД.Н<sub>2</sub>) на кислород выделяется 52,12 ккал (218,2 кДж) энергии.

При сопоставлении этой величины с величиной стандартной свободной энергии образования АТФ из АДФ и фосфата, равной 7,3 ккал (30,4 кДж) очевидно, что уменьшение свободной энергии при переносе одной пары электронов от НАД.Н<sub>2</sub> на кислород достаточно велико для того, чтобы обеспечить возможность образования нескольких молекул АТФ из АДФ и фосфата при условии наличия соответствующего механизма сопряжения фосфорилирования АДФ с окислительным процессом в дыхательной цепи.

При рассмотрении энергетики дыхательной цепи оказалось, что в дыхательной цепи имеются три участка, в которых перенос электронов сопровождается относительно большим изменением стандартной свободной энергии (т.е. высвобождением энергии), превышающим величину стандартной свободной энергии образования АТФ из АДФ и фосфата. Такими участками явились: участок между флавопротеидом и КоQ, участок между цитохромом «в» и цитохромом «с» и участок между цитохромом «а» и цитохромом «а<sub>3</sub>». Уменьшение свободной энергии на этих участках составляет 9,9-23,8 ккал (40-99,6 кДж), что значительно превышает величину стандартной свободной энергии образования АТФ из АДФ и фосфата, равную 7,3 ккал (30,4 кДж). В других участках дыхательной цепи уменьшение свободной энергии не столь выражено и, по-видимому, не может обеспечить образование молекулы АТФ.

Таким образом, митохондриальная дыхательная цепь напоминает каскадное устройство, поставляющее клетке свободную энергию определёнными порциями.

Идея о наличии сопряжения фосфорилирования АДФ и тканевого дыхания впервые была высказана советским ученым В.А. Энгельгардтом в начале 30-х годов. Впоследствии исследованиями В.А. Белицера, Очоа, Лумис и Липман, Кеннеди и Ленинджера, Митчела, С.Е. Северина, В.П. Скулачева и др. была в значительной мере раскрыта сущность этого процесса.

Установлено, что сопряжено с передачей протонов и электронов по окислительно-восстановительной цепи ферментов осуществляется важнейший для жизнедеятельности организмов процесс-синтез АТФ из АДФ и  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , т.е. высвобождающаяся при тканевом дыхании энергия трансформируется в энергию фосфатной связи АТФ. Этот процесс получил название «окислительное фосфорилирование» и служит для аккумуляции в макроэргических связях АТФ около 40% всей энергии, освобождающейся в процессе тканевого дыхания.

При окислительном фосфорилировании с помощью дыхательной цепи и сопряжено с транспортом протонов и электронов по всей цепи происходит активирование неорганического фосфата и передача его затем на АДФ с образованием АТФ.

Активирование фосфата происходит на описанных выше трех участках митохондриальной дыхательной цепи, характеризующихся повышенным высвобождением свободной энергии.

В случае окисления субстратов пиридиновых дегидрогеназ и восстановленных пиридинпротеидов на каждую пару атомов водорода, поступившую в дыхательную цепь и окислившись до  $\text{H}_2\text{O}$ , синтезируется три молекулы АТФ, что связано с указанными тремя участками активирования неорганического фосфата и синтезом на каждом из них АТФ из АДФ и активированного фосфата. В случае окисления субстратов флавиновых ферментов (например, янтарной кислоты) и восстановленных флавопротеидов образуется 2 молекулы АТФ, что объясняется выпадением первого участка активирования (участка между флавопротеидом и  $\text{CoQ}$ ).

Величина фосфорилирования выражается показателем эффективности окислительного фосфорилирования, характеризующегося отношением:

$$\frac{\text{количество этерифицированного фосфата (в } \mu\text{ аР)}}{\text{количество связанного кислорода (в } \mu\text{ аО)}}$$

Это отношение, называемое коэффициентом фосфорилирования и обозначаемое как  $\text{P/O}$ , оказывается различным в зависимости от подвергающегося окислению субстрата и способа получения митохондрий. Для истинного фосфорилирования, обусловленного реакциями в дыхательной цепи, отношение  $\text{P/O}$  равняется 3 (в этом случае происходит окисление восстановленного НАД и субстратов НАД-дегидрогеназы) и 2 (в этом случае происходит окисление восстановленных флавопротеидов и субстратов флавиновых ферментов).

Процесс окислительного фосфорилирования протекает внутри митохондрий – субклеточных частичках специфического строения. В клетках их может находиться от нескольких сотен до нескольких десятков тысяч. Характерной особенностью строения митохондрий является наличие у них двух мембран, из которых внутренняя имеет большую протяженность и образует выпячивания

(кristы), погруженные во внутреннее основное вещество митохондрий, называемое матриксом. Толщина наружной мембраны составляет приблизительно 7,0 нм, а внутренней мембраны – 5,0-5,5 нм.

Внутренняя поверхность внутренней мембраны покрыта расположенными в определенном порядке частицами сферической формы (диаметром 8,0-9,0 нм), получивших название элементарных структурных единиц.

Мембраны состоят из липидов (1/3 часть) и белков (2/3 части), матрикс представляет собой студнеобразную, полужидкую массу, состоящую приблизительно на 50% из белка. Около 20-25% общего белка внутренней мембраны составляют белки ферментов, участвующих в образовании дыхательной цепи и окислительного фосфорилирования, тогда как остальные белки являются структурными.

Дыхательные ансамбли, состоящие из флавопротеидов, убихинона, железосерных белков и цитохромов, располагаются в плоскости внутренней мембраны митохондрий, в основании элементарных структурных единиц, которые представляют собой, по современным воззрениям, АТФ-азную систему (АТФ-синтазу), включающую особые белки  $F_1 - F_0$  (факторы сопряжения), обеспечивающие фосфорилирование АДФ в АТФ в процессе переноса электронов по дыхательной цепи. Дыхательные ансамбли равномерно распределены по плоскости внутренней мембраны.

Внутри митохондрий находятся также ферменты лимоннокислого цикла, окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты,  $\beta$ -окисления жирных кислот, орнитинового цикла и др.

Реакции лимоннокислого цикла, процессы переноса электронов по дыхательной цепи и окислительного фосфорилирования происходят внутри митохондрий или на внутренней поверхности внутренней мембраны. Поэтому молекулы фосфата, АДФ, субстраты лимоннокислого цикла и тканевого дыхания, прежде чем подвергнуться окислению, должны сначала проникнуть внутрь митохондрий. Однако внутренняя мембрана непроницаема для катионов  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ , анионов  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $H^+$ , сахаров (таких как сахароза), большинства аминокислот, окисленных и восстановленных НАД и НАДФ, нуклеозид-5-моно-, ди- и трифосфатов (в том числе АДФ и АТФ), коэнзима А и его эфиров.

Внутренняя мембрана проницаема только для воды, для небольших нейтральных молекул, таких как мочевины и глицерин, для жирных кислот с короткой цепью.

Оказалось, что для переноса специфических метаболитов через мембрану внутренняя мембрана содержит несколько ферментоподобных соединений (пермеаз или транслоказ). Такие переносчики идентифицированы для АДФ и АТФ, для фосфата и для некоторых промежуточных продуктов лимоннокисло-

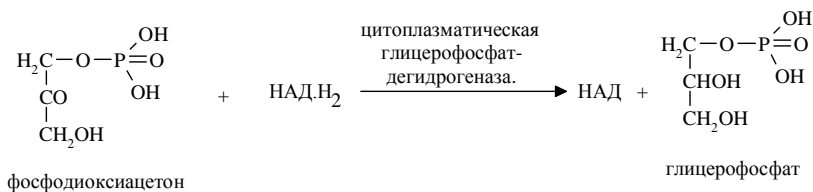
го цикла (сукцината, малата, изоцитрата, цитрата, цис-аконитата), а также для глутамата и аспартата.

Благодаря этим переносчикам осуществляется сложный двусторонний обмен промежуточными продуктами лимоннокислого цикла, фосфатом, АДФ и АТФ между цитоплазмой и внутренним отделением митохондрий. В частности, благодаря функционированию АДФ-АТФ-переносчика, требуемое для окислительного фосфорилирования количество АДФ входит внутрь митохондрий через внутреннюю мембрану, а одновременно эквивалентное количество АТФ выходит из нее в цитоплазму.

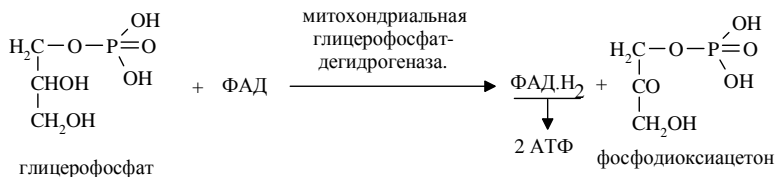
Протоны и электроны цитоплазматического НАД.Н<sub>2</sub> (образовавшегося, к примеру, на окислительной стадии расщепления глюкозы в цитоплазме) могут поступать внутрь митохондрий непрямым путем, без переноса самих молекул НАД. Это осуществляется с помощью глицерофосфатного или малатного челночного механизма. Предполагают, что существует также лактатный челночный механизм.

Аналогичный механизм осуществляется для перемещения протонов и электронов из митохондрий в цитоплазму (что происходит, к примеру, при биосинтезе глюкозы из пирувата в цитоплазме).

Сущность глицерофосфатного челночного механизма сводится к следующему. Цитоплазматический НАД.Н<sub>2</sub> сначала реагирует с цитоплазматическим фосфодиоксиацетоном (одним из промежуточных продуктов гликолиза), образуя глицерофосфат. Эта реакция катализируется НАД-зависимой цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназой.



Образовавшийся глицерофосфат способен легко проникать через митохондриальные мембраны внутрь митохондрий, где внутримитохондриальная флаavin-зависимая глицерофосфатдегидрогеназа снова окисляет глицерофосфат до фосфодиоксиацетона:



Восстановленный флавопротеид вводит приобретенные им электроны в дыхательную цепь (на КоQ), обеспечивая окислительное фосфорилирование двух молекул АДФ, а фосфодиоксиацетон выходит из митохондрий в цитоплазму, где снова может служить акцептором электронов для новой молекулы цитоплазматического НАД·H<sub>2</sub>. Высказывается также мнение: окисление ФП·H<sub>2</sub> не приводит к образованию 2 молекул АТФ, а приводит к высвобождению энергии в виде тепла.

Малатный челночный механизм включает систему промежуточных соединений: оксалоацетат – малат. Цитоплазматический НАД·H<sub>2</sub> сначала реагирует с оксалоацетатом при участии цитоплазматической малатдегидрогеназы, образовавшийся малат с помощью транслоказы переносится внутрь митохондрий, где под влиянием митохондриальной дегидрогеназы дегидрируется. Образовавшийся НАД·H<sub>2</sub> окисляется флавопротеидом дыхательной цепи митохондрий, путем окислительного фосфорилирования образуется три молекулы АТФ. Полагают, что малатный челночный механизм является наиболее активным механизмом переноса восстановительных эквивалентов из цитоплазмы в митохондрии.

Для объяснения механизма окислительного фосфорилирования существует три гипотезы, а именно: гипотеза химического сопряжения, гипотеза хемиосмотического сопряжения и гипотеза механохимического или конформационного сопряжения окисления и фосфорилирования.

В основе гипотезы химического сопряжения лежит представление, согласно которому передача энергии, выделяемой в процессе переноса электронов по дыхательной цепи на АДФ с образованием АТФ, осуществляется в серии последовательных реакций, связанных общими промежуточными продуктами, содержащими макроэргические связи.

По поводу возможной химической природы переносчиков существуют разные суждения. Эту роль приписывают НАД, убихинону, витаминам К и Е, пептиду карнозину, адениловой части молекулы АТФ, карбоксильным и имидазольным радикалам полипептидной цепи белка и др. Предполагают, что в разных точках фосфорилирования в дыхательной цепи могут действовать различные переносчики.

Однако до сих пор не удалось доказать реальное существование и идентифицировать постулированные переносчики.

Обнаружение окислительного фосфорилирования лишь в митохондриях, у которых сохранена структура мембран, повысило интерес к двум другим гипотезам.

Было высказано предположение согласно механохимической гипотезе, что энергия, высвобождающаяся в дыхательной цепи, используется непосредственно для перевода внутренней мембраны (ее белков) в новое богатое энергией конформационное состояние, которое, в свою очередь, становится движущей силой окислительного фосфорилирования, приводящего к образованию АТФ.

В настоящее время наиболее серьезное обоснование получила гипотеза хеми-осмотического сопряжения, предложенная Митчелом в 1961 году и получившая развитие в исследованиях советского ученого В.П. Скулачева (1972 г.). В 1978 г. Митчелу за разработку хеми-осмотической гипотезы была присуждена Нобелевская премия.

Исходя из того, что митохондриальная мембрана является существенным элементом механизма окислительного фосфорилирования и что она непроницаема для ионов водорода ( $H^+$ ), согласно хемиосмотической гипотезы предполагается, что при тканевом дыхании в процессе движения электронов вдоль дыхательной цепи каждая пара электронов, поставляемая НАД $\cdot$ H $_2$ , трижды пересекает мембрану митохондрий и в итоге переносит три пары протонов из внутренней части митохондрий через мембрану наружу (в межмембранное пространство). В результате транслокации протонов через мембрану на внутренней мембране возникает протонный градиент, представляющий собой форму запасаения свободной энергии. Общая энергия протонного градиента складывается из концентрационного (или осмотического) компонента, определяемого разницей рН по обеим сторонам мембраны, и электрического компонента, обусловленного движением положительно заряженных протонов через мембрану (разница рН примерно =1,4 единицы, электрический потенциал – около 140 мВ.). Из-за разницы в концентрационном и электрическом потенциале протоны, вынесенные из митохондрий, стремятся пересечь мембрану в обратном направлении. Обратное движение протонов через мембрану (через протонные каналы – белок Fo) под влиянием протонного градиента способно привести к работе, такой как фосфорилирование:  $АДФ+Ф \rightarrow АТФ+НОН$ . Предполагается, что два протона, переносимые под влиянием градиента белком Fo через мембрану ( через протонный канал) взаимодействуют с одним из кислородов фосфата, связанного с белком  $F_1$  ферментного комплекса  $F_1 - F_0$  АТФ-синтазы, что приводит к высвобождению кислорода с образованием воды и делает фосфатную группу высокорекреативной и способной связываться с АДФ с образованием АТФ. Установлено, что на каждые два протона, пересе-

кающих комплекс  $F_1 - F_0$  образуется одна молекула АТФ из АДФ и активированного описанным способом неорганического фосфата.

Характерная особенность рассмотренной гипотезы состоит в том, что образование АТФ в процессе окислительного фосфорилирования происходит без участия высокоэнергетических промежуточных продуктов. Роль промежуточного звена, движущей силой процесса служит электрохимический потенциал (протонный градиент), возникающий на мембране митохондрий за счет энергии, выделяемой в процессе переноса электронов по дыхательной цепи. Согласно наблюдениям В.П. Скулачева, в процессе дыхания на мембране митохондрий, хлоропластов и бактерий действительно возникает мембранный потенциал, достаточный для энергетического обеспечения реакции синтеза АТФ из АДФ и фосфата.

Следует, однако, сказать, что ряд молекулярных механизмов окислительного фосфорилирования в мембранах митохондрий все еще не ясны (механизм переноса  $H^+$  на наружную поверхность внутренней мембраны, механизм использования энергии АТФ-синтазой).

Не следует думать, что любое окисление органических соединений в живых организмах сопряжено с фосфорилированием, так же как и фосфорилирование не обязательно должно быть окислительным. В настоящее время известно несколько сот реакций окисления, но менее десятка их сопряжено с одновременным активированием неорганического фосфата.

Кроме окислительного фосфорилирования различают также субстратное фосфорилирование.

Реакции расщепления субстрата, сопровождающиеся передачей энергии непосредственно неорганическому фосфату с образованием в результате этого другого фосфорилированного субстрата с макроэргической связью, называют субстратным фосфорилированием. В этом случае не участвует дыхательная цепь ферментов и не происходит превращения энергии, выделяемой в процессе переноса электронов на кислород, в энергию фосфатной связи АТФ.

В качестве примера субстратного фосфорилирования можно привести реакцию превращения сукцинил-КоА в янтарную кислоту с образованием ГТФ из ГДФ и фосфата и последующего образования АТФ, имеющее место в лимоннокислом цикле.

Биосинтез АТФ в животном организме осуществляется из АДФ и неорганического фосфата при активировании последнего за счет энергии окисления органических соединений при метаболических процессах в организме.

Другим источником энергии для активирования неорганического фосфата в живом организме и обеспечения синтеза АТФ может служить энергия солнечного света, улавливаемая фотосинтетическим аппаратом клетки. Такое фосфорилирование называют фотосинтетическим. Оно свойственно растениям.

Наконец, энергия для тех же целей может поступать за счет реакций окисления неорганических соединений. Сопряженное с окислением неорганических веществ фосфорилирование называется хемосинтетическим. Оно свойственно некоторым видам микробов.

Объем окислительного фосфорилирования в значительной мере зависит от проницаемости мембраны митохондрий. Митохондриальная мембрана может пропускать внутрь митохондрий посредством глицерофосфатного или малатного челночного механизма большее или меньшее количество восстановительных эквивалентов с  $\text{НАД}^+\text{H}_2$ , которые включаются здесь в процессы окислительного фосфорилирования, тогда как на поверхности митохондрий в цитоплазме  $\text{НАД}^+\text{H}_2$  окисляется свободно, при этом не образуется АТФ, а выделяющаяся энергия превращается в тепло. Однако и внутри митохондрий может произойти переключение с окисления, сопряженного с фосфорилированием, на свободное окисление (и обратно), сопровождаемое образованием тепла. Это происходит при разобщении переноса электронов и фосфорилирования в дыхательной цепи, что может произойти, в частности, при понижении температуры или воздействии некоторых химических веществ (замещенных фенолов, к примеру, 2,4-динитрофенола, фенилгидразонов, грамицидина, арсената, дикумарола, тироксина и др.). Следует заметить, что действие химических разобщителей (так называемых ионофоров), способных нивелировать протонный градиент путем переноса протонов через мембрану митохондрий в обратном направлении – в матрикс, послужило важным доказательством хеми-осмотической гипотезы сопряжения фосфорилирования и тканевого дыхания. Значительные исследования в этой области были выполнены В.П. Скулачевым.

В.П. Скулачевым также была продемонстрирована теплообразующая функция митохондрий при многократном охлаждении организма. У новорожденных и у некоторых животных, впадающих в зимнюю спячку, выявлены специализированные митохондрии, которые обычно не синтезируют АТФ, а свободная энергия переноса электронов рассеивается в виде тепла, благодаря чему и поддерживается температура тела на должном уровне. Такие митохондрии обнаружены в буром жире. Энергия переноса электронов может использоваться и для других целей, в частности, для поддержания концентрации ионов  $\text{Ca}^{++}$  в клетке, что важно для осуществления многих клеточных функций.

Интенсивность окислительного фосфорилирования регулируется соотношением в клетке содержания АТФ, с одной стороны, и АДФ и неорганического фосфата, с другой. Причем, два последних вещества активируют процесс окислительного фосфорилирования. При усилении распада АТФ на АДФ и  $\text{H}_3\text{PO}_4$  в процессе реакций, идущих с потреблением энергии, и накопления последних в клеточном содержимом, автоматически усиливается окислительное фосфорилирование, т.е. биосинтез АТФ.



### 6.5. Оксигеназное и свободнорадикальное окисление

Перенос протонов и электронов по митохондриальной дыхательной цепи на кислород, сопряженный с фосфорилированием, приводящий к образованию АТФ, который катализируется оксидазами (дегидрогеназами), не исчерпывает все реакции биологического окисления. Наряду с оксидазами в тканях содержатся также ферменты, катализирующие окислительные реакции, в которых атомы кислорода включаются непосредственно в молекулу субстрата.

Эти ферменты называют оксигеназами. Различают два класса оксигеназ: диоксигеназы и монооксигеназы. Диоксигеназы катализируют реакции, в которых в молекулу органического субстрата включаются оба атома молекулы кислорода. Монооксигеназы катализируют реакции, в которых в молекулу органического субстрата включается только один из атомов молекулы кислорода, а второй атом восстанавливается до  $H_2O$ . Монооксигеназам требуются два субстрата, из которых один присоединяет один из атомов кислорода (главный субстрат), а другой субстрат поставляет атомы водорода для восстановления второго атома кислорода до  $H_2O$  (косубстрат). Иногда эту группу ферментов называют гидроксилазами, так как субстрат, присоединяющий атом кислорода, по большей части гидроксилируется. В качестве косубстрата монооксигеназ могут служить восстановленные флавопротеиды (ФМН. $H_2$  или ФАД. $H_2$ ), пиридинпротеиды (НАД. $H_2$  или НАДФ. $H_2$ ),  $\alpha$ -кетоглутарат и др. Наиболее многочисленны и сложны монооксигеназные реакции, в которых участвует цитохром  $P_{450}$ . Этот цитохром обычно содержится не в митохондриях, а в эндоплазматическом ретикулуме. Подобно митохондриальной цитохромоксидазе, цитохром  $P_{450}$  способен взаимодействовать с кислородом. Цитохром  $P_{450}$  катализирует реакции гидроксилирования (т.е. он является монооксигеназой), в которых органический субстрат SH гидроксилируется до S-OH за счет одного из атомов молекулы кислорода, тогда как второй атом кислорода восстанавливается до  $H_2O$  за счет восстановительных эквивалентов от НАД. $H_2$ , НАДФ. $H_2$  или железосерных белков. Цитохром  $P_{450}$  участвует в ряде важных биологических реакций, например, в гидроксилировании стероидов в процессе биосинтеза гормонов коры надпочечников. Существенна также роль цитохрома  $P_{450}$  в гидроксилировании ряда лекарственных препаратов и других ксенобиотиков, особенно если эти вещества гидрофобны. В результате гидроксилирования растворимость в воде таких веществ повышается, что способствует их детоксикации и выведению из организма.

В оксигеназных реакциях используется лишь небольшая часть всего кислорода, поглощаемого клетками. Около 90% всего потребляемого кислорода восстанавливается с участием цитохромоксидазы в митохондриальной дыхательной цепи. При этом происходит полное восстановление молекулы кисло-

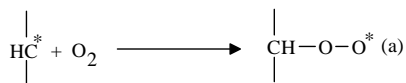
рода, т.е. акцептируется молекулой кислорода четыре электрона и образуется две молекулы воды:



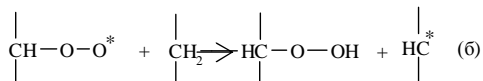
В большинстве случаев в организме восстановление кислорода происходит поэтапно, с переносом одного электрона на каждом этапе. Однако при некоторых ферментативных и неферментативных реакциях окисления в клетках может происходить неполное восстановление кислорода. (в самом тканевом дыхании, при присоединении кислорода к гемоглобину и др.). При неполном восстановлении кислорода в случае присоединения только двух электронов образуется пероксидный анион  $O_2^{2-}$ , а в водной среде перекись (пероксид) водорода ( $H_2O_2$ ), а в случае присоединения одного электрона – супероксидный радикал ( $O_2^{\cdot-}$ ). Пероксид водорода в свою очередь может восстанавливаться супероксидом:



В этой реакции образуется свободный гидроксильный радикал ( $OH^{\cdot}$ ), который при взаимодействии с супероксидом образует синглетный кислород. Супероксид, пероксид водорода, гидроксильный радикал и синглетный кислород имеют высокую химическую активность и реагируют со многими веществами, в том числе с нуклеиновыми кислотами, белками, липидами. Эти продукты могут вызвать токсические эффекты, повреждая структуру митохондрий, могут повреждать клеточные мембраны, взаимодействуя с остатками ненасыщенных жирных кислот мембранных липидов, спонтанно ускоряя цепные реакции пероксидного окисления липидов. Активные формы кислорода способны отнимать водород от определенных групп  $-CH_2-$  ненасыщенных жирных кислот, превращая их в свободнорадикальные группы  $-CH^{\cdot-}$ . Такой радикал жирной кислоты легко присоединяет молекулу кислорода и превращается в пероксидный радикал жирной кислоты.



Пероксидный радикал может отнимать водород от другой молекулы жирной кислоты:

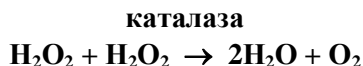


В результате пероксидный радикал восстанавливается в гидропероксид за счет окисления другой молекулы жирной кислоты в свободный радикал. Этот второй свободный радикал в свою очередь повторяет вышеуказанные реакции (а, б) с образованием третьего свободного радикала, т.е. развивается цепная химическая реакция или, как говорят, развивается самоускоряющийся процесс свободно-радикального окисления ненасыщенных липидов. Этот процесс получил название: пероксидное окисление липидов. Он может разрушить ненасыщенные липиды мембран, что приводит к гибели клетки. Свободно-радикальные группы могут также, реагируя с белками (в том числе с ферментами), нуклеиновыми кислотами, вызывать нарушение их структуры и функции.

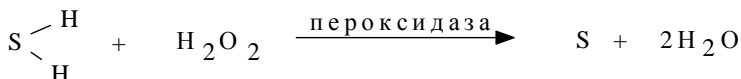
Установлено, что процессы пероксидного окисления липидов протекают в клетках непрерывно и служат одним из важных способов модификации фосфолипидного бислоя мембран, вызывая их обновление. Повреждающее действие, в основном, обусловлено сверхнормативным накоплением в клетке свободных радикалов и продуктов дальнейшего превращения гидропероксидов липидов – альдегидов, кетонов и др., которые могут изменить конформацию липидов, вызвать сшивку между молекулами липидов или липидов и белков с образованием балластных полимеров, вызвать инактивацию ферментов и привести к повреждению мембранных структур. Обычно возрастание концентрации продуктов пероксидного окисления сверх стационарного уровня отмечается при развитии различных патологических состояний: лучевой болезни, злокачественного роста, Е-авитаминоза, токсикозов, стрессовых расстройств и др. В физиологических условиях это не происходит за счет функционирования согласованной антиоксидантной системы ферментативной и неферментативной природы. Защитная антиоксидантная система клеток контролирует пероксидное окисление на всех стадиях его протекания и включает в себя антиоксиданты и ферменты ингибирования пероксидного окисления. Эта система обеспечивает дисмутацию супероксидных радикалов, утилизацию пероксида водорода, разрушение гидропероксидов ненасыщенных жирных кислот, а также инактивацию свободных радикалов с помощью природных антиоксидантов (α-токоферола, аскорбата, полифенолов). С помощью супероксиддисмутазы супероксидный радикал преобразуется в пероксид водорода по схеме:



Пероксид водорода удаляется в свою очередь с помощью другого фермента каталазы согласно реакции:



Разложение перекиси водорода может осуществляться и с помощью пероксидаз, катализирующих перенос атомов водорода с субстрата или восстановленных пиридин- и флавопротеидов на перекись водорода:



Полагают, что в физиологических условиях при низких концентрациях  $\text{H}_2\text{O}_2$  каталаза действует почти исключительно как пероксидаза и, видимо, в животных тканях существует только глутатионпероксидаза, использующая для восстановления  $\text{H}_2\text{O}_2$  восстановленный глутатион:



Восстановленный глутатион используется и для восстановления гидропероксидов, образующихся в процессе перекисного окисления липидов.

Следует иметь в виду, что наряду с антиоксидантными ферментами (супероксиддисмутазой, каталазой, глутатионпероксидазой) в организме функционирует система антиоксидантов (глутатион, аскорбат, токоферол, полифенолы), также ограничивающие пероксидное окисление липидов, выступая в качестве «ловушек» свободных радикалов. При срыве системы антиоксидантной защиты (например, при низком поступлении с пищей антиоксидантов, повреждении антиоксидантных ферментов при облучении и др.) свободнорадикальное окисление в тканях развивается лавинообразно. Развивается синдром пероксидации, заключающийся в повреждении клеточных мембран, ингибировании многих ферментов, нарушении клеточного деления, накоплении инертных (балластных) продуктов перекисной денатурации липидов и белков. В этой связи ряд антиоксидантов, таких как аскорбиновая кислота, токоферол, рутин, синтетический препарат ионол (дибунол) и др. используются как лечебные препараты при целом ряде патологических состояний, сопровождаемых усилением перекисного окисления.

## 7. Обмен углеводов

### **7.1. Общая характеристика обмена углеводов. Переваривание углеводов**

Углеводы в животном организме выполняют разнообразные функции: служат источником энергии и резервным энергетическим фондом организма, являются пластическим материалом клетки и сверх этого выполняют некоторые специфические задачи.

Организм человека и животных не способен синтезировать углеводы из неорганических веществ и получают их с различными пищевыми продуктами, главным образом, растительного происхождения, тогда как растения способны синтезировать углеводы из углекислоты и воды, используя энергию солнечных лучей.

Углеводы занимают важное место в питании человека и животных, обеспечения по калоражу около 60-70% пищевого рациона человека.

Человек весом 60-70 кг в среднем потребляет с пищей в сутки около 500 г углеводов. В результате полного их окисления (до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ ) в клетках организма освобождается около 2000 ккал, что составляет 2/3 потребляемой человеком энергии. Высвобождающаяся при окислении углеводов энергия запасается в макроэргических связях АТФ с последующей трансформацией в различные виды энергии, обеспечивающей жизнедеятельность организма.

Помимо источника энергии углеводы и их метаболиты служат строительным материалом при синтезе гликопротеидов, гликолипидов, нуклеиновых кислот, некоторых коэнзимов, аминокислот, жирных кислот и др. веществ. Таким образом, катаболизм углеводов обеспечивает углеродом и энергией процессы построения всех других органических соединений. Следует также заметить, что в растительных организмах исходными продуктами биосинтеза вторичных метаболитов, обладающих биологической активностью и используемых в фармации, являются сахара.

Животный организм получает с пищей главным образом углеводы растительного происхождения – крахмал, клетчатку, сахарозу и др. олигосахариды. Однако поскольку клетчатка пищеварительными соками не переваривается, основным источником углеводов для большинства животных организмов является крахмал. С продуктами животного происхождения в организм поступает в небольшом количестве гликоген и лактоза. Поступившие в организм углеводы подвергаются химическим превращениям.

Важнейшим углеводом с физиологической точки зрения является глюкоза. Окисление глюкозы в тканях в конечном счете и является основным источ-

ником энергии, необходимой организму для осуществления разнообразных функций.

Под обменом углеводов принято понимать поступление углеводов в организм с пищей, переваривание сложных углеводов в пищеварительном тракте, всасывание моносахаридов в кишечнике, транспорт всосавшихся моносахаридов к тканям, расщепление моносахаридов в тканях, образование в организме из углеводов других веществ, синтез углеводов в тканях и выделение из организма продуктов распада углеводов.

Через кишечную стенку в кровь без предварительного расщепления всасываются только простые, хорошо растворимые в воде сахара – моносахариды. Но не только всасывание, а и усвоение клетками происходит только моносахаридов. В этой связи большое значение для организма приобретает уже первый этап превращения углеводов – переваривание их в пищеварительном тракте, представляющее собой гидролитическое расщепление полисахаридов и олигосахаридов под воздействием соответствующих ферментов.

Полисахариды (крахмал, гликоген) и олигосахариды (сахароза, лактоза и др.) после превращения в моносахариды усваиваются организмом.

Переваривание углеводов, в частности, крахмала – основного углевода по количественному содержанию в пище человека, начинается в полости рта. Реакция гидролиза крахмала ускоряется амилазами – специфическими ферментами, относящимися к классу гидролаз, подклассу гликозидаз. В зависимости от вида фермента разрыв гликозидных связей может происходить в различных позициях. Соответственно, конечными продуктами гидролиза крахмала оказываются либо глюкоза, либо мальтоза, либо олигосахариды, при этом в качестве промежуточных продуктов возникают декстрины, т.е. смесь более простых, чем крахмал, полисахаридов, с меньшим молекулярным весом.

В природе найдено несколько амилаз: альфа-, бета- и гамма-амилазы. Гамма-амилаза ускоряет реакцию гидролиза 1,4-связей в молекуле крахмала или олигосахаридов, последовательно отщепляя остатки глюкозы от невосстанавливающего (т.е. не содержащего свободной альдегидной группы или гликозидного гидроксила) конца молекулы. Гамма-амилаза широко представлена в тканях животных. Бета-амилаза ускоряет реакцию гидролиза по 1,4-связям, последовательно отщепляя остатки мальтозы, начиная с невосстанавливающего конца молекулы. Однако эта амилаза у животных отсутствует. Наконец, альфа-амилаза ускоряет гидролиз 1,4-гликозидных связей в молекуле крахмала без какого-либо определенного порядка, в результате чего сначала возникают олигосахариды, которые подвержены действию альфа-амилазы, если они содержат три или более остатков глюкозы. В качестве главного конечного продукта гидролиза крахмала альфа-амилазой является мальтоза, так как в дисахаридах 1,4-связи под действием альфа-амилазы не гидролизуются. Альфа-амилаза найдена у всех животных и растительных видов. Амилаза слюны

представлена альфа-амилазой (иногда ее называют птialiном или диастазой). Она расщепляет крахмал с образованием декстринов, а при более длительном воздействии – до образования мальтозы. Последняя расщепляется на две молекулы глюкозы благодаря каталитическому действию находящегося в слюне фермента группы гликозидаз – мальтазы.

Вследствие небольшой продолжительности пребывания пищи в полости рта крахмал переваривается ферментами слюны в незначительной степени. После заглатывания пищи кислый желудочный сок, меняя pH среды, прекращает действие амилазы слюны. Интенсивное переваривание крахмала, гликогена, декстринов возобновляется в двенадцатиперстной кишке (после нейтрализации соляной кислоты желудочного сока бикарбонатами поджелудочного сока) под влиянием альфа-амилазы и мальтазы поджелудочного сока. В переваривании углеводов принимают участие и кишечный сок, содержащий ферменты альфа-амилазу, декстриназу, сахаразу, лактазу. Если альфа-амилаза расщепляет крахмал по 1,4-связям, то декстриназа катализирует гидролиз 1,6-связи крахмала. Этот фермент, таким образом, расщепляет молекулу крахмала в точках разветвления полигликозидной цепи. Он характерен для животных тканей.

Амилазы характеризуются отсутствием абсолютной специфичности действия. При их участии осуществляется гидролиз различных соединений: амилозы, амилопектина, гликогена, олигосахаридов и др. веществ, построенных из остатков  $\alpha$ -D-глюкопиранозы и содержащих в молекулах 1,4 и 1,6-связи. По-видимому, все амилазы являются металлопротеинами и содержат Zn и Ca, а также мультимерами. Полагают, что атомы металлов способствуют образованию фермента мультимера из протомеров.

Ферменты, расщепляющие дисахариды (мальтаза – мальтозу на две молекулы глюкозы, сахароза – сахарозу на глюкозу и фруктозу, лактаза – лактозу на глюкозу и галактозу) относятся к группе гликозидаз. Почти все гликозидазы отличаются широким спектром специфичности, ускоряя гидролиз практически любых гликозидов, построенных на том или ином  $\alpha$ - или  $\beta$ -моносахариде.

Гликозидазы, кроме гидролазной активности, как правило, обладают также гликозилтрансферазным действием и ускоряют процессы переноса гликозидных остатков на те или иные субстраты.

В результате последовательного воздействия перечисленных ферментов углеводы пищи превращаются в моносахариды. Эти моносахариды (преимущественно глюкоза, фруктоза и галактоза) всасываются кишечной стенкой, причем всасывание различных моносахаридов происходит с неодинаковой скоростью (быстрее всего всасывается D-галактоза, затем D-глюкоза, D-фруктоза, D-манноза и т.д.). Пентозы всасываются медленнее, чем гексозы. Быстрое всасывание моносахаридов является активным биологическим про-

цессом, требующим затраты энергии. Механизм всасывания моносахаридов остается еще недостаточно выясненным. Считается, что они всасываются в виде фосфорных эфиров. Во время всасывания может происходить частичное взаимопревращение гексоз, в частности, превращение фруктозы и галактозы в глюкозу.

Всосавшиеся в кишечнике моносахариды (главным образом глюкоза) через капилляры кишечных ворсинок попадают в кровеносную систему и с током крови через воротную вену доставляются прежде всего в печень.

В период всасывания концентрация глюкозы в крови брыжеечных и воротной вен резко возрастает, в то время как ее содержание в крови общего круга кровообращения существенно не изменяется. Это происходит потому, что печень «захватывает» почти всю глюкозу и большую часть других моносахаридов, всосавшихся из кишечника. Глюкоза, поступившая в клетки печени, быстро подвергается реакции фосфорилирования; фосфорилированное производное глюкозы, в зависимости от существующих условий, может быть использовано для синтеза гликогена или для дальнейшего расщепления тем или иным путем. Синтезированный гликоген откладывается в печеночных клетках. Часть глюкозы, прошедшая в неизмененном виде через печень, а также глюкоза, образуемая в печени при расщеплении гликогена в процессе фосфоролиза, поступает в большой круг кровообращения и разносится с током крови по всему телу. Из крови все ткани черпают глюкозу, покрывая за счет ее окисления свои энергетические потребности. Небольшая часть глюкозы может откладываться в виде гликогена в мышцах.

### **7.2. Катаболизм углеводов в тканях**

Поступившие в клетки углеводы включаются в межуточный обмен. Превращение углеводов в клетках тканей человека и высших животных в процессе межуточного обмена проходит в два этапа: анаэробный и аэробный. Анаэробный этап составляет обязательную первую стадию катаболизма углеводов, за которой следует аэробное окисление образовавшихся продуктов.

Хотя анаэробный распад углеводов с образованием молочной кислоты энергетически значительно менее выгоден, чем аэробное окисление до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , тем не менее анаэробное расщепление гликогена или глюкозы играет очень важную роль в жизнедеятельности человека и животных. Этот процесс энергетически обеспечивает возможность выполнения организмом тех или иных физиологических функций в условиях недостаточного снабжения тканей и органов кислородом.

Анаэробное превращение углеводов, начинающееся с гликогена или глюкозы и заканчивающееся образованием молочной кислоты, получило соответственно название гликогенолиза и гликолиза.



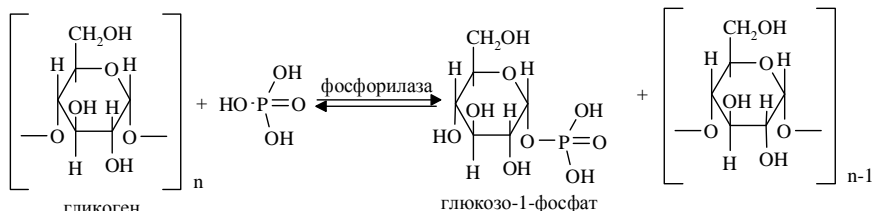
Термин «гликогенолиз» употребляется в тех случаях, когда исходным субстратом превращения является гликоген, а термин «гликолиз» – когда таковым является глюкоза.

Ферменты гликогенолиза и гликолиза хорошо изучены, большинство их получено в кристаллическом виде. Считается, что эти ферменты локализованы в растворимой части цитоплазмы, а по другим данным – на эндоплазматическом ретикулуме.

Реакции гликолиза можно подразделить на две стадии. На первой стадии гексозы фосфорилируются за счет АТФ и образуют общее соединение 3-фосфоглицериновый альдегид. Вторая стадия представляет собой процесс, где включаются и окислительно-восстановительные реакции и механизмы накопления энергии в форме АТФ (стадия окисредукции).

В разработке современных представлений о механизме гликолиза и гликогенолиза крупнейшую роль сыграли исследования Эмбдена, Мейергофа, Я.О. Парнаса и их сотрудников, согласно которым обязательным условием превращения углеводов является их фосфорилирование.

В случае распада гликогена, когда он вступает на путь гликогенолиза, превращение гликогена начинается с реакции фосфоролиза, в результате которой образуется глюкозо-1-фосфат (глюкозо-1-монофосфорный эфир – эфир Кори). Эта реакция катализируется специфическим ферментом фосфорилазой, которая представляет собой гликозилтрансферазу и расщепляет 1,4-связи гликогена. Отщепление происходит с невосстанавливающего конца молекулы полисахарида.

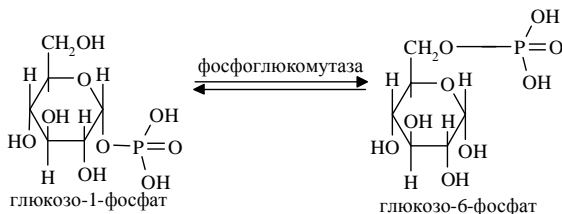


Фосфорилазы были впервые открыты Я.О. Парнасом и К. Кори. Фосфорилазы – это регуляторные ферменты, ферменты – мультимеры высокой молекулярной массы. Фосфорилазы мышц существуют в виде двух форм: А и В. Первая (А), представляющая белок с  $M=495$  тыс., состоит из восьми протомеров ( $M=60$  тыс. каждый). Диссоциируя на две молекулы, активная фосфорилаза «А» дает начало неактивной фосфорилазе «В» ( $M=242$  тыс.), молекула которой состоит из четырех протомеров ( $M=60$  тыс. каждый). Переход фосфорилазы «А» в «В» и обратно ускоряется специфической ферментной аденилатциклазной системой, зависит от присутствия ионов  $Mg^{++}$  и наличия АТФ. По-

лагают, что образование активной фосфорилазы связано с фосфорилированием неактивной формы фосфорилазы за счет АТФ. Этот процесс регулируется гормонами (глюкагоном, адреналином).

Характерной особенностью реакции фосфорилиза является ее обратимость.

В итоге ступенчатого отщепления от гликогена под влиянием фосфорилазы остатков глюкозы образуются ее фосфорные эфиры. Образовавшийся глюкозо-1-фосфат превращается далее под действием фермента фосфоглюкомутазы в глюкозо-6-фосфат:

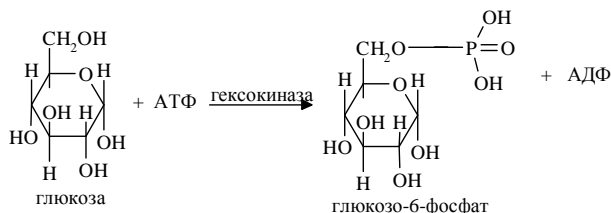


Эта реакция протекает в два этапа. Активный центр фосфоглюкомутазы включает в свой состав остаток фосфосерина, с которого остаток фосфорной кислоты перемещается на глюкозо-1-фосфат с образованием глюкозо-1,6-дифосфата и дефосфорилированного фермента. Последний, взаимодействуя с глюкозо-1,6-дифосфатом, снова превращается в фосфопротеид, однако, получает остаток фосфорной кислоты от первого углеродного атома с высвобождением глюкозо-6-фосфата.

Следует подчеркнуть, что глюкозо-6-фосфат образуется и в процессе катаболизма не только полисахаридов, но и моносахаридов при гликолизе. С момента образования глюкозо-6-фосфата гликогенолиз и гликолиз сливаются в единый процесс.

Свободные монозы, в частности, глюкоза, перед тем как вступить в обмен по пути гликолиза, фосфорилируется, превращаясь в фосфорный эфир – в глюкозо-6-фосфат. Следует подчеркнуть, что фосфорилирование свободных моносахаридов – обязательная реакция на пути их использования для нужд организмов – приводит к возникновению более реакционноспособных, чем свободные моносахариды, фосфорных эфиров и поэтому часто рассматривается как реакция активации.

При гликолизе фосфорилирование глюкозы осуществляется при взаимодействии с АТФ и ускоряется ферментом гексокиназой, относящейся к группе фосфотрансфераз, которые носят название киназ. Благодаря значительной разнице в энергии фосфатной связи АТФ (пирофосфатной связи) и фосфоэфирной связи в глюкозо-6-фосфате равновесие реакции сильно сдвинуто вправо.

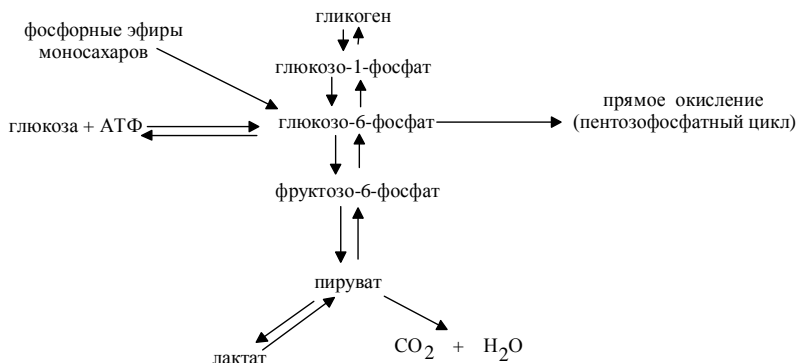


В природе существуют различные гексокиназы (около двух десятков), отличающиеся не только по субстратной специфичности и средству, но и по другим параметрам. Они могут переносить остатки фосфорной кислоты не только с АТФ, но в некоторых случаях и с других нуклеозидтрифосфатов на те или иные моносахариды. Многие из киназ представлены белками высокой молекулярной массы. Их молекулы построены из субъединиц. Различают специфические и неспецифические гексокиназы. Неспецифическая гексокиназа фосфорилирует глюкозу, фруктозу, маннозу и др. моносахариды (кроме галактозы) до соответствующих моносахарид-6-фосфатов. Среди специфических гексокиназ имеются глюкокиназы, фруктокиназы и галактокиназы. Глюкокиназу и фруктокиназу находят в печени. В этом органе встречаются и неспецифические гексокиназы. Оба фермента, фосфорилирующие глюкозу (гексокиназа и глюкокиназа) отличаются субстратным средством; глюкокиназа обладает значительно более низким средством к D-глюкозе.

Для работы всех этих ферментов необходимы ионы  $Mg^{++}$ . Гексокиназа представлена несколькими изоферментами, которые можно разделить хроматографически.

Глюкозо-6-фосфат занимает центральное место в катаболизме углеводов.

Как уже отмечалось выше, образование глюкозо-6-фосфата происходит, во-первых, путем фосфорилирования глюкозы за счет ее взаимодействия с АТФ, во-вторых, из глюкозо-1-фосфата, представляющего продукт фосфороллиза полисахаридов. Кроме того, глюкозо-6-фосфат может образоваться в результате реакции изомеризации фосфорных эфиров других изомерных ему гексозофосфорных эфиров. Образующаяся глюкозо-6-фосфат занимает ключевую позицию в процессе дальнейшего обмена углеводов. За него конкурируют многие метаболические пути, что видно из приводимой схемы:



Глюкозо-6-фосфат подвергается в организме разнообразным превращениям. Часть его распадается через многократно повторяющиеся реакции окисления, в том числе и в лимоннокислом цикле в сопряженных с дыхательной цепью реакциях до углекислого газа и воды. При этом осуществляется синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата путем окислительного фосфорилирования. Наряду с этим в процессе катаболизма глюкозо-6-фосфата образуется АТФ путем субстратного фосфорилирования.

Следовательно, распад глюкозо-6-фосфата является источником энергии для организма. Кроме того, часть промежуточных продуктов окисления глюкозо-6-фосфата используется для синтеза аминокислот (а значит, и белков), нуклеотидов (а значит, и нуклеиновых кислот), глицерина и жирных кислот (а значит, и липидов), стеролов (стероидов) и т.д. Таким образом, можно считать, что глюкозо-6-фосфат в процессе своего окисления обеспечивает организм как энергией, так и строительным материалом для синтеза важных органических соединений, используемых в процессе жизнедеятельности.

Распад глюкозо-6-фосфата осуществляется преимущественно двумя путями. В одном случае на определенной стадии происходит распад шестиуглеродной молекулы на две трехуглеродные, т.е. пополам. Этот путь получил название дихотомического распада и осуществляется в процессе гликолиза. Второй путь состоит в потере глюкозо-6-фосфатом первого углеродного атома и последующих превращений и называется апотомическим распадом (или пентозофосфатным циклом или фосфоглюконатным путем или гексозомонофосфатным шунтом) и является прямым окислением глюкозо-6-фосфата.

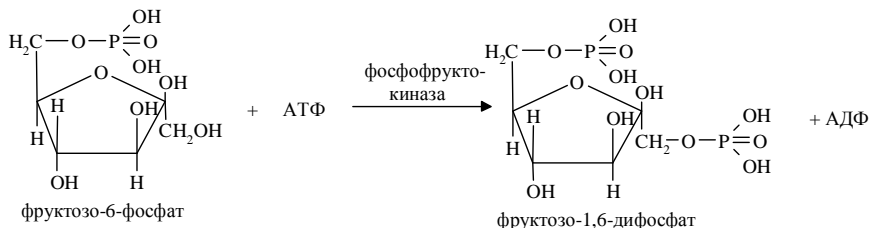
Вступая на дихотомический путь распада в процессе гликолиза глюкозо-6-фосфат прежде всего претерпевает изомеризацию и превращается в фрукто-

зо-6-фосфат. Это обратимая реакция катализируется фосфогексоизомеразой (глюкозофос-фатизомеразой).

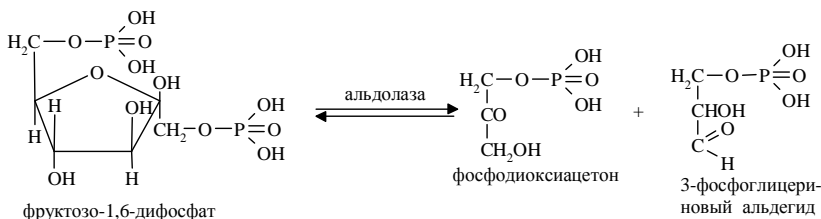


Фруктозо-6-фосфат далее фосфорилируется по первому углеродному атому, образуя фруктозо-1,6-дифосфат. Эта реакция катализируется фосфофруктокиназой в присутствии ионов магния  $Mg^{++}$  при обязательном участии АТФ (или ГТФ, ЦТФ, УТФ).

Фосфофруктокиназа представляет собой белок с высокой молекулярной массой  $M=360$  тыс. и является аллостерическим регуляторным ферментом, лимитирующим скорость гликолиза. Фосфофруктокиназа ингибируется АТФ и цитратом (в высоких концентрациях) и стимулируется АДФ и АМФ. Реакция, катализируемая этим ферментом, практически необратима.



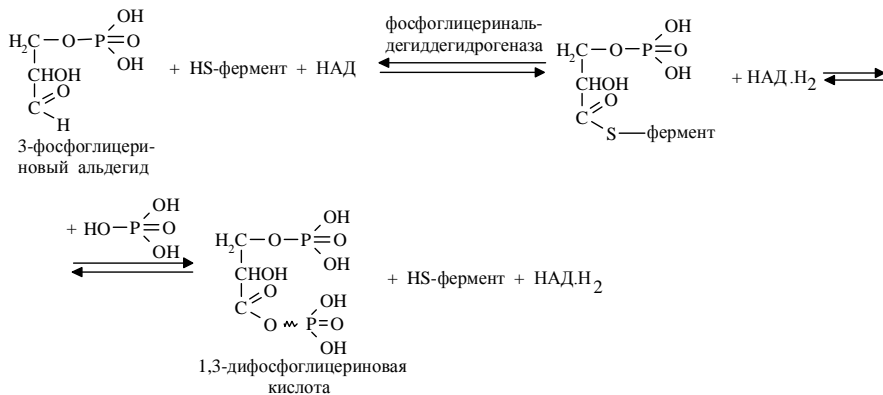
Фруктозо-1,6-дифосфат подвергается далее дихотомическому распаду на две фосфотриозы. Реакция катализируется альдозазой.



Образовавшиеся две фосфотриозы превращаются друг в друга под влиянием фермента триозофосфатизомеразы. Хотя при дихотомическом расщепле-

нии фруктозо-1,6-дифосфата получается равное количество той и другой фосфотриозы, в состоянии равновесия между ними преобладает фосфодиоксиацетон. Однако в дальнейшем в обмен может вступать только 3-фосфоглицериновый альдегид, расход которого восполняется за счет фосфодиоксиацетона, который практически нацело в него переходит.

Таким образом, из каждой молекулы фруктозо-1,6-дифосфата фактически возникает две молекулы 3-фосфоглицеринового альдегида. Обе молекулы 3-фосфоглицеринового альдегида дегидрируются с одновременным присоединением неорганического фосфата с помощью фермента фосфоглицеринальдегиддегидрогеназы в дифосфоглицериновую кислоту. Фермент получен в кристаллическом виде из дрожжей и скелетных мышц,  $M=118-150$  тыс. Молекула фермента составлена из четырех субъединиц двух типов с  $M=35$  тыс. Сравнительно недавно была расшифрована последовательность аминокислот в молекуле этого фермента. Каждая субъединица несет одну молекулу НАД и 4 свободные HS-группы, принадлежащие остаткам цистеина, входящих в состав активного центра фермента. Сначала фосфоглицериновый альдегид присоединяется к ферменту по одной из свободных HS-групп с последующим переносом двух атомов водорода на НАД.



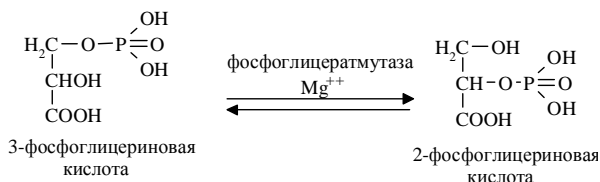
Фермент-субстратный комплекс далее спонтанно распадается в присутствии фосфорной кислоты с образованием 1,3-дифосфоглицериновой кислоты. При этом энергия, высвобождаемая при окислении альдегида, запасается в высокоэнергетической фосфатной группе 1,3-дифосфоглицериновой кислоты. Окисленный фермент реактивируется глутатионом или цистеином с образованием в ферменте свободных (восстановленных) HS-групп.

1,3-дифосфоглицериновая кислота под влиянием фермента фосфоглицераткиназы в присутствии АДФ переходит в 3-фосфоглицериновую кислоту,

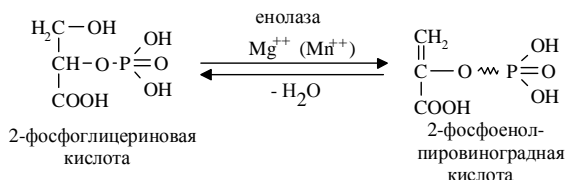
при этом происходит трансфосфорилирование (перенос остатка фосфорной кислоты на АДФ на высоком энергетическом уровне с образованием АТФ, т.е. происходит субстратное фосфорилирование.



Далее с помощью фермента фосфоглицератмутаза (фосфоглицератфосфомутаза) 3-фосфоглицериновая кислота превращается в 2-фосфоглицериновую кислоту, причем, в качестве «косубстрата» участвует 2,3-дифосфоглицериновая кислота, образуемая из 1,3-дифосфоглицериновой кислоты. Реакция протекает в присутствии ионов магния:



Из 2-фосфоглицериновой кислоты возникает 2-фосфоенолпировиноградная кислота благодаря каталитическому действию фермента енолазы (2-фосфоглицератгидролазы). Для действия фермента необходимо присутствие двухвалентных катионов ( $\text{Mg}^{++}$  или  $\text{Mn}^{++}$ ). При енолазной реакции, которая полностью обратима, происходит перераспределение энергии в субстрате, в результате чего образующаяся фосфоенолпировиноградная кислота имеет богатую энергией фосфатную связь.



Фосфоенолпировиноградная кислота под влиянием пируваткиназы в присутствии АДФ и ионов магния  $\text{Mg}^{++}$  (или  $\text{Mn}^{++}$ ) подвергается перефосфорили-

$$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{CO} \\ | \\ \text{COOH} \end{array} + \text{НАД.Н}_2 \xrightleftharpoons{\text{лактатдегидрогеназа}} \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{CHON} \\ | \\ \text{COOH} \end{array} + \text{НАД}$$

пировиноградная кислота
 
 молочная кислота



Молочная кислота – конечный продукт гликолиза в анаэробных условиях. Из каждой молекулы глюкозы образуется 2 молекулы молочной кислоты.

В анаэробных условиях пировиноградная кислота, образующаяся при дихотомическом распаде углеводов, становится акцептором атомов водорода, снимаемых фосфоглицеринальдегиддегидрогеназой с 3-фосфоглицеринового альдегида с помощью НАД и передаваемой затем НАД $\cdot$ H $_2$  на пировиноградную кислоту лактатдегидрогеназой. Регенерация окисленной формы НАД вследствие передачи двух атомов водорода с ее восстановленной формы на пировиноградную кислоту поддерживает течение гликолитического процесса. Последний неизбежно остановился бы, если бы все количество НАД оказалось насыщенным атомами водорода, ибо фосфоглицеринальдегиддегидрогеназа не могла бы осуществлять свою функцию. Следует заметить, что в аэробных условиях водород НАД $\cdot$ H $_2$  перехватывается системой дыхательных ферментов и направляется к кислороду, соединяясь с которым образует воду.

Полный набор ферментов гликогенолиза характерен для мышц и печени животных организмов. Однако, если в первых превалирует распад гликогена, то для второй (печени) более показателен его биосинтез.

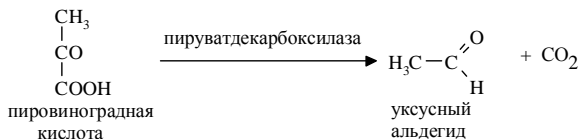
Молочная кислота (лактат) – конечный продукт гликолиза в анаэробных условиях. Из каждой молекулы глюкозы образуется две молекулы молочной кислоты. Она выделяется через плазматическую мембрану в окружающую среду и включается в обмен.

В аэробных условиях пировиноградная кислота окисляется. Первая стадия окисления состоит в ее окислительном декарбоксилировании с образованием ацетил-коэнзима А. Ацетил-коэнзим-А вовлекается в лимоннокислый цикл, сопряженный с дыхательной цепью и расщепляется до углекислоты и воды. При переключении обмена в аэробные условия от 1/5 до 1/6 общего количества молочной кислоты, возникшей при гликогенолизе, и, по-видимому, вся молочная кислота, образовавшаяся при гликолизе, окисляется до CO $_2$  и H $_2$ O. От 4/5 до 5/6 общего количества молочной кислоты гликогенолитического происхождения идет на ресинтез гликогена путем обращения реакции гликогенолиза. Энергия для этого синтеза черпается из реакций окисления, идущих в аэробных условиях.

Можно рассчитать энергетический итог анаэробного и аэробного расщепления углеводов, в частности, на примере окисления одной молекулы глюкозы. В анаэробной фазе при разложении каждой из двух молекул 1,3-дифосфоглицериновой кислоты и двух молекул 2-фосфоенолпировиноградной кислоты, образовавшихся из одной молекулы глюкозы, образуется в процессе субстратного фосфорилирования по одной молекуле АТФ, что в сумме составляет четыре молекулы АТФ. Две из них используются для фосфорилирования глюкозы и фруктозо-6-фосфата и, следовательно, чистый прирост АТФ составляет две молекулы АТФ. Если окисление глюкозы продолжается в аэробных усло-

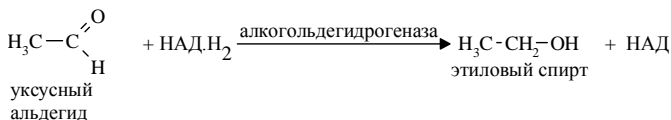
виях, то кроме указанных двух молекул АТФ, являющихся суммарным энергетическим итогом гликолиза, образуется еще шесть молекул АТФ как результат окисления двух молекул НАД.Н<sub>2</sub>, возникших при дегидрировании двух молекул 3-фосфоглицеринового альдегида. Еще 6 молекул АТФ образуется при окислении двух молекул НАД. Н<sub>2</sub> возникших в процессе окислительного декарбоксилирования двух молекул пировиноградной кислоты, возникших при катаболизме одной молекулы глюкозы. И, наконец, в лимоннокислом цикле в реакциях, сопряженных с дыхательной цепью при окислении каждой из двух образовавшихся молекул ацетил-КоА возникает по 12 молекул АТФ, а в сумме 24 молекулы АТФ. Таким образом, если принять, что все атомы водорода, снятые о субстратов при полном окислении молекулы глюкозы, будут направлены в дыхательную цепь ферментов и их дальнейшая передача на кислород пройдет сопряжено с фосфорилированием, то образуется максимально 38 молекул АТФ. В действительности окисление может быть и менее эффективным. На образование указанного числа молекул АТФ затрачивается менее половины (точнее 37,3%) свободной энергии, освобождаемой при окислении одной молекулы глюкозы до СО<sub>2</sub> и Н<sub>2</sub>О. Другая часть освобождающейся энергии рассеивается в форме теплоты.

У некоторых простейших организмов, в частности, в дрожжевых клетках, образующаяся в процессе дихотомического распада углеводов пировиноградная кислота под влиянием мощной декарбоксилазы пировиноградной кислоты (пируватдекарбоксилазы) способна в анаэробных условиях превращаться в уксусный альдегид и углекислый газ. Суммарную реакцию можно представить в следующем виде:



Декарбоксилаза пировиноградной кислоты (пируватдекарбоксилаза) в качестве простетической группы содержит тиаминпирофосфат. При декарбоксилировании пировиноградной кислоты в начале образуется оксиэтилтиаминпирофосфат и углекислота, а при распаде оксиэтилтиаминпирофосфата высвобождается уксусный альдегид и тиаминпирофосфат.

Уксусный альдегид восстанавливается за счет атомов водорода НАД.Н<sub>2</sub> до этилового спирта. Реакция катализируется ферментом алкогольдегидрогеназой:

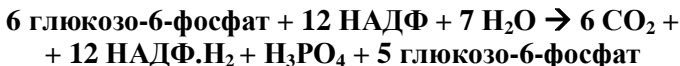


Конечным продуктом анаэробного обмена углеводов в этом случае является этиловый спирт. Процесс этот получил название спиртового брожения.

Кроме спиртового брожения у микроорганизмов существует ещё ряд специфических путей утилизации трехуглеродных соединений, возникающих в результате дихотомического распада углеводов. Сюда относятся молочнокислое и пропионовокислое брожение, ацетоновоэтиловое и ацетоновобутиловое брожение, маслянокислое брожение и др.

Помимо дихотомического распада глюкозо-6-фосфата, существует апотомический его распад (пентозофосфатный цикл, пентозный цикл, фосфоглюконатный путь). При апотомическом распаде глюкозо-6-фосфата не происходит образование фруктозо-1,6-дифосфата. Распад глюкозо-6-фосфата в этом случае начинается реакцией окисления его в 6-фосфоглюконолактон. Окисление состоит в отнятии двух атомов водорода от первого углеродного атома глюкозо-6-фосфата.

Акцептором водорода служит НАДФ, являющийся коферментом соответствующей дегидрогеназы. 6-фосфоглюконолактон при участии фермента глюконолактоназы гидролизуется до 6-фосфоглюконовой кислоты, которая претерпевает окислительное декарбоксилирование и превращается в рибулозо-5-фосфат, что сопровождается образованием  $\text{CO}_2$  и  $\text{НАДФ}\cdot\text{H}_2$ . Дальнейший обмен рибулозо-5-фосфата протекает весьма сложно. Многократно изомеризуясь, в частности, переходя в рибозо-5-фосфат и ксилулозо-5-фосфат, а также вступая в транскетолазные и трансальдолазные реакции, заключающиеся в переносе двууглеродных и трехуглеродных фрагментов от одного фосфорного эфира к другому, рибулозо-5-фосфат снова превращается в глюкозо-6-фосфат. Подсчитано, что из шести молекул рибулозо-5-фосфата получается 5 молекул глюкозо-6-фосфата. При этом в процессе реакций образуется фруктозо-6-фосфат и 3-фосфоглицериновый альдегид, которые могут не только превращаться дальше по апотомическому пути, но и вовлекаться в реакции гликолиза, что указывает на тесную связь пентозофосфатного пути превращения с гликолизом. Суммарный эффект всех реакций, осуществляющихся при апотомическом распаде глюкозо-6-фосфата, сводится к тому, что из каждой шести его молекул одна полностью распадается. Весь ход апотомического распада глюкозо-6-фосфата можно изобразить следующей суммарной реакцией:



Надо иметь в виду, что все шесть молекул  $\text{CO}_2$  образуются из C-1 атомов шести молекул глюкозо-6-фосфата, включающихся в пентозофосфатный цикл. Главное значение пентозофосфатного цикла состоит, во-первых, в том, что он поставляет НАДФ. $\text{H}_2$ . Восстановленный пиридиннуклеотид используется затем в самых разнообразных синтетических процессах, например, при синтезе жирных кислот, как источник богатых энергией электронов (именно поэтому пентозофосфатный цикл очень активен в тканях, где идет синтез жирных кислот), а также в различных реакциях гидроксилирования, протекающих, в частности, при синтезе стероидных гормонов и обезвреживании ксенобиотиков. Во-вторых, этот цикл обеспечивает образование пентозофосфатов из гексозофосфатов, а пентозы, как известно, необходимы для синтеза нуклеотидных коэнзимов и нуклеиновых кислот.

С помощью специально меченной по 1-му или 6-му углеродному атому глюкозы удалось установить роль отдельных путей распада углеводов в метаболизме различных тканей. Оказалось, что в печени глюкозо-6-фосфат распадается на 70-90% дихотомическим путем, тогда как в хрусталике, роговице глаз, лактирующих молочных железах, жировой ткани – преимущественно апотомическим путем. В жизнедеятельности многих микробов, и, что особенно важно, в фотосинтетических реакциях, протекающих в зеленых растениях, окисление гексозофосфата с образованием различных компонентов пентозного цикла имеет исключительно важное значение.

Итак, весь путь распада углеводов можно представить в виде ряда последовательных реакций, в которых глюкозо-6-фосфат занимает центральное место, а из промежуточных продуктов дальнейшего распада узловые позиции принадлежат пировиноградной кислоте и рибулозо-5-фосфату. Различные пути распада углеводов (апотомический, дихотомический распад, анаэробный и аэробный) связаны сложной зависимостью и преобладание того или иного пути определяется как видовыми особенностями организма, так и условиями жизнедеятельности.

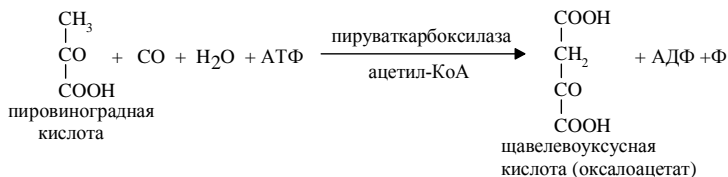
В частности, объём гликолиза в тканях находится в прямой зависимости от поступления кислорода: последний подавляет процесс образования молочной кислоты (так называемый пастеровский эффект). Даже в различных тканях и органах одного и того же организма соотношения путей распада углеводов могут быть различными. Общие же закономерности выражаются в том, что у подавляющего большинства организмов аэробный путь распада углеводов в общем превалирует над анаэробным, а дыхание подавляет гликолиз и брожение.

Дихотомическому распаду углеводов принадлежит в целом более видное место, чем апотомическому. Энергетический эффект распада углеводов наибольший при аэробном пути их расщепления.

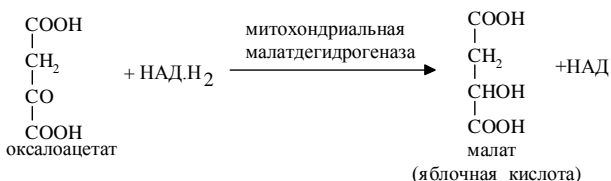
### 7.3. Биосинтез углеводов

В процессе метаболизма углеводов происходит не только их катаболизм, но и взаимопревращение углеводов, биосинтез углеводов из неуглеводных предшественников и синтез полисахаридов из моносахаридов.

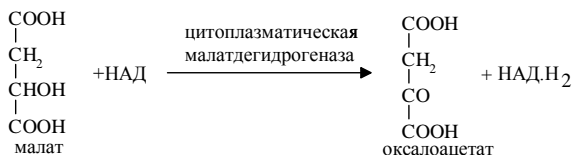
Общим центральным путем биосинтеза углеводов из неуглеводных предшественников является синтез глюкозы из пировиноградной кислоты, реализующийся путём обращения большинства реакций гликолиза. При этом для трех практически необратимых реакций (гексокиназной реакции, фосфофруктокиназной реакции и пируваткиназной реакции) существуют обходные ферментативные пути, обеспечивающие обратное превращение. В частности, внутри митохондрий пировиноградная кислота не может превратиться в фосфоенолпировиноградную кислоту путём обращения пируваткиназной реакции, и поэтому в начале под влиянием митохондриальной пируваткарбоксилазы пировиноградная кислота карбоксилируется в щавелево-уксусную кислоту. Реакция идёт при участии АТФ и положительного модулятора (активатора) фермента пируваткарбоксилазы – ацетил-КоА. Пируваткарбоксилаза является регуляторным ферментом. Реакция протекает в митохондриях.



Оксалоацетат восстанавливается затем в митохондриях в малат:



Малат переходит из митохондрий в цитоплазму (с помощью пермиаз), где окисляется цитоплазматической малатдегидрогеназой до оксалоацетата:

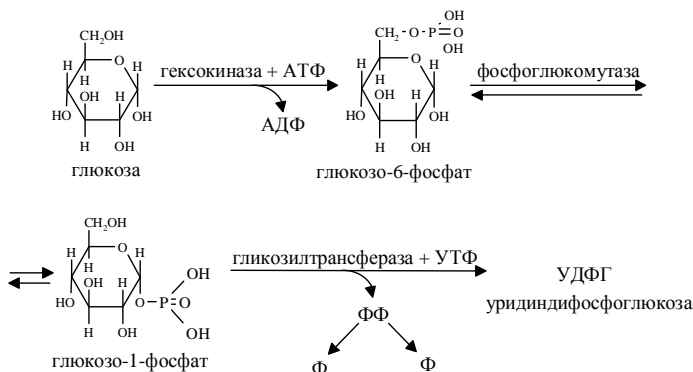


В процессе метаболизма углеводов происходит перестройка одного моносахарида в другой. Причем, многие биологически важные сахара могут образовываться не только в процесса апопомического распада углеводов, но и другим путем. Особенно реакционно-способными формами моносахаридов, наряду с их фосфорными эфирами, являются их соединения с пиримидиновыми нуклеотидами, в частности, с уридиндифосфатом. Моносахариды в соединении с уридиндифосфатом легко подвергаются изомеризации и гликозилтрансферазным реакциям. При участии уридиндифосфата осуществляются синтезы

дисахаридов. Уридиндифосфат принимает также участие в синтезе гликогена из глюкозы.

Как уже говорилось ранее, практически вся всосавшаяся из пищеварительного тракта глюкоза поступает в печень, где быстро при участии АТФ подвергается реакции фосфорилирования, катализируемой гексокиназой и далее может не только распадаться, но и участвовать в синтезе гликогена. В этом случае образовавшийся глюкозо-6-фосфат под влиянием фермента фосфоглюкомутазы переходит в глюкозо-1-фосфат. Образовавшийся глюкозо-1-фосфат уже непосредственно вовлекается в синтез гликогена.

Этот синтез, согласно Лелуару, осуществляется следующим путем. Глюкозо-1-фосфат в присутствии особого фермента (гликозилтрансферазы) вступает во взаимодействие с уридинтрифосфатом (УТФ) с образованием уридиндифосфоглюкозы (УДФ-Глюк.) и пиродифосфата. Последний под влиянием пиродифосфатазы немедленно подвергается гидролизу.



Далее в присутствии особой трансферазы, получившей название гликогенсинтетазы и «затравочного» количества гликогена (полиглюкозы, имеющей не менее четырех остатков глюкозы) происходит своеобразный ферментативный процесс – удлинение цепочки гликогена с невозстанавливающего конца с образованием 1-4 связи за счет присоединения остатков глюкозы, входящих в состав УДФ-глюкозы.



Образовавшийся УДФ затем вновь фосфорилируется за счет АТФ до УТФ и, таким образом, весь цикл превращения глюкозо-1-фосфата может начинаться сначала. Ветвление синтезируемой молекулы гликогена, как было показано А.Н. Петровой, осуществляется при участии особого фермента, катализирующего замыкание связей между 1 и 6 углеродными атомами остатков глюкозы-амилотрансгликозилазы.

#### **7.4. Нейрогуморальная регуляция углеводного обмена. Роль печени в углеводном обмене**

Существенная роль в углеводном обмене принадлежит печени. Синтезируемый гликоген с его огромным молекулярным весом (от нескольких сот до нескольких миллионов) может накапливаться в печени в значительных количествах (у человека около 150 г) без изменения осмотических условий в клетках, и, следовательно, является удобной формой депонирования глюкозы. По-видимому, в этой связи печень играет важнейшую роль в поддержании постоянства содержания глюкозы в крови.

Наряду с печенью, значительное место в регуляции обмена углеводов принадлежит периферическим органам и прежде всего мышцам, усиленно потребляющим глюкозу. Однако в первую очередь печень сглаживает колебания уровня сахара, возникающие из-за неравномерного поступления его в кровь. При повышении концентрации сахара в крови печень забирает глюкозу и фиксирует её в виде гликогена, при снижении она «мобилизует» гликоген, переводя его через глюкозо-1-фосфат в глюкозо-6-фосфат и далее с помощью фермента фосфатазы (глюкозо-6-фосфатазы) в свободную глюкозу и фосфорную кислоту. При этом не образуется декстринов и мальтозы, что характерно для гидролитического расщепления гликогена. Одновременно в печени усиливается глюконеогенез, т.е. образование глюкозы главным образом из безазотистых остатков некоторых аминокислот. При помощи этих противоположных процессов печень поддерживает постоянство уровня сахара в крови. Процесс синтеза и распада гликогена в печени осуществляется при регулирующем воздействии гормонов на аденилат- и гуанилатциклазные механизмы гепатоцитов, с



помощью которых меняется активность внутриклеточных ферментов, принимающих участие в углеводном обмене (фосфорилаза, гликогенсинтетаза). В фиксировании глюкозы в печени на первом месте по значению стоит гексокиназа (глюкокиназа), катализирующая фосфорилирование глюкозы в глюкозо-6-фосфат и тем самым снижающая уровень свободной глюкозы в крови. Уровень сахара в крови (норма 80-120 мг%; 3,33-5,55 ммоль/л) влияет на скорость образования глюкозо-6-фосфата путем изменения активности гексокиназы. При гипергликемии (т.е. содержании глюкозы в крови выше нормы) активность гексокиназы увеличивается; при гипогликемии (т.е. содержании глюкозы в крови ниже нормы) она, наоборот, понижается.

Таким образом, ферменты обмена углеводов выполняют регуляторные функции по поддержанию постоянства уровня глюкозы в крови, имеющего важное физиологическое значение. Гипогликемия создает острую опасность нарушения снабжения центральной нервной системы глюкозой, что приводит к глубокому обмороку и смерти. Гипергликемия ведет к потере глюкозы с мочой. Гипо- и гипергликемия, особенно гипергликемия, в ряде случаев является признаком патологического состояния организма.

Помимо механизмов внутриклеточной регуляции процессы обмена углеводов у человека и животных регулируются нервной системой и гормонами.

Установлено, что важную роль в регуляции углеводного обмена занимает продолговатый мозг и гипоталамическая область. Большое значение в регуляции углеводного обмена принадлежит коре больших полушарий головного мозга. Хорошо известно, что факторы психогенного характера приводят к усилению сахарообразования в печени и гипергликемии. Гипергликемия может быть вызвана условнорефлекторным путем, что также указывает на участие коры больших полушарий в регуляции углеводного обмена. Импульсы от высших метаболических центров, расположенных в гипоталамической области, распространяются по симпатическим нервам и приводят к усилению инкреции мозговым веществом надпочечников адреналина, стимулирующего процесс глюкозообразования из гликогена в печени и повышения сахара в крови. С другой стороны, в блуждающих нервах содержатся волокна, возбуждающие инкрецию инсулина бета-клетками островков Лангерганса поджелудочной железы, что ведет к снижению уровня сахара крови.

Таким образом, регулирующее действие нервной системы на обмен углеводов осуществляется, главным образом, через воздействие на инкрецию эндокринных желез, которые с помощью гормонов регулируют активность ферментов.

Особенно важны для регуляции углеводного обмена такие эндокринные железы, как поджелудочная железа, кора и мозговое вещество надпочечников, передняя доля гипофиза, щитовидная железа.

Инсулин – гормон  $\beta$ -клеток поджелудочной железы – единственный гормон, снижающий уровень сахара в крови. Его действие распространяется на мышечную и жировую ткани, а также на печень. Инсулин в печени в присутствии углеводов обладает гликогеностатическим действием. При недостаточности инсулина наблюдается повышение уровня глюкозы в крови (гипергликемия), избыточное выделение глюкозы с мочой (глюкозурия) и понижение содержания гликогена в печени. Мышечная и печеночная ткани утрачивают способность усваивать глюкозу. Одновременно подавляется биосинтез жирных кислот из глюкозы и ацетата и биосинтез белков. Недостаточность инсулина приводит к резкому снижению активности глюкокиназы и уридиндифосфотрансгликозидазы в печени. Наблюдается усиленный синтез ферментов, участвующих в глюконеогенезе из аминокислот и последний возрастает. Описанная картина недостаточности инсулина особенно сильно выражена при перерождении островков Лангерганса поджелудочной железы, в  $\beta$ -клетках которых вырабатывается инсулин. Это заболевание получило название диабета или сахарного мочеизнурения.

Если в печени действие инсулина на углеводный обмен развивается медленно, то в мышцах проявляется сравнительно быстро. Здесь этот гормон ускоряет метаболизм глюкозы. Он повышает окисление глюкозы и образование гликогена. Тонкий механизм действия инсулина в мышцах связывается прежде всего с повышением проницаемости клеточных мембран для глюкозы. При недостаточности инсулина замедленное поступление глюкозы в мышечную клетку, вероятно, лимитирует ее метаболизм. С повышением проницаемости мембран, вызванной инсулином, возрастает поступление глюкозы в мышечные клетки и одновременно увеличивается скорость ее окисления. Полагают, что инсулин участвует в регуляции синтеза мембранных систем переноса глюкозы и других метаболитов, увеличивая скорость образования специфических информационнх РНК на рибосомах, кодирующих эти ферментные системы.

Гормоны коркового слоя надпочечников, влияющие на углеводный обмен (глюкокортикоидные гормоны: гидрокортизон, кортизон, кортикостерон), также действуют в печени и мышцах. Эти гормоны служат как бы антагонистами инсулина, их повышающее действие на уровень сахара крови основано на: увеличении скорости глюконеогенеза в печени и замедлении обмена глюкозы в периферических органах. Глюкокортикоидные гормоны повышают катаболизм белков в печени и тем самым способствуют образованию глюкозы из безазотистых фрагментов аминокислот (глюконеогенез). Под влиянием этих гормонов происходит также активирование фосфатазы (глюкозо-6-фосфатазы), благодаря чему из глюкозо-6-фосфата усиливается образование свободной глюкозы и ее выход из печени. На периферии, т.е. в мышцах, глюкокортикоидные гормоны замедляют окисление глюкозы и препятствуют образованию гликогена. По-видимому, это связано со способностью гормонов влиять на

скорость фосфорилирования глюкозы, но механизм их действия до конца не расшифрован.

Существенно влияние на углеводный обмен оказывает адреналин – гормон мозгового вещества надпочечников, и глюкагон – гормон поджелудочной железы, вырабатываемый в её  $\alpha$ -клетках.

Адреналин вызывает повышение уровня сахара крови. Он особенно усиленно вырабатывается в момент резкого снижения концентрации глюкозы в крови. Адреналин мобилизует гликоген в печени и мышцах. В печени это приводит к выходу свободной глюкозы в кровь, а в мышцах вследствие отсутствия глюкозо-6-фосфатазы – к повышенному образованию молочной кислоты. Адреналин, повышая содержание молочной кислоты в крови, приводит к перераспределению гликогена из мышц в печень. Ускоренная мобилизация (распад) гликогена под влиянием адреналина объясняется его способностью ускорять как в печени, так и мышцах (при участии аденилатциклазного механизма) превращение неактивной фосфоорилазы (фосфоорилазы В) в её активную форму (фосфоорилазу А). Одновременно имеет место подавление гликогенсинтетазной активности.

Глюкагон, как и адреналин, увеличивает концентрацию сахара в крови. Глюкагон действует исключительно на печень. Здесь он, подобно адреналину, ускоряет превращение фосфоорилазы В в фосфоорилазу А.

Передняя доля гипофиза продуцирует два гормона, которые имеют отношение к регуляции углеводного обмена: аденокортикотропный и соматотропный. Оба эти гормона по-существу действуют на обмен углеводов опосредованно. Аденокортикотропный гормон стимулирует деятельность коры надпочечников и, таким образом, он выступает как антагонист инсулина. Соматотропный гормон действует и как антагонист, и как синергист инсулина. Он тормозит метаболизм глюкозы на периферии и глюконеогенез и одновременно, анаболически действуя на белковый обмен, ускоряет синтез инсулина в поджелудочной железе.

### 7.5. Фотосинтез

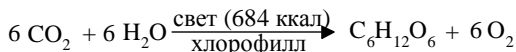
В отличие от животных организмов растения и некоторые микроорганизмы способны синтезировать углеводы и другие органические вещества из углекислоты и воды, используя энергию солнечных лучей. Этот процесс подучил название фотосинтеза. Фотосинтез – основной процесс жизни, без которого она, по-видимому, вряд ли возможна на земле. При помощи содержащегося в хлоропластах хлорофилла и др. пигментов зеленые растения поглощают энергию солнечного света, испускаемую в виде фотонов (квантов световой энергии) и превращают ее в химическую энергию – энергию химических связей синтезируемых органических веществ.

Механизм фотосинтеза во многом сходен с механизмом биологического окисления, поскольку преобразование световой энергии в химическую происходит через процессы переноса электронов и сопряженного с ним фосфорилирования и оба процесса протекают в особых, похожих друг на друга по структуре и функциям органеллах клетки – в хлоропластах при фотосинтезе и в митохондриях при тканевом дыхании. Вместе с тем имеются и существенные различия, что видно из сопоставления этих двух процессов. Фотосинтез в какой-то мере представляет собой обратный процесс дыхания.

**Таблица 3 – Различия между фотосинтезом и биологическим окислением (тканевым дыханием)**

Фотосинтез	Тканевое дыхание
1. Возможен только при наличии света	1. Не зависит от наличия света
2. Протекает периодически.	2. Протекает непрерывно
3. Используется $\text{CO}_2$ и $\text{H}_2\text{O}$	3. Используется молекулярный $\text{O}_2$
4. Освобождается $\text{O}_2$	4. Освобождается $\text{CO}_2$
5. Происходит распад воды	5. Происходит образование воды
6. Реакция идёт с поглощением энергии: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{энергия} \rightarrow \text{пищевые вещества} + \text{O}_2$	6. Реакция идёт с выделением энергии: $\text{пищевые вещества} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{энергия}$

В растениях при фотосинтезе в классическом толковании этого понятия с помощью энергии солнечного света и при участии улавливающих свет пигментов (хлорофилла и др.) из  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  образуются органические вещества (первично – глюкоза) с одновременным освобождением молекулярного кислорода. При этом для восстановления 1 моля  $\text{CO}_2$  затрачивается 112 ккал, предоставляемые 6-10 квантами света. Процесс фотосинтеза может быть выражен следующей суммарной реакцией (в упрощенном виде):



Из этой реакции следует, что вода является источником как водорода (протонов и электронов), акцептируемого  $\text{CO}_2$ , так и кислорода, выделяющегося в окружающую среду. Следует заметить, что за счет этого кислорода идет пополнение кислородом атмосферы. Значительная часть кислорода, образовавшегося при фотосинтезе, используется (восстанавливается) в процессе митохондриального дыхания в клетках зелёных растений.

В результате биохимических исследований выяснилось, что приведенная реакция фотосинтеза представляет собой сложную цепь процессов, которую можно разбить на две основные фазы: протекающую на свету (световая или фотохимическая фаза) и идущую в темноте (темновая или термохимическая фаза). На первой стадии фотосинтеза происходит под влиянием света восста-

новление НАДФ и фосфорилирование АДФ до АТФ, во второй стадии НАДФ.Н<sub>2</sub> и АТФ используются для восстановления СО<sub>2</sub> до гексозы.

Фотосинтез происходит в тилакоидах – уплощенных пузырьках, образующих внутреннюю мембрану хлоропластов и уложенных стопками в виде гран поперек хлоропласта. В гранах находятся все пигменты фотосинтеза (один или несколько классов хлорофилла, каротиноиды, фикобилины), а также ферменты, необходимые для первичных световых реакций. Пигменты фотосинтеза организованы в два функциональных ансамбля, связанных с определенной цепью переноса электронов, куда входят витамин К, цитохромы, флавопротеиды и др. Эти функциональные системы получили название фотосистем I и II. Фотосистема I индуцируется длинноволновой пигментной системой, а фотосистема II – коротковолновой.

В световую фазу фотосинтеза в результате поглощения света ансамблем пигментов происходит их переход в возбужденное состояние, связанное с переходом электронов в молекуле пигментов на более высокий энергетический уровень. В дальнейшем согласно Д. Арнона эта энергия, благодаря совместному функционированию обеих фотосистем, обеспечивает перенос электронов от воды (как донора электронов в результате ее фотолиза) через цепь переносчиков на НАДФ, восстанавливая его. Иначе говоря, энергия света с помощью фотосинтетического механизма направляет суммарный поток электронов против градиента редокс-потенциала окислительно-восстановительных систем, т.е. в сторону более электроотрицательного и более богатого энергией состояния.

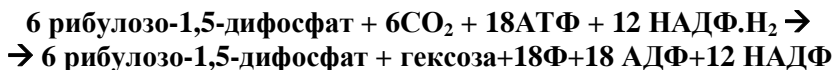
Перенос электронов от Н<sub>2</sub>О через хлорофилл к НАДФ получил название нециклического потока электронов. Кроме того, в фотосинтетическом аппарате различают циклический поток электронов, связанный с функционированием хлоропластов под влиянием света в отсутствие доноров электронов. В настоящее время считается, что оба индуцируемых светом потока электронов (циклический и нециклический) сопровождается фосфорилированием АДФ в АТФ.

Синтезируемый в световую фазу НАДФ.Н<sub>2</sub> и АТФ, точнее – энергия в них аккумулированная, как показал Д. Арнон, используется для связывания двуокиси углерода и восстановления ее до углеводов. Эти последующие реакции протекают в темноте и собственно являются темновым химическим процессом.

Установлено, что восстановление углекислого газа при фотосинтезе является весьма сложным процессом.

Экспериментальные исследования Кальвина показали, что первичным улавливаемым продуктом фотосинтеза является 3-фосфоглицериновая кислота. 3-фосфоглицериновая кислота является, как известно, промежуточным продуктом гликолиза и путем обращения стадий гликолиза при использовании НАДФ.Н<sub>2</sub> и АТФ 3-фосфоглицериновая кислота легко превращается в глюко-

зу. Образование 3-фосфоглицериновой кислоты в зеленых растениях объясняется эффектом действия особого фермента – карбоксидисмутаза (рибулозодифосфаткарбоксидисмутаза или рибулосодифосфаткарбоксилазы), находящимся на поверхности тилакоидов в хлоропластах. Карбоксидисмутаза катализирует карбоксилирование и гидролитическое расщепление рибулосо-1,5-дифосфата с образованием двух молекул 3-фосфоглицериновой кислоты. При этом ферментом связывается свободная  $\text{CO}_2$ , а не ион  $\text{HCO}_3^-$ . Согласно Кальвину образование рибулосо-1,5-дифосфата и в последующем образование гексоз из 3-фосфоглицериновой кислоты идет за счет энергии НАДФ. $\text{H}_2$  и АТФ с помощью процесса, включающего реакции фосфоглюконатного и гликолитического путей. В этом процессе одна молекула рибулосо-1,5-дифосфата регенерируется при восстановлении одной молекулы  $\text{CO}_2$  до гексозы. В конечном счете с помощью функционирования цикла Кальвина за счет АТФ и НАДФ. $\text{H}_2$ , образованных в световой фазе фотосинтеза, шесть молекул  $\text{CO}_2$  в темновую фазу фотосинтеза превращаются в одну молекулу глюкозы с регенерацией 6 молекул рибулосо-1,5-дифосфата. Суммарное уравнение этого сложного цикла можно представить в следующем виде:



Из этого уравнения следует, что при превращении в глюкозу на каждую молекулу  $\text{CO}_2$  требуется 2 молекулы НАДФ. $\text{H}_2$  и 3 молекулы АТФ. Для ассимиляции 1 молекулы  $\text{CO}_2$  необходимо 6-10 квантов света.

В настоящее время считается, что цикл Кальвина является главным путем фотосинтеза.

Фотосинтетический цикл тесно связан с биологическим окислением, азотистым обменом и другими видами обмена веществ. Так, например, из фосфоглицериновой кислоты может образоваться фосфоенолпируват и пируват, дающий при аминировании аланин. Карбоксилирование фосфоенолпирувата и пирувата ведет к образованию щавелево-уксусной и далее аспарагиновой кислоты. Все эти соединения можно рассматривать как продукты фотосинтеза. Таким образом, из продуктов превращения углеводов, образовавшихся благодаря фотосинтезу, в растениях синтезируются все основные виды органических веществ.

## 8. Обмен липидов

### **8.1. Общая характеристика. Переваривание жиров. ресинтез липидов в кишечном эпителии**

Липиды играют большую роль в энергетических процессах, структурных образованиях организма и выполняют ряд важнейших функций. Соединяясь с высокомолекулярными веществами (белками, углеводами) липиды образуют структуры (к примеру – мембраны), осуществляющие ряд важнейших функций. Сочетание ненасыщенных жирных кислот (линолевой, линоленовой, арахидоновой и, возможно, др.) выполняют роль витаминов (витамин F). Группа из 24 ненасыщенных жирных кислот, содержащих 20 атомов углерода в цикле или развернутой цепи выполняет функцию клеточных гормонов, получивших название простагландинов.

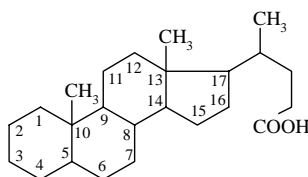
В питании человека жиры имеют преимущественно энергетическое значение (9,3 ккал на 1 г). Липиды могут образовывать в животном организме большой энергетический резерв.

Поступающие в организм с пищей липиды гидролизуются липазами желудочно-кишечного тракта, что и составляет процесс переваривания липидов в пищеварительном тракте. Очень активная липаза продуцируется поджелудочной железой. Она проявляет свое действие при слабо щелочных значениях pH, имеющих место при пищеварении в тонком кишечнике. В гидролизе жиров участвует и липаза, выделяемая тонким кишечником. Меньшее значение имеет желудочная липаза, действующая при слабо кислой реакции среды. Все эти липазы являются гидролазами.

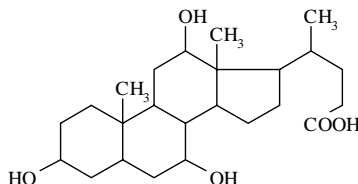
Действие липаз возможно только после эмульгирования жиров. Желудочная липаза гидролизует лишь природно эмульгированные жиры молока. Гидролиз основного количества пищевых жиров происходит в тонком кишечнике. Первичное эмульгирование жиров производится в полости кишечника под влиянием мелких пузырьков углекислого газа, обильно выделяющегося при нейтрализации соляной кислоты пищевой кашицы бикарбонатами поджелудочного сока. Способствуют эмульгированию жиров и соли жирных кислот (мыла), которые возникают в результате действия липаз. Однако основную роль в эмульгировании жиров пищи играет щелочно реагирующие соли желчных кислот, выделяемых с желчью в просвет кишечника. Адсорбируясь на поверхности капелек жира, желчные кислоты, с одной стороны, образуют на них тончайшую пленку, препятствующую слиянию капелек жира в более крупные капли, а с другой стороны, резко уменьшают поверхностное натяжение на поверхности двух фаз – воды и жира, что способствует дроблению капель жира

на более мелкие капельки. Все это облегчает ферментативный гидролиз жира. Одновременно желчные кислоты активируют липазы.

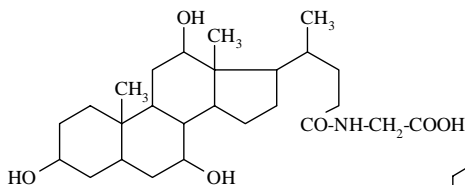
Желчные кислоты можно рассматривать как производные холановой кислоты. К числу желчных кислот относятся: холевая (3,7,12-тригидрокси-холановая), дезоксихолевая (3,12-дигидроксихолановая), литохолевая (3-гидроксихолановая) и хенодезоксихолевая (3,7-дигидроксихолановая).



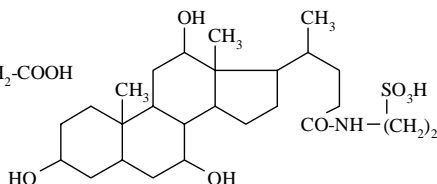
холановая кислота

холевая кислота  
(3,7,12-тригидроксихолановая кислота)

В желчи человека содержатся, главным образом, натриевые соли парных желчных кислот: гликохолевой, гликодезоксихолевой, гликохенодезоксихолевой (2/3-4/5 всех желчных кислот), и таурохолевой, таурodeзоксихолевой и таурохенодезоксихолевой (1/3-1/5 всех желчных кислот). Эти соединения состоят из соответствующей желчной кислоты и гликокола или таурина, соединенных между собой пептидной связью.



гликохолевая кислота



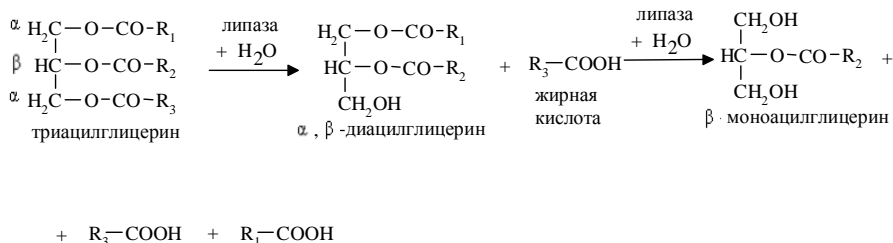
таурохолевая кислота

В результате воздействия на жиры желчных кислот в кишечнике образуется очень тонкая эмульсия, диаметр частиц которой может не превышать 0,5 мкм. Образование такой тонкой эмульсии способствует присутствию свободных жирных кислот и моноглицеридов. Столь тонко эмульгированные жиры в состоянии в довольно значительных количествах проходить без расщепления через стенку кишечника и попадать в лимфатическую систему. Однако большая часть эмульгированного жира всасывается после гидролитического расщепления панкреатической липазой на глицерин и высшие жирные кислоты.

Гидролиз является первой фазой обмена жиров (триацилглицеринов). Гидролиз триацилглицеринов (триглицеридов) идет ступенчато. Сначала под



действием липазы распадаются внешние сложноэфирные связи ( $\alpha$ -эфирные связи).



$\beta$ -моноголициды ( $\beta$ -моноацилглицерины) всасываются стенкой кишечника и либо идут на ресинтез триглицеридов уже в кишечной стенке, либо распадаются далее под действием кишечной липазы или в эпителиальных клетках – под влиянием моноголицидлипазы. Образующийся в результате гидролиза жиров глицерин и жирные кислоты с короткой углеродной цепью (менее 10 углеродных атомов) всасываются, поступают в кровь и переносятся током крови в печень.

Что касается жирных кислот с длинной углеродной цепью, то они трудно растворяются в воде и всасываются в виде мицелл, в которых жирные кислоты окружены гидрофильной оболочкой из желчных кислот и фосфолипидов.

Мицеллы поступает в эпителиальные клетки кишечных ворсинок и там расщепляются на жирные и желчные кислоты. Освободившиеся желчные кислоты либо вновь поступает непосредственно в просвет кишечника (как считают некоторые исследователи), либо попадают в просвет кишечника, пройдя более сложный путь: кровь – печень – желчный пузырь – секретируемая желчь. Постоянная циркуляция желчных кислот обеспечивает всасывание большого количества жира при сравнительно небольшой выработке печенью желчных кислот. У человека общий пул желчных кислот составляет примерно 2,8-3,5 г, при этом они совершают 5-6 оборотов в сутки.

В кишечном эпителии происходит частичный ресинтез жиров, специфичных для данного вида животного организма, из жирных кислот с длинной углеродной цепью и из  $\beta$ -моноацилглицеринов. Здесь же происходит включение жирных кислот в фосфатиды, т.е. синтез фосфолипидов, преимущественно в лецитин, которые можно рассматривать как транспортную форму жирных кислот.

Из эпителиальных клеток ресинтезированные фосфолипиды и жиры в форме мельчайших жировых капелек, окруженных белками (так называемые хиломикроны), попадают в лимфатические пространства, а оттуда в лимфатические сосуды. Именно хиломикроны вызывает молочное помутнение лимфы

и опалесценцию плазмы. По грудному лимфатическому протоку хиломикроны поступают в кровоток и транспортируются в печень и жировые депо. В крови триглицериды хиломикронов подвергаются гидролизу под влиянием липопротеидлипазы. В жировой ткани гидролиз триглицеридов хиломикронов происходит под влиянием липопротеидлипазы на поверхности эндотелия капилляров жировой ткани. Образующиеся жирные кислоты, связываясь альбуминами плазмы крови, затем транспортируются кровью в различные ткани (прежде всего в мышцы и сердце, где служат источником энергии). Часть жиров непосредственно всасывается в кровь, минуя лимфатическую систему и попадает в печень. Фактором, растворяющим и транспортирующим жиры, служат в крови  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобулины, а также альбумины, которые, связываясь с липидами, образует липопротеиды, синтез которых осуществляется в кишечном эпителии и печени. В дальнейшем, по мере энергетических запросов, жиры из жировых депо поступают в другие ткани, главным образом, в печень, где подвергаются окислительному расщеплению до конечных продуктов обмена.

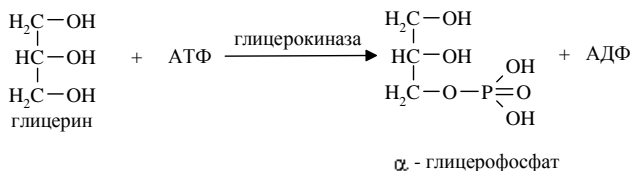
Переваривание и всасывание липоидов также происходит в тонком кишечнике. Стериды ферментативно гидролизуются на стеролы (циклические спирты) и высшие жирные кислоты. Как и высшие жирные кислоты, стеролы, в частности, холестерол (холестерин), плохо растворяются в воде и всасываются в виде комплекса с желчными кислотами.

Фосфолипиды, например, лецитин, посредством ферментативного гидролиза расщепляется на глицерин, жирные кислоты, фосфорную кислоту и холин. Некоторые исследователи считают, что расщепление на компоненты фосфатидов происходит под влиянием особых фосфолипаз  $A_1$ ,  $A_2$ , C и D, воздействующих каждая на определенные связи: фосфолипаза  $A_1$  – на эфирную связь в положении 1 глицерофосфолипида, фосфолипаза  $A_2$  – на эфирную связь в положении 2 глицерофосфолипида; при этом могут образовываться токсичные лизофосфолипиды, накопление которых в кишечнике предотвращается в случае одновременного действия обеих фосфолипаз  $A_1$  и  $A_2$ ; фосфолипаза C вызывает гидролиз связи между фосфорной кислотой и глицерином, а фосфолипаза D расщепляет эфирную связь между азотистым основанием и фосфорной кислотой.

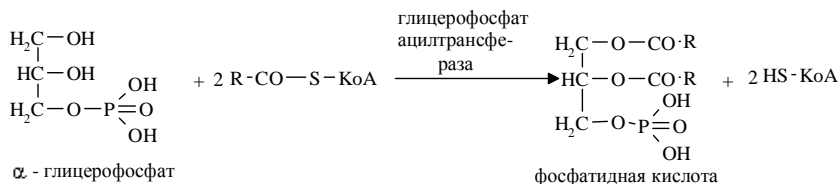
Образовавшиеся компоненты фосфатидов далее всасываются. Механизм всасывания глицерина и жирных кислот уже был рассмотрен выше. Фосфорная кислота всасывается кишечной стенкой главным образом в виде натриевых и калиевых солей. Не совсем ясно, в какой форме всасываются азотистые основания, в частности, холин. Липоиды, главным образом, фосфатиды, всасываясь, переходят не столько в лимфатические пути, сколько в кровеносные капилляры.

Как уже говорилось выше, в клетках кишечного эпителия из продуктов гидролиза пищевых липидов и частично доставляемых с током крови и синте-

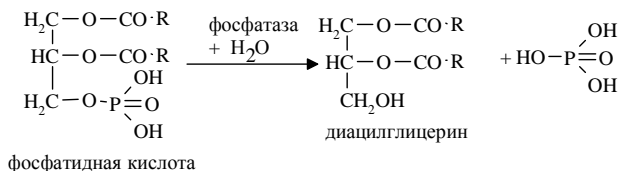
зируемых на месте вновь ресинтезируются липиды, в значительной мере специфичные для данного вида животного. Механизм синтеза жира (нейтрального) и липоидов (лецитина) можно описать следующим образом. Прежде всего, глицерин фосфорилируется. Донором остатка фосфорной кислоты служит АТФ. Процесс катализируется соответствующей фосфотрансферазой (глицерокиназой):



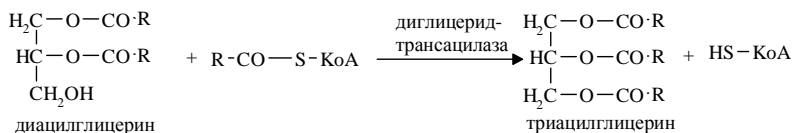
Высшие жирные кислоты вступают в ресинтез триацилглицеринов в активированной форме – в виде ацил-КоА, реакция катализируется ацилтрансферазой (глицерофосфатацилтрансферазой):



При участии фосфатазы (фосфотидатфосфогидролазы) фосфатидная кислота гидролизуется с образованием диглицерида и фосфорной кислоты:

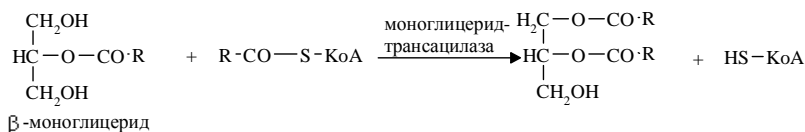


Диглицерид (диацилглицерин) снова вступает в реакцию с ацил-КоА и образуется триглицерид (триацилглицерин). Реакция катализируется диглицеридтрансацилазой.

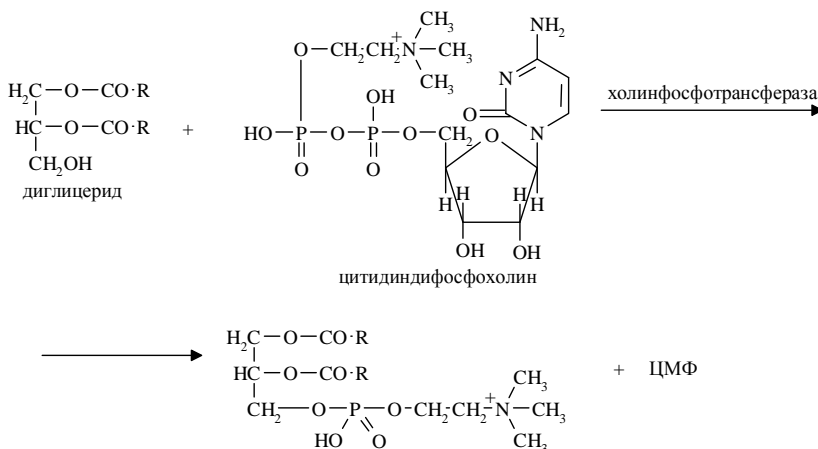


Описанный путь ресинтеза триглицеридов получил название фосфатидного пути ресинтеза.

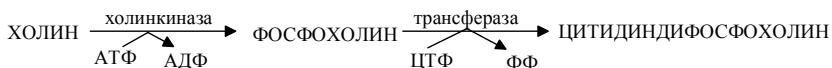
Для слизистой оболочки кишечника также характерен синтез триглицеридов из  $\beta$ -моноголицеридов при посредстве весьма активной моноголицеридтрансацилазы. Вначале образуется диглицерид, который далее превращается в триглицерид при каталитическом участии диглицеридтрансацилазы. Моноголицеридный тип биосинтеза энергетически вдвое выгоднее фосфатидного пути.



При ресинтезе липоидов, в частности, фосфатидов (лецитина), все идет также вплоть до образования диглицеридов. Однако дальше в случае ресинтеза фосфатидов на свободную гидроксильную группу диглицерида присоединяется остаток фосфохолина, который переносится из состава цитидиндифосфохолина при участии фермента холинфосфотрансферазы.



Цитидиндифосфохолин образуется в результате фосфорилирования холина за счет АТФ и последующей реакции с цитидинтрифосфатом. Цитидиндифосфохолин выполняет в процессе образования лецитина (и вообще фосфолипидов) каталитическую функцию, перенося остатки фосфохолина на диглицерид (его можно рассматривать в качестве кофермента холинфосфотрансферазы).



### 8.2. Катаболизм липидов в тканях

Отложившиеся в жировых депо липиды по мере надобности могут вновь переходить в плазму крови (так называемая мобилизация жира), после чего они используются тканями в качестве энергетического или пластического (строительного) материала. Главным эндогенным источником липидов, используемых в качестве метаболического «топлива» служит резервный жир (в основном – триацилглицерины), содержащийся в цитоплазме клеток в форме капелек. Другой источник – фосфатиды мембран, подвергающиеся непрерывному обновлению.

Первым этапом использования жира в тканях в качестве энергетического материала является его расщепление с образованием глицерина и высших жирных кислот. Процесс этот катализируется тканевыми липазами. Различают несколько липаз, из которых триглицеридлипаза является гормонозависимой, т.е. активизируется гормонами с помощью аденилатциклазной системы (гормон → аденилатциклаза → цАМФ → протеинкиназа → фосфорилированная триглицеридлипаза). Фосфорилированная (активная) триглицеридлипаза расщепляет триглицерид на диглицерид и жирную кислоту. Затем под действием ди- и моноглицеридлипаз образуются конечные продукты липолиза – глицерин и жирные кислоты. В дальнейшем глицерин и жирные кислоты окисляются в тканях до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Освобождающаяся при этом химическая энергия частью накапливается в ангидридных фосфатных связях АТФ, а частью переходит в тепло.

Глицерин независимо от того поступит ли он на ресинтез жиров или будет претерпевать дальнейший распад, прежде всего фосфорилируется. Донором остатка фосфорной кислоты в этой реакции служит АТФ. Процесс ускоряется соответствующей фосфотрансферазой, получившей название глицерокиназы.

Фосфоглицерин (глицерофосфат) окисляется в тканях в фосфоглицериновый альдегид через фосфодиоксиацетон. Последний вступает в обменные реакции, рассмотренные ранее при изучении обмена углеводов: фосфоглицериновый альдегид – 1,3-дифосфоглицериновая кислота – 3-фосфоглицериновая

кислота – 2-фосфоглицериновая кислота – фосфоенолпировиноградная кислота – пировиноградная кислота.

Пировиноградная кислота путем окислительного декарбоксилирования переходит в ацетил-КоА, который вовлекается в лимоннокислый цикл, сопряженный с цепью дыхательных ферментов, и окисляется до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . При окислении глицерина до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  возникает вначале при окислении фосфоглицеринового альдегида три молекулы АТФ, одна молекула АТФ синтезируется при окислении 1,3-дифосфоглицериновой кислоты и одна молекула АТФ образуется при окислении 2-фосфоенолпировиноградной кислоты, наконец, 15 молекул АТФ образуется при окислении пировиноградной кислоты в лимоннокислом цикле. Таким образом, принимая во внимание, что одна молекула АТФ затрачивается на фосфорилирование глицерина, за счет окисления глицерина (при условии, что все атомы водорода, снятые дегидрогеназами, идут в дыхательную цепь ферментов, функционирующую сопряжено с окислительным фосфорилированием) образуется 19 молекул АТФ.

### **8.3. Окисление жирных кислот**

Окисление высших жирных кислот происходит иначе. Первые гипотезы относительно механизма их распада высказаны были вначале нашего столетия Кнопом в 1904 году. В дальнейшем они были уточнены и развиты благодаря работам Линена, Грина, Очоа, Кеннеди, Ленингера.

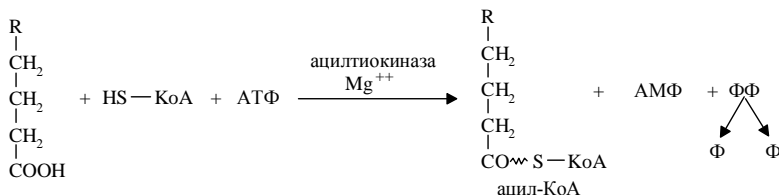
Установлено, что окисление жирных кислот происходит в мышечной ткани, в том числе и в сердечной мышце внутримитохондриально. Жирные кислоты поступают сюда либо из кровяного русла, по которому они переносятся в связанной с сывороточным альбумином форме, либо образуются в результате гидролиза внутриклеточных липидов. В начале на наружной мембране митохондрий клеток происходит активация свободных жирных кислот путем ферментативной этерификации цитоплазматическим КоА за счет энергии АТФ. Затем для того, чтобы перенести жирные кислоты внутрь митохондрий, совершается перенос остатка жирной кислоты от КоА на молекулу карнитина с образованием О-ацильных эфиров карнитина. Последние способны проходить сквозь внутреннюю мембрану митохондрий в матрикс, где снова происходит образование ацильных эфиров КоА в результате переноса остатка жирной кислоты от карнитина на внутримитохондриальный КоА. Все последующие стадии окисления жирных кислот происходят внутри митохондриального матрикса.

Считается, что высшие жирные кислоты окисляются преимущественно путем  $\beta$ -окисления, т.е. путем повторяющегося дегидрирования в  $\beta$ -положении с образованием  $\beta$ -кетокислоты. В этом случае окисление предельных высших жирных кислот осуществляется ступенчато путем отщепления от их молекул

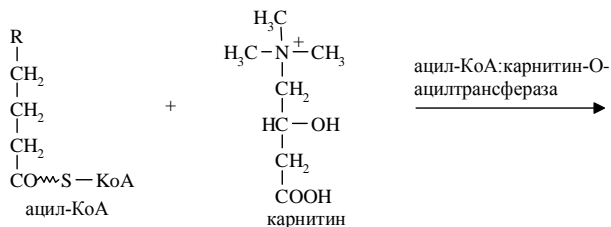
двухуглеродных фрагментов. Конечным продуктом распада жирных кислот с четным числом углеродных атомов является уксусная кислота, с нечетным числом углеродных атомов – пропионовая.

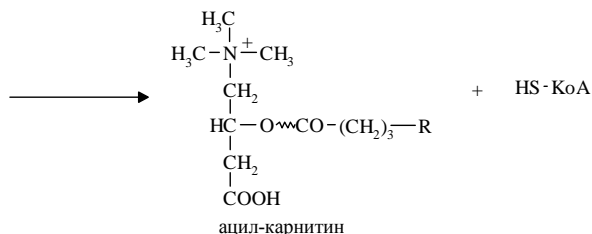
β-окисление можно разбить на ряд отдельных стадий, катализируемых специфическими ферментами.

Начальной и ключевой реакцией β-окисления служит реакция активирования жирной кислоты коэнзимом А и АТФ.

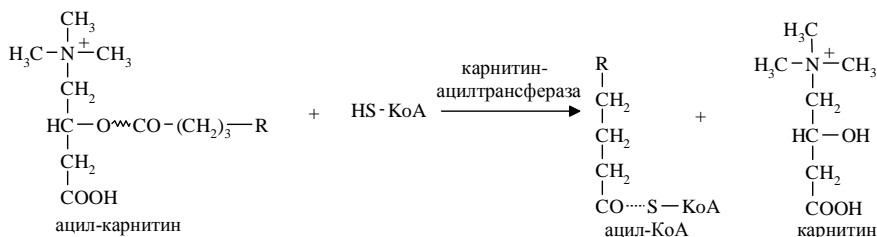


Реакция катализируется ферментом тиокиназой жирных кислот (синоним: ацил-КоА-синтетаза, фермент относится к классу лигаз). Различают по крайней мере три вида тиокиназ, специфичных соответственно для кислот с коротким, средним и длинным углеродными радикалами. Для работы фермента необходим  $\text{Mg}^{++}$ . Тиокиназы жирных кислот содержатся в наружной мембране митохондрий. Их можно обнаружить также в микросомах, выделенных из эндоплазматической сети. Образующийся в этой реакции пирогосфат энергично расщепляется до фосфорной кислоты при участии фермента пирогосфатазы, что обеспечивает смещение равновесия всего процесса вправо. Образовавшийся ацил-КоА вступает в реакцию с карнитином в присутствии специфического цитоплазматического фермента ацил-КоА: карнитин-О-ацилтрансферазы, который переносит остаток жирной кислоты от ацил-КоА на карнитин с образованием кислородно-эфирной связи с гидроксильной группой карнитина. Возникающая сложноэфирная связь между карнитином и жирной кислотой принадлежит к макроэргическим связям.

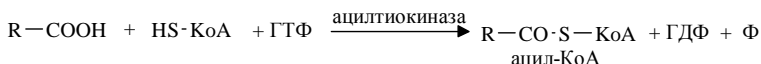




Эфир карнитина и жирной кислоты (ацил-карнитин) легко проходит через внутреннюю мембрану митохондрий в матрикс, где под влиянием внутримитохондриальной карнитин-ацилтрансферазы происходит обратный перенос остатка жирной кислоты с ацил-карнитина на внутримитохондриальный коэнзим-А.

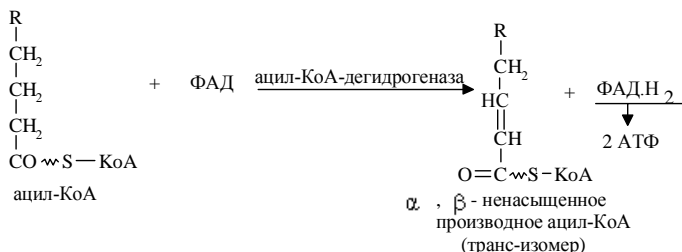


В матриксе митохондрий может также осуществляться активирование свободных жирных кислот, образующихся внутри митохондрий, за счет энергии ГТФ (последний образуется в лимоннокислом цикле, протекающем также внутримитохондриально).



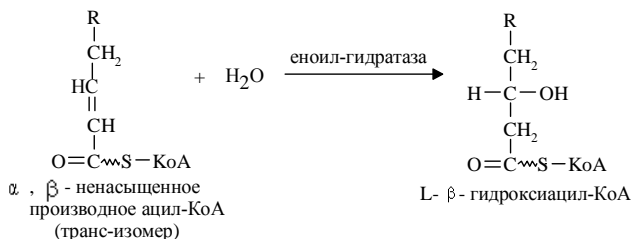
Следующая реакция распада высших жирных кислот состоит в окислении образовавшегося внутримитохондриально ацил-KoA при посредстве ацил-KoA-дегидрогеназы (ацилдегидрогеназы), содержащей флавинадениндинуклеотид (ФАД) в качестве кофермента:





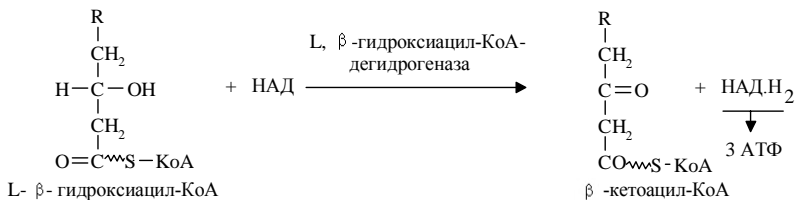
При этом возникает  $\alpha, \beta$ -ненасыщенное производное ацил-KoA, представляющее собой транс-изомер. Известны четыре различные ФАД-содержащие ацил-KoA-дегидрогеназы, соответствующие производным жирных кислот с определенной длиной углеродной цепи. Восстановленная ФАД – содержащая ацил-KoA-дегидрогеназа передает электроны на дыхательную цепь. Сопряжено с переносом электронов по дыхательной цепи происходит фосфорилирование с образованием двух молекул АТФ.

Образовавшиеся  $\alpha, \beta$ -ненасыщенные ацил-KoA производные далее гидратируются при участии фермента еноил-гидратазы:



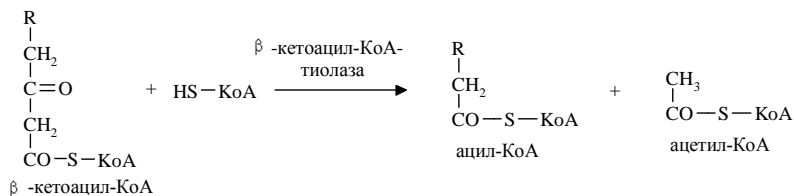
При этом присоединение воды по двойной  $\alpha, \beta$ -транс-связи всегда происходит стереоспецифически и приводит к образованию L-стереоизомера  $\beta$ -гидроксиацил-KoA.

Вслед за гидратацией происходит второе окисление, осуществляемое путем отнятия двух атомов водорода в  $\beta$ -положении по отношению к карбоксильной группе. Как и в предыдущем окислении снятие атомов водорода осуществляется ферментом из класса оксидоредуктаз (L, $\beta$ -гидроксиацил-KoA-дегидрогеназой), но содержащей в качестве кофермента вместо ФАД никотинамидадениндинуклеотид (НАД). Образующийся в результате реакции НАД $\cdot$ H $_2$  передает свои электроны дыхательной цепи. В результате сопряженного с переносом электронов по дыхательной цепи фосфорилирования образуется в конечном итоге три молекулы АТФ. L, $\beta$ -гидроксиацил-KoA-дегидрогеназа обладает абсолютной специфичностью в отношении L-стереоизомеров.



Продукт этой реакции – β-кетоацил-KoA.

Последняя стадия окисления жирной кислоты сводится к взаимодействию β-кетоацил-KoA со свободным KoA. В результате β-кетоацил-KoA расщепляется с образованием, во-первых, двухуглеродного фрагмента, содержащего два концевых углеродных атома исходной жирной кислоты в виде свободного ацетил-KoA и, во-вторых, ацил-KoA, т.е. KoA-эфира жирной кислоты, укороченной на двухуглеродный фрагмент. Реакция катализируется β-кетоацил-KoA-тиолазой (или просто-тиолазой), при этом происходит расщепление C-C-связи с присоединением по месту разрыва элементов HS-группы (тиолиз).



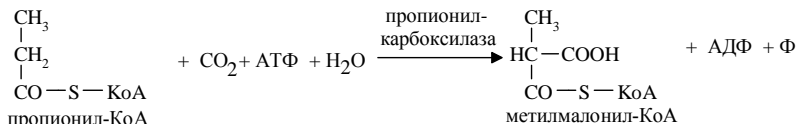
Образовавшийся ацил-KoA вновь включается в β-окисление и процесс повторяется. В конечном итоге образуются молекулы ацетил-KoA.

Следовательно, окончательным продуктом β-окисления высших жирных кислот с четным числом углеродных атомов является ацетил-KoA. В этой связи окисление высших жирных кислот можно представить в виде «спирали», предложенной Лениджером.

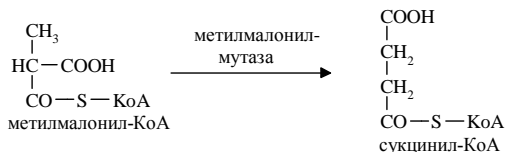
Ацетил-KoA далее полностью окисляется до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O в лимоннокислом цикле или используется в других реакциях обмена веществ (синтез стеролов и соединений, содержащих изопrenoидные группировки, образование ацетоуксусной кислоты и т.п.).

Рассмотренная выше последовательность реакций окисления жирных кислот с четным числом углеродных атомов справедлива и для процесса окисления жирных кислот с нечетным числом атомов углерода. Основное различие заключается в конечных продуктах. В последнем случае в итоге β-окисления образуется молекула ацетил-KoA и молекула пропионил-KoA. Дальнейший обмен пропионил-KoA наиболее часто идет по метилмалониловому пути. В

этом случае вначале происходит АТФ-зависимое карбоксилирование пропионил-КоА. Реакция катализируется пропионилкарбоксилазой, содержащей в качестве кофермента биотин.



Образовавшийся метилмалонил-КоА изомеризуется в сукцинил-КоА. Эта реакция катализируется метилмалонилмутазой. В качестве кофермента этого фермента выступает 5'-дезоксиаденозилкобаламин, являющийся производным витамина В<sub>12</sub>.



Сукцинил-КоА включается в лимоннокислый цикл, где и окисляется.

Окисление ненасыщенных жирных кислот происходит в принципе также, как и окисление насыщенных жирных кислот. Однако окисление ненасыщенных жирных кислот требует дополнительных ферментативных стадий, необходимых, во-первых, для перемещения двойных связей в положение, в котором может быть осуществлена их ферментативная гидратация, т.е. в α,β-положение и, во-вторых, для образования L-стереоизомера β-гидроксикислоты. Первое осуществляется с помощью особой изомеразы, которая катализирует перемещение двойной связи из положения β – γ в положение α – β и изменение конфигурации двойной связи из цис- в транс. Второе, т.е. превращение D,β-гидроксиацил-КоА в L,β-гидроксиацил-КоА происходит благодаря каталитическому действию особой эпимеразы. Продукты этих реакций способны далее окисляться в процессе β-окисления жирных кислот. Таким образом, наличие двух дополнительных ферментов – изомеразы и эпимеразы – обеспечивает возможность полного окисления всех ненасыщенных жирных кислот, которые содержатся в природных липидах.

β-окисление высших жирных кислот происходит, как уже говорилось выше, в митохондриях. Поскольку в митохондриях же локализованы ферменты лимоннокислого цикла и дыхательной цепи, осуществляющих передачу электронов на кислород сопряжено с окислительным фосфорилированием, β-окисление высших жирных кислот служит источником энергии для синтеза АТФ. Во время β-окисления дважды происходит дегидрирование с об-

разованием ФАДН<sub>2</sub> и НАДН<sub>2</sub>. Оба восстановленных кофермента в аэробных условиях окисляются в дыхательной цепи, что сопровождается возникновением в первом случае 2 молекул АТФ, а во втором – 3 молекул АТФ. При окислении одной молекулы ацетил-КоА, образовавшегося при β-окислении жирной кислоты в реакциях лимоннокислого цикла, сопряженных с дыхательной цепью, образуется 12 молекул АТФ. Следовательно, в сумме полное окисление одного двухуглеродного фрагмента любой жирной кислоты дает 17 молекул АТФ.

Отсюда можно рассчитать энергетический выход β-окисления любой жирной кислоты. К примеру, при окислении пальмитиновой кислоты СН<sub>3</sub>-(СН<sub>2</sub>)<sub>14</sub>-СООН образуется восемь ацетильных остатков в результате семи β-циклов. Каждый β-цикл сопровождается образованием 5 молекул АТФ, следовательно, всего образуется: 5 мол. АТФ×7=35 молекул АТФ. Каждый ацетильный остаток в результате своего окисления дает 12 молекул АТФ, следовательно, всего образуется: 12 мол. АТФ×8=96 мол. АТФ. Итого: 35 молекул АТФ + 96 молекул АТФ = 131 мол. АТФ. Учитывая, что одна молекула АТФ используется на активацию свободной жирной кислоты, суммарный выход в расчете на одну молекулу пальмитиновой кислоты составляет 130 молекул АТФ. Эта запасаемая в форме энергии фосфатных связей часть свободной энергии окисления пальмитиновой кислоты составляет 40%, а точнее – 38% всей энергии окисления жирной кислоты.

Подсчитано, что примерно 38%, а во другим данным, 45% всей энергии, выделяющейся при окислении жира (триацилглицерина), аккумулируется в макроэргических связях АТФ. Это несколько превышает степень запасаения энергии при окислении углеводов (37,3%). В последнее время сделаны наблюдения, которые свидетельствуют о существовании второстепенных путей окисления высших жирных кислот, которые протекают в бесструктурной части клеточного содержимого. В частности, окисление может осуществляться по α-углеродному атому. Этот путь окисления носит название α-окисления. В нем принимают участие перекись водорода и фермент – пероксидаза жирных кислот.





Альдегид высшей жирной кислоты окисляется при посредстве дегидрогеназы в высшую жирную кислоту, но имеющую на один углеродный атом меньше. И процесс повторяется снова.

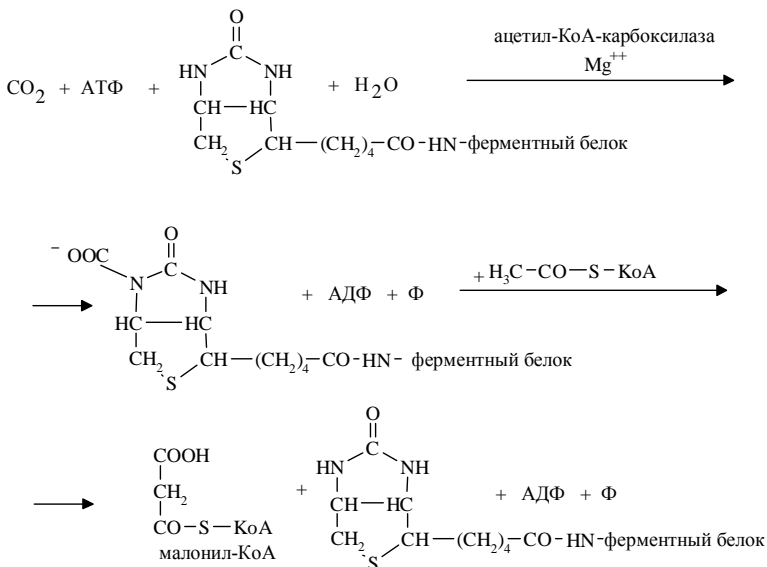
#### 8.4. Синтез жирных кислот

После открытия пути окисления жирных кислот предполагалось, что биосинтез жирных кислот может происходить в результате обращения тех же ферментативных реакции, что и при их окислении. Однако, благодаря исследованиям Линена и других ученых, в основном в опытах на кишечной палочке (*E. coli*), было установлено, что основным путем биосинтеза жирных кислот является не простое обращение реакций  $\beta$ -окисления, а более сложный процесс, в котором принимают участие ацетил-КоА, малонил-КоА и цитоплазматический полиферментный комплекс (иначе: синтетаза высших жирных кислот или пальмитатсинтетаза). В комплекс входит шесть ферментов и низкомолекулярный белок, который с помощью фосфопантетеиновой HS-группы связывает и переносит ацильные остатки в процессе синтеза жирной кислоты от одного фермента комплекса к другому.

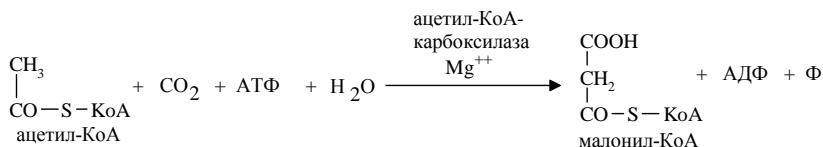
Этот белок получил название ацилпереносящий белок (АПБ). В отличие от  $\beta$ -окисления жирных кислот, совершающегося в митохондриях, биосинтез жирных кислот осуществляется в цитоплазме клеток на поверхности мембран эндоплазматического ретикулума. Источником углеродных атомов синтезируемой жирной кислоты служит цитоплазматический ацетил-КоА, происходящий из внутримитохондриального ацетил-КоА. В митохондриях ацетил-КоА образуется при  $\beta$ -окислении жирных кислот и окислительном декарбоксилировании пировиноградной кислоты. Поскольку ацетил-КоА не может выходить через митохондриальную мембрану в цитоплазму, то, как полагают, он переходит в цитоплазму либо с помощью карнитина, либо в виде цитрата, образовавшегося в результате реакции ацетил-КоА с щавелево-уксусной кислотой в лимоннокислом цикле. Цитрат же способен выходить из митохондрий в цитоплазму, как уже говорилось ранее, с помощью системы переноса. В цитоплазме цитрат расщепляется АТФ-зависимым ферментом на ацетил-КоА и щавелево-уксусную кислоту:



Цитоплазматический ацетил-КоА служит затравкой (или инициатором) биосинтеза жирной кислоты, а также источником образования малонил-КоА – непосредственного предшественника углеродных фрагментов синтезируемой жирной кислоты. Малонил-КоА образуется из цитоплазматического ацетил-КоА и двуокиси углерода под действием ацетил-КоА-карбоксилазы, содержащей в качестве кофермента биотин. Биотин служит промежуточным переносчиком молекулы  $\text{CO}_2$  в двухступенчатой реакции:

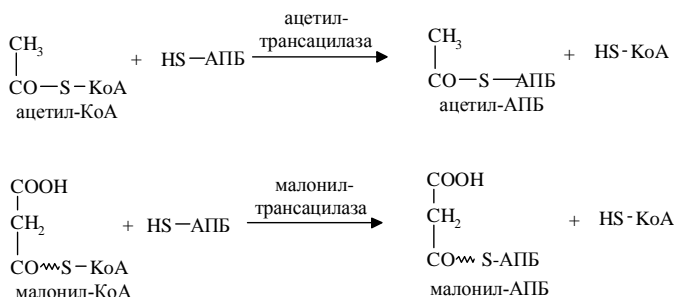


Или в упрощённом виде:

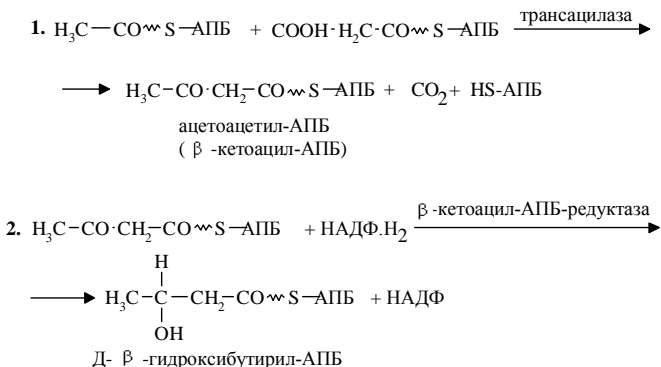


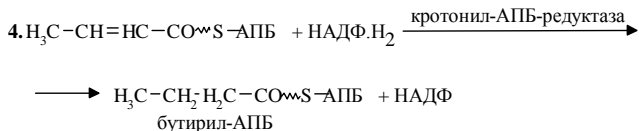
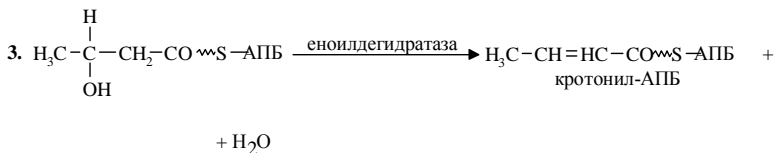
Ацетил-КоА-карбоксилаза – регуляторный фермент, реакция, ею катализируемая, является лимитирующей стадией всего процесса синтеза жирных кислот. Положительными аллостерическими модуляторами фермента служат цитрат, изоцитрат и  $\alpha$ -кетоглутарат. Образовавшиеся ацетил-КоА и малонил-КоА вступают дальше в реакцию с ацилпереносящим белком, имеющим сульфгидрильную группы, по месту которой эфирной связью присоединяются

ацильные промежуточные продукты. Ацильные группы ацетил-КоА и малонил-КоА переносятся на тиоловые группы АПБ с помощью ферментов, содержащих HS-группы: соответственно ацетилтрансацилазой и малонилтрансацилазой.



Далее происходит наращивание углеродной цепи путем присоединения малонил-S-АПБ вначале к ацетил-S-АПБ, сопровождающееся отщеплением  $\text{CO}_2$  и образованием  $\beta$ -кетоацил-S-АПБ (ацетоацетил-S-АПБ), с последующим его восстановлением за счет НАДФ. $\text{H}_2$  до Д,  $\beta$ -гидроксиацил-S-АПБ (Д,  $\beta$ -гидроксibuтирил-S-АПБ), дегидратацией последнего в ненасыщенный в  $\alpha, \beta$ -положении ацил-S-АПБ (кротонил-S-АПБ) и, наконец, восстановлением ненасыщенного ацил-S-АПБ в ацил-S-АПБ (бутирил-S-АПБ), углеродная цепочка которого на два углеродных атома длиннее исходной. Эти реакции последовательно катализируются трансацилазой,  $\beta$ -кетоацил-АПБ-редуктазой, еноил-дегидратазой, кротонил-АПБ-редуктазой:





После образования ацил-S-АПБ с четырьмя углеродными атомами (т.е. бутирил-S-АПБ) процесс повторяется путем присоединения к последнему вновь двухуглеродного фрагмента от малонил-S-АПБ.

В конце-концов, путем последовательного наращивания ацил-S-АПБ на двухуглеродные фрагменты синтезируется пальмитил-S-АПБ. Молекула пальмитиновой кислоты может удлиняться в результате реакций с ацетил-КоА в митохондриях или с малонил-КоА в микросомах. Ненасыщенные жирные кислоты (моноеновые) образуются из насыщенных кислот с помощью монооксигеназ.

Однако ткани человека и ряда животных неспособны синтезировать полиненасыщенные линолевую и линоленовую кислоты (это т.н. эссенциальные, т.е. незаменимые жирные кислоты, которые должны поступать в организм с пищей). Полиненасыщенные жирные кислоты принимают участие в образовании простагландинов.

Ферменты, ускоряющие синтез высших жирных кислот с участием малонил-КоА, сосредоточены в растворимой фракции цитоплазмы на поверхности мембран эндоплазматической сети. Таким образом, синтез высших жирных кислот, идущий, как полагают, в цитоплазме на поверхности мембран эндоплазматической сети клетки, пространственно отделен от места распада высших жирных кислот, идущего в митохондриях. Активные ферменты биосинтеза высших жирных кислот у животных выделены из печени, поджелудочной железы, молочной железы, тонкого кишечника, легкого, почек, мозговой и жировой тканей животных, а также из растений. В указанных тканях эти ферменты существуют в виде ансамблей (комплексов), способных осуществить весь цикл реакций биосинтеза высшей жирной кислоты. Они получили название синтетазы высших жирных кислот или пальмитат-синтетазы. В тканях животных не удалось обнаружить АПБ. Функцию связывания и переноса ацильного радикала синтетазы жирных кислот выполняет ее фосфопантетеиновая

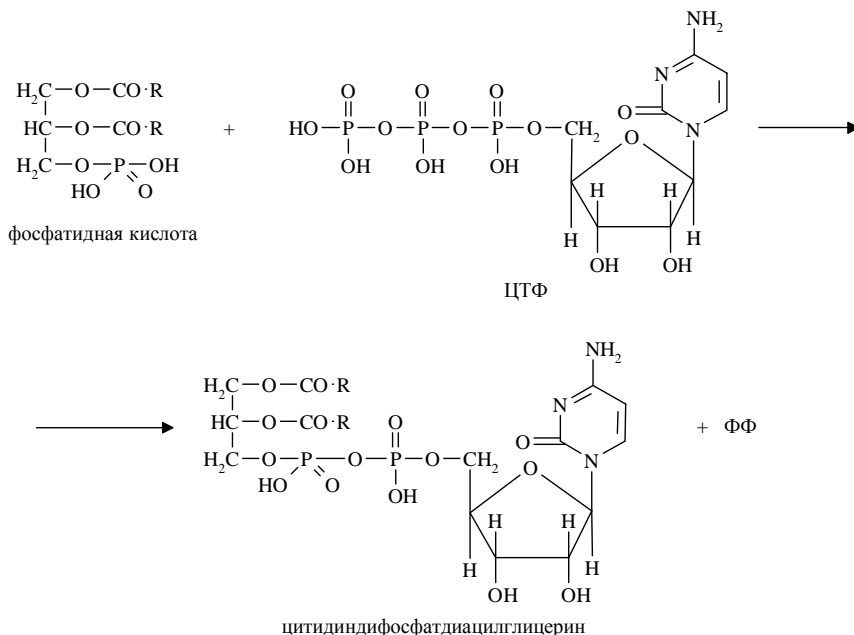


HS-группа. В качестве коэнзима ферментов, катализирующих биосинтез жирных кислот, выступает НАДФ.Н<sub>2</sub>. Восстановленная форма НАДФ (НАДФ.Н<sub>2</sub>) образуется, главным образом, при окислении глюкозо-6-фосфата в фосфоглюконатном (пентозном) цикле. Другим источником НАДФ.Н<sub>2</sub> для синтеза жирных кислот в печени служит окисление малата до пирувата и СО<sub>2</sub> малатдегидрогеназой. Учитывая роль в биосинтезе жирных кислот НАДФ.Н<sub>2</sub>, и ацетил-КоА, образуемых в процессе катаболизма углеводов, легко понять наблюдающийся в жировой ткани интенсивный синтез жиров за счет глюкозы.

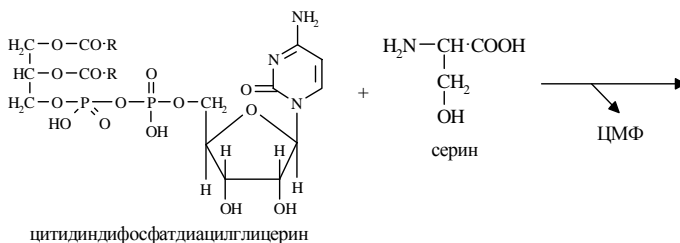
### 8.5. Синтез липидов

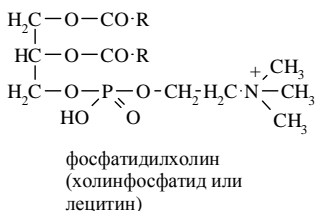
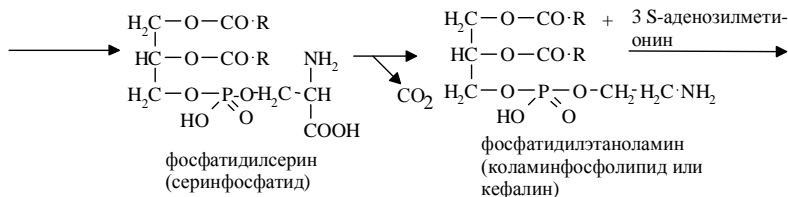
В печени и жировой ткани и в ряде др. тканей (почки, мышцы), а также в тканях высших растений происходит активный биосинтез липидов (триацилглицеринов, фосфолипидов и др.). Триацилглицерины, играющие роль запасных липидов, синтезируются в почках и печени в результате последовательных реакций, аналогичных описанным выше реакциям ресинтеза жира в клетках кишечного эпителия. В этих реакциях после фосфорилирования за счет АТФ глицерина в  $\alpha$ -фосфоглицерин две молекулы ацил-КоА реагируют с последним, образуя фосфатидную кислоту, которая далее дефосфорилируется, а затем ацилируется за счет третьей молекулы ацил-КоА, что приводит к образованию триацилглицерина. В жировой ткани, мышцах, где активность глицерокиназы очень низкая,  $\alpha$ -глицерофосфат ( $\alpha$ -фосфоглицерин) образуется из метаболита гликолиза фосфодиоксиацетона путем восстановления НАД-зависимой глицерофосфат-дегидрогеназой. Этот путь имеет место и в печени, наряду с вышеуказанным.

Наряду с синтезом триацилглицеринов в тканях происходит синтез фосфолипидов, при этом их начальные пути совпадают. В зависимости от того, способен ли организм синтезировать холин или нет, непосредственным предшественником фосфолипидов может быть фосфатидная кислота или диацилглицерин. Фосфатидная кислота служит главным предшественником фосфолипидов в организмах, способных синтезировать холин. Она реагирует с цитидинтрифосфатом (ЦТФ) с образованием цитидиндифосфатдиацилглицерина.



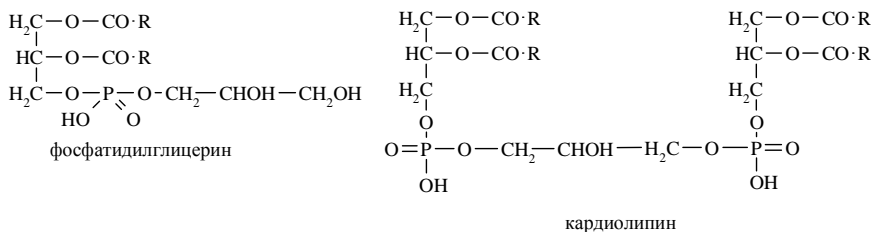
Цитидиндифосфатдиацилглицерин служит общим предшественником всех глицерофосфолипидов (фосфоглицеридов). Цитидиндифосфатдиацилглицерин далее может взаимодействовать с серином, инозитом или глицерофосфатом, образуя соответственно серинфосфатид (фосфатидилсерин), инозитфосфолипид (фосфатидилинозит) и 3-фосфатидилглицерол-1-фосфат. Серинфосфатид декарбоксилируется в коламинфосфолипид (фосфатидилэтаноламин), из которого в результате метилирования при участии S-аденозилметиона образуется холинфосфатид (фосфатидилхолин).





При рассмотрении механизмов ресинтеза липидов в клетках кишечного эпителия приводился иной путь образования фосфатидилхолина (лецитина). Этот путь синтеза в тканях характерен для организмов, неспособных синтезировать холин, с его помощью используется экзогенный холин, а также повторно используется холин, высвобождающийся при распаде фосфатидилхолина.

3-фосфатидилглицерол-1-фосфат, образуемый из цитидиндифосфатдиацилглицерина в результате взаимодействия с глицерофосфатом, является предшественником фосфатидилглицерина и кардиолипина, входящих в состав мембран и играющих, как полагают, определенную роль в переносе электронов и в окислительном фосфорилировании.

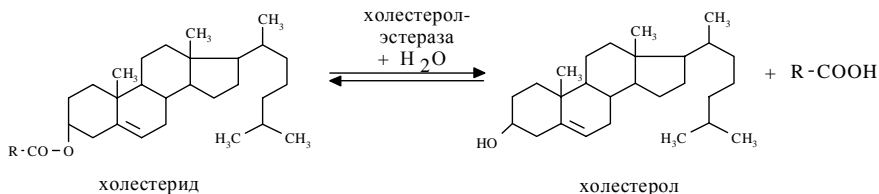


### 8.6. Обмен стеридов и холестерина

Из группы простых липидов следует также остановиться на обмене стеридов – сложных эфиров высших жирных кислот и полициклических спиртов – стеролов (или иначе – стеринов). В число стеринов входит холестерол (холестерин), интерес к которому повышен в связи с возможной его ролью в

развитии атеросклеротических изменений сосудов в пожилом возрасте, а также его ролью, как предшественника стероидов (в том числе стероидных гормонов).

Стериды, вступая на путь распада, гидролизуются на жирную кислоту и стерол. Эта реакция катализируется холестеролэстеразой, действующей на сложные эфиры многих стеролов (а не только холестерола).

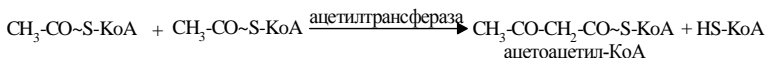


Высшие жирные кислоты, высвобождающиеся при гидролизе стеридов, подвергаются  $\beta$ -окислению, либо используются для ресинтеза липидов. Высвобождающиеся стеролы, если они не включаются в ресинтез стеридов, также подвергаются видоизменениям. Простейший путь видоизменения состоит в восстановлении стеролов по двойным связям. Так, у человека холестерол восстанавливается в дигидрохолестерол, который выводится из организма. Более сложен путь окисления стеролов. В процессе окисления стеролов могут образоваться вначале холевые кислоты, витамин  $D_3$ , а при более полном окислении – стероидные гормоны. Таким образом, часть стеролов превращается в процессе окисления в различные активные соединения, выполняющие в организме важные функции.

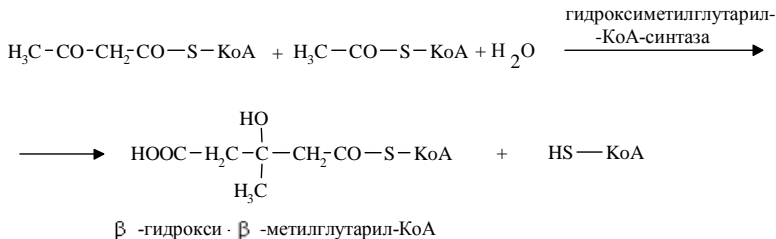
Важная физиологическая роль стеролов, стеридов и стероидов определяет интерес к их синтезу в организме. Основные звенья механизма биосинтеза стеролов в настоящее время выяснены благодаря применению метода меченых атомов. Рассмотрим основные этапы этого синтеза на примере биосинтеза холестерола (холестерина), многие стадии синтеза которого стали известны благодаря исследованиям Блох, Линена, Поляка, Конфорта, А.Н. Климова и др.

Ферментативный синтез холестерина насчитывает более 35 реакций. В синтезе холестерина можно выделить 3 основные стадии: 1) образование из ацетата мевалоновой кислоты; 2) образование сквалена из мевалоновой кислоты и 3) циклизация сквалена в холестерин.

Синтез холестерина осуществляется из ацетил-КоА в качестве исходного вещества, главным образом, в печени с участием ферментов эндоплазматического ретикулаума и гиалоплазмы. Две молекулы ацетата в форме ацетил-КоА конденсируются с образованием ацетоацетил-КоА.

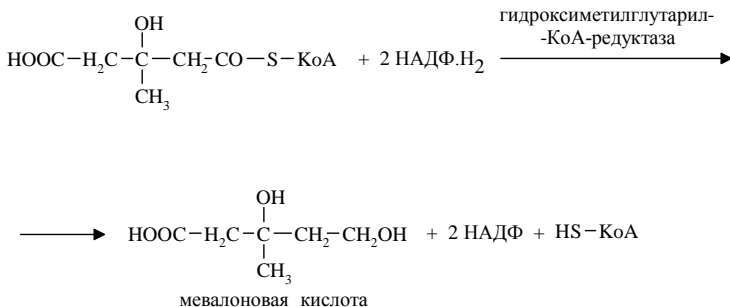


В результате присоединения к этому веществу третьей молекулы ацетил-KoA образуется β-гидрокси-β-метилглутарил-KoA:



Это соединение ферментативным путем восстанавливается в мевалоновую кислоту. Восстановление идет по макроэргической связи за счет НАДФ.Н<sub>2</sub> и сопровождается выделением свободного KoA.

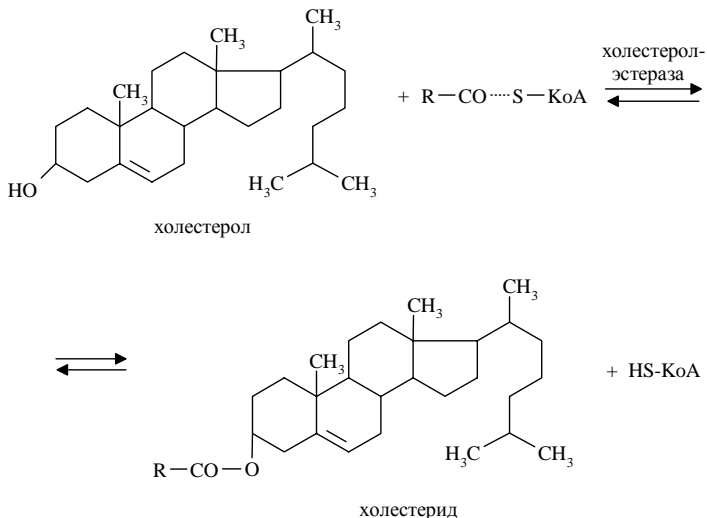
Мевалоновая кислота вступает в ряд сложных преобразований, детали которого не все выяснены. Мевалоновая кислота при участии двух молекул АТФ превращается в мевалонилпирофосфат, который затем декарбоксилируется и дегидратируется с образованием изопентенилпирофосфата. Последний превращается в свой изомер диметилаллилпирофосфат. Путем конденсации молекулы изопентенилпирофосфата и молекулы диметилаллилпирофосфата образуется геранилпирофосфат, который конденсируется с молекулой изопентенилпирофосфата с образованием фарнезилпирофосфата. Две молекулы последнего (или со своим изомером) конденсируются в сквален (непредельный углеводород, составленный из шести изопреновых группировок).



Сквален подвергается окислительной циклизации (изученной еще не во всех деталях) с образованием ланостерола. Последний в результате удаления

трех метильных групп, дальнейшего восстановления и перемещения двойной связи превращается в холестерол. Следует заметить, что детали ферментативного механизма этого превращения до сих пор мало известны. Считается, что ключевой реакцией в биосинтезе холестерина является реакция образования мевалоновой кислоты из  $\beta$ -окси- $\beta$ -метил-глутарил-КоА, а регуляторным ферментом синтеза холестерина – гидроксиметилглутарил-КоА-редуктаза.

Биосинтез стеридов, в частности, холестеридов, осуществляется путем переноса остатка высшей жирной кислоты от молекулы ацил-КоА на место водорода гидроксильной группы стерола:



Все описанные выше превращения простых и сложных липидов обуславливают в организме постоянное обновление липидов. С помощью меченых атомов ( $C^{14}$  и дейтерия) удалось установить, что время биологического полураспада жирных кислот в печени составляет 2-3 дня, а в мозге крысы – около 8 дней. Между периферическими жировыми депо и печенью имеет место постоянный обмен жирами.

### 8.7. Превращение углеводов в жиры

В организме в очень большом объеме осуществляется превращение углеводов в жиры. Связующими соединениями при переходе от углеводов к липидам служит пировиноградная кислота и ацетил-КоА. Пировиноградная кислота – основной продукт дихотомического распада углеводов – при окислительном декарбоксилировании дает ацетил-КоА, который служит исходным со-

единением для синтеза высших жирных кислот и стеролов. Необходимый для синтеза жирных кислот восстановленный НАДФ также в значительной степени (более 50%) поставляется процессом метаболизма углеводов – фосфоглюконатным (пентозным) циклом. Столь же легко осуществляется переход от углеводов к фосфоглицерину (путем восстановления фосфодиоксиацетона под влиянием глицерофосфатдегидрогеназы), необходимому для синтеза простых и сложных липидов. Превращение углеводов в жиры происходит как в печени, так и в относительно мало метаболически активной жировой ткани. Как правило, избыток углеводов, поступающих с пищей, откладывается в жировых депо в виде жира (триацилглицеринов). Интересно, что периферическая жировая ткань способна синтезировать гликоген из глюкозы, наряду с переводом углеводов в жиры. Однако центром жирового обмена является печень. Здесь находится большинство ферментов окисления и синтеза жирных кислот и образования кетонных тел – этих промежуточных продуктов обмена липидов, о роли которых более подробно скажем несколько позже. В печени же жирные кислоты превращаются друг в друга. Следует заметить, что в организме млекопитающих не синтезируются полиеновые, т.е. полиненасыщенные жирные кислоты линолевая и линоленовая и их производные (арахидоновая и др.); они должны поступать в организм с пищей.

Особую роль в жировом обмене печени играют так называемые липотропные вещества. Последние в состоянии предохранить печень от ожирения. К липотропным веществам относятся холин, метионин и др., которые обладают лабильными метильными группами. Акцепторы метильных групп, например, гуанидинуксусная кислота или амид никотиновой кислоты (витамин РР), также способствуют обратному развитию жирового перерождения печени. Считается, что механизм действия липотропных факторов заключается в том, что они либо непосредственно используются для синтеза фосфатидов (как, например, холин) или косвенно стимулируют этот процесс. Фосфатиды же играют большую роль в транспорте жирных кислот из печени на периферию, конкурируя с триглицеридами за жирные кислоты и тем самым препятствуют чрезмерному накоплению триглицеридов в печени.

Учитывая этот механизм действия липотропных веществ их назначают как лекарственные препараты при заболеваниях и токсических поражениях печени, особенно сопровождаемых жировой инфильтрацией клеток печени. В частности, в этих целях применяют метионин, холина хлорид и кальция пангамат.

### ***8.8. Нейро-гуморальная регуляция липидного обмена***

Уровень липидного обмена регулируется центральной нервной системой непосредственно или косвенно через ряд эндокринных желез. На это указыва-

ет наличие обильной иннервации жировой ткани. Денервация жировой ткани приводит к накоплению в ней жира и пониженному выходу жира в кровь, тогда как импульсы, приходящие по симпатическим волокнам, стимулируют мобилизацию жира из жировых депо.

Влияние эндокринных желез на жировой обмен разнообразно. В клинике при поражении гипофиза наблюдают как ожирение (гипофизарное ожирение), так и резкое похудание (гипофизарная кахексия). Гормон роста (соматотропный гормон) передней доли гипофиза повышает содержание липидов в печени, а также окисление жирных кислот и образование кетонных тел в этом органе.

Адренокортикотропный гормон гипофиза (АКТГ) и глюкокортикоиды надпочечников повышают распад жиров в печени и мобилизацию жира из жировых депо.

Тироксин щитовидной железы увеличивает скорость превращения (катаболизма) жиров и снижает концентрацию липидов в крови. Под его влиянием уменьшаются депонированные запасы жира. Всё это вызывает у лиц, страдающих гиперфункцией щитовидной железы (Базедова болезнь и др. тиреотоксикозы), резкое похудание.

Под действием адреналина – гормона надпочечников – повышается содержание липидов в плазме, так как происходит усиленный выход жиров из жировых тканей, усиливается их распад и окисление жирных кислот. Половые гормоны также оказывают влияние на жировой обмен. Кастрация мужских особей ведет к повышенному отложению жира. Эстрогены увеличивают синтез жиров.

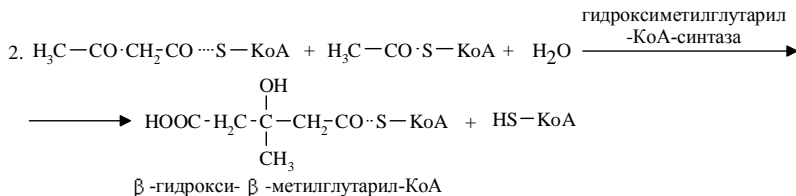
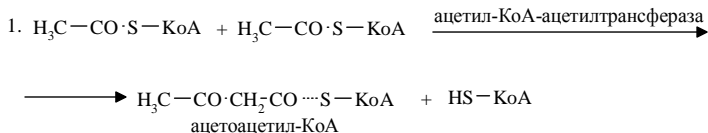
Установлено, что гормоны адреналин, СТГ и др. регулируют липидный обмен с участием т.н. циклазной системы. В частности, адреналин стимулирует через активирование аденилат-циклазы синтез цАМФ, которая, в свою очередь, активирует соответствующую протеинкиназу, а последняя катализирует фосфорилирование триглицеридлипазы, т.е. превращает липазу в активную форму. Активная (фосфорилированная) липаза вызывает липолиз в жировой ткани (гидролиз триглицеридов на глицерин и жирные кислоты).

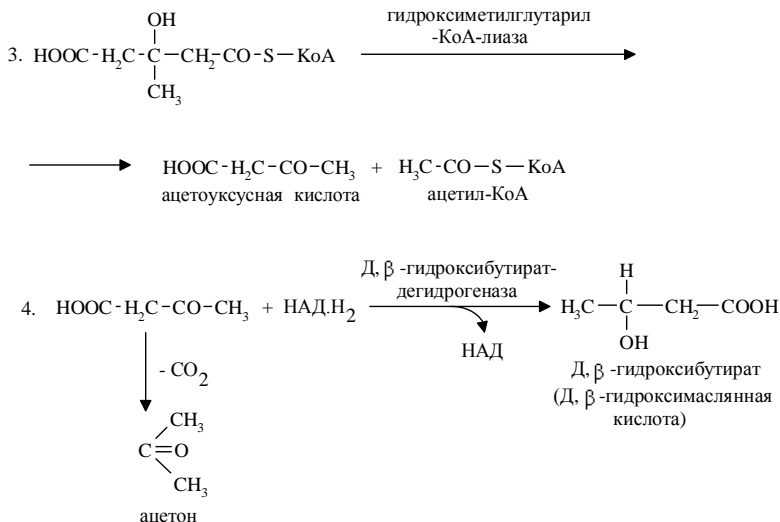
Инсулин – гормон поджелудочной железы – тормозит распад жирных кислот и стимулирует их синтез. Он оказывает свое действие в печени и в периферических жировых тканях. Инсулин ускоряет поступление свободных жирных кислот в жировые депо и их метаболизм. Установлено, что инсулин стимулирует фосфодиэстеразу в циклазной системе и тем самым снижает образование активной формы липазы.



### 8.9. Нарушение обмена липидов

Патология липидного обмена может происходить на различных уровнях и наиболее часто выражается в нарушении всасывания жиров, перехода жира из крови в ткани, нарушении внутриклеточного обмена липидов. Это приводит к развитию гиперлипемии, кетозу, тканевым липидозам (атеросклерозу, желчно-каменной болезни и т.д.). Нарушение внутриклеточного обмена жиров чаще всего бывает в виде накопления в организме так называемых ацетоновых или кетоновых тел (кетоза): ацетоуксусной кислоты,  $\beta$ -гидроксиацетил-КоА и ацетона. Кетоновые тела образуются в печени в митохондриях гепатоцитов. Прежние представления о том, что кетоновые тела являются промежуточными продуктами  $\beta$ -окисления жирных кислот, оказались ошибочными. Кетоновые тела синтезируются из ацетил-КоА и начальные этапы этого синтеза сходны с биосинтезом холестерина.





Возможный второй путь синтеза кетоновых тел, связанный с образованием ацетоуксусной кислоты в результате отщепления Ко-А от ацетоацетил-КоА в реакции, катализируемой ацетоацетил-КоА-гидролазой (деацетилазой), не имеет существенного значения, так как активность деацетилазы низкая. Ацетон образуется, как полагают, путем спонтанного декарбоксилирования ацетоуксусной кислоты и, по-видимому, не имеет определенного физиологического значения. Ацетоуксусной и β-гидроксимасляной кислотам в последнее время придается большое значение как энергетических источников для мышц, мозга, почек, предотвращающих чрезмерную мобилизацию жирных кислот из жировых депо. В периферических тканях Д,β-гидроксимасляная кислота окисляется в ацетоуксусную кислоту, а последняя в тиокиназной реакции превращается в ацетоацетил-КоА, подвергающийся, в свою очередь, тиолизу с образованием двух молекул ацетил-КоА. А уже ацетил-КоА окисляется в реакциях лимоннокислого цикла, сопряженных с цепью дыхательных ферментов, до конечных продуктов CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O с выделением энергии.

В крови здоровых людей содержание ацетоновых тел обычно не превышает 1 мг%. С мочой ацетоновых тел в норме выводится за сутки около 40 мг. Однако при голодании, как полном, так и при исключении из пищи только углеводов, и, особенно, при таком эндокринном заболевании как диабет, связанном с поражением β-клеток поджелудочной железы, вырабатывающих инсулин, развивается кетонемия и кетонурия, т.е. повышенное содержание кетоно-

вых тел в крови до 400 мг% (или до 10-20 ммоль/л) и в моче до 10-50-100 г за сутки.

Следствием этого повышения являются: а) ацидоз, так как ацетоуксусная кислота и  $\beta$ -гидроксимасляная кислоты присутствуют в форме анионов и снижают концентрацию ионов бикарбонатов, б) выделение почками кислой мочи и ацетона легкими (фруктовый запах), в) нарушения в центральной нервной системе вследствие наркотического действия данных продуктов (вплоть до потери сознания).

При сахарном диабете окисление глюкозы в тканях резко уменьшается, и энергетические потребности организма покрываются за счет окисления большого количества жиров. То же имеет место при углеводной недостаточности при голодании. Это ведет к повышенному образованию ацетил-КоА. Так как, очевидно, пропускная способность лимоннокислого цикла недостаточна, чтобы окислять всё количество образующегося в этом случае ацетил-КоА, происходит усиленная конденсация в печени молекул ацетил-КоА с образованием кетоновых тел и холестерина.

В нарушении обменных процессов при диабете известное значение имеет избыточное накопление промежуточных продуктов азотистого обмена в результате усиленного распада белков (аммиака и др.). Аммиак прерывает лимоннокислый цикл, устраняя  $\alpha$ -кетоглутаровую кислоту путем аминирования ее в глутаминовую кислоту. Вследствие этого в тканях нарушается способность к окислению ацетил-КоА, что ведет к образованию из него ацетоуксусной кислоты и других кетоновых тел, а также холестерина (холестерина), избыток которого в крови при сахарном диабете также характерен.

Одним из тяжелых видов нарушений липидного обмена является нарушение холестеринового обмена, лежащего в основе некоторых заболеваний, т.н. холестеринозов. Советский ученый Н.Н. Аничков выдвинул и обосновал т.н. холестериновую теорию атеросклероза. В настоящее время доказана существенная роль в патогенезе атеросклероза определенных классов липопротеидов.

В паренхиматозных клетках печени и эпителии тонкого кишечника происходит образование плазменных липопротеидов – сложных белков, состоящих из различных апопротеинов (выделено более 9 апопротеинов), относящихся, в основном, к  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобулинам, полярных липидов (фосфолипидов), нейтральных липидов (триглицеридов), а также холестерина и его эфиров. В этих сложных белках взаимодействие между липидами и белковыми компонентами осуществляется за счет нековалентных связей. В плазме крови обнаружено несколько классов липопротеидов. Классификация этих липопротеидов основана на различиях в их плотности. Поскольку липиды имеют низкую плотность ( $0,95 \text{ г/см}^3$ ), а белки сравнительно высокую ( $1,2 \text{ г/см}^3$ ), липопротеиды с разным соотношением липида и белка могут быть разделены в ультрацентрифуге. Наименее плотными липопротеидами ( $<1,00 \text{ г/см}^3$ ) являются

хиломикроны – крупные структуры, содержащие до 98% липидов и 2% белка (главным липидным компонентом являются экзогенные триглицериды). Среди других основных липопротеидов ЛПОНП (пре- $\beta$ -липопротеиды) содержат 90% липидов и 10% белков (главным липидным компонентом служат эндогенные триглицериды), ЛПНП ( $\beta$ -липопротеиды) содержат 78% липидов и 22% белков (главным липидным компонентом являются холестерин и его эфиры), ЛПВП ( $\alpha$ -липопротеиды) содержат 50% липидов и 50% белков (главным липидным компонентом являются фосфолипиды и эфиры холестерина). Точная структура липопротеидов пока не известна. Полагают, что они образуют частицы, где неполярная липидная сердцевина покрыта фосфолипидно-белковым слоем. Липопротеиды служат той формой, в которой липиды транспортируются из тонкого кишечника в печень, а из печени в жировую ткань, а также в различные другие ткани.

Исследования привели ученых к заключению, что атеросклероз развивается в силу нарушения обмена липопротеидов, при этом большое значение в поражении сосудистой стенки придают т.н. атерогенным липопротеидам (ЛПОНП и ЛПНП), проникающим в сосудистую стенку и задерживающихся в ней, что приводит в конечном итоге к развитию атеросклеротической бляшки. Советским биохимиком А.Н. Климовым с сотрудниками разработана аутоиммунная теория патогенеза атеросклероза, согласно которой ЛПОНП и ЛПНП обладают аутоиммунными свойствами (антигенными свойствами), вызывают образование антител и в виде комплекса липопротеид-антитело отлагаются в интиму сосудистой стенки, вызывая повышение проницаемости эндотелиального барьера сосудистой стенки с последующими дистрофическими изменениями. В результате продукты распада эластина и коллагена стимулируют в свою очередь выработку антител против тканевых антигенов. Фиксация в сосудистой стенке этих новых аутоиммунных комплексов сопровождается дальнейшим изменением тканевых структур артерий.

Как уже указывалось ранее, холестерин, подобно высшим жирным кислотам, представляет собой нерастворимое в воде соединение, которое удерживается в желчи в растворенном состоянии лишь благодаря образованию комплексного соединения с желчными кислотами. При некоторых патологических состояниях, например, воспалении желчного пузыря, патологии печени, изменяется соотношение в желчи холестерина и желчных кислот, холестерин выпадает из желчи в кристаллической форме, образуя так называемые желчные камни. Образование желчных камней, состоящих в основном (на 90-99% ) из холестерина, является одним из основных признаков так называемой желчно-каменной болезни.

Расстройства липидного обмена могут быть связаны с нарушением переваривания жиров и липоидов в желудочно-кишечном тракте в силу непоступления (или малого поступления) в кишечник желчных кислот или панкреати-

ческой липазы. Как известно, желчные кислоты способствуют эмульгированию пищевых жиров, активируют липазу и содействуют всасыванию высших жирных кислот. Поэтому понятно, что нарушение поступления желчи в кишечник, равно как и панкреатической липазы, катализирующей гидролиз жиров, отражается на переваривании жиров и, следовательно, их усвоении. Кал в этих случаях содержит много нерасщепленного жира или невсосавшихся высших жирных кислот.

Одновременно нарушается всасывание жирорастворимых витаминов, что в свою очередь, может привести к явлениям гиповитаминоза.

Наконец, при недостаточной активности липопротеидлипазы крови нарушается переход жирных кислот из хиломикронов плазмы крови в жировые депо, так как нарушается расщепление триглицеридов, входящих в хиломикроны. Чаще это наследственное заболевание. Плазма крови при этом заболевании содержит большое количество хиломикронов, придающих крови молочный цвет.

## 9. Обмен белков

### 9.1. Общая характеристика. Переваривание белков

Белковый обмен занимает ведущее место среди многообразных превращений веществ, свойственных живой материи. По степени важности в процессах обмена пластическая роль белков в организации разнообразных структур и образовании ряда важнейших веществ, таких как, например, ферментов и гормонов, неизмеримо превосходит их роль как источника энергии. Более того, пластическая функция белков не только существенна, но и незаменима, так как белки в этом отношении нельзя заменить какими-либо другими веществами, входящими в состав организма или поступающими из внешней среды. Продолжительное безбелковое питание неизбежно кончается смертью животного.

Белки, вводимые с пищей в организм, никогда не вступают в состав тканей тела без предварительного расщепления. Прежде чем быть усвоенными, белки разлагаются в пищеварительном тракте на индифферентный материал, лишенный видовой и тканевой специфичности. Таким материалом служат аминокислоты. К этому следует добавить, что и при тканевом обмене внеклеточные белки и пептиды не могут проходить через клеточную мембрану. Поэтому белки и в процессе тканевого обмена предварительно гидролизуются до аминокислот, которые затем попадают внутрь клетки путем активного транспорта через мембраны.

Гидролиз белка катализируется особыми ферментами, относящимися к классу гидролаз – пептидгидролазами. Пептидгидролазы гидролизуют пептидные связи. При этом свободная энергия пептидных связей переходит в тепло. Благодаря совместному и последовательному действию различных пептидгидролаз (протеиназ, пептидаз) удаётся полностью разрушить белок до аминокислот. Следует заметить, что протеолитическим ферментам придают большую роль не только в катаболизме белков, но и в регуляции ряда внеклеточных и внутриклеточных физиологических процессов, таких как свертывание крови, лизис клеток, образование гормонов, токсинов, вазоактивных веществ (ангиотензина, кининов), дифференциации клеток, активировании белков, придании им специфических свойств.

По месту своего действия пептидгидролазы можно подразделить на 2 группы: внутриклеточные и внеклеточные.

Внутриклеточными пептидгидролазами осуществляется в процессе обмена белка расщепление клеточных белков до аминокислот. Этот процесс главным образом протекает в особых органеллах клеток – лизосомах.

Другие пептидгидролазы действуют внеклеточно. Последние делают возможным усвоение белков пищи при пищеварении, выделяясь из пищеварительных желез в просвет желудочно-кишечного тракта.

Данные ферменты образуются в слизистой оболочке желудка, тонкого кишечника и поджелудочной железе в форме неактивных предшественников (проферментов, зимогенов), которые уже в просвете желудочно-кишечного тракта превращаются в соответствующие активные ферменты. Внеклеточное активирование защищает от самопереваривания органы, вырабатывающие ферменты, предохраняет от разрушения другие ферменты – белки, в них вырабатываемые.

Как и все энзимы, пищеварительные пептидгидролазы являются белками. Их активирование представляет собой протеолитический процесс, при котором отщепляется пептид от молекулы профермента и в следствии этого молекулярная масса активного фермента ниже таковой профермента. В некоторых случаях активирование – аутокаталитический процесс.

Пептидгидролазы обладают более или менее выраженной субстратной специфичностью. Они часто разрушают только те пептидные связи, в которых участвует определенный тип аминокислот. Катализ белков пищи пищеварительными ферментами облегчается денатурированием субстратов. Денатурирование происходит в процессе приготовления пищи, а также под действием соляной кислоты в желудке, а частично уже при обработке слюной. Оптимум pH ферментов примерно совпадает с условиями среды места их действия.

Переваривание белков начинается в желудке. Этому способствует 2 фактора: 1) наличие сильнокислой реакции желудочного сока ( $\text{pH}=0,9-1,6$ ), 2) присутствие в соке пепсина, действующего на белки.

Кислотность желудочного сока обуславливает денатурирующее влияние на белок, чем облегчается его гидролиз ферментом. Одновременно соляная кислота желудочного сока способствует превращению препепсина (пепсиногена), т.е. неактивной формы фермента, выделяемой главными клетками слизистой оболочки желудка, в активный протеолитический фермент – пепсин.

Имеются доказательства, что у человека из пепсиногена образуется несколько близких по строению пепсинов, и, кроме того, пепсиноподобный фермент гастриксин (оптимум  $\text{pH}=3$ ).

Оптимальная концентрация водородных ионов для пепсина составляет  $\text{pH}=1,5-2,5$ , что соответствует кислотности содержимого желудка на высоте пищеварения. При  $\text{pH}$  выше 6,0 пепсин инактивируется. Пепсин является ферментом-протеином и относится к группе эндопептидаз. Его каталитическая активность весьма велика: 1 г кристаллического пепсина за 2 часа расщепляет 50 кг денатурированного яичного белка. Пепсин предпочтительно ускоряет гидролиз пептидных связей, образованных при фенилаланине и лейцине, а по другим данным – аминокруппами ароматических и дикарбоновых аминокис-

лот. В итоге каталитического действия пепсина образуются более или менее сложные пептиды (которые иногда называют пептонами).

Гидролиз под влиянием пепсина может сопровождаться также появлением свободных аминокислот. Наиболее легко под влиянием пепсина расщепляются мышечные белки, а также альбумины и глобулины как животного, так и растительного происхождения.

Помимо пепсина и гастриксина, в желудке молодых животных и грудных детей обнаружен так называемый сычужный фермент (химозин). Оптимум действия этого фермента лежит в пределах  $\text{pH}=3,5-4$ . Под влиянием химозина в присутствии солей кальция казеиноген молока превращается в ходе гидролитической реакции в нерастворимый казеин, в результате этого происходит створаживание молока, приводящее к замедлению продвижения казеина по пищеварительному тракту и большему воздействию на него протеиназ.

Пептиды и белки, перешедшие из желудка в кишечник подвергаются дальнейшему расщеплению под влиянием ферментов поджелудочной железы (трипсина, химотрипсина, карбоксипептидаз) и ферментов кишечника (аминопептидаз и дипептидаз).

Трипсин содержится в поджелудочном соке в недействительной форме в виде трипсиногена (протрипсина). Активирование фермента (перевод его в трипсин) начинается под влиянием другого протеолитического фермента – энтерокиназы (или энтеропептидазы) кишечного сока, открытого Н.П. Шаповальниковым в лаборатории И.П. Павлова. В последующем образование трипсина из трипсиногена осуществляется аутокаталитически (трипсин сам превращает трипсиноген в трипсин). Для процесса активирования необходимы ионы  $\text{Ca}^{++}$ . Процесс превращения трипсиногена в трипсин сводится к отщеплению небольшого пептида с  $\alpha$ -аминного, т.е. N-конца полипептидной цепи фермента. Трипсин представлен одной полипептидной цепью и включает в себя около 229 аминокислот с 6-ю дисульфидными связями. Трипсин является эндопептидазой. Трипсин гидролитически расщепляет как белки, не изменившиеся в желудке под влиянием пепсина, так и высокомолекулярные пептиды. При этом трипсин предпочтительно расщепляет связи, в которых участвуют карбоксильные группы аргинина и лизина. Оптимум  $\text{pH}$  для трипсина равен 7-8. Трипсин производит сравнительно неглубокий гидролиз белка, образуя полипептиды. Следует отметить, что под влиянием трипсина в процессе гидролиза белка могут освободиться в небольшом количестве и свободные аминокислоты. Ряд основных пептидов с  $M=9000$  могут быть ингибиторами трипсина. Такие ингибиторы были обнаружены в поджелудочной железе, крови, ткани легкого, в бобах сои. В яйцах в качестве ингибитора трипсина найден мукопротеид.

Другим протеолитическим ферментом поджелудочного сока является химотрипсин, который также секретируется в неактивной форме в виде химотрипсиногена и является, как и трипсин, эндопептидазой. Последний под дей-



ствием трипсина переходит в химотрипсин. Установлено, что в поджелудочной железе синтезируется ряд химотрипсинов ( $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\pi$ ) из двух предшественников – химотрипсиногенов А и В. Химотрипсин гидролизует предпочтительно те пептидные связи, в образовании которых участвует карбоксильная группа ароматических аминокислот (тирозина, фенилаланина и триптофана), а также лейцина, а по некоторым данным – метионина.

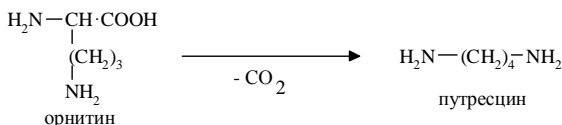
В поджелудочной железе образуются также другие эндопептидазы, которые, по-видимому, как и химотрипсин, активируются трипсином. Таковым является, например, фермент эластаза (или панкреатопептидаза), профермент которого – проэластазу – можно обнаружить в соке поджелудочной железы. Этот фермент разрывает пептидные связи, прилегающие к остаткам нейтральных аминокислот (пролина, аланина, глицина, серина и др.). В поджелудочной железе образуется и фермент коллагеназа, гидролизующий белок коллаген.

Полипептиды (или пептиды), образовавшиеся в результате действия на белки протеиназ пепсина, трипсина и химотрипсина, подвергаются дальнейшему расщеплению в кишечнике под влиянием пептидаз: карбоксипептидаз, аминопептидаз, дипептидаз. Эти так называемые экзопептидазы являются металлоферментами. Они активируются двухвалентными ионами  $Mg^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ , которые, по-видимому, имеют значение для образования фермент-субстратного комплекса. Пептидазы синтезируются в виде проферментов: карбоксипептидазы – в поджелудочной железе, аминопептидазы и дипептидазы – в кишечных железах, активируются эти проферменты трипсином. В результате ферментативного гидролиза полипептидов указанными пептидазами – карбоксипептидазами – с С-конца, а аминопептидазами – с N-конца полипептидов, в кишечнике образуются свободные аминокислоты, которые всасываются в кровь через кишечную стенку. Всасывание идет путём активного транспорта за счет энергии градиента  $Na^+$  на мембране с участием белков-переносчиков, молекулярные механизмы транспорта еще не совсем ясны.

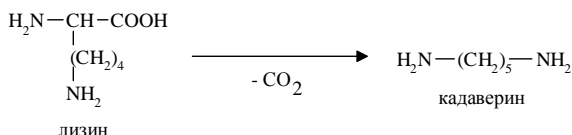
Часть аминокислот до их всасывания может использоваться микробами, населяющими кишечник, в качестве питания. При этом расщепление аминокислот ферментами, выделяемыми микробами, приводит к превращению их в амины, жирные кислоты, спирты, фенол, п-крезол, индол, скатол, сероводород и ряд других соединений, некоторые из которых являются ядами для организма. Этот процесс иногда называют гниением белков в кишечнике.

В основе гниения лежат реакции декарбоксилирования аминокислот, обусловленные ферментами, вырабатываемыми кишечной микрофлорой.

При декарбоксилировании аминокислот образуются амины. При декарбоксилировании аминокислоты орнитина ( $\alpha$ , $\beta$ -диаминовалериановой кислоты) образуются путресцин (тетраэтилендиамин):



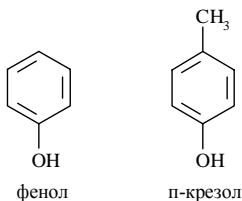
При декарбоксилировании лизина ( $\alpha,\epsilon$ -диаминокапроновая кислота) получается кадаверин (пентаметилендиамин):



Ядовитость путресцина и кадаверина незначительна и в случае всасывания в кровь они выводятся с мочой в неизменённом виде или подвергаются окислению диаминооксидазами. Аналогичным образом при гниении в кишечнике из фенилаланина образуется фенилэтиламин, из триптофана – индолэтиламин (триптамин), из 5-окситриптофана – серотонин, из тирозина – тирамин, из гистидина – гистамин и т.д.

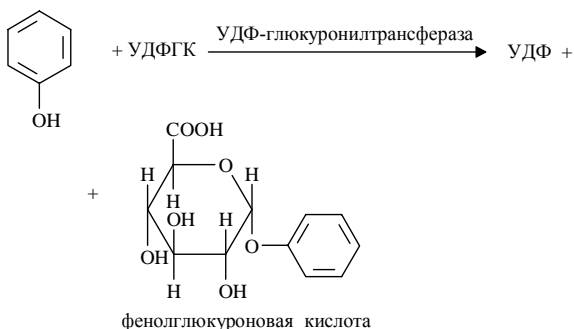
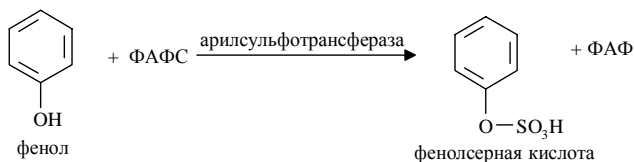
Образующиеся в кишечнике под влиянием ферментов микрофлоры амины серотонин, тирамин, гистамин и др. после всасывания могут оказать сильное физиологическое действие на организм. Поэтому они обезвреживаются в эпителии кишечника путем окисления соответствующими аминаксидазами. Поскольку образование этих аминов происходит также в тканях, на их судьбе мы более подробно остановимся ниже.

Из ядовитых продуктов гниения белков следует назвать фенол, паракрезол, скатол и индол. Фенол и крезол (паракрезол) образуются в процессе расщепления бактериями тирозина.

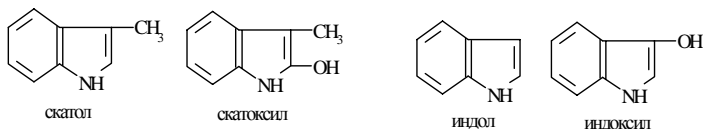


Крезол и фенол после всасывания обезвреживаются в печени путем образования парных кислот: либо с серной кислотой, либо с глюкуроновой кислотой.

Причем, и серная и глюкуроновая кислоты взаимодействуют с крезолом и фенолом в активной форме: первая в виде 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфата (ФАФС), а вторая в виде уридин-дифосфоглюкуроновой кислоты. Образующиеся парные кислоты неядовиты и выводятся с мочой.



Индол и скатол образуются при гниении белков в кишечнике из аминокислоты триптофана:



Эти ядовитые вещества также обезвреживаются в печени путем соединения с серной кислотой (3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфатом) или глюкуроновой кислотой (уридиндифосфоглюкуроновой кислотой). Однако предварительно индол окисляется в индоксил, а скатол – в скатоксил. В виде парных кислот эти соединения выводятся из организма через почки с мочой. Калиевая или натриевая соль индоксилсерной кислоты получила название животного индикана. Она выводится с мочой. По количеству индикана в моче можно судить о скорости процессов гниения белков в кишечнике и функциональном со-

стоянии печени, обеспечивающим обезвреживание ядовитых веществ, что имеет большое клиническое значение.

При глубоком разрушении кишечными бактериями аминокислот цистина, цистеина и метионина образуется сероводород ( $\text{H}_2\text{S}$ ), метилмеркаптан ( $\text{CH}_3\text{SH}$ ) и другие содержащие серу соединения.

При нарушении переваривания белков усиливается гниение белков в толстом кишечнике под влиянием ферментов микроорганизмов.

Следует отметить, что число веществ, образующихся в кишечнике из аминокислот под влиянием микробов, далеко не исчерпывается упомянутыми выше соединениями, так же как и приведенные выше синтезы парных кислот не исчерпывают все защитные механизмы, направленные на обезвреживание образуемых в кишечнике ядовитых продуктов расщепления белковых веществ.

### **9.2. Катаболизм белков и аминокислот в тканях**

Большая часть аминокислот, образовавшихся в результате гидролиза белков в пищеварительном канале, всасывается в кровь.

Аминокислоты, всосавшиеся кишечной стенкой, поступают в воротную вену, а затем попадают в печень. Значительная часть аминокислот задерживается в печени, где из них синтезируются различные белки (белки печени, крови и др.), а также ряд специфических азотсодержащих соединений (пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, креатина, мочевой кислоты и др.). Другая значительная часть аминокислот, не задерживаясь в печени, попадает в общий ток крови, затем в межклеточную жидкость, откуда транспортируются внутрь клеток для синтеза клеточных белков взамен изношенных или обновляемых. Наконец, избыток аминокислот окисляется до конечных продуктов обмена совместно с аминокислотами, образовавшимися при расщеплении изношенных тканевых белков. Все эти превращения, равно как и расщепление тканевых белков, объединяются понятием промежуточного обмена белков.

Для оценки состояния обмена белков и обеспеченности организма белковой пищей введено понятие азотистый баланс. Этот термин означает количественную разницу между введением с пищей азота и выведением его в виде конечных продуктов азотистого обмена (в г/сутки), поскольку основная масса как азота пищи, так и выделяемых продуктов имеет белковое происхождение.

Различают положительный азотистый баланс, когда часть азота пищи остается в организме и используется в основном на биосинтез белков тканей. Он свидетельствует о преобладании анаболизма над катаболизмом белков и наблюдается у растущего организма и при беременности.

При отрицательном азотистом балансе количество выделяющегося в сутки азота превышает его поступление с пищей, что свидетельствует о преоб-

ладании катаболического процесса в белковом обмене. Это состояние встречается при голодании, тяжёлых заболеваниях, у людей пожилого возраста.

Наконец, состояние азотистого равновесия, наблюдаемое у здорового взрослого человека, находящегося на полноценной сбалансированной диете, характеризуется равным количеством теряемого и принимаемого с пищей азота. Подсчитано, что в состоянии азотистого равновесия организм взрослого человека потребляет и соответственно выделяет 15 г азота в сутки.

Межуточный обмен белков складывается из процессов катаболизма и анаболизма белков.

Процесс расщепления тканевых белков происходит под влиянием внутриклеточных пептидгидролаз, которые получили название катепсины. Различают различные виды катепсинов по оптимуму pH и специфичности к белкам. Так, обнаружены в различных животных тканях катепсины А, В, Д и др., отличающиеся друг от друга по субстратной специфичности и примерно соответствующие по действию трипсину и пепсину. Оптимальный pH действия многих катепсинов равен 5-6, однако описаны также катепсины с pH-оптимумом 3 и 7. Катепсины обеспечивают главным образом разрушение дефектных молекул белка. Недостаток катепсинов снижает возможности обновления белков тканей. Катепсины обладают также ограниченным протеолизом, что рассматривается как их регуляторная функция – образование активных белков.

Следует отметить, что в норме обновление белков в организме происходит весьма интенсивно. За сутки в организме взрослого человека обновляется до 400 г белка. Скорость обновления белков разных тканей различна. К примеру, согласно результатам исследований с мечеными атомами, полупериод распада белковых гормонов (инсулин) исчисляется часами и даже минутами, а белки печени обновляются наполовину за 10 суток, белки плазмы крови – за 20-40 суток, белки мышц – за 180 дней.

В организме происходит постоянное смешивание эндогенных белковых молекул и продуктов их гидролиза – аминокислот с молекулами белков и их производных, синтезированных из аминокислот белков пищи.

Соотношение аминокислот в распадающихся белках и новообразуемых за их счёт белках, как правило, различно. Поэтому часть свободных аминокислот, получившихся при гидролизе белков и пептидов, должна быть преобразована в другие аминокислоты, либо окислена до простых соединений, выводимых из организма. Эти аминокислоты образуют внутриклеточную динамическую совокупность свободных аминокислот – так называемый аминокислотный фонд или пул. Иначе говоря, существует внутриклеточный уровень запаса свободных аминокислот, который в значительной мере пополняется за счет процессов превращения одних аминокислот в другие (заменимых из незаменимых), а также за счет процессов гидролиза белков, синтеза заменимых аминокислот и поступления пищевых аминокислот из внеклеточной жидкости. С другой сто-

роны, благодаря синтезу белков и других веществ из аминокислот (углеводов, липидов, некоторых азотосодержащих соединений), а также окисления аминокислот до конечных продуктов обмена, происходит постоянное удаление из «пула» аминокислот.

В клетках существуют системы активного транспорта аминокислот через мембраны, обеспечивающие их перенос как через клеточную мембрану, так и через внутриклеточные мембраны, что обеспечивает их участие в обменных процессах в определенных участках клетки, т.е. компартментарно. Необходимо подчеркнуть, что аминокислотный и белковый обмен интегрирован с другими видами обменов – углеводным, липидным, обменом нуклеиновых кислот и др.

В основе различных путей обмена аминокислот в организме лежат три типа общих реакций: реакции по  $\alpha$ -аминогруппе, по карбоксильной группе и по радикалу аминокислоты.

Реакции по  $\alpha$ -аминогруппе однотипны у всех аминокислот и заключаются в реакциях дезаминирования и переаминирования (трансаминирования).

Большой вклад в выявление механизмов переаминирования внесли советские ученые А.Е. Браунштейн, М.Г. Крицман, С.М. Бычков, М.М. Шемякин и американец Э. Снелл. Аминный азот, выделяющийся в этих реакциях в виде аммиака, обезвреживается в орнотиновом цикле и выводится из организма у большинства млекопитающих в виде конечного продукта – мочевины.

Реакции по карбоксильной группе тоже однотипны для всех аминокислот и сводятся в основном к декарбоксилированию и образованию аминокислотных амидов.

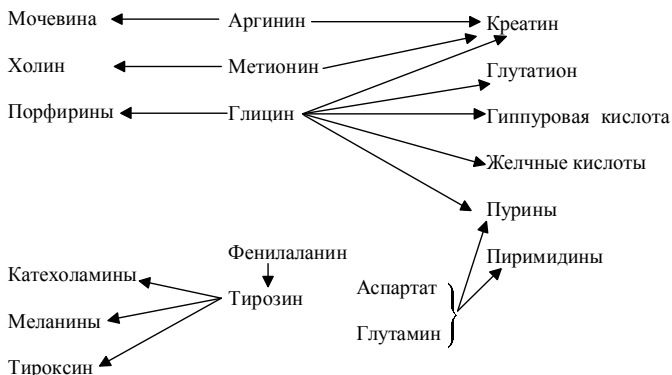
В отличие от этого преобразования в радикалах аминокислот исключительно разнообразны, и, как правило, уникальны для каждой отдельной аминокислоты.

Часть безазотистого углеродного скелета аминокислот, образовавшихся в результате дезаминирования, подвергается окислительному расщеплению на фрагменты, которые могут включаться затем в лимоннокислый цикл для дальнейшего окисления. При этом атомы углерода различных аминокислот поступают в лимоннокислый цикл пятью разными путями. Для десяти аминокислот этот путь связан с превращением их углеродных скелетов в ацетил-КоА, для пяти аминокислот – в  $\alpha$ -кетоглутарат, для трёх – в сукцинил-КоА, для двух аминокислот – в оксалоацетат. Углеродные скелеты двух аминокислот (фенилаланина и тирозина) частично поступают в лимоннокислый цикл в виде ацетил-КоА, а частично в виде фумарата.

С другой стороны, безазотистые углеродные скелеты аминокислот могут включаться в биосинтетические реакции. Многие аминокислоты (10 аминокислот) после утраты аминогруппы могут превращаться в углеводы. Их называют глюकोпластическими (основные – аланин, аспарагиновая и глутаминовая

кислоты). Другие аминокислоты (три аминокислоты – лейцин, фенилаланин и тирозин) – включаются в метаболизм липидов и их именуют кетопластическими аминокислотами.

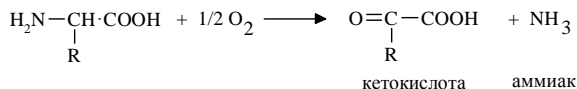
Пути катаболизма аминокислот сложны и переплетаются со многими другими метаболическими путями, благодаря чему многие промежуточные продукты катаболизма аминокислот служат необходимыми предшественниками для синтеза различных компонентов клетки и биологически активных веществ (гормонов, ферментов, глутатиона, алкалоидов, аминов, креатина, пуринов, пиримидинов, меланинов, порфиринов, холина и др.). Схематично это можно представить следующим образом:



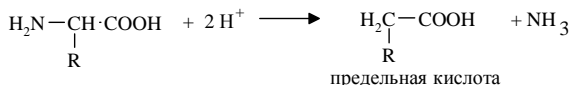
Катаболизм аминокислот у млекопитающих происходит главным образом в печени и несколько слабее в почках.

Остановимся на вышеперечисленных общих реакциях подробнее. В реакциях по  $\alpha$ -аминогруппе, связанных с дезаминированием, различают четыре вида дезаминирования аминокислот:

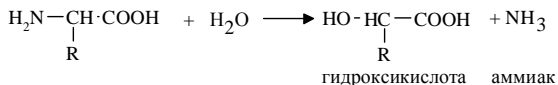
### 1. Окислительное дезаминирование:



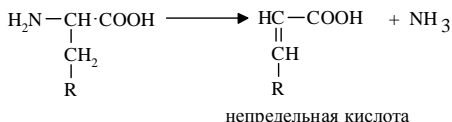
### 2. Восстановительное дезаминирование



### 3. Гидролитическое дезаминирование



### 4. Внутримолекулярное дезаминирование

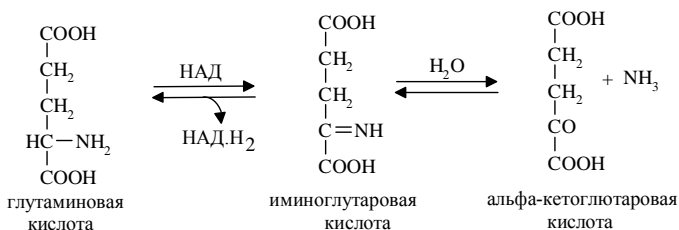


Указанные реакции катализируются специфическими ферментами. Наиболее широко распространено окислительное дезаминирование, катализируемое оксидазами аминокислот (их еще называют дегидрогеназами), тогда как остальные виды дезаминирования встречаются редко (лишь у отдельных групп организмов).

Окислительное дезаминирование осуществляется в два этапа. Сначала на первом этапе аминокислота окисляется в иминокислоту при участии специфической оксидазы (дегидрогеназы), где в качестве простетической группы в случае с оксидазой глутаминовой кислоты (глутаматдегидрогеназой) выступает НАД, тогда как для дегидрогеназ (оксидаз) других аминокислот – ФМН (для L-аминокислот) или ФАД (для D-аминокислот). При этом НАД, ФМН или ФАД восстанавливаются. Следует заметить, что в отличие от НАД·H<sub>2</sub>, который затем окисляется в дыхательной цепи ферментов, восстановленные ФМН и ФАД оксидаз L- и D-аминокислот могут непосредственно окисляться молекулярным кислородом, образуя H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, которая подвергается расщеплению под воздействием каталазы на воду и кислород. На втором этапе иминокислота спонтанно гидролизруется на кетокислоту и аммиак.

В животных тканях Эйлером выявлен высокоактивный при физиологических значениях pH (pH=7) фермент глутаматдегидрогеназа, катализирующая окислительное дезаминирование L-глутаминовой кислоты. Этот процесс можно представить в виде следующих уравнений:





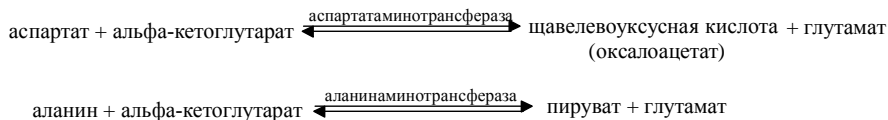
Надо заметить, что обе реакции обратимы и таким путем из  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты и аммиака в организме может образоваться глутаминовая кислота.

Благодаря обратимости этой реакции, обмен глутаминовой кислоты связан с центральным путем катаболизма субстратов – лимоннокислым циклом.

Дегидрогеназы (оксидазы L- и D-аминокислот), присущие организму в тканях животных и растений, при физиологическом значении pH в общем малоактивны и только дегидрогеназа глутаминовой кислоты проявляет себя высокоактивным ферментом. Поэтому считают, что большинство аминокислот в организме дезаминируются непрямым дезаминированием, так называемым транс-дезаминированием, при котором аминокислоты предварительно переаминируются в основном с  $\alpha$ -кетоглутаровой кислотой, а затем образовавшаяся в результате этого глутаминовая кислота подвергается окислительному дезаминированию.

Аминокислоты могут вступать в реакцию переаминирования также ещё с двумя  $\alpha$ -кетокислотами: пировиноградной и щавелевоуксусной кислотами, и  $\alpha$ -кетокислоты соответственно превращаются: пировиноградная – в аланин, а щавелево-уксусная в аспарагиновую кислоту. Реакция переаминирования (трансаминирования) катализируется специфическими аминотрансферазами.

Для клинических целей (при диагностике органических и функциональных поражений разных органов) наибольшее значение имеют две трансаминазы (аспартатаминотрансфераза и аланинаминотрансфераза), катализирующие соответственно следующие обратимые реакции:



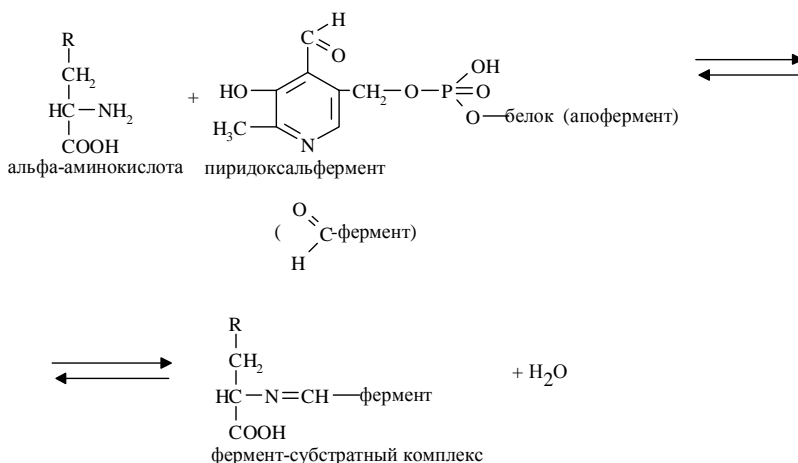
При органических поражениях, при заболеваниях, сопровождающихся деструкцией клеток, происходит выход трансаминаз из очага поражения в кровь и развивается гипертрансаминаземия (например, при инфаркте миокарда), что

используют для клинико-лабораторной диагностики инфаркта миокарда и др. заболеваний.

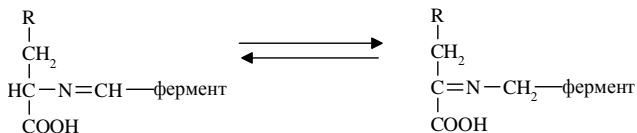
Общий итог переаминирования различных аминокислот состоит в том, что все их аминогруппы собираются в общий фонд в виде одной аминокислоты, обычно в виде глутаминовой кислоты. У некоторых организмов первоначально такой аминокислотой может быть аланин или аспарагиновая кислота, однако, в дальнейшем, происходит перенос аминогрупп с этих аминокислот на  $\alpha$ -кетоглутаровую кислоту с образованием глутаминовой кислоты. Следовательно, независимо от первого этапа переаминирования, конечным акцептором аминогрупп большинства аминокислот служит  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота, которая превращается в глутаминовую кислоту.

Реакция переаминирования многостадийна. В качестве кофермента (протетической группы) аминотрансфераз (трансаминаз), катализирующих эту реакцию, служит пиридоксальфосфат, являющийся производным витамина В<sub>6</sub>.

На первой стадии ферментативного катализа протетическая группа фермента взаимодействует с аминокислотой, подвергающейся переаминированию. Соединение идет по аминогруппе кислоты и альдегидной группе пиридоксальфермента.

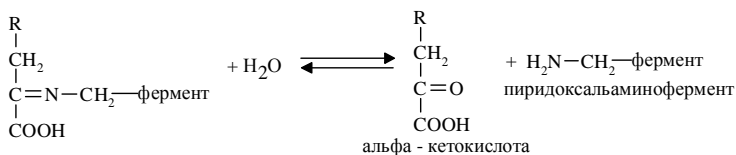


На второй стадии катализа идет таутомерная перегруппировка в образовавшемся комплексе:

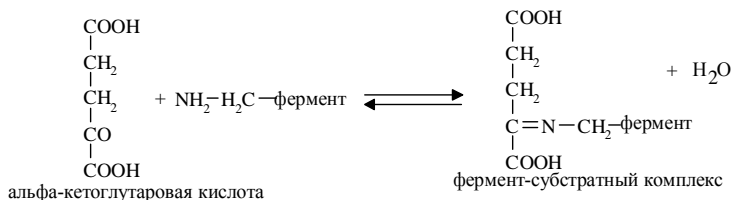


шиффовы основания  
(альдемин и катемин)

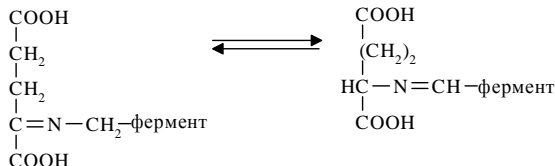
В результате последующего гидролиза происходит образование и освобождение кетокислоты и пиридоксальаминофермента:



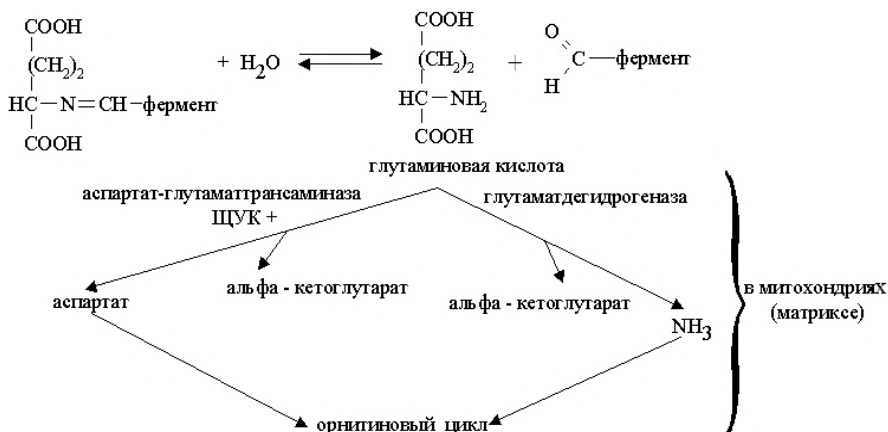
Далее пиридоксальаминофермент образует фермент-субстратный комплекс с α-кетоглутаровой кислотой:



Далее происходит в комплексе таутомерное превращение:



Полученное соединение гидролизуется и возникает глутаминовая кислота:



Образовавшаяся глутаминовая кислота подвергается дезаминированию по вышеописанной схеме с превращением в  $\alpha$ -кетоглутаровую кислоту и весь процесс может возобновиться снова. Полагают, что накопление аминогрупп в форме глутаминовой кислоты в результате процесса переаминирования происходит в цитоплазме клеток, после чего эта глутаминовая кислота с помощью особой системы переноса транспортируется через мембрану внутрь митохондрий. В матриксе митохондрий, с одной стороны с помощью специфической аспартат-глутамат-трансаминазы происходит перенос аминогруппы с глутаминовой кислоты на щавелево-уксусную кислоту с образованием аспарагиновой кислоты, включающейся в орнитининовый цикл, а с другой стороны, происходит окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты глутаматдегидрогеназой с включением выделившегося аммиака в орнитининовый цикл.

Реакция переаминирования между аминокислотами и  $\alpha$ -кетоглутаровой кислотой обратима, поэтому при определенных условиях она служит для синтеза аминокислот из кетокислот и глутаминовой кислоты.

Следует вновь повторить, что в природе наиболее распространено окислительное дезаминирование, ведущее к образованию  $\alpha$ -кетокислот. Лишь в малораспространенных случаях (у некоторых микроорганизмов) конечным продуктом дезаминирования могут служить предельные или непредельные жирные кислоты (соответственно при восстановительном и внутримолекулярном дезаминировании) или гидроксикислоты (при гидролитическом дезаминировании). Дезаминирование некоторых аминокислот (серусодержащих, гидроксикаминокислот, гетероциклических) идет своеобразно, однако, и в этом

случае в конечном итоге образуются кетокислоты и непредельные кислоты. Образовавшиеся в результате дезаминирования или переаминирования аминокислот карбоновые кислоты подвергаются либо окислительному распаду до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , включаясь пятью различными путями в лимоннокислый цикл, сопряженный с дыхательной цепью ферментов, либо используются в биосинтетических процессах обмена углеводов и липидов. Способность аминокислот включаться в реакции обмена углеводов и липидов была замечена в опытах на голодающих или больных диабетом животных: скормливание одних аминокислот приводило к глюконеогенезу и увеличению гликогена в печени, в то время как дача других вызывала или усиливала кетонемию и кетонурию. На основании этих наблюдений аминокислоты стали подразделять на глюкопластические и кетопластические.

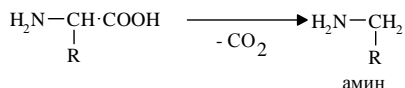
Глюкопластическими аминокислотами являются:

- из I класса – аланин, валин, пролин;
- из II класса – глицин, серин, треонин;
- из III класса – аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота;
- из IV класса – гистидин, аргинин.

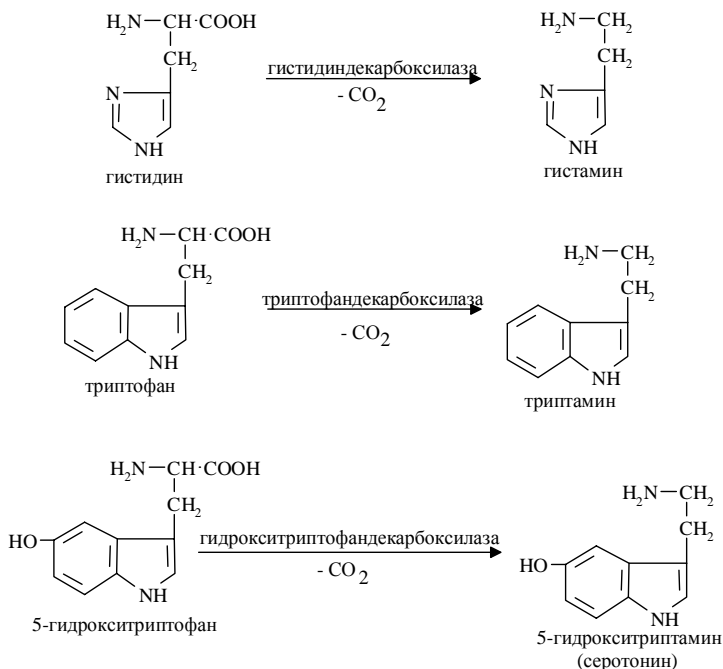
Типичными глюкопластическими аминокислотами являются аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты. Путем переаминирования они поставляют пировиноградную, щавелево-уксусную и  $\alpha$ -кетоглутаровую кислоты, из которых путем так называемого глюконеогенеза через щавелево-уксусную и фосфоенолпировиноградную кислоты и обращение части реакций гликолиза могут образоваться глюкоза и гликоген. К кетопластическим аминокислотам относятся лейцин, фенилаланин и тирозин. Типичной кетопластической аминокислотой является лейцин. Образовавшийся из него после переаминирования ацил-КоА подвергается затем  $\beta$ -окислению, что может сопровождаться образованием в повышенном количестве кетоновых тел.

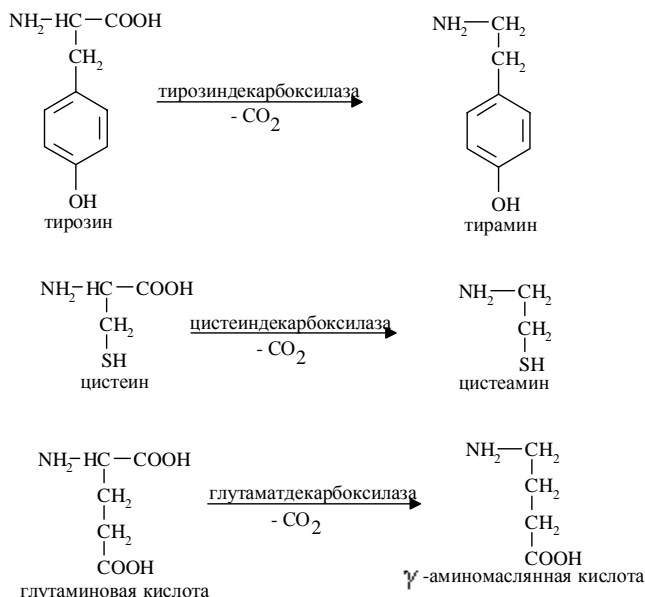
Превращения аминокислот в организме, связанные с реакциями по их карбоксильной группе, сводятся в основном к декарбоксилированию и образованию аминокислот.

Декарбоксилирование аминокислот имеет место в тканях животных и растений, а также у микроорганизмов. Декарбоксилирование, как было сказано выше, служит причиной образования аминов при гниении белков в кишечнике. В тканях декарбоксилирование аминокислот также сопровождается выделением  $\text{CO}_2$  и образованием аминов. Во всех случаях процесс идёт по схеме:



Поскольку амины обладают высокой физиологической активностью и образуются в качестве продуктов жизнедеятельности их называют биогенными аминами. Реакция декарбоксилирования аминокислот ускоряется специфическими для каждой индивидуальной аминокислоты декарбоксилазами, простетической группой которых служит пиридоксальфосфат. Эти ферменты относятся к классу лиаз. Приведем в качестве примера декарбоксилирование гистидина, тирозина, триптофана, 5-окситриптофана, цистеина, глутаминовой кислоты.



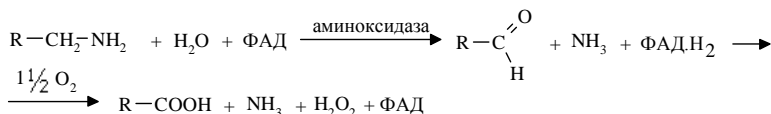


Как уже говорилось, биогенные амины обладают выраженным физиологическим действием. В частности,  $\gamma$ -аминомасляная кислота (ГАМК) накапливается в мозговой ткани и представляет собой нейрогуморальный ингибитор – медиатор торможения центральной нервной системы. В клинике ГАМК используется при лечении некоторых заболеваний ЦНС, связанных с резким возбуждением головного мозга, нарушением мозгового кровообращения и др.

Гистамин вызывает расширение кровеносных сосудов, снижает артериальное давление, вызывает усиление деятельности желудочных желез, повышая кислотность желудочного сока, участвует в передаче нервного возбуждения. Он участвует в явлениях сенсибилизации и десенсибилизации, ему приписывают роль медиатора боли. При повышенной чувствительности больных к гистамину в клинике используют антигистаминные препараты (санорин, димедрол и др.). Сам гистамин используется в клинике при изучении секреторной деятельности желудка (гистаминовая проба).

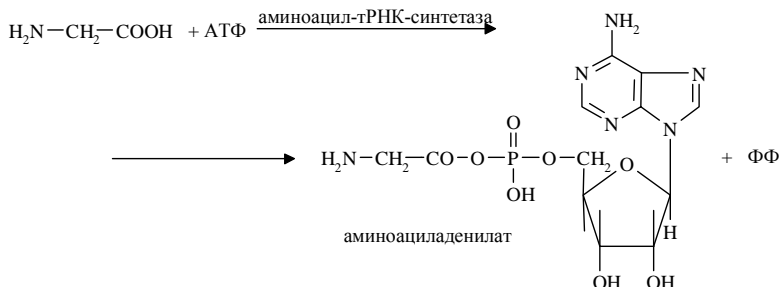
Серотонин обладает многосторонним физиологическим действием, в частности, активирует процессы, связанные с возбуждением нервной системы, выступая как медиатор нервных процессов в ЦНС, оказывает сосудосуживающий эффект, участвует в регуляции артериального давления, температуры тела, дыхания, почечной фильтрации и др.

Все приведенные амины проявляют свое физиологическое воздействие при весьма малых концентрациях, поэтому их образование в большой концентрации могло бы представить угрозу для нормальной жизнедеятельности. Однако в животных тканях имеются активные аминоксидазы (моно- и диаминоксидазы), которые окисляют амины в соответствующие альдегиды. Последние окисляются в жирные кислоты и распадаются далее до конечных продуктов путем  $\beta$ -окисления. Схематично это можно представить следующим образом:



Образующиеся аммиак и перекись водорода обезвреживаются. Моноаминоксидаза – ФАД-зависимый фермент – преимущественно локализуется в митохондриях. Этот фермент играет большую роль в организме, регулируя образование и распад биогенных аминов. При патологических состояниях может наблюдаться как недостаточное образование аминов, так и чрезмерная их продукция. В медицинской практике в этой связи применяют ингибиторы моноаминоксидазы (ипраниазид, гармин, паргиллин) в качестве лечебных средств при депрессивных состояниях, шизофрении и др., а для торможения образования чрезмерных количеств биогенных аминов используют ингибиторы декарбоксилаз ароматических аминокислот. В частности, применяют  $\alpha$ -метилдофа (альдомет), введение которого способствует снижению кровяного давления.

Второй характерной реакцией по карбоксильной группе аминокислот является образование аминокациладенилатов при участии специфического фермента (аминоацил-тРНК-синтетазы) и АТФ. Значение этой реакции существенно в механизме биосинтеза белка. Образование аминокациладенилата активирует аминокислоту перед вступлением последней в пептидную связь при биосинтезе белка на рибосомах.



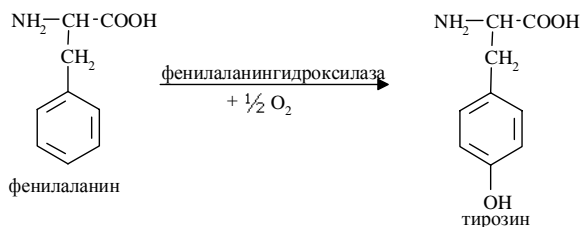


С аминокислотами аминокислоты передаются на транспортную РНК, образуя аминокислот-тРНК, которая уже непосредственно используется при синтезе полипептидных цепочек.

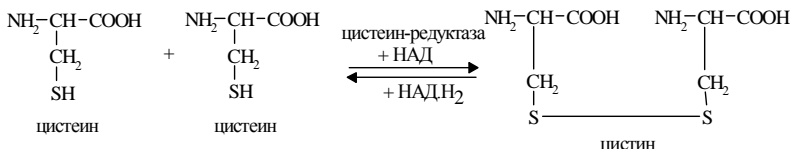
Помимо реакций по аминной и карбоксильной группе известны превращения аминокислот, связанные с реакциями по радикалу, т.е. по той части ее молекулы, которая не принимает участия в формировании хребта полипептидной цепи.

Важнейшими типами превращений аминокислот, протекающими с видоизменением радикалов, являются окислительно-восстановительные реакции,  $\beta$ -декарбоксилирование, деметилирование и переметилирование, комбинированные реакции, которые ведут к переходу одних аминокислот в другие, что усиливает возможности синтеза различных аминокислот.

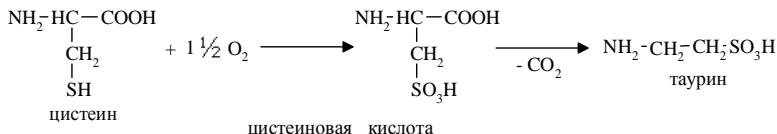
В качестве примера окислительных реакций можно привести окисление фенилаланина в тирозин:



Окислительно-восстановительные процессы легко протекают по серусодержащим радикалам цистеина и цистина, благодаря чему происходит их взаимопревращение:

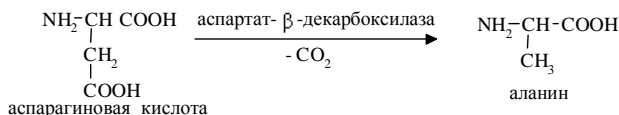


При полном окислении тиоловой группы цистеина последний переходит в цистеиновую кислоту, которая декарбоксилируясь переходит в таурин.

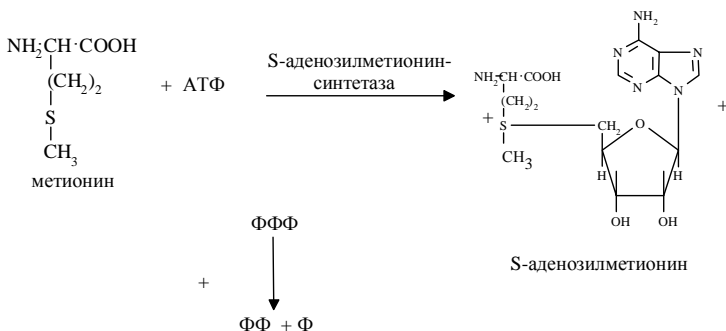


Последний с желчными кислотами образует парные желчные кислоты (таурохолевую, тауродезоксихолевую), которые принимают участие в процессе всасывания жирных кислот.

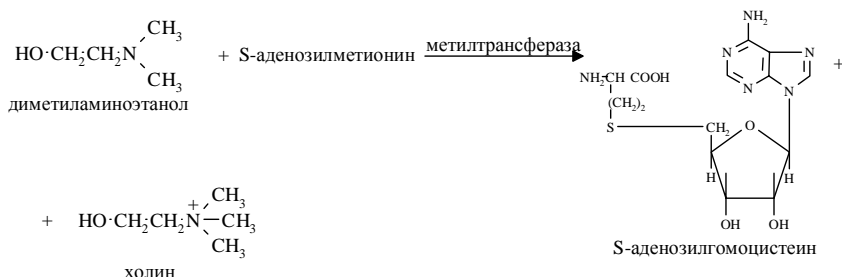
При  $\beta$ -декарбоксилировании аспарагиновой кислоты возникает аланин.



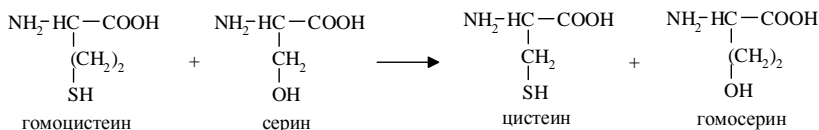
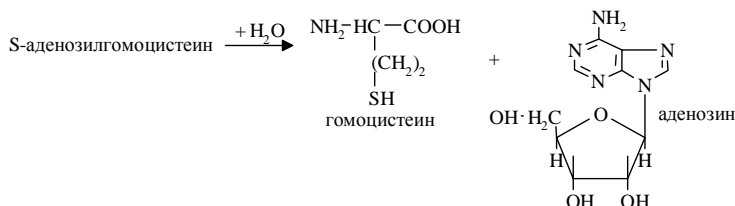
Большое распространение в организме имеет реакция деметилирования аминокислоты метионина. Она осуществляется при каталитическом воздействии метилтрансферазы. Установлено, что метионин является универсальным поставщиком метальных групп в реакциях трансметилирования (переметилирования). Вначале происходит «активация метионина» за счет образования его соединения с АТФ, образуется S-аденозилметионин:



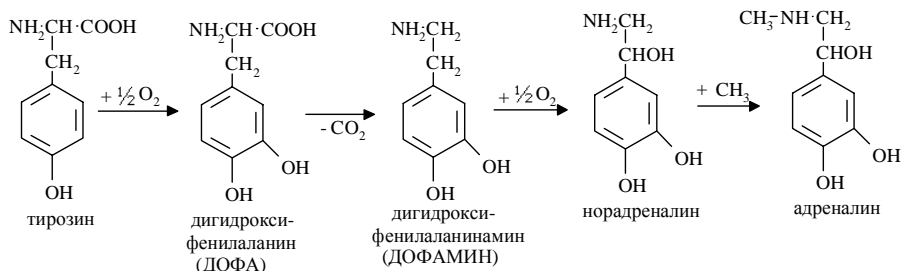
Реакция ускоряется специфическим ферментом – S-аденозилметионин-синтетазой. Далее метильная группа S-аденозилметионина передаётся соединению, которое подвергается метилированию, к примеру, диметиламиноэтанолу с образованием холина.



Образовавшийся S-аденозилгомоцистеин ферментативно превращается в аденозин и гомоцистеин. Последний, путем присоединения серина может давать в итоге гомосерин и цистеин. Возможен также перенос метильной группы с метилтетрагидрофолата на гомоцистеин с образованием метионина. В тканях млекопитающих эта реакция катализируется В<sub>12</sub>-зависимой метионинсинтетазой (N<sup>5</sup>-метилтетрагидрофолат: L – гомоцистеин – метил – трансферазой):



В результате реакций превращения радикала аминокислот, сочетающихся с декарбоксилированием и переаминированием, могут образоваться вещества, обладающие очень сильным физиологическим действием. К примеру, из тирозина в результате реакций окисления, декарбоксилирования и метилирования образуется гормон адреналин.



Таким образом, в процессе превращений аминокислот могут возникнуть соединения, принимающие участие в регуляции обмена веществ. Это подчеркивает ведущую роль белкового обмена в общем обмене веществ в организме.

Итак, в результате превращений аминокислот по аминогруппе, по карбоксильной группе и по их радикалу возникают углекислота ( $CO_2$ ), аммиак ( $NH_3$ ), амины, карбоновые кислоты, кетокислоты и в некоторых случаях достаточно сложные вещества, относящиеся к тем или иным классам органических веществ. Если эти вещества не вовлекаются в процессы синтеза, то все они, за исключением углекислоты и аммиака, в конце концов подвергаются дальнейшей деструкции. Амины и диамины путем окислительного дезаминирования превращаются в карбоновые кислоты. Карбоновые кислоты, также как и кетокислоты, возникающие в процессе распада аминокислот, постепенно окисляются (путем  $\beta$ -окисления и в лимоннокислом цикле), образуя углекислый газ и воду. В углекислоту, воду и аммиак превращаются также все остальные органические вещества, получившиеся в результате превращений аминокислот. Следовательно, конечными продуктами распада аминокислот являются вода, углекислота и аммиак.

### 9.3. Обезвреживание аммиака. Орнитиновый цикл

Аммиак, накапливающийся в процессе дезаминирования аминокислот, является токсическим соединением. Токсичность аммиака обусловлена тем, что он участвует в восстановительном аминировании  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты в митохондриях, тем самым способствуя удалению  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты из лимоннокислого цикла. Это, в свою очередь, обуславливает нарушение тканевого дыхания и вызывает образование избыточного количества кетонных тел из ацетил-КоА. Поэтому концентрация аммиака в организме поддерживается на низком уровне (в норме в крови уровень аммиака не превышает 1-2 мг/л.).

У подавляющего числа растительных и животных видов аммиак переводится в безвредные для организма азотистые соединения: аспарагин, глутамин

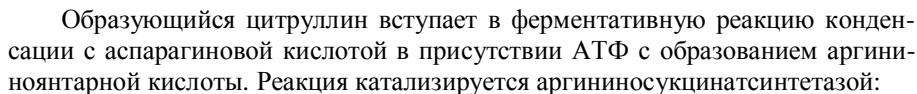
$$\begin{array}{c}
 \text{NH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\
 | \\
 \text{CH}_2 \\
 | \\
 \text{CH}_2 \\
 | \\
 \text{COOH} \\
 \text{глутаминовая кислота}
 \end{array}
 + \text{NH}_3 + \text{ATP} \xrightarrow{\text{глутаминсинтетаза}}
 \begin{array}{c}
 \text{NH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\
 | \\
 \text{CH}_2 \\
 | \\
 \text{CH}_2 \\
 | \\
 \text{CO}-\text{NH}_2 \\
 \text{глутамин}
 \end{array}
 + \text{АДФ} + \text{P}$$

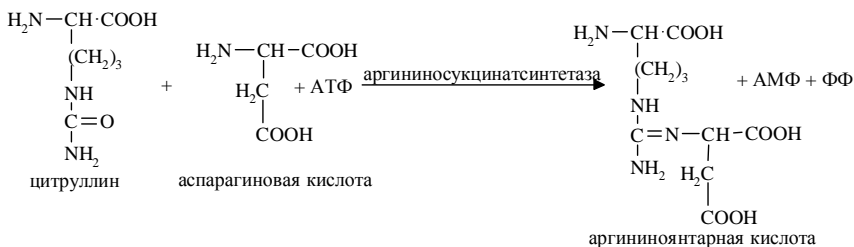
Реакции образования аспарагина и глутамина особенно широко представлены в растительном мире. Однако и у животных в мозге, печени, почках, мышцах, в сетчатке глаз происходит устранение аммиака путем образования глутамина, а также аспарагина.

Основной путь обезвреживания аммиака в организме состоит в образовании мочевины. Важнейшая роль в образовании мочевины принадлежит печени, на что впервые обратили внимание В.М. Ненцкий и И.П. Павлов. В печени животных (за исключением рептилий и птиц, у которых не синтезируется мочевина) найдены все ферменты, необходимые для синтеза мочевины.

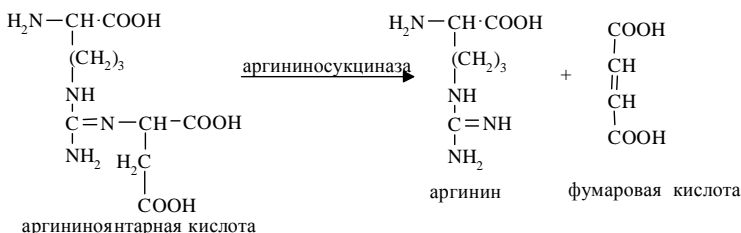
В основу современной теории биосинтеза мочевины легли работы Кребса, Когана и Ратнера.

В настоящее время считают, что аммиак поступает в орнитиновый цикл в виде свободного аммиака, образуясь в процессе окислительного дезаминирования глутаминовой кислоты в митохондриях. Полагают также, что аммиак частично может поставляться глутамином, который расщепляется в печени глутаминазой с образованием свободного аммиака. Необходимым активатором реакции образования карбамилфосфата является N-ацетилглутаминовая кислота, выступающая как кофактор ферментной системы образования карбамилфосфата:

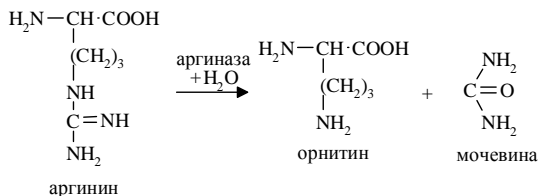




Аргининоянтарная кислота ферментативным путем (при участии фермента аргининосукциназы или иначе – аргининосукцинатлиазы) расщепляется на аргинин и фумаровую кислоту:



Заключительной реакцией является гидролиз аргинина на орнитин и мочевину под влиянием фермента аргиназы:



Выведенный орнитин вновь вступает в реакцию с новой молекулой карбамилфосфата и все перечисленные реакции повторяются.

Фумаровая кислота включается в лимоннокислый цикл.

Одновременно лимоннокислый цикл поставляет щавелево-уксусную кислоту, которая, вступая в реакцию переаминирования с глутаминовой кислотой, превращается в аспарагиновую кислоту. Аспарагиновая кислота включается в орнитиновый цикл, поставляя аминогруппу для образования мочевины.

Конечное окисление метаболитов в лимоннокислом цикле, сопряженное с дыхательной цепью, поставляет орнитиновому циклу также  $\text{CO}_2$  и АТФ, необходимые для процесса синтеза мочевины. Связь орнитинового цикла и лимон-

нокислого, таким образом, очевидна. Оба цикла локализованы в митохондриях, что структурно обеспечивает их функциональную взаимосвязь.

Относительно большие затраты энергии, необходимые для течения реакций орнитинового цикла у млекопитающих, делает синтез мочевины необратимым процессом.

Основным итогом описанных многоступенчатых реакций является беспребойная работа орнитинового цикла, в котором образуется мочевина, связывающая две молекулы аммиака.

Как уже говорилось, первая аминогруппа мочевины поставляется в виде свободного аммиака, образующегося в процессе окислительного дезаминирования глутаминовой кислоты в митохондриях печени. Полагают также, что аммиак для синтеза мочевины может доставляться в печень из различных тканей глутамином крови, который в печени расщепляется с образованием аммиака и глутаминовой кислоты. Однако последний процесс более выражен в почечных канальцах большинства позвоночных; образующийся при этом аммиак выделяется из организма с мочой в виде аммонийных солей.

Вторая аминогруппа синтезируемой молекулы мочевины образуется за счет аспарагиновой кислоты.

В результате функционирования орнитинового цикла из аммиака, обладающего токсическими свойствами, образуется мочевина, являющаяся индифферентным для организма веществом. Последняя выводится с мочой в качестве главного конечного продукта белкового обмена. На долю мочевины приходится до 80-85% всего азота мочи.

#### **9.4. Синтез аминокислот**

Рассмотренные выше реакции превращения аминокислот по  $\alpha$ -аминогруппе, карбоксильной группе и радикалу способствуют переходу одних аминокислот в другие и тем самым играют большую роль в биосинтезе аминокислот.

Следует обратить внимание на резкое различие в способности к синтезу аминокислот растениями и животными организмами. В растениях осуществляется синтез самых разнообразных аминокислот. В растениях обнаружено более 150 различных аминокислот. Часто та или иная аминокислота присутствует в растениях строго определенного вида и ее наличие может служить надежным таксономическим признаком. В отличие от растений, животные синтезируют далеко не все аминокислоты. Из 19 постоянно встречающихся в белках аминокислот в животном организме синтезируется около половины. Синтезируемые аминокислоты получили название заменимых аминокислот, а не синтезируемые – незаменимых.



Между различными видами животных есть некоторое отличие в перечне заменимых и незаменимых аминокислот. В большинстве случаев, и, в частности, у человека, к незаменимым аминокислотам относятся:

- |               |                 |
|---------------|-----------------|
| 1) валин,     | 5) метионин,    |
| 2) лейцин,    | 6) лизин,       |
| 3) изолейцин, | 7) фенилаланин, |
| 4) треонин,   | 8) триптофан,   |

а у некоторых видов животных, кроме того:

- |             |              |
|-------------|--------------|
| 9) гистидин | 10) аргинин. |
|-------------|--------------|

При превращении одних аминокислот в другие происходит образование заменимых аминокислот из незаменимых, но не наоборот.

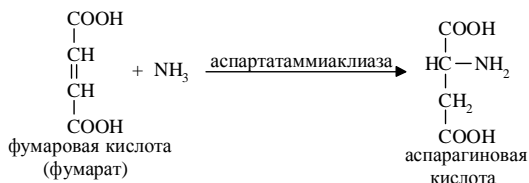
В тканях млекопитающих возможен синтез только заменимых аминокислот. Незаменимые аминокислоты должны поступать с пищей. Животный организм способен синтезировать ряд незаменимых аминокислот только из соответствующих им  $\alpha$ -кетокислот (или  $\alpha$ -оксикислот). Однако животный организм не способен синтезировать  $\alpha$ -кетокислоты, соответствующие незаменимым аминокислотам. Если они возникают в животных тканях, то это происходит в результате дезаминирования или трансаминирования самих незаменимых аминокислот, поступающих вместе с пищей.

Следовательно, животный организм не может обойтись без поступления с пищей незаменимых аминокислот в силу того, что в процессе обмена веществ не происходит новообразования  $\alpha$ -кетокислот, необходимых для синтеза той или иной незаменимой аминокислоты.

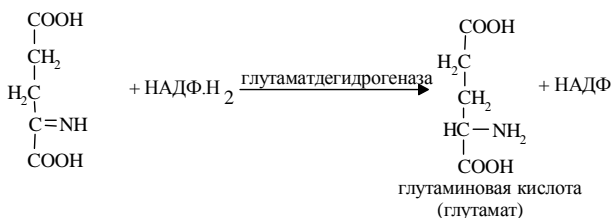
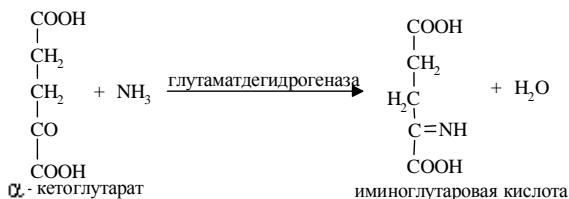
Если в пище недостаточно содержание одной или нескольких незаменимых аминокислот, то нормальное развитие животного организма нарушается, т.к. биосинтез белка не обеспечен рядом аминокислот. Заменимые аминокислоты синтезируются в тканях млекопитающих разными путями. Исходными веществами при синтезе заменимых аминокислот служат метаболиты лимоннокислого цикла, продукты распада углеводов и незаменимые аминокислоты. В большинстве случаев предшественником углеродного скелета заменимой аминокислоты служит соответствующая  $\alpha$ -кетокислота, происходящая в конечном итоге от того или иного промежуточного продукта лимоннокислого цикла. Аминогруппы поступают обычно от глутаминовой кислоты в результате реакции переаминирования.

Глутаминовая кислота образуется в результате восстановительного аминирования  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты, являющейся промежуточным продуктом лимоннокислого цикла, под влиянием высокоактивной при  $\text{pH}=7$  глутаматдегидрогеназы. В качестве источника восстановительных эквивалентов в глутаматдегидрогеназной реакции используется НАДФ. $\text{H}_2$ .

Восстановительное аминирование  $\alpha$ -кетоглutarовой кислоты рассматривается как важнейший вид первичного синтеза аминокислот. Другим значимым путем первичного синтеза аминокислот служит прямое аминирование непредельных кислот, например, аминирование фумарата:



Восстановительное аминирование  $\alpha$ -кетоглutarовой кислоты протекает в матриксе митохондрий, включает две стадии и представляет собой обратную реакцию рассмотренной выше реакции окислительного дезаминирования аминокислот, но коферментом служит НАДФ, а не НАД.



Эта реакция имеет фундаментальное значение в биосинтезе всех аминокислот у всех организмов, т.к. она служит основным значимым путем образования  $\alpha$ -аминокислоты (глутамата) непосредственно с использованием аммиака, а глутамат (глутаминовая кислота) служит при биосинтезе других аминокислот донором аминогрупп в реакциях переаминирования. Сам глутамат служит предшественником глутамина и пролина. Аланин и аспарагиновая кислота образуются путем переаминирования соответственно из пирувата и оксалоацетата (ЩУК). Тирозин получается в результате гидроксирования фенилаланина. Цистеин синтезируется из метионина и серина в сложной после-

довательности реакций, в которой промежуточными продуктами служат S-аденозилметионин и цистатионин. Углеродный скелет серина происходит из 3-фосфоглицерата. Серин, в свою очередь, служит предшественником глицина.

### **9.5. Аминокислоты как лекарственные вещества**

Ведущее значение обмена белков для нормальной жизнедеятельности организма определило использование некоторых белковых веществ, аминокислот и пептидов с лечебной целью в качестве лекарственных препаратов. Среди лекарственных препаратов, представляющих в химическом отношении аминокислоты или содержащие аминокислоты, следует назвать глутаминовую кислоту, метионин, гистидин, цистеин, гаммалон, вицеин, церебролизин, а также гидролизаты белков – гидролизин, аминокептид, аминокровин, фибриносол, гидролизат казеина.

Первые два препарата являются фармакопейными препаратами. Глутаминовая кислота занимает в процессах азотистого обмена одно из ведущих мест. В процессе обмена веществ глутаминовая кислота непрерывно образуется из других аминокислот и одновременно служит источником аминокрупп при биосинтезе других аминокислот. Глутаминовая кислота способствует обезвреживанию аммиака. Из аммиака и глутаминовой кислоты образуется безвредный для организма глутамин, обеспечивающий выведение аммиака почками в виде аммонийных солей.

В значительных количествах глутаминовая кислота содержится в белках серого и белого вещества мозга, она участвует в его белковом и углеводном обмене, стимулирует окислительные процессы. Связывание и обезвреживание аммиака, образуемого в мозговой ткани глутаминовой кислотой, имеет важное значение для нормальной деятельности центральной нервной системы. Глутаминовая кислота способствует также синтезу ацетилхолина и АТФ, переносу ионов калия. Как часть белкового компонента миофибрилл, она играет важную роль в деятельности скелетной мускулатуры.

В медицинской практике глутаминовая кислота находит применение главным образом при лечении заболеваний центральной нервной системы: эпилепсии, психозов, реактивных состояний, депрессии и других психических и нервных заболеваний. В детской практике препарат применяют при задержке психического развития различного происхождения, полиомиелите. Глутаминовая кислота оказывает положительный эффект также у больных прогрессирующей мышечной дистрофией, при нейротоксических явлениях. Назначают глутаминовую кислоту внутрь, реже – внутривенно. Используется в качестве препарата также кальциевая и магниевая соль глутаминовой кислоты.

Метионин относится к числу незаменимых аминокислот, необходимых для поддержания роста и азотистого равновесия организма. Особое значение метионина обусловлено его участием в процессе переметилирования, как основного донатора метильных групп, с чем связан его липотропный эффект. Метионин участвует в синтезе адреналина, креатина и других биологически важных соединений. Он активизирует действие гормонов, витаминов ( $B_{12}$ , аскорбиновой и фолиевой кислот), ферментов. Путем метилирования и транссульфирования метионин обезвреживает различные токсические продукты.

Применяют метионин для лечения и предупреждения заболеваний и токсических поражений печени: цирроза печени, поражений печени мышьяковистыми препаратами, хлороформом, бензолом и др. токсическими веществами, при – хроническом алкоголизме, диабете и др. Метионин применяют также для лечения дистрофии, возникающей в результате белковой недостаточности после дизентерии и др. хронических инфекционных заболеваний. Введение метионина больным атеросклерозом приводит к снижению содержания в крови холестерина и повышению содержания фосфолипидов. Метионин назначают внутрь.

Гистидин, также являющийся незаменимой аминокислотой, содержится в разных органах, входит в состав карнозина – азотистого экстрактивного вещества мышц. В организме гистидин подвергается декарбоксилированию, в результате чего образуется гистамин – соединение, обладающее выраженной биологической активностью.

Гистидин в виде гистидина гидрохлорида применяется для лечения гепатитов, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Имеются данные о благоприятном влиянии препарата на липопротеиновый обмен у больных атеросклерозом. Препарат вводят внутримышечно.

Цистеин в качестве характерной особенности химического строения содержит в своей молекуле сульфгидрильную группу, отличающуюся высокой реакционной способностью. При определенных условиях цистеин легко отдает водород и тогда две молекулы цистеина образуют через дисульфидную связь новую аминокислоту – цистин. Взаимный переход цистеина в цистин и обратно представляет собой окислительно-восстановительный процесс, что имеет важное значение в регуляции обмена веществ. Цистеин также участвует в реакциях переаминирования и обмена серы в организме. Имеются данные, что цистеин участвует в обмене веществ хрусталика глаза и что изменения, происходящие при катаракте, связаны с нарушением содержания в хрусталике этой аминокислоты. В связи с этим предложено применять цистеин для задержания развития катаракты и просветления хрусталика при начальных стадиях возрастной, миопатической, лучевой и контузионной катаракты. Применяют цистеин в виде водного раствора для глазных ванночек или с помощью электрофореза.

Гаммалон (ГАМК,  $\gamma$ -аминомасляная кислота), по современным данным является химическим фактором, участвующим в процессе центрального торможения в головном мозге. Как лекарственное вещество  $\gamma$ -аминомасляная кислота применяется при патологических состояниях, связанных с нарушением функций центральной нервной системы: при ослаблении памяти, атеросклерозе мозговых сосудов и нарушениях мозгового кровообращения, после перенесенных травм и параличей, при головных болях, бессоннице, головокружениях, связанных с гипертонической болезнью, при отсталости умственного развития у детей. Применяют внутрь и внутривенно.

Вицеин представляет собой комбинированный препарат, содержащий цистеин, гликокол, глутаминовую кислоту, натриевую соль АТФ, тиамина бромид, никотиновую кислоту, иодид калия, хлорид кальция и магния, натрий хлор. Применяют в виде капель. Показания те же, что и для цистеина.

Церебролизин является гидролизатом мозгового вещества, содержащим, главным образом, аминокислоты. Применяют при заболеваниях, сопровождающихся нарушением функций центральной нервной системы (после перенесенного энцефалита, операций на головном мозге, при отсталости умственного развития у детей, при расстройствах памяти и др.). Вводят внутримышечно.

Гидролизаты белков – гидролизин, гидролизат казеина, аминокислот, аминокровин, фибриносол применяют в качестве парентерального питания больных.

## 10. Обмен сложных белков

Обмен сложных белков отличается от обмена простых белков превращениями их простетических групп. Рассмотрим особенности обмена двух важных групп сложных белков – хромопротеидов и нуклеопротеидов.

### 10.1. Обмен хромопротеидов

Интерес к обмену хромопротеидов обусловлен прежде всего биологически важными функциями гемоглобина, хлорофилла и цитохромов – этих сложных белков, относящихся к группе хромопротеидов. Особенности обмена гемоглобина могут служить иллюстрацией особенностей обмена хромопротеидов.

Гемоглобин, как известно, состоит из белка и простетической группы – гема. Гем представляет собой соединение, в молекулу которого входит атом двухвалентного железа и 4 замещенных пиррольных кольца, связанных между собой метиновыми группами. Скелетом гема является порфин, который в геме находится в форме протопорфирина. Белковая часть гемоглобина (глобин) различается своим химическим строением у разных видов организмов.

Гемоглобин, как и другие хромопротеиды (хлорофиллпротеиды, миоглобин и др.), попав с пищей в пищеварительный канал, гидролизуются пищеварительными ферментами, распадаясь на белок и простетическую группу (гем). Глобиновая часть подвергается обычным превращениям, которые свойственны простым белкам. Простетическая же группа гемоглобина – гем – окисляется в гематин. Гематин, так же как и хлорофилл, всасывается в кишечнике очень плохо и поэтому выделяется, в основном, с калом. Таким образом, простетическая группа хромопротеидов пищи не может быть использована для синтеза соответствующих сложных белков.

Иные превращения свойственны гемоглобину в тканях организма. Установлено, что все количество эритроцитов, а следовательно, и гемоглобина, полностью обновляется в организме на протяжении 3-4 месяцев. Разрушение эритроцитов и распад гемоглобина происходит в клетках ретикуло-эндотелиальной системы (клетках костного мозга, купферовских клетках печени, клетках селезенки и др.).

В печени распад гемоглобина начинается с разрыва  $\alpha$ -метиновой связи между 1 и 2 пиррольными кольцами порфиринового ядра. Реакция катализируется НАДФ-зависимой оксидазой и приводит к образованию вердоглобина (зеленого пигмента). В реакции участвуют в качестве кофакторов аскорбиновая кислота, ионы двухвалентного железа и др. В дальнейшем происходит распад вердоглобина на глобин, биливердин и железо. Биливердин в основном в печени превращается при восстановлении в билирубин – главный желчный

пигмент у человека и плотоядных животных. Частично билирубин может образовываться также в селезенке и, по-видимому, в эритроцитах.

Образовавшийся свободный билирубин плохо растворим в воде и не дает прямой реакции с диазореактивом Эрлиха, так как легко адсорбируется на белках плазмы крови. Поэтому он получил название «непрямого билирубина». Свободный билирубин (непрямой) является для организма токсическим веществом. Поступающий с током крови в печень и образовавшийся в печени свободный («непрямой») билирубин подвергается обезвреживанию в печени путем образования с глюкуроновой кислотой диглюкуронида билирубина (частично – моноглюкуронида). Он хорошо растворим в воде и дает прямую реакцию с диазореактивом. Поэтому он получил название «прямой» билирубин. Глюкуроновая кислота вступает в реакцию с билирубином в виде уридиндифосфатглюкуроновой кислоты в присутствии особого фермента глюкуронид-трансферазы.

В желчи всегда присутствует «прямой» (связанный) билирубин, который с желчью поступает в двенадцатиперстную кишку. В крови взрослого здорового человека содержится относительно постоянное количество общего билирубина – от 2,5 до 12 мг/л или 8,6-20,5 мкмоль/л. Около 75% этого билирубина приходится на свободный «непрямой» билирубин. Повышение билирубина в крови до 20 мг/л (27 мкмоль/л) приводит к развитию желтухи. В крови количество и соотношение между «прямым» и «непрямым» билирубином резко меняется при поражениях печени, селезенки, костного мозга, болезнях крови и т.д., поэтому определение обеих форм билирубина имеет значение в клинике для дифференциальной диагностики различных форм желтухи.

Попадая вместе с желчью в пищеварительный тракт, желчные пигменты подвергаются здесь воздействию бактерий. При этом от диглюкуронида билирубина отщепляется глюкуроновая кислота и образовавшийся свободный билирубин восстанавливается в стеркобилиноген и в таком виде выводится с калом.

Под влиянием света и воздуха стеркобилиноген окисляется, превращаясь в стеркобилин. Механизм превращения билирубина в стеркобилиноген до конца не выяснен. Установлено, что вначале билирубин восстанавливается в мезобилиноген (уробилиноген), который всасывается и частично разрушается в печени, а частично выводится с мочой. В мочу также частично (в результате всасывания через систему геморроидальных вен) попадает стеркобилиноген. Увеличение последних в моче является свидетельством недостаточности печени (паренхиматозная желтуха), когда печень теряет способность извлекать эти пигменты из крови и обезвреживать их. Напротив, исчезновение пигментов из мочи при наличии билирубина и биливердина в крови является свидетельством полного прекращения поступления желчи в кишечник (закупорка желчного протока). Таким образом, определение содержания желчных пигментов в

моче и в крови может служить важным лабораторным методом при дифференциальной диагностике заболеваний.

Синтез гемоглобина характеризуется многостадийностью. Считается, что пиррольные кольца порфиринового ядра гема синтезируются в организме человека и животных с использованием гликокола (глицина) и сукцинилкоэнзима А при участии фермента, содержащего фосфопиридоксаль.

С помощью меченных атомов установлено, что глицин является источником всех 4 атомов азота и 8 атомов углерода тетрапиррольного кольца гема. Источником остальных 26 атомов углерода является сукцинил-КоА. Важнейшими промежуточными продуктами синтеза гема являются  $\alpha$ -амино- $\beta$ -кетoadипиновая кислота,  $\delta$ -аминолевулиновая кислота, порфобилиноген, порфирины.

Железо, необходимое для синтеза гема, доставляется ферритином – железопротеидом, находящимся в селезенке, печени и костном мозге. Путь синтеза гемоглобина свидетельствует о том, что гем, освобожденный из гемоглобина после распада эритроцитов, не используется для ресинтеза гемоглобина и в этом смысле распад гемоглобина является необратимым процессом.

### **10.2. Обмен нуклеопротеидов. Катаболизм нуклеиновых кислот**

Начальным этапом превращений нуклеопротеидов пищи в пищеварительном канале следует считать отщепление нуклеиновой кислоты от белковой части нуклеопротеида. В желудке это происходит либо неферментативным путем под действием кислоты желудочного сока (если разрываются солеобразные связи между нуклеиновой кислотой и белком, имеющим щелочные свойства), либо под действием пепсина, либо, наконец, и под влиянием пепсина и под влиянием кислоты желудочного сока. В кишечнике расщепление нуклеопротеидов на белок и нуклеиновую кислоту происходит под влиянием соответствующих протеолитических ферментов (трипсина и других).

Отщепившийся в желудочно-кишечном тракте белок подвергается обычным для белка превращениям. Расщепление же нуклеиновых кислот происходит далее под влиянием особых ферментов поджелудочной железы и тонкого кишечника – специфических нуклеаз и неспецифических фосфодиэстераз. Они ускоряют реакции разрыва межнуклеотидных связей в молекулах нуклеиновых кислот. Нуклеазы, действующие на внутренние межнуклеотидные связи в молекулах РНК и ДНК, называются эндонуклеазами. При их участии осуществляется деполимеризация нуклеиновых кислот в основном до олигонуклеотидов. Нуклеазы, ускоряющие реакции последовательного отщепления нуклеотидов от РНК и ДНК, начиная с конца полинуклеотидной цепи, называются экзонуклеазами. Эти ферменты обеспечивают распад нуклеиновых кислот до



отдельных мононуклеотидов. При этом различают эндо- и экзорибонуклеазы и эндо- и экзо-дезоксирибонуклеазы. Первые ускоряют реакции распада внутренних и внешних (концевых) межнуклеотидных связей в молекулах РНК. Вторые выполняют ту же роль в молекулах ДНК.

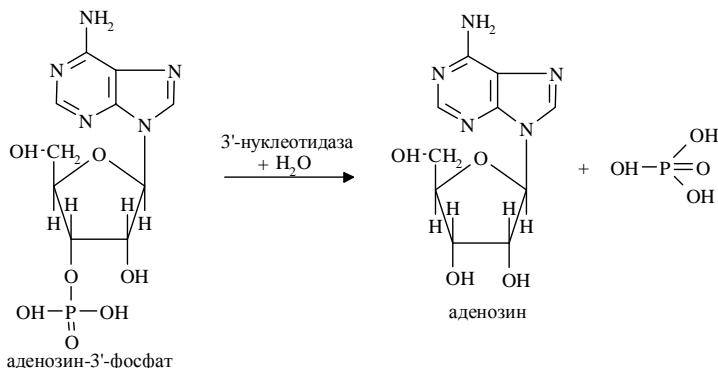
Существует также группа неспецифических эндо- и экзонуклеаз, действующих одновременно на РНК и ДНК.

Большинство нуклеаз являются гидролазами, однако, часть из них принадлежит к группе фосфотрансфераз (например, эндонуклеаза поджелудочной железы). В результате каталитического влияния разнообразных нуклеаз в полости пищеварительного тракта нуклеиновые кислоты распадаются на сложную смесь индивидуальных мононуклеотидов.

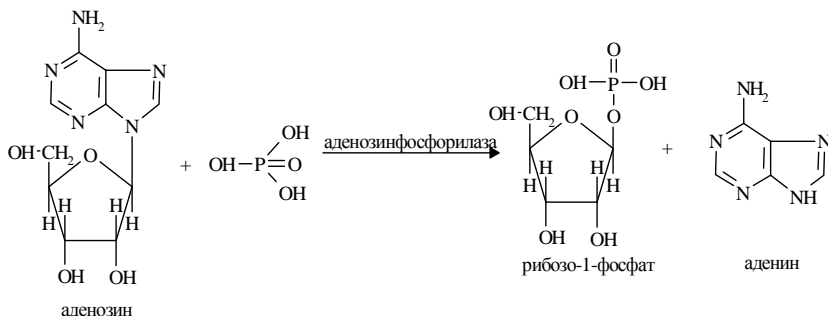
Образовавшиеся мононуклеотиды гидролизуются малоспецифическими и высокоспецифическими фосфатазами с образованием нуклеозидов и неорганического фосфата. В виде этих соединений (нуклеотидов и нуклеозидов) и происходит всасывание продуктов гидролиза нуклеиновых кислот. Всосавшиеся нуклеотиды и нуклеозиды частично используются в организме для синтеза простетических групп нуклеопротеидов.

В тканях нуклеиновые кислоты также распадаются до мононуклеотидов под влиянием тканевых нуклеаз – дезоксирибонуклеаз и рибонуклеаз, локализованных главным образом в митохондриях клеток.

Мононуклеотиды в тканях распадаются дальше до более простых соединений. Первый этап состоит в отщеплении остатка фосфорной кислоты под влиянием тканевых фосфатаз (или нуклеотидаз).

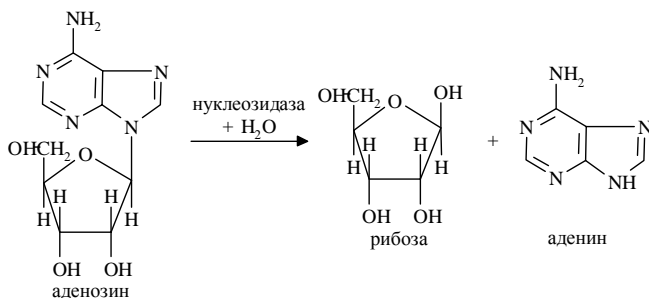


Далее осуществляется перенос пентозы от нуклеозида на фосфорную кислоту. Реакция катализируется специфической для каждого нуклеозида рибозилтрансферазой (нуклеозидфосфорилазой).



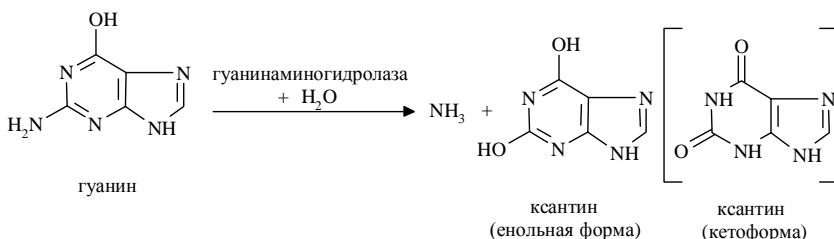
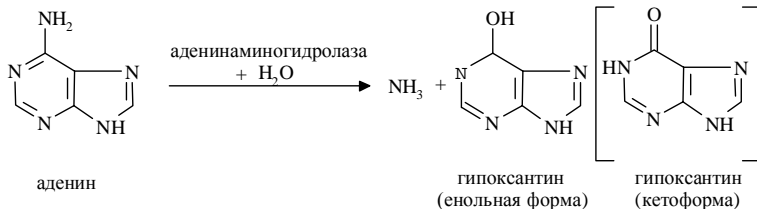
Таким путем в результате распада нуклеозидов образуются пентозо-1-фосфат и все виды пуриновых и пиримидиновых оснований, участвующих в построении нуклеиновых кислот.

Надо сказать, что нуклеозиды могут расщепляться не только путем переноса пентозы от нуклеозида на фосфорную кислоту, но и гидролитическим путем при участии ферментов нуклеозидаз:

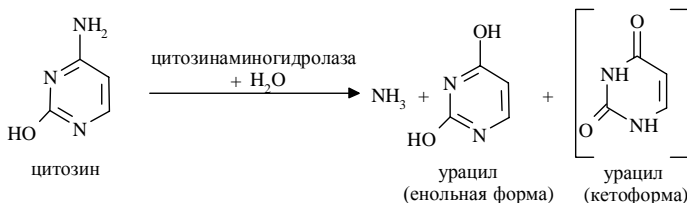


Образующиеся пентозо-1-фосфат и пентоза включаются в реакции обмена, характерные для углеводов.

Пуриновые и пиримидиновые основания претерпевают последующие изменения и превращаются в те или иные простейшие азотсодержащие продукты, которые либо выводятся из организма, либо откладываются в нем. Первая фаза распада пуриновых и пиримидиновых оснований заключается в дезаминировании под влиянием специфических аминогидролаз тех из них, которые имеют аминогруппу. В результате пуриновые основания – аденин превращается в гипоксантин, а гуанин – в ксантин:



Пиримидиновое основание, содержащее аминогруппу – цитозин – переходит в урацил:



Дезаминирование идет не только на уровне свободных пиримидиновых и пуриновых оснований, но и на уровне нуклеозидов и нуклеотидов, причем, в последнем случае с большей интенсивностью.

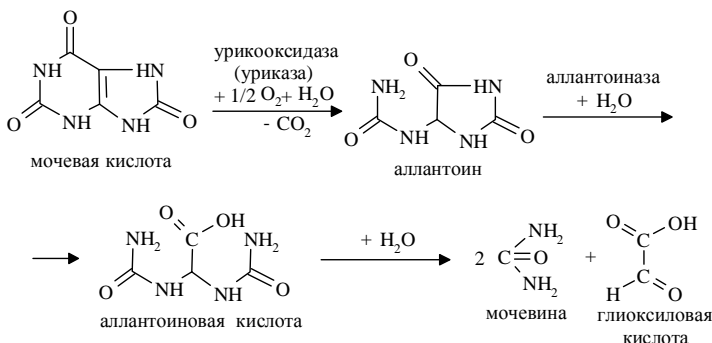
Дальнейшая судьба дезаминированных пуриновых и пиримидиновых оснований различна. Гипоксантин и ксантин окисляются в мочевую кислоту. Реакция катализируется ксантинооксидазой, представляющей собой молибденсодержащий флавопротеид.



Мочевая кислота является конечным продуктом распада пуриновых оснований у человека и некоторых животных (человекообразных обезьян, птиц, рептилий, тутового шелкопряда) и выводится из организма с мочой.

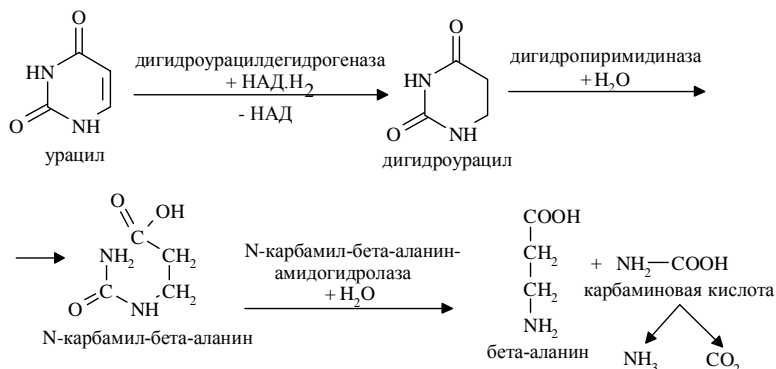
В норме концентрация мочевой кислоты в цельной крови человека составляет 0,18-0,24 ммоль/л, а в сыворотке крови 0,1-0,4 ммоль/л. При нарушении обмена пуриновых оснований (при подагре, заболеваниях почек, при заболеваниях, сопровождающихся усиленным распадом нуклеопротеидов – лейкозах, диабете, аллергии и др.) содержание мочевой кислоты может значительно увеличиваться (гиперурикемия). Гиперурикемия – главный симптом такого заболевания как подагра. При подагре уровень мочевой кислоты в сыворотке крови возрастает до 0,47-0,89 и даже до 1,1 ммоль/л.

У большинства животных и растений мочевая кислота не является конечным продуктом распада пуриновых оснований – происходит дальнейший ферментативный распад мочевой кислоты, причем, у большинства растений и амфибий – до мочевины и глиоксиловой кислоты. Этот распад мочевой кислоты можно изобразить следующим образом:



В отличие от пуриновых оснований дезаминированные пиримидиновые основания подвергаются восстановлению. В частности, урацил переходит в дигидроурацил. Донором атомов водорода служит НАД.H<sub>2</sub>. Далее дигидроурацил гидролизуется в N-карбамил-β-аланин, который гидролизуется в свою очередь до β-аланина и карбаминовой кислоты. Последняя либо используется

для синтеза мочевины, либо распадается до углекислого газа и аммиака. Все эти реакции катализируются соответствующими ферментами:



Таким образом, в результате распада сложных молекул ДНК и РНК в организме животных и растений образуются простые вещества: пентоза, фосфорная кислота, углекислота, аминокислота, аммиак, мочевая кислота, а у некоторых организмов вместо мочевой кислоты – аллантиин (у собак и др. млекопитающих) или аллантииновая кислота (костистые рыбы) или глиоксиловая кислота и мочевина (растения, амфибии).

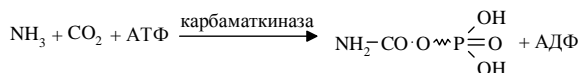
## 11. Синтез нуклеиновых кислот и их роль в хранении и передаче наследственных свойств организма

Установлено, что исходным веществом для синтеза нуклеиновых кислот являются нуклеозид-5'-трифосфаты. Из трех основных частей нуклеозид-5'-трифосфатов (азотистого основания, пентозы и фосфорной кислоты) азотистые основания (пуриновые или пиримидиновые) создаются специфическим путем.

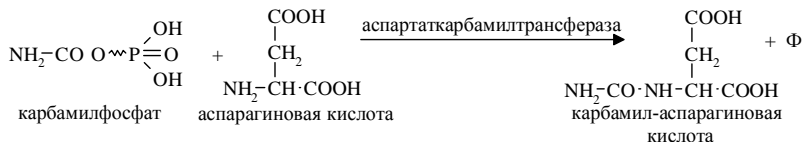
Пути возникновения пуриновых и пиримидиновых оснований различны. Однако, существуют и некоторые черты сходства в механизме их образования. Это:

- 1) широкое использование глицина, аспарагина и глутамина в качестве источников азота гетероциклических колец;
- 2) включение в состав пуриновых и пиримидиновых циклов атомов углерода из двуокиси углерода и формата;
- 3) построение пуринового основания и завершение синтеза пиримидинового основания на рибозо-5-фосфате, в результате чего конечными продуктами биосинтеза являются сразу нуклеозид-5-фосфаты, а не свободные аденин, гуанин, урацил или тимин;
- 4) ферментативный характер всех реакций, осуществляющихся в процессе синтеза нуклеотидов.

Рассмотрим сначала путь биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов. На первом этапе происходит биосинтез карбамил-фосфата из  $\text{NH}_3$  и  $\text{CO}_2$  при участии АТФ.

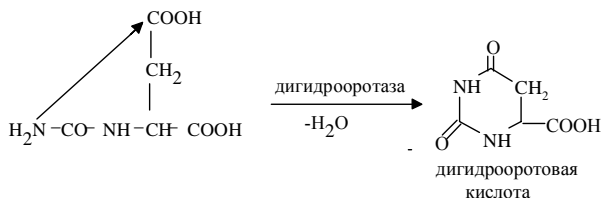


Далее при участии специфического фермента (аспартаткарбамилтрансферазы) карбамил переносится на аминогруппу аспарагиновой кислоты с образованием карбамиласпарагиновой кислоты и фосфорной кислоты:

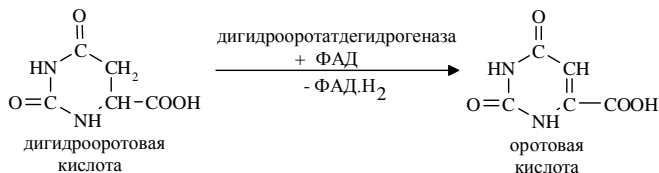


При сближении аминной и карбоксильной групп карбамиласпарагиновой кислоты происходит взаимодействие между ними с выделением молекулы во-

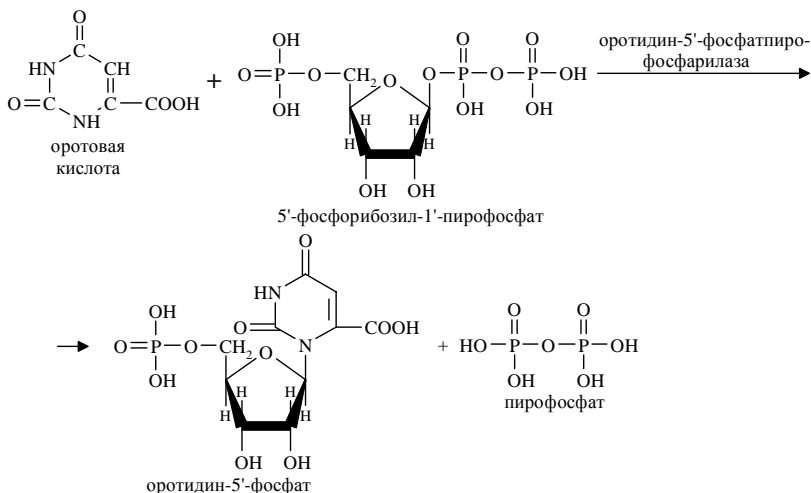
ды и образованием дигидрооротовой кислоты. Реакция катализируется ферментом дигидрооротазой, относящейся к классу гидролаз.



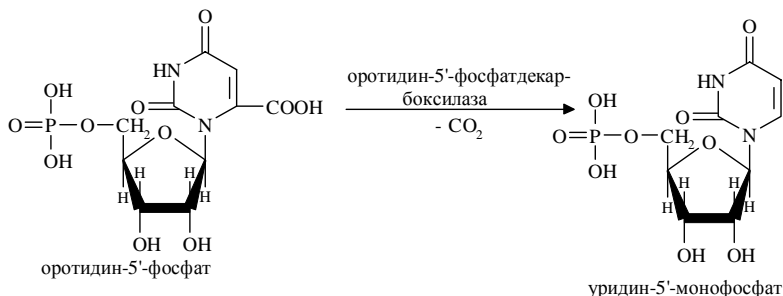
Образовавшаяся дигидрооротовая кислота окисляется при участии дегидрогеназы с флавинадениндинуклеотидом (ФАД) в качестве кофермента в оротовую кислоту:



Оротовая кислота вступает в реакцию с 5'-фосфорибозил-1'-пирофосфатом при участии фермента, относящегося к группе трансгликозидаз. Образуется нуклеотид оротидин-5'-фосфат и пирофосфат.



Далее происходит декарбоксилирование оротидин-5'-фосфата с образованием пириимидиннуклеотида уридин-5'-фосфата.

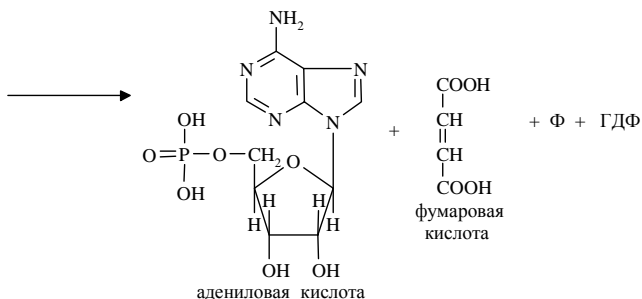
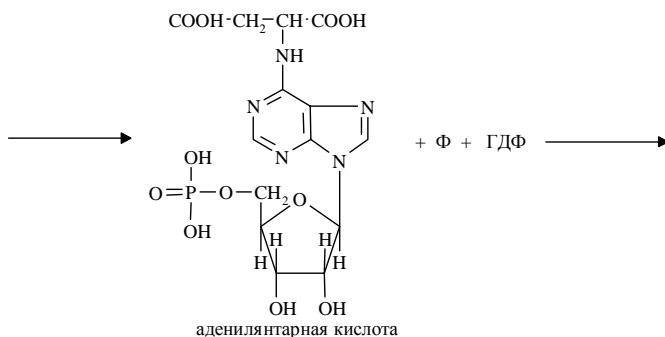
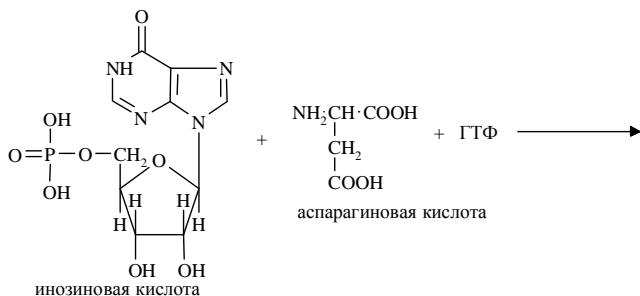


Уридин-5'-фосфат занимает центральное место в биосинтезе пириимидиннуклеотидов, так как может превращаться в другие пириимидиновые нуклеотиды, что осуществляется путем реакций восстановления, аминирования и метилирования. В результате всех этих реакций обеспечивается создание фонда свободных пириимидиннуклеозидтрифосфатов (УТФ, ЦТФ, дЦТФ, дТТФ), используемых в последующем для биосинтеза ДНК и РНК.

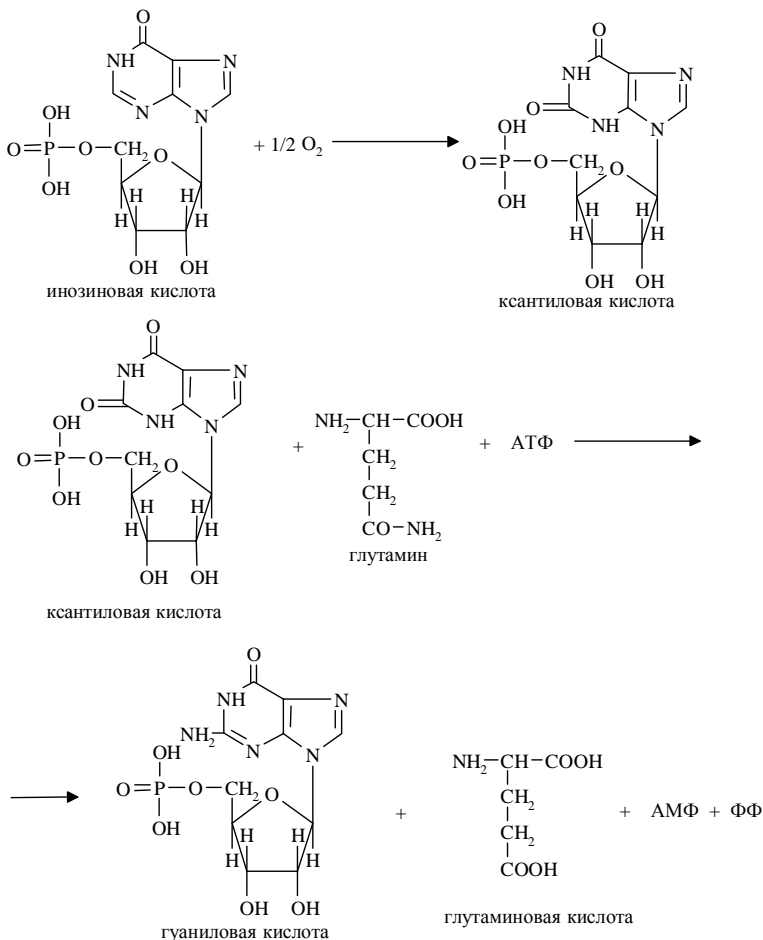
В отличие от пириимидиновых оснований формирование пуриновых сразу совершается на 5'-фосфорибозил-1'-пирофosphate, причем, в построение пуринового кольца путем последовательных реакций вовлекается азот дикарбоновых аминокислот, амидный азот глутамина, одноуглеродные фрагменты (CO<sub>2</sub>) и атомы азота и углерода глицина. Важным промежуточным продуктом при синтезе пуриновых нуклеозидфосфатов является инозиновая кислота, образование которой происходит в результате последовательных 11-ти ферментативных реакций с использованием пяти молекул АТФ. Инозиновая кислота далее может превращаться в адениловую и гуаниловую кислоты.

Синтез адениловой кислоты протекает путем аминирования инозиновой кислоты за счет аспарагиновой кислоты при участии ГТФ. Реакция протекает в два этапа:





Биосинтез гуаниловой кислоты также совершается в два этапа. Вначале инозиновая кислота окисляется в результате оксигеназной реакции до ксантиновой кислоты, которая затем аминируется за счет glutamina при участии АТФ, превращаясь в гуаниловую кислоту:



Превращение адениловой и гуаниловой кислот соответственно в АТФ и ГТФ происходит в двух последовательных фосфокиназных реакциях. В частности, ГМФ вначале при участии АТФ в реакции, катализируемой нуклеозид-монофосфокиназой, превращается в ГДФ, а далее ГДФ в реакции, катализи-

руемой нуклеозиддифосфокиназой, при участии второй молекулы АТФ превращается в ГТФ.

Из пуриновых нуклеотидов, наряду с рибонуклеозидтрифосфатами, возникают также соответствующие дезоксирибонуклеозидтрифосфаты.

Из возникших пуриновых и пиримидиновых дезокси- и рибонуклеозидтрифосфатов могут образовываться нуклеиновые кислоты.

Большой вклад в изучение проблемы биосинтеза нуклеиновых кислот внесли Очоа и Корнберг, которым удалось осуществить ферментативный синтез РНК и ДНК из мононуклеотидов.

Был выяснен ряд закономерностей в биосинтезе нуклеиновых кислот и их роль в хранении и передаче наследственных свойств организма (т.е. их роль в передаче генетической информации).

Установлено, что генетическая программа закладывается и хранится в ДНК хромосом ядер и митохондрий клеток. Передача генетической информации осуществляется от ДНК через РНК к белку, который является главным носителем жизни. Перенос генетической информации от ДНК к ДНК (т.е. биосинтез ДНК в клетке) получил название репликация или редупликация или самоудвоение. Репликация происходит во время деления клеток и размножения вирусов, когда необходимо целиком передать информацию от одного организма к другому.

Перенос генетической информации от ДНК к РНК называется транскрипцией или переписыванием, при этом копируется информация только отдельных участков ДНК, в которых закодировано строение определенного белка. Перенос генетической информации от РНК к белку называется трансляцией или переводом, при этом транслируется только и-РНК (м-РНК) и происходит перевод информации с нуклеотидного алфавита на аминокислотный алфавит, что приводит к синтезу определенного белка.

Синтез ДНК (репликация) характеризуется рядом особенностей.

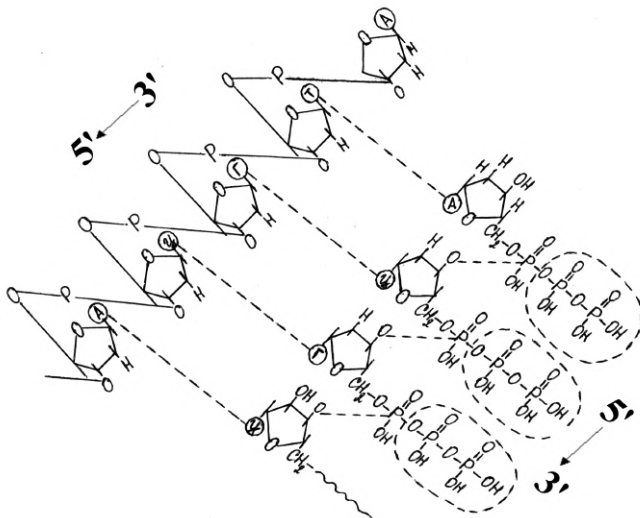
При биосинтезе ДНК первой характерной чертой специфического биосинтеза является то, что он протекает только при участии всех четырех видов дезоксирибонуклеозид-5'-трифосфатов (дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ). Вторая особенность состоит в том, что биосинтез ДНК идет при каталитическом воздействии комплекса ферментов: ДНК-репликационной системы или реплисемы, включающей более 20 т.н. репликативных ферментов и белковых факторов, в том числе ДНК-полимеразы I, II и III, РНК-полимеразы, ДНК-лигазы, ДНК-связывающего, ДНК-закручивающего и ДНК-раскручивающего белка и др. Наконец, третьей чертой биосинтеза ДНК является необходимость для его осуществления «затравки» в виде олигорибонуклеотида и ДНК-матрицы, что обеспечивает специфический биосинтез нуклеиновых кислот со строго заданной последовательностью нуклеотидных остатков в синтезируемой молекуле

по механизму комплементарности азотистых оснований дочерней ДНК и ДНК-матрицы. Общая схема биосинтеза ДНК может быть представлена, согласно Корнбергу, в следующем виде:

п АТФ		д АМФ
п ГТФ		д ГМФ
п ЦТФ	ДНК-полимераза, эндонуклеаза, ДНК-лигаза, белковые факторы	д ЦМФ + 1/п ФФ
п ТТФ		д ТМФ
		ДНК пирофосфат

Сталь и Меселсон установили, что в организме репликация ДНК осуществляется по полуконсервативному механизму, при котором цепи родительской ДНК расходятся и на каждой из них образуются комплементарные цепи дочерней ДНК. Механизм ферментативной реакции, происходящей при биосинтезе ДНК, сводится к наращиванию полинуклеотидных фрагментов, закрепленных на одноцепочной ДНК-матрице, за счет переноса на их свободную гидроксильную группу при 3'-углеродном атоме пентозы нуклеозидмонофосфатного остатка с дезоксирибонуклеозидтрифосфата, закрепленного в соседнем положении на матричной одноцепочной ДНК в соответствии с принципом комплементарности. Перенос идет в направлении  $5' \rightarrow 3'$  и сопровождается выделением пирофосфата, что обеспечивает синтез энергией.

Детали синтеза пока не ясны. Считается, что биосинтез ДНК начинается с раскручивания биспиральной цепи ДНК с образованием т.н. репликативных вилок, двух репликативных вилок в фиксированной точке родительской ДНК под влиянием ДНК-раскручивающего белка у прокариот или сразу множества репликативных вилок у эукариот. Инициация синтеза дочерней ДНК предварительно требует синтеза на одной из одноцепочечных цепей (т.н. ведущей цепи) необычного затравочного олигорибонуклеотида (т.н. праймера – затравки) со свободной ОН-группой у 3'-углеродного атома рибозы. С этой ОН-группы праймера начинается затем истинный синтез дочерней ДНК по принципу комплементарности азотистых оснований под влиянием ДНК-полимеразы III в направлении  $5' \rightarrow 3'$ , обратному направлению исходной цепи ДНК. На второй цепи ДНК-матрицы (т.н. отстающей цепи) также идет синтез ДНК, но в виде фрагментов (т.н. фрагментов Оказаки) в направлении  $5' \rightarrow 3'$ . В последующем фрагменты ДНК объединяются при участии ДНК-лигаз в единую полинуклеотидную цепь. Праймер разрушается рибонуклеазой Н с последующей заменой на фрагмент ДНК с помощью ДНК-полимеразы I.



*Схема синтеза ДНК (репликации)*

Порядок расположения нуклеозидтрифосфатов вдоль полинуклеотидной цепи матрицы ДНК в процессе репликации определяется чередованием нуклеотидов в матрице и осуществляется ДНК-полимеразой III. В ДНК-полимеразе имеются специфические центры связывания для матрицы, для 3'-конца растущей полинуклеотидной цепи и для вступающего в реакцию дезоксирибонуклеозид-5'-трифосфата. В процессе синтеза строго соблюдается принцип комплементарности, т.е. против аденина матрицы становится тимин, против гуанина матрицы – цитозин нуклеозидтрифосфатов. Между комплементарными азотистыми основаниями матрицы и вновь синтезируемой полинуклеотидной цепи образуются водородные связи. Вновь синтезированная цепь не только комплементарна матричной цепи, но и имеет противоположную полярность, т.е. антипараллельна.

Таким образом, в результате реакции синтеза ДНК на одной биспиральной молекуле ДНК-матрицы синтезируются две биспиральные молекулы ДНК, причем как качественное, так и количественное содержание нуклеотидных остатков в матричной и вновь синтезируемой нуклеиновой кислоте совпадают. Каждая образовавшаяся двухспиральная молекула ДНК имеет одну старую (родительскую) и одну новую (дочернюю) цепь.

При синтезе ДНК происходит прямое копирование структуры матрицы и поэтому этот процесс получил название редупликации (или репликации).

Кроме синтеза ДНК на ДНК-матрице открыта система биосинтеза ДНК на РНК при посредстве фермента, названного обратной транскриптазой или ревертазой или РНК-зависимой ДНК-полимеразой. Этот фермент был обнаружен в 1970 году Д. Балтимором, Г. Теминым и С. Мизутани в составе различных вирусов. Новый путь синтеза ДНК получил название обратная транскрипция.

Особенность обратной транскрипции состоит в том, что в качестве матрицы выступает РНК. В этом случае синтез ДНК на РНК протекает в два этапа. Вначале на одноцепочечной РНК-матрице с помощью фермента РНК-зависимой-ДНК-полимеразы (ревертазы) синтезируется одноцепочечная ДНК. В результате образуется биспиральная (т.е. двухцепочечная) РНК-ДНК-молекула, которая затем служит матрицей для синтеза ДНК. Второй этап катализируется ферментом ДНК-зависимой-ДНК-полимеразой.

Предполагают, что дополнительный механизм синтеза ДНК может быть использован для внесения в геном новой информации. Исследование обратной транскрипции, как считают ученые, может сыграть большую роль в выяснении перерождения нормальных клеток в раковые, в развитии методов генной инженерии.

В нашей стране существенный вклад в решение этой проблемы внесли исследования, выполненные под руководством академика В.А. Энгельгардта.

Синтез РНК на матричной ДНК получил название транскрипции (переписывания). В отличие от синтеза ДНК синтез РНК на матричной ДНК идет, как правило, только на отдельных участках одной из цепей ДНК. Специфичность синтеза РНК во многом определяется РНК-полимеразой, состоящей из большого числа субъединиц и наделенной механизмом узнавания начальной точки синтеза, выбора соответствующей цепи ДНК и завершения процесса синтеза. Различные РНК-полимеразы катализируют синтез всех типов РНК: информационной или матричной (и-РНК), транспортной (т-РНК) и рибосомальной (р-РНК). Транскрипция требует наличия всех четырех видов рибонуклеозидтрифосфатов: АТФ, ГТФ, ЦТФ и УТФ. Отрезок ДНК подвергавшийся транскрипции, получил название транскриптона (или оперона у прокариот). Транскриптон включает несколько зон, имеющих разную функцию: промотор, оператор, структурные гены, терминатор.

Биосинтез РНК начинается с зоны молекулы ДНК, получившей название промотора. Между промотором и информативной последовательностью нуклеотидных остатков ДНК располагается зона оператора. Если оператор не занят белком-репрессором, РНК-полимеразная реакция осуществляется путем транскрибирования (переписывания) вначале неинформативной зоны оператора, а затем информативной зоны гена (цистрона), в котором закодирована структура индивидуального белка или р-РНК или т-РНК. Образуются первичные транскрипты (пре-и-РНК, пре-р-РНК, пре-т-РНК). В дальнейшем проис-

ходит видоизменение синтезированной пре-РНК, сопровождающееся разрушением ее неинформативной части и модификацией информативной части (т.н. процессинг – созревание) путем метилирования, присоединения нуклеотидов и др.

Помимо матричного синтеза РНК известен и другой путь – неспецифический синтез РНК. В этом случае исходными соединениями служат рибонуклеозиддифосфаты. Реакция идет с выделением фосфорной кислоты и образованием фосфодиэфирного мостика от 5'-го к 3'-му углеродному атому остатков рибозы. Реакция ускоряется специфическим ферментом – полинуклеотидфосфорилазой, причем без участия полинуклеотида ДНК-матрицы и не обязательного одновременного присутствия в сфере реакции всех четырех видов рибонуклеотидов (АДФ, ГДФ, УДФ и ЦДФ). Синтез РНК идет в этом случае даже из одного и того же вида или из различных видов нуклеозиддифосфатов. Реакция обратима. Биологическое значение образования в организме неспецифической РНК не ясно. Полагают, что синтетическая активность полинуклеотидфосфорилазы в клетке, вероятно, не используется и биологическая функция фермента заключается в фосфоролитическом разложении и-РНК с сохранением макроэргических связей за счет образования рибонуклеозид-5'-дифосфатов.

Изучение закономерностей биосинтеза нуклеиновых кислот привело к открытию важнейшего механизма воспроизведения специфичности структуры при их новообразовании. Этот механизм сводится к взаимодействию комплементарных пуриновых и пиримидиновых оснований матрицы и нуклеозидтрифосфатов, из которых указанный синтез осуществляется.

Таким образом, комплементарный синтез по матрице оказался ведущим механизмом воспроизведения специфичности структуры при новообразовании нуклеиновых кислот. Этот же принцип имеет огромное значение и при специфическом воспроизведении первичной структуры белковых молекул, осуществляемом с помощью нуклеиновых кислот (т.н. матричный синтез белка).

Матричный биосинтез белков является фундаментом современных представлений о механизме синтеза белков в организме. Нематричный мультиэнзимный путь синтеза полипептидов, как полагают (Ф. Липман), присущ, наряду с матричным, в основном микроорганизмам. С его помощью, в частности, могут синтезироваться некоторые антибиотики пептидной природы (грамидин, тироцидин, микобациллин), а у высокоорганизованных организмов – синтезируются ди- и трипептиды.

## 12. Синтез белков

Матричный синтез белков происходит из аминокислот в рибосомах клеток ферментативным путем в соответствии с информацией, заложенной в ДНК о последовательности включения определенного числа аминокислот в образующую полипептидную цепь белка.

Существенную роль в раскрытии механизма участия нуклеиновых кислот в биосинтезе белка сыграли исследования Крика, Очоа, Ниренберга, Вейса, А.Н. Белозерского, А.А. Баева, А.С. Спирина и др.

Весь процесс синтеза белков можно подразделить на три основных этапа. На первом этапе, именуемом транскрипцией (переписыванием), происходит синтез молекул информационных и-РНК на матричный ДНК. В и-РНК «переписывается» код, с помощью которого кодируется белок, и-РНК поступают в рибосомы. Таким путем происходит передача информации о строении синтезируемого белка в места их непосредственного образования. Второй этап, обозначаемый термином рекогниция («узнавание»), заключается в соединении предварительно активированных аминокислот, необходимых для синтезируемых полипептидных цепей белка, со специфическими транспортными РНК (т-РНК) и доставке их в таком виде в рибосомы. Наконец, третий этап – трансляция («перевод») состоит в переводе нуклеотидной последовательности и-РНК в аминокислотную последовательность полипептидной цепи в процессе синтеза белка на рибосоме.

Стадия трансляции собственно и является синтезом белка, происходящим на рибосоме.

Разберем эти этапы более подробно. Ранее уже говорилось, что ДНК, находящаяся у эукариотов в ядрах клеток, хранит и передает наследственную информацию закодированную в виде определенной последовательности моонуклеотидов (собственно – их азотистых оснований) в полинуклеотидной цепи.

Порядок нуклеотидов в полинуклеотидной цепи ДНК диктует расположение аминокислот в полипептидной цепи закодированного таким образом белка и тем самым сохраняет его специфичность, отличие от других белков.

Это возможно потому, что каждая аминокислота кодируется определенным сочетанием трех нуклеотидов (трех азотистых оснований), получивших название кодон или триплет и считающихся единицей кодирования.

Известно, что число видов аминокислот, входящих в состав белков, равно двадцати, а число различных оснований в ДНК равно четырем. При наличии триплетного кода четырьмя основаниями можно закодировать  $4^3=64$  аминокислоты. Эта система кодирования оптимальна, так как если бы кодон вклю-



чал 2 основания, то можно было закодировать только  $4^2=16$  аминокислот, а если бы кодон включал 4 основания, то кодировалось бы  $4^4=256$  аминокислот.

В настоящее время составлен словарь генетических символов, т.е. перечень кодонов для 20-ти аминокислот. Так, триплет УУУ (урацил, урацил, урацил или точнее – три уридиловых нуклеотида) определяют включение в полипептидную цепь фенилаланина, триплет ГАУ (гуанин-аденин-урацил) соответствует аспарагиновой кислоте. Каждый кодон соответствует определенной аминокислоте, но одна и та же аминокислота может быть закодирована несколькими кодонами (2-6 кодонами), т.е. имеет место избыточность или вырожденность кода. Две аминокислоты (триптофан и метионин) имеют по одному кодону. Полная кодовая таблица символов показывает, что 61 триплет является «смысловым», т.е. каждый из них кодирует определенные аминокислоты, а три триплета (УАА, УАГ, УГА) не кодируют аминокислоты, выполняя функцию кодонов-терминаторов, т.е. указывают место окончания синтеза полипептидной цепи.

Код является универсальным, так как свойственен организмам любого типа. В последнее время появились доказательства того, что код эволюционировал, что он не сразу возник таким, какой он есть. У митохондрий выявлен свой собственный генетический код.

Сочетание кодонов в виде участка ДНК, несущего информацию о структуре какой-либо конкретной полипептидной цепи белка получило название ген (или цистрон). Из генов образуется геном. Полагают, что геном человека содержит от 50 до 100 тысяч генов, из которых удалось расшифровать (идентифицировать) почти 30 тысяч генов.

Информация, записанная в гене, передается информационной РНК (и-РНК) путем ее синтеза на данном участке (т.е. транскриптом) ДНК, осуществляемого ферментом ДНК-зависимой-РНК-полимеразой. Фермент присоединяется к служебной зоне ДНК (промотору) и, двигаясь вдоль нити ДНК, осуществляет сборку молекулы и-РНК по принципу комплементарности азотистых оснований из 4 типов рибонуклеозид-5'-трифосфатов, переписывая весь транскриптон.

Естественно поэтому, что и-РНК, синтезированная на одной нити ДНК, точно соответствует второй комплементарной нити ДНК, конечно, с заменой дезоксирибозы на рибозу, а тимина – на урацил. Образуется так называемая пре-и-РНК (первичный транскрипт).

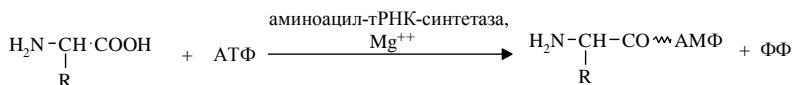
Величина и-РНК бывает различной в зависимости от длины закодированной в ней полипептидной цепи.

У эукариотов и-РНК, помимо части, кодирующей первичную структуру синтезируемого белка (экзоны) содержит не кодирующие участки (служебные зоны) – интроны. Синтезированная и-РНК затем теряет неинформационные участки, метилируется и подвергается другим изменениям, что получило на-

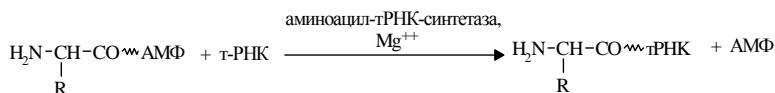
звание «созревание» (процессинг). С 3'-конца и-РНК присоединяет полиадезилат (до 200 нуклеотидов), а с 5'-конца – так называемый «кеп» (шапку) из 2-3 метилированных нуклеотидов с концевой 7-метилгуаниловой кислотой. Предполагают, что такие изменения предохраняют и-РНК от ферментативного разрушения, способствуют связыванию и-РНК с рибосомой и инициируют трансляцию. «Зрелая» и-РНК связывается с особым белком – информатином, образуя рибонуклеопротеидный комплекс – информому, которая в цитоплазме соединяется с рибосомами, образуя полисому, и уже здесь последовательность кодонов и-РНК непосредственно определяет, какие именно аминокислоты и в какой последовательности будут включаться в синтезируемую полипептидную цепь, т.е. и-РНК в рибосоме (полисоме) выступает в роли матрицы при синтезе белка.

Синтез белка протекает на поверхности рибосомы из активированных аминокислот, поступающих из цитоплазмы.

Активация аминокислот происходит в цитоплазме при участии АТФ и специфического фермента аминоацил-т-РНК-синтетазы. Реакция протекает в два этапа. В результате первого этапа образуются аминоациладенилат, имеющий макроэргическую связь с 5'-фосфатной группой АМФ и пиррофосфат:



Второй этап состоит в переносе аминоацильной группы с АМФ на транспортную РНК (т-РНК), находящуюся в цитоплазме:



Активирующие аминоацил-т-РНК-синтетазы высокоспецифичны как в отношении аминокислоты, так и в отношении соответствующей т-РНК.

Для каждой аминокислоты имеются специфические т-РНК более чем одного типа. В этой связи в соответствии числу аминокислот, входящих в состав белков, каждая клетка содержит набор из не менее 20-ти различных т-РНК.

Строение т-РНК имеет некоторые особенности – наличие минорных оснований (алкилированных, восстановленных, серусодержащих и др. нуклеотидов). Наличие минорных оснований в т-РНК, согласно С. Берестеня (1992), служит способом защиты т-РНК от ферментативного разрушения.

В отличие от и-РНК и р-РНК транспортная РНК имеет трехмерную спиральную структуру. Несмотря на то, что т-РНК для различных аминокислот существенно различаются по последовательности нуклеотидов, для всех

т-РНК с известным строением имеется общая конформация, так называемая конформация клеверного листа. Это связано с тем, что три области полинуклеотидной цепи т-РНК складываются, образуя петли, напоминающие по очертанию форму клеверного листа.

В структуре т-РНК имеется несколько биологически важных участков. Так, установлено, что все молекулы т-РНК содержат на одном конце одну и ту же последовательность нуклеотидов (ЦЦА) – это т.н. акцепторный участок. Концевой остаток этой последовательности – адениловая кислота – своей свободной 2'- или 3'-гидроксильной группой образует эфирную связь с аминоацильной группой, переносимой от аминоациладенилата в процессе транспортировки активированной аминокислоты к рибосоме.

На другом конце т-РНК выявлен особый триплет (различный у различных т-РНК), который выполняет функцию антикодона, т.е. является специфическим триплетом, комплементарным соответствующему триплету – кодону и-РНК. Между антикодоном т-РНК и кодоном и-РНК могут возникать водородные связи, благодаря чему в процессе синтеза белка транспортируемая к рибосоме транспортной РНК аминокислота может занять правильное положение в растущей полипептидной цепи.

Наконец, в молекуле т-РНК содержится специфический участок, позволяющий активирующему ферменту (аминоацил-т-РНК-синтетазе) узнавать т-РНК и связываться с ней.

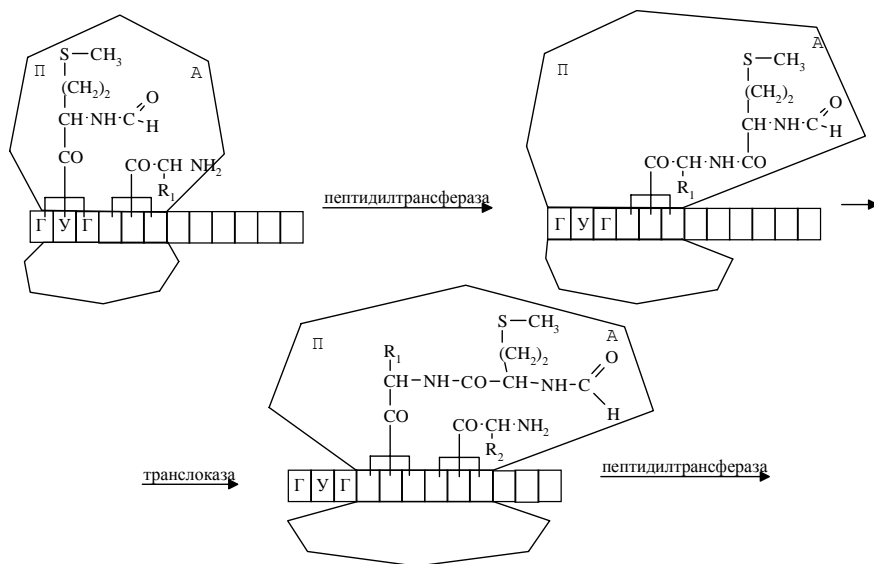
Отдельные молекулы т-РНК с соответствующими аминокислотами подходят друг за другом к полисому и присоединяются своими антикодонами к соответствующим кодомам и-РНК.

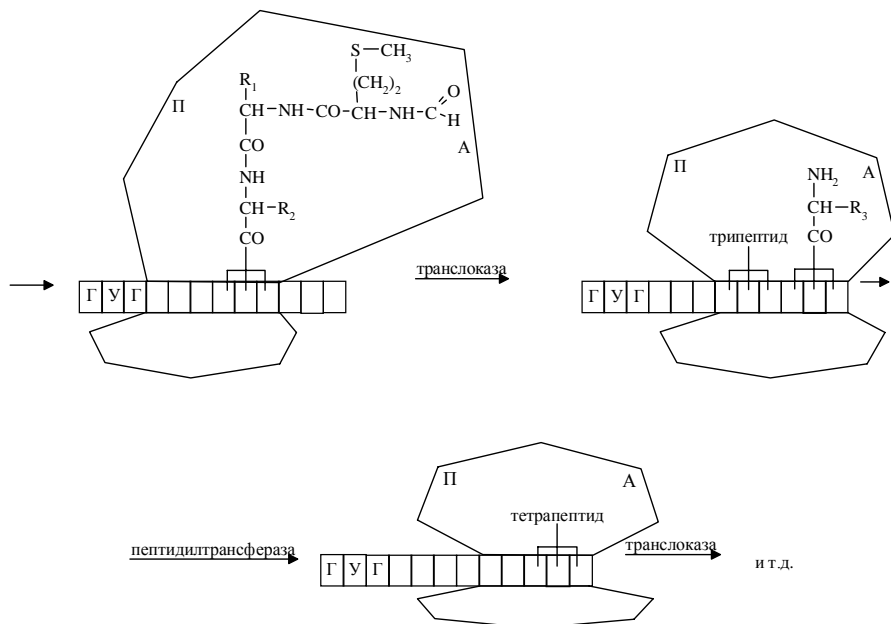
Предполагается, что отдельные рибосомы движутся вдоль молекулы и-РНК, с которой связывается аминокацил-т-РНК, и как бы считывая заключенную в ее кодонах информацию, синтезируют по мере своего продвижения полипептидную цепь из доставленных т-РНК аминокислот. Иначе говоря, осуществляется перевод нуклеотидной последовательности и-РНК в аминокислотную последовательность синтезируемой полипептидной цепи, что получило название этапа трансляции. В этой трансляции выделяют три этапа: инициации, элонгации и терминации. Начало белкового синтеза называют инициацией. Пептидная цепь строится, начиная со своего N-конца в направлении С-конца. Синтез полипептидной цепи (например, у *E. coli*) начинается всегда с метионина как N-концевой аминокислоты, включающейся в синтез белка на рибосоме в виде N-формилметионил-т-РНК (инициирующая аминокацил-т-РНК). У эукариотов синтез начинается метионин-т-РНК. На рибосоме различают два участка: один из них связан с удлиняющейся цепью полипептида (так называемый пептидилный участок или П-участок), а второй присоединяет каждый раз новую аминокацил-т-РНК (так называемый аминокислотный участок или А-участок). Инициация биосинтеза белка у бактерий происходит при уча-

ствии трех белковых факторов инициации, обозначаемых  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$ . Фактор  $F_3$  обеспечивает взаимодействие малой рибосомной субъединицы (30 S-субъединицы) с триплетом и-РНК, соответствующим N-формилметионину.

Факторы  $F_1$  и  $F_2$  образуют комплекс с ГТФ и формилметионил-т-РНК. Комплекс присоединяется к малой рибосомной субъединице так, что N-формилметионил-т-РНК оказывается связана с соответствующим кодоном и-РНК. Возникший иницирующий комплекс связывается с другой субъединицей рибосомы (50 S-субъединицей) и образуется функционально активная рибосома (70 S-рибосома), в которой N-формилметионил-т-РНК располагается в П-участке рибосомы. Этот процесс также идет с участием ГТФ, гидролиз которого до ГДФ обеспечивает процесс энергией. Описанный сложный процесс инициации нужен для того, чтобы рибосомы не начали строить полипептидную цепь с середины. В клетках эукариот инициация белкового синтеза идет сходным образом при участии также трех факторов инициации.

Этапы трансляции можно схематично изобразить следующим образом:





Далее осуществляется последовательная установка аминокислот на свои места и их связывание в полипептидную цепь, что обозначается как этап элонгации. Аминокислоты поступают на полисомы в виде аминоацил-т-РНК. Последние взаимодействуют своими антикодонами с кодами и-РНК. В процессе элонгации принимают участие ГТФ и несколько факторов, катализирующих три этапа элонгации. В начале группа факторов элонгации образует комплекс с ГТФ и аминоацил-т-РНК, что обеспечивает присоединение последней к А-участку функционально активной рибосомы в соответствии с кодом белкового синтеза. Затем рибосомный фермент пептидилтрансфераза переносит пептидил-т-РНК (первоначально N-формилметионил-т-РНК) из П-участка в А-участок рибосомы с присоединением полипептида (первоначально N-формилметионил-т-РНК) к аминоацил-т-РНК с высвобождением т-РНК. Полипептидная цепь удлиняется на одно аминокислотное звено. В последующем особый фактор элонгации – транслоказа – вызывает перемещение (транслокацию рибосомы) вдоль и-РНК точно на один триплет. В ходе этого перемещения удлинившаяся пептидил-т-РНК снова оказывается в П-участке рибосомы, тогда как А-участок полностью освобождается и готов взаимодействовать

вать с новой аминоацил-т-РНК, связываясь с соответствующим кодоном и-РНК. Описанные реакции повторяются.

Терминация белкового синтеза в рибосоме осуществляется также при участии особых белковых факторов и ГТФ. Как только напротив А-участка рибосомы окажется терминирующий кодон и-РНК (УАА, УАГ или УГА), к нему присоединяется один из факторов терминации, что блокирует возможность присоединения молекулы аминоацил-т-РНК. К тому же терминирующим кодоном не соответствует ни один из антикодонов в т-РНК. Под влиянием пептидилэстеразной активности рибосомных белков происходит разрыв сложной связи между образованным полипептидом и т-РНК. В результате синтезированный в рибосоме белок отделяется от нее и поступает в цитоплазму. Одновременно освобождается т-РНК от и-РНК, а рибосома распадается на субъединицы, поступающие в общий пул рибосом и их субъединиц, откуда они черпаются для нового синтеза белковой молекулы. Синтезированная полипептидная цепь далее подвергается модификации, возможно, что при этом отщепляется и концевой метионин и присоединяются аминокислотные фрагменты.

Считается, что в полисомах каждая рибосома независимо друг от друга считывает и-РНК и синтезирует белок. Рибосомы перемещаются по и-РНК довольно быстро, наращивая по 5-15 аминокислот в секунду.

В цитоплазме синтезированные полипептидные цепи приобретают дисульфидные и водородные мостики и образуют молекулы белка. Появление вторичной и третичной структуры белка не требует, как считают, участия дополнительных энзимов или особых генетических контрольных факторов.

Специфическое пространственное расположение полипептидной цепи предопределяется первичной структурой белковой молекулы, является термодинамически свободным процессом, протекающим самопроизвольно. Надо сказать, что появились данные (акад. А.С. Спирин), свидетельствующие о том, что вторичная структура синтезируемого белка начинает формироваться уже в процессе сборки полипептидной цепи на рибосоме (контрансляционное сворачивание цепи).

Кроме того, получены доказательства, что в формировании пространственной трёхмерной структуры белка участвуют внутриклеточные молекулярные механизмы, детали которых не раскрыты. Так, выявлены белки-шапероны, которые располагаясь между N-концевым сигнальным пептидом и матричным белком, способны предотвращать образование из полипептидных цепей беспорядочных клубков (агрегатов) и обеспечивать транспорт их к субклеточным мишеням, создавая условия для завершения свёртывания белковой молекулы.

Электромикроскопическое изучение биосинтеза белка (Миллер с сотр., 1967) позволило наблюдать процесс синтеза и-РНК на генах бактериальных клеток. На электромикроскопической фотографии, полученной исследовате-

лями, виден работающий ген *E. Coli*. Снимок получен при увеличении в 150000 раз. Видны два участка бактериальной хромосомы, нижний из которых активен: на ее ДНК транскрибируется и-РНК. На фотографии наблюдаются молекулы РНК-полимеразы (в виде крупных темных пятен), катализирующие оборку молекулы и-РНК из плавающих в цитоплазме нуклеотидов. Сооружение молекулы и-РНК начинается справа и по мере увеличения (удлинения) они движутся влево. С увеличением нити и-РНК на нее цепляются рибосомы в виде крупных черных точек, которые движутся по ней к хромосоме, строя белок на основе информации, записанной в молекуле и-РНК. Синтезируемые молекулы белка (и аминокислоты) не видны из-за малых размеров своих молекул.

Следует заметить, что этапы передачи генетической информации у всех живых клеток одинаковы, но временные и пространственные их взаимоотношения различны для прокариотов и эукариотов. Различие объясняется тем, что в клетках последних ДНК находится в ядре, отгороженном от цитоплазмы мембраной, а в клетках прокариотов ядра нет совсем. Поэтому синтез и-РНК и белка (т.е. транскрипция и трансляция) у них идут одновременно. У эукариотов эти два процесса строго разделены в пространстве и времени: транскрипция ДНК в различные и-РНК происходит в ядре, после чего и-РНК мигрирует через ядерную мембрану в цитоплазму клетки и вступает в связь с рибосомами, где происходит синтез белка. В клетках эукариотов синтез белка обычно протекает на рибосомах, связанных с эндоплазматической сетью, с помощью которой происходит транспорт и секреция синтезированного белка.

В живых клетках функционируют механизмы, которые осуществляют оптимальное соотношение между количествами различных белков путем регуляции их биосинтеза. Эти механизмы, обеспечивая регуляцию биосинтеза ферментных белков, тем самым регулируют обмен веществ и дифференцировку клеток.

Следует подчеркнуть, что знания о регуляции белкового синтеза основаны, главным образом, на результатах генетических исследований у бактерий.

Исходными материалами для формулирования гипотезы о механизме регуляции белкового синтеза послужили наблюдения за индукцией и репрессией ферментов в бактериальных клетках.

Концентрация некоторых бактериальных ферментов возрастает при добавлении в питательную среду субстратов этих ферментов. Это явление получило название индукции ферментов, а вещества, индуцирующие ферменты, назвали индукторами. Индуцированный синтез ферментных молекул начинается через 1-2 мин. после добавления индуктора. Если индуктор удалить, то синтез прекращается примерно через такое же время.

С другой стороны, концентрация некоторых ферментов может снижаться в результате прекращения их синтеза в присутствии в среде конечных продуктов реакций, катализируемых этими ферментами. Это явление стали обозна-

чать как репрессию ферментов, а вещества, вызывающие репрессию, называли репрессорами.

Молекулярные и генетические механизмы индукции и репрессии ферментов значительно прояснились благодаря исследованиям Жакоба, Моно и их сотрудников в конце 50-х годов. Согласно Жакобу и Моно, в генетическом аппарате клетки следует различать сообщества структурных генов, названных опероном, каждый из которых ответственен за взаимосвязанный синтез ряда специфических белков. Деятельность оперона (структурных генов) контролируется геном-оператором, который либо разрешает, либо запрещает образование на структурных генах и-РНК. К гену-оператору примыкает участок ДНК, к которому прикрепляется ДНК-зависимая РНК-полимераза, производящая сборку и-РНК. Этот участок получил название промотора, а вся совокупность описанных участков ДНК (промотор, оператор и структурные гены) именуется транскриптоном. Функция гена-оператора контролируется пространственно изолированным от него геном-регулятором, который транскрибирует и-РНК, необходимую для синтеза белка-репрессора на рибосомах. Белок-репрессор может специфически связаться с геном-оператором, тем самым регулируя характер его воздействия на структурные гены. Белок-репрессор имеет участки связывания индуктора и корепрессора. Эти корепрессоры и индукторы через белок-репрессор сигнализируют о необходимости увеличить или ослабить синтез белков в клетке.

Согласно гипотезе Жакоба и Моно, в случае, если имеет место индуцирующая фермент система, молекула репрессора в отсутствии индуктора образует специфический комплекс с геном-оператором, что препятствует синтезу и-РНК на структурных генах либо в результате невозможности присоединения ДНК-зависимой-РНК-полимеразы к промотору, либо в результате невозможности движения фермента вдоль нити ДНК. Нарушение синтеза и-РНК блокирует образование на рибосоме соответствующего ферментного белка. Если же молекулы белка-репрессора связываются молекулами индуктора, то образовавшийся неактивный комплекс репрессор-индуктор уже не может взаимодействовать с геном-оператором. Это приводит к активации транскрипции структурного гена, синтезу соответствующей и-РНК и последующему синтезу на рибосоме фермента. Взаимодействие индуктора с репрессором обратимо и поэтому удаление индуктора или распад комплекса репрессор-индуктор восстанавливает активность репрессора.

Гипотеза Жакоба и Моно объясняет также репрессию ферментов конечными продуктами реакции, катализируемую этими ферментами. В этом случае принято считать, что в таких системах молекула репрессора в свободном состоянии не активна или мало активна и не способна подавлять транскрипцию структурного гена. Такая способность появляется после образования активного комплекса белка репрессора с конечным метаболитом, получившим назва-



ние корепрессора. Активный комплекс репрессор-корепрессор связывается с геном-оператором, что вызывает блокирование транскрипции структурного гена и биосинтеза соответствующего ферментного белка. Существенное место в регуляции транскрипции придается положительным регуляторам, помогающих РНК-полимеразе запустить транскрипцию. Такую роль положительного регулятора приписывают ц-АМФ и специальному белку-активатору катаболического гена (БАК). Комплекс ц-АМФ-БАК, присоединяясь к промотору, облегчает ферменту транскрипцию структурных генов. Факторы, угнетающие образование ц-АМФ в клетке и комплекса ц-АМФ-БАК, способствуют репрессии, т.е. угнетению транскрипции.

Гены, входящие в состав данного оперона, активируются или репрессируются одновременно.

Поясним описанную схему регуляции биосинтеза белка примером. В микробной клетке *E. Coli* синтезируется фермент галактозидаза, которая расщепляет лактозу (молочный сахар), поглощаемую клеткой из окружающей среды. Когда в среде, окружающей клетку, нет лактозы, фермент галактозидаза не нужен, и репрессор, вырабатываемый геном-регулятором, взаимодействует с геном-оператором, «запирая» его. В результате структурные гены не вырабатывают и-РНК, которая является матрицей для синтеза белка-фермента галактозидазы, и последняя благодаря этому не синтезируется клеткой. Но как только в окружающей среде появляется лактоза, являющаяся с генетической точки зрения индуктором, ее молекулы, проникая в клетку, взаимодействуют с белком репрессором, образуя неактивный комплекс репрессор-индуктор. Ген-оператор, освобождаясь от репрессора, побуждает структурные гены синтезировать и-РНК и в рибосомах начинается синтез фермента галактозидазы.

При этом ген-регулятор продолжает работать, обеспечивая образование все новых и новых порций белка-репрессора. Однако, репрессор весь связывается лактозой и пока лактоза присутствует в среде, синтез галактозидазы происходит непрерывно. Когда в среде запасы лактозы исчерпываются, и, следовательно, необходимость в галактозидазе исчезает, комплекс репрессор-индуктор не образуется, репрессор связывается с геном-оператором и блокирует транскрипцию структурного гена, соответствующая и-РНК не вырабатывается и синтез галактозидазы прекращается.

Картина регуляции генов в клетках высокоорганизованных организмов значительно усложняется.

У эукариотов ДНК связана с белками – основными белками гистонами, негистоновыми кислыми белками, фосфопротеидами, РНК, образуя нуклеопротеидный комплекс, называемый хроматином. Связывание определенных участков ДНК гистонами, несущими положительный заряд, препятствует их транскрибированию РНК-полимеразой. Негистоновые кислые белки, имеющие большой отрицательный заряд, препятствуют ингибированию синтеза и-РНК

гистонами. Их рассматривают в качестве специфических регуляторов транскрипции, так как они облегчают транскрипцию в месте своего связывания с ДНК. Гистоны могут утрачивать свою ингибирующую способность в результате фосфорилирования за счет АТФ под влиянием ферментов протеинкиназ, а также в результате ацетилирования и метилирования. Фосфорилирование кислых белков, наоборот, усиливает их позитивный эффект на транскрипцию. Таким образом, регуляция процесса транскрипции может осуществляться локализацией связывающихся с ДНК белков в хроматине и активностью протеинкиназы. Последняя активируется циклической АМФ, количество которой в клетке может меняться под воздействием гормонов. Стероидные гормоны проявляют свое действие на уровне генома. Регуляторное влияние на транскрипцию оказывают также молекулы низкомолекулярной ядерной РНК, находящейся в ядре в виде РНП. Предполагается, что такой рибонуклеопротеид может комплементарно взаимодействовать с транскриптомом и избирательно включать транскрибирование генов. Регуляция синтеза белка на уровне трансляции возможна путем действия регуляторов на белковые факторы, контролирующие в рибосомах инициацию, элонгацию и терминацию трансляции и на различные функциональные участки рибосом.

Предполагается (Г.П. Георгиев), что структура транскриптона в клетках эукариотов в большей части занята участком, выполняющим служебные функции (зона управления), а меньшая часть принадлежит структурным генам. Если последняя зона кодирует белки, то первая зона взаимодействует с белками-репрессорами и через этот механизм управляет транскрипцией структурных генов.

Полагают, что такое строение транскриптона расширяет возможности для регуляции генов, так как одним транскриптомом могут управлять разные регуляторные белки, а с другой стороны, один белок-регулятор может одновременно регулировать функцию нескольких транскриптомов, имеющих общую зону управления.

Механизм регуляции генов и в том числе генов, связанных с процессом индукции и репрессии ферментных систем у высших организмов остаются в значительной мере неясным.

Индукция и репрессия ферментов позвоночных наблюдается, в основном, в ткани печени и со стороны ферментов пищеварительных желез, что позволяет адаптивно реагировать на изменения в питании животного организма.

Описанная система регуляции синтеза белков, естественно, является лишь частью сложной системы регуляции биосинтеза белков сложно организованных организмов. В организме регуляция осуществляется не только на уровне макромолекул, но и на уровне субклеточных структур (формирование полисом, роль мембран), на уровне клетки (ядерно-цитоплазматические отношения), на уровне органа и организма (нейро-гуморальная регуляция). В качестве регуля-

торов белкового синтеза разработан ряд фармацевтических препаратов. В числе индукторов, усиливающих синтез белка, следует назвать анаболические стероиды (метандростенол, феноболин, ретаболил), инсулин, а из негормональных – оротат калия, инозин. Более обширна группа препаратов, оказывающих ингибирующее действие на синтез белка, при этом различают: 1) ингибиторы транскрипции (альфа-аманитин, антибиотики рифамицины, актиномицин Д, оливомицин, дактиномицин, алкалоиды винбластин и винкристин, а также 5-фторурацил), 2) ингибиторы процессинга и транспорта и-РНК (кордицетин), 3) ингибиторы трансляции (антибиотики хлорамфеникол, линкомицин, эритромицин, тетрациклины, стрептомицин, пуромицин).

### **13. Молекулярные механизмы изменчивости. Молекулярная патология**

Молекулярные механизмы воспроизведения генотипа и, следовательно, фенотипа, создают молекулярную основу одного из фундаментальных свойств жизни – наследственности. Противоположное свойство – изменчивость – столь же существенно, поскольку наряду с наследственностью обеспечивает возможность естественного отбора и биологической эволюции. Молекулярную основу изменчивости организма составляют наследуемые изменения первичной структуры ДНК-мутации. Различают хромосомные мутации (изменение числа хромосом, хромосомные aberrации) и генные мутации. Сущность генных мутаций составляют нерепарированные наследуемые изменения первичной структуры ДНК, которые ведут либо к прекращению синтеза белка, кодируемого поврежденным структурным геном, либо к синтезу измененного, «неправильного» белка. Мутации в регуляторных участках транскриптона (промоторе, операторе) ведут к нарушению регуляции или прекращению синтеза белка. Существуют следующие варианты генных мутаций: 1) транзигция или замена пар оснований (нуклеотидов), 2) делеция или выпадение одной пары или групп пар оснований (нуклеотидов), 3) вставка одной или групп пар оснований (нуклеотидов), 4) изменение местоположения отдельных участков ДНК.

Мутации бывают спонтанными (они очень редки) и вызванными различными факторами (мутагенами): чужеродными и природными. К последним относят пероксидные соединения, свободные радикалы и т.д. К чужеродным мутагенам относятся химические вещества (алкилирующие соединения, окислители и т.д.), физические факторы (ионизирующее излучение) и биологические факторы (вирусы и др.). Мутации могут происходить как в соматических клетках, так и в половых. При половом размножении наследуются только мутации половых клеток. Мутации могут быть нейтральными, полезными или вредными. Если в результате мутации свойства белка изменяются таким образом, что особь получает преимущество для выживания, то мутация биологически полезна. Однако чаще всего мутации бывают вредными и могут приводить к молекулярной патологии.

Под молекулярными болезнями принято понимать заболевания, основной причиной которых является генетически обусловленное нарушение функции белков.

Молекулярная болезнь развивается вследствие образования или дефектного белка, или явно недостаточного количества нормального белка, неспособного из-за этого выполнять в полном объеме свои функции в организме. Молекулярные болезни обозначаются как протеинопатии.

Протеинопатии подразделяют на две группы: ферментные (т.е. ферментопатии) и неферментные. При ферментопатиях имеет место дефект ферментных белков, что приводит к нарушению определенного звена обмена веществ. При неферментных протеинопатиях возникают дефекты неферментных белков, выполняющих различные функции – транспортную, рецепторную, сократительную, иммунологическую и т.д. Это приводит к нарушению тех процессов, которые зависят от данного неферментного белка. Возможна и смешанная протеинопатия.

Примерами ферментопатий аминокислотного обмена может служить:

- 1) фенилкетонурия (фенилпировиноградная олигофрения), связанная с дефектом фенилаланингидроксилазы.
- 2) альбинизм, связанный с дефектом тирозиназы.
- 3) тирозинемия, связанная с дефектом п-гидроксифенилпируватоксидазы.
- 4) алкаптонурия, связанная с дефектом гомогентизинатоксидазы и др.

Известны ферментопатии углеводного обмена (например, гликогенозы и галактоземия), ферментопатии липидного обмена (различные липидозы).

К числу неферментных протеинопатий относятся гемоглобинопатии, аминоацидурия (дефект транспортного белка), цистинурия (дефект транспортного белка), фруктозурия, глюкозурия и пентозурия (дефект транспортного белка).

Нарушения защитных реакций организма, связанных с недостатком анти-тел, получили название агаммаглобулинемия.

Следует сказать, что ежегодно на земном шаре рождается около 16 млн. детей с наследственными дефектами. И их число растет, что связано с неблагоприятными экологическими условиями проживания населения.

## 14. Полиморфизм белков. Иммуноглобулины

В результате мутации у разных особей могут возникать варианты генов, обеспечивающих образование полноценных белков. Варианты генов, образующихся у отдельных особей, могут постепенно распространяться в популяции в результате наследования. Так формируется генотипическая неоднородность популяции, которая ведет и к фенотипической неоднородности. На молекулярном уровне генотипическая гетерогенность проявляется полиформизмом белков, т.е. существованием разных форм белка, выполняющего одинаковые или очень близкие функции. Такие белки получили название «изобелки».

Таким образом, изобелки – это множественные молекулярные формы белка, обнаруживаемые в пределах организма одного биологического вида как результат наличия более чем одного структурного гена в генофонде вида для этого белка.

Наиболее изучен полиморфизм ферментных белков, т.е. наличие изоферментов. Известны также белки гемоглобина,  $\alpha$ -антитрипсина, групп крови и др. В настоящее время известны десятки белков, для которых найдены множественные формы. Можно считать, что полиморфизм белков лежит в основе биохимической индивидуальности человека. Значительный интерес представляет разнообразие особой группы белков-иммуноглобулинов (или антител).

Иммуноглобулины (антитела) представляют собой белки плазмы крови, которые по своей электрофоретической подвижности относятся к гамма-глобулинам – наименее подвижной в электрическом поле фракции белков сыворотки крови. Антитела (иммуноглобулины) – это специализированные белки с характерными особенностями строения, функций, регуляции биосинтеза. С ними связан иммунитет, т.е. специфическая защита организма от генетически чужеродных молекул и клеток, в том числе от всевозможных инфекционных агентов (бактерий, вирусов, грибов, простейших) – антигенов. Следовательно, антитела – это специализированные белки, вырабатываемые в ответ на введение в организм генетически чужеродных соединений (антигенов) и обладающих способностью связываться с ними, вызывая образование осадка (реакцию преципитации) или склеивание клеток (реакцию агглютинации) или разрушение мембран клеток (реакцию лизиса). Антитела синтезируются в В-лимфоцитах при участии Т-лимфоцитов (точнее: плазмócитами, образуемыми В-лимфоцитами при участии макрофагов и Т-хелперов).

Иммуноглобулины и синтезирующие их В-лимфоциты (плазмócиты) составляют только часть иммунной системы организма, обеспечивающей гуморальный иммунитет. Антитела образуются, главным образом, в лимфотических узлах и селезенке и, выделяясь в кровь, составляют фракцию иммуноглобулинов (или гамма-глобулинов) плазмы крови. Кроме крови, антитела обна-

ружены в экскреторных жидкостях (молоке, слюне, слезах и др.), а также на поверхности некоторых типов клеток лимфатической системы.

Антитела по химической природе являются высокомолекулярными гликопротеидами. Будучи гликопротеидами, различные классы иммуноглобулинов содержат от 2-3 до 10-12% ковалентно связанных с белком гексозо- и гексозоаминсодержащих олигосахаридов с небольшим количеством сиаловой кислоты и фукозы.

По структуре, антигенным и иммунобиологическим свойствам иммуноглобулины разделяются на пять классов, обозначаемых как IgG, IgA, IgM, IgE, IgD. Иммуноглобулины G, A, M имеют подклассы. Все классы и подклассы иммуноглобулинов различаются по аминокислотной последовательности. Они отличаются друг от друга физико-химическими особенностями, и поэтому их можно выделить из сыворотки крови электрофорезом, изоэлектрическим осаждением спиртом и кислотами, высаливанием, аффинной хроматографией и другими физическими и химическими методами. IgG, IgA, IgM, представлены в крови количественно более существенно: соответственно у здорового человека 70-80%, 5-10% и 10-25% от общего содержания иммуноглобулинов.

Структурную основу иммуноглобулинов всех классов составляют четыре полипептидных цепи: две одинаковые тяжелые цепи (цепи H с молекулярной массой 50000-55000) и две одинаковые легкие цепи (цепи L с молекулярной массой 20000-25000). С помощью межцепочечных дисульфидных связей, а также нековалентных взаимодействий четыре цепи объединяются в единую ковалентно связанную структуру, обозначаемую как мономер. Мономер имеет V-образную форму. IgA и IgM построены из 2-5 мономеров, связанных между собой j-цепями (полипептидными цепями). Соответственно каждому классу иммуноглобулинов (M, G, A, E, D) различают пять типов тяжелых цепей:  $\mu$  (мю),  $\gamma$  (гамма),  $\alpha$  (альфа),  $\epsilon$  (эпсилон) и  $\delta$  (дельта), имеющих молекулярную массу в пределах 50-70 кД (содержат 420-700 аминокислотных остатков) и различающихся по антигенности. Легкие цепи всех пяти классов являются общими и бывают двух типов:  $\kappa$  (каппа) и  $\lambda$  (лямбда). Они имеют молекулярную массу около 23 кД (содержат 214-219 аминокислотных остатков). L-цепи иммуноглобулинов различных классов могут вступать в соединение (рекомбинироваться) как с гомологичными, так и гетерологичными H-цепями. Однако, в одной и той же молекуле могут быть только идентичные L-цепи.

Как в H-, так и в L-цепях имеются вариабельная V-область, в которой последовательность аминокислот непостоянна, и константная или постоянная C-область с постоянным набором аминокислот. В легких и тяжелых цепях различают  $\text{NH}_2$ - и  $\text{COOH}$ - концевые группы. Как H-цепи, так и L-цепи имеют отдельные, линейно связанные компактные участки, названные доменами (около 110-120 аминокислотных остатка). В H-цепи их по 4, а в L-цепи – по 2. Вариабельные участки (области) располагаются в N-концевых частях L- и H-цепей.

В L-цепях к вариабельному участку относится около 100 аминокислотных остатков, а в тяжелых цепях – около 120. В вариабельных участках цепей иммуноглобулинов выделяют гипервариабельные области. Эти области формируют участки связывания антигенов и называются антигенсвязывающими центрами молекул антител (детерминантами). В каждой молекуле иммуноглобулина (мономера) имеются две детерминанты, относящихся к гипервариабельным участкам H- и L-цепей и, следовательно, каждая молекула иммуноглобулина может связать две молекулы антигена. Поэтому антитела являются двухвалентными. Типовой структурой молекул иммуноглобулинов является IgG, который имеет два центра (детерминанты) для связывания эпитопов поливалентного антигена. Остальные классы иммуноглобулинов отличаются дополнительными элементами их организации. Так, IgM представляет собой пентамер, т.е. пять молекул IgG связанные j-цепью образуют – IgM, имеющий десять детерминант.

Аминокислотная последовательность в активных центрах (детерминантах) иммуноглобулинов варьирует в связи с различиями в специфичности антител. Эти структурные особенности обеспечивают возможность взаимодействия с различными антигенами.

Антигенами называются все те вещества, которые несут признаки генетической чужеродности и при введении в организм вызывают развитие специфических иммунологических реакций. Типичными антигенами являются чужеродные белки, полисахариды микроорганизмов. Антигенные свойства могут проявлять нуклеиновые кислоты, сложные липиды, некоторые низкомолекулярные вещества (ряд гормонов, лекарств), химически синтезированные соединения. При этом низкомолекулярные вещества сами по себе не индуцируют синтез антител, но после их присоединения к молекуле белка стимулируют образование антител как к белку, так и к присоединенному низкомолекулярному веществу (такие вещества получили название гаптены). Роль антигенов могут выполнять не только свободные макромолекулы, но и молекулы, встроенные в поверхность каких-либо крупных частиц, например, молекулы поверхности бактериальной клетки. Собственные макромолекулы организма в норме не вызывают образование антител, т.е. не являются антигенами. Каждый антиген стимулирует образование антител лишь одного определенного типа. Эти антитела распознают и связывают только данный антиген или близко родственные молекулы. Подобная реакция организма, высоко специфическая по отношению к антигену, называется иммунным ответом или иммунной реакцией. Способность к иммунному ответу свойственна только позвоночным и, следовательно, возникла на относительно поздних этапах биологической эволюции.

Специфичность антител при связывании антигенов обусловлена как первичной, так и третичной структурой иммуноглобулинов. Третичная структура



иммуноглобулинов комплементарна конформации антигена, обеспечивает сближение, взаимную ориентацию специфических участков полипептидной цепи с образованием связывающего участка. Однако узкая избирательность взаимодействия антител с антигенами определяется в первую очередь различиями первичной структуры вариабельных участков. Избирательность взаимодействия антиген – антитело обусловлена, в конечном итоге, комплементарностью между структурой активного центра антитела и структурой некоторого участка антигена, обозначаемого антигенной детерминантой (эпитопом). Антигенной детерминантой может служить участок поверхности белка, образованный радикалами аминокислот, гаптен или простетическая группа белка, в частности, полисахаридная группа гликопротеинов. Отдельные участки поверхности одного и того же антигена могут быть разными антигенными детерминантами, т.е. антигены поливаленты. В результате к каждой молекуле антигена может присоединиться несколько молекул антител, так как на антигене существует несколько антигенных детерминант, к каждой из которых присоединяется специфическая молекула антитела. С другой стороны, молекула антитела содержит два участка связывания (центра связывания – детерминанты). В итоге возникают сложные молекулярные комплексы или, как их называют, трехмерные решетки из чередующихся молекул антигена и антитела. Такие комплексы могут выпадать в осадок – происходит реакция преципитации. С помощью реакции преципитации образование антител исследуют количественно. Если антитела, взаимодействуя с антигенами, локализованными на мембране клеток, вызывают склеивание клеток, то их называют агглютининами, если же они вызывают лизис (разрушение клеточной оболочки), их называют лизинами. В лизисе клеток, наряду с антителом, участвует сложная ферментная система плазмы крови – комплемент, которая участвует в обеспечении неспецифической реакции защиты против бактерий, вирусов. В конечном итоге комплексы антитело – антиген поглощаются фагоцитирующими клетками, и все компоненты комплекса разрушаются до мономеров. Таким образом, комплемент вместе с антителами и специализированными клетками участвует в защите организма от инфекций.

В ответ на введение любого антигена могут вырабатываться антитела всех пяти классов. Информацию о специфичности синтезируемого иммуноглобулина плазмocyты, их синтезирующие, получают от В-лимфоцитов, на которых имеются рецепторы, с которыми и взаимодействуют антигены. L- и H-цепи синтезируются на полирибосомах плазмocyта отдельно, поскольку иммуноглобулиновая молекула кодируется тремя группами генов. Одна группа кодирует H-цепь любого класса, другая – L-цепь каппа-типа и третья – L-цепь лямбда-типа. Синтезированные H- и L- цепи соединяются в единую молекулу перед выделением из клетки. Сборка молекулы иммуноглобулина из H- и L-цепей происходит очень быстро. Каждый плазмocyт синтезирует до 2000

молекул в секунду. Выделение молекул иммуноглобулинов из плазмocyта осуществляется путем экзоцитоза.

Иммуноглобулины, как и всякий белок, обладает антигенностью. В молекуле иммуноглобулина различают три типа антигенных детерминант: изотипические, аллотипические и идиотипические. Изотипические детерминанты (изотипы) являются видовыми, т.е. они идентичны для всех особей данного вида. Аллотипические детерминанты (аллотипы) у одних особей данного вида имеются, у других отсутствуют, т.е. они являются индивидуальными. Наконец, идиотипические детерминанты (идиотипы) присущи только молекулам антител, обладающих определенной специфичностью. Эти детерминантные различия обусловлены числом и порядком чередования аминокислот в активном центре молекулы иммуноглобулина. Изотипические детерминанты располагаются в постоянной С-части Н- и L-цепей и служат для дифференцировки иммуноглобулинов на классы и подклассы. Аллотипические детерминанты отражают внутривидовые антигенные различия иммуноглобулинов, а идиотипические детерминанты – индивидуальные различия в строении активного центра. Следовательно, имеется огромное разнообразие иммуноглобулинов, отличающихся по типу антигенных связывающих центров. Этим определяется множественность антител и их специфичность по отношению ко всему многообразию антигенов, существующих в природе. Число вариаций активных центров антител огромно, практически беспредельно, так как оно определяется числом Н- и L-цепей, их вариантами (аллотипами) и, особенно, идиотипическим разнообразием активных центров. Такое различие закреплено генетически и осуществляется в процессе формирования активных центров в зависимости от специфичности активного центра антигена. Благодаря постоянным мутациям генов, мутациям клонов иммунокомпетентных клеток, главным образом, лимфоцитов, практически на введение любого антигена может последовать реакция образования специфического антитела, и размножение того клона лимфоцитов, который синтезирует антитела, комплементарные антигену. Следует подчеркнуть, что одна плазматическая клетка вырабатывает антитела только одной специфичности. Следовательно, в организме должно существовать множество клонов иммунокомпетентных клеток. Таким образом, существование антител к данному антигену не является результатом действия самого антигена. В организме уже заранее имеется готовый набор антител, способных связывать огромное количество разных чужеродных веществ, с которыми организм прежде никогда не встречался. Однако до встречи с антигеном, концентрация антител к нему в организме ничтожна. Антиген, присоединяясь к лимфоцитам при условии соответствия (комплементарности) рецепторов клеток клона и антигена лишь вызывает пролиферацию этого клона и активирует синтез и секрецию антител клетками этого клона. Окончательно механизм синтеза и передачи по наследству способности вырабатывать огромное коли-

чество специфических антител буквально к любому из многочисленных антигенов неясен.

Наиболее полно этот механизм объясняет клонально – селекционная теория Ф. Барнета и теория С. Тоногавы. Развитие этих теорий привело к воззрению, что в эмбриональном периоде в предшественниках лимфоцитов кодоны генов, кодирующие разные области пептидных цепей антител, расположены не рядом друг с другом, гены имеют фрагментарную организацию, фрагменты этих генов разбросаны по хромосоме в разных частях во многих экземплярах. Они собираются в функциональный ген, контролирующий образование вариабельных доменов, случайным образом в ходе развития плазматической клетки перед началом транскрипции. Происходит особого рода рекомбинация генов, получившая название транспозиций генов. При этом число возможных комбинаций выражается в миллионах вариантов функционирующего гена.

Транспозиция является важнейшим моментом дифференцировки лимфоцитов и образования клонов, осуществляющихся в процессе онтогенеза. Рекомбинации в иммуноглобулиновых генах завершаются к тому моменту дифференциации, когда клетки впервые встречаются с антигенами. К этому моменту образуется популяция клеток с широким диапазоном специфичности. С конкретным антигеном взаимодействуют только адекватные клетки, несущие комплементарные рецепторы, которые начинают быстро пролиферировать. Затем, уже во время пролиферации отобранных клонов антитело–продуцирующих клеток, включается мутагенный механизм, изменяя в отдельных местах генов нуклеотидные последовательности. Соматические мутации еще более повышают число возможных типов иммуноглобулинов. Все это обеспечивает достаточность разнообразия специфичности антител ко всем возможным антигенам. Следует сказать, что изучение молекулярных основ строения и функционирования иммуноглобулинов находится в начальной стадии.

## 15. Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны

### 15.1. Интеграция обмена веществ

Вышеприведенное раздельное описание реакций, характерных для обмена углеводов, липидов и белков, является искусственным и вызывается исключительно удобством для изучения.

В действительности обмен веществ протекает как единое целое, одновременно и совместно, хотя и в разном объеме. Уже первый этап обмена – пищеварение – представляет собой одновременное расщепление углеводов, липидов и белков. Еще большая общность обмена различных соединений имеется при внутриклеточном обмене. Такие реакции как переаминирование, переметилирование, переамидирование, пересульфирование и др. путем межмолекулярного переноса атомных групп обеспечивает возможность перехода одних химических веществ в другие.

Одним из промежуточных продуктов расщепления углеводов является ацетил-КоА. Но и при распаде жиров и при окислении углеродной цепочки аминокислот появляется это же промежуточное вещество. Именно в этом пункте, в момент образования одного и того же промежуточного вещества – ацетил-КоА – углеводный, жировой и белковый обмен сливаются воедино. Далее ацетил-КоА независимо от своего происхождения расщепляется в лимоннокислом цикле, сопряженном с цепью дыхательных ферментов, до одних и тех же конечных продуктов обмена: углекислоты и воды. Именно в лимоннокислом цикле происходит полное и окончательное объединение процессов обмена белков, липидов и углеводов, и именно отсюда идут пути взаимных превращений этих веществ.

При определенных условиях единство обмена различных веществ может опять дифференцироваться и пойти по разным путям. На этом основана возможность взаимопревращения углеводов, жиров, аминокислот, перехода одного вещества в другое. В частности, ацетил-КоА, НАДФ.Н<sub>2</sub>, фосфодиоксиацетон, полученные при расщеплении углеводов, или ацетил-КоА из безазотистого остатка аминокислот, могут синтезироваться в жирные кислоты и жиры. И, наоборот, углеводы в животном организме могут синтезироваться из продуктов окисления жиров и белков, т.е. из продуктов лимоннокислого цикла через оксалоацетат и обращение ряда реакций гликолиза с включением обходных путей для необратимых реакций гликолиза. Это можно наблюдать в особенно большом количестве при сахарном диабете. У растений и микроорганизмов образование глюкозы может происходить из ацетил-КоА через гликооксилатный цикл.

Многие заменимые аминокислоты могут синтезироваться, как мы видели выше, из промежуточных продуктов расщепления углеводов и жиров (т.е. кетокислот и непредельных кислот путем их аминирования). К примеру, из пировиноградной кислоты может образоваться аланин, из кетоглутаровой – глутаминовая кислота, из щавелево-уксусной и фумаровой кислот – аспарагиновая кислота.

Конечно, возможности биосинтеза аминокислот из других веществ значительно ниже, по сравнению с синтезом жиров и углеводов. Образование новых аминокислот может происходить только при наличии в тканях свободного аммиака, освобождающегося при дезаминировании других аминокислот. Переаминирование сумму аминокислот не меняет.

Естественно, что незаменимые аминокислоты не могут синтезироваться из жиров и углеводов и из заменимых аминокислот. Поэтому белки и являются незаменимой составной частью пищи человека и животных.

Таким образом, изучение различных видов обмена веществ свидетельствует, что обмен веществ представляет собой стройный ансамбль многочисленных и тесно связанных друг с другом химических процессов, в которых ключевыми метаболитами служат пируват,  $\alpha$ -глицерофосфат, ацетил-КоА, метаболиты цикла Кребса, а лимитирующими факторами являются незаменимые аминокислоты и незаменимые полиеновые жирные кислоты. Ведущая роль в этом сложнейшем ансамбле принадлежит белкам. Благодаря их каталитической функции осуществляется все многочисленное множество химических реакций распада и синтеза. С помощью нуклеиновых кислот поддерживается строгая специфичность при биосинтезе макромолекул, т.е. в конечном счете, видовая специфичность в строении важнейших биополимеров. Благодаря, главным образом, обмену углеводов и липидов, в организме постоянно возобновляются запасы АТФ – универсального источника энергии для биохимических преобразований. Эти пути поставляют также простейшие органические молекулы, из которых строятся биополимеры и другие соединения, входящие в состав организма в процессе непрерывного самообновления живой материи.

### **15.2. Нейрогуморальная регуляция обмена веществ, роль гормонов**

В каждой клетке живого организма одновременно протекают огромное количество реакций обмена углеводов, липидов, белков и других веществ. И в то же время в любой клетке соблюдается строгий порядок течения биохимических процессов, строгая их направленность и согласованность, связанная с условиями внешней среды и направленная на поддержание постоянства внутренней среды (гомеостаза). Такое состояние обменных реакций достигается

тем, что в процессе эволюции в живых организмах сформирована определенная, свойственная только живому, организация биохимических процессов, с одной стороны, а с другой – выработалась стройная система регуляции обмена веществ на различных уровнях. Наиболее простыми являются внутриклеточные механизмы регуляции, важнейшими элементами которых являются:

- 1) изменение проницаемости биологических мембран;
- 2) аллостерическое изменение активности ферментных белков;
- 3) изменение количества молекул ферментов путем регуляции биосинтеза ферментных белков на генетическом уровне.

В организме высших животных и человека ведущую роль в регуляции биохимических реакций выполняет сложно построенная, возникающая в процессе эволюции, нервно-эндокринная система. У этих организмов вся информация о состоянии обмена веществ в тканях в виде нервных импульсов или химических сигналов поступает в центральную нервную систему и железы внутренней секреции. В головном мозге эта информация перерабатывается и в виде сигналов передается как непосредственно в ткани, так и в железы внутренней секреции. Последние вырабатывают особые вещества-гормоны, которые изменяют (регулируют) биохимические процессы непосредственно в клетках.

Гормоны – это биологически активные органические вещества, вырабатываемые в организме определенными клеточными группами или железами и оказывающие регулирующее влияние на процессы обмена веществ и функционирование органов и тканей. Термин «гормон» был введен в 1905 году Старлингом при изучении механизма действия секретина. Слово «гормон» – греческого происхождения и означает поощряю, побуждаю, возбуждаю. Выработка почти всех гормонов происходит в хорошо отграниченных отдельных железах. Поскольку выработанные гормоны выделяются не через выводные протоки, а поступают через клеточную стенку в кровь, лимфу или тканевый сок, эти железы называют железами внутренней секреции или эндокринными железами, а выделение гормонов – внутренней секрецией или инкрецией.

Образование гормонов в клеточных группах происходит в ходе метаболизма и является основной (или одной из основных) их функцией. Если же образующиеся биологически активные вещества являются побочными продуктами жизнедеятельности клеток, специализированных на выполнении каких-либо иных функций, то эти вещества называются паргормонами или гормоноидами.

Гормоны и гормоноиды интегрируют обмен веществ, т.е. регулируют подчиненность и взаимосвязь протекания различных химических реакций в организме, как в едином целом. Само возникновение гормонов и гормоноидов в процессе эволюции живой материи, несомненно, связано с её дифференциацией, с обособлением тканей и органов, деятельность которых должна была

быть тонко скоординирована с тем, чтобы они стали единым организмом. Самая простая форма этой координации заключается в том, что продукты обмена, образующиеся в результате повышенной деятельности одного типа клеток, влияют на деятельность другого рода клеток, усиливая или ослабляя их функции. Продукты обмена, а также гормоны при этом распространяются от клетки к клетке преимущественно путем диффузии. Это и имеет место у простейших организмов. На более высоком уровне развития организмов появляется гормональная регуляция, отличающаяся от упомянутой выше тем, что на этой ступени развития уже дифференцируются такие клетки, специализированная функция которых заключается именно в выработке веществ, служащих для регуляции деятельности других клеток и органов. Эти вещества, получившие название гормонов, транспортируются к регулируемым клеткам и органам преимущественно через кровоток.

На высоком уровне развития органов наряду с гормональной регуляцией, являющейся более древней эволюционно, появляются и координирующая деятельность нервной системы. В ходе развития организмов гормональная и нервная регуляция тесно взаимосвязываются в процессе своей деятельности, но нервная система имеет то преимущество, что характеризуется более точной локализацией действия и может быстрее вызвать необходимые функциональные изменения, чем гормональная. Центральная нервная система, анализируя сигналы, идущие из внутренней или наружной среды, в гораздо большей степени может обеспечивать единство организма, чем гормональная регуляция. Но последняя, присоединяясь к нервной регуляции, имеет для организма то преимущество, что способна воздействовать одновременно на целый ряд различных видов клеток организма и держать под постоянным влиянием соответствующие ткани и органы. По существу, роль эндокринной и нервной систем совпадают, так как их деятельность направлена на обеспечение регулирования и координирования функций организма и сохранение его равновесия (гомеостаза).

Общность нервной и эндокринной систем обуславливается тем, что передача импульсов с нейрона на другой нейрон или на эффектор реализуется через посредство особых биологически активных веществ – медиаторов, а также тем, что некоторым нервным клеткам свойственна нейросекретция, т.е. способность вырабатывать и секретировать продукты метаболизма, обладающие гормональной активностью.

Нейросекреторные клетки совмещают нервную и эндокринную функции, так как способны, с одной стороны, воспринимать нервные импульсы, а с другой стороны – передавать эти импульсы в виде нейрогормонов дальше через кровь. Нейросекреторные клетки у млекопитающих сосредоточены в гипоталамусе, являющемся мозговым центром вегетативных функций организма. При этом одни из нейросекреторных клеток гипоталамуса вырабатывают ней-

рогипофизарные гормоны вазопрессин и окситоцин, которые затем поступают в заднюю долю гипофиза и аккумулируются в ней, выделяясь затем отсюда в кровь. Другие нейросекреторные клетки гипоталамуса продуцируют аденогипофизотропные вещества, так называемые рилизинг-факторы, среди которых различают стимулирующие факторы – либерины и угнетающие факторы – статины, которые активируют или угнетают гормонообразование в передней доле гипофиза. Рилизинг-факторы впервые выделили Гилемин и Шели, установив способность клеток мозга вырабатывать вещества, управляющие работой гипофиза. К числу либеринов относят соматолиберин, кортиколиберин, тиреолиберин, пролактолиберин, фоллилиберин, люлилиберин, а к числу статинов – соматостатин, пролактостатин, меланостатин. Все они являются по химической структуре низкомолекулярными пептидами.

В последние годы из мозга животных выделено более 50 пептидов, получивших название нейропептидов, определяющие в известной степени поведенческие реакции. Показано, что эти вещества влияют на некоторые формы поведения, на процессы обучения и запоминания, регулируют сон, подобно морфину устраняют боль. В качестве примера может быть назван  $\beta$ -эндорфин (обезболивающее действие), скотофобин (вызывает страх перед темнотой) и др. Ряд пептидов, оказывающих фармакологический эффект, получен синтетическим путем (брадикинин, нейрогипофизарный гормон окситоцин, соматостатин и др.). Установлено, что тканевые пептидные гормоны имеют не линейную, а квазициклическую структуру.

Под влиянием рилизинг-факторов в передней доле гипофиза вырабатываются так называемые тропные гормоны, которые активируют деятельность ряда эндокринных желез (щитовидной железы, половых желез, коры надпочечников), непосредственно регулирующих отдельные процессы и функции в организме. Следовательно, если сопоставить функции центральной нервной системы и гормонов, то можно заключить, что роль гормонов по существу состоит в том, что они гуморально передают начальный нервный импульс на конечный эффектор, и, следовательно, гормональная и нервная системы образуют единую систему регуляции жизнедеятельности организма.

При патологических состояниях, вызванных заболеванием эндокринных желез, нейро-гормональная регуляция биохимических процессов оказывается нарушенной, что приводит к резкому понижению способности организма противостоять действию повреждающих факторов. В большинстве случаев эти заболевания есть следствие либо гипофункции эндокринной железы (т.е. недостаточного образования гормона), либо ее гиперфункции (т.е. избыточного выделения гормона). При этом нарушение функции одной эндокринной железы не происходит изолированно, так как отдельные эндокринные железы оказывают своими секретами мощное влияние не только на различные органы и ткани организма, но и на функцию других желез внутренней секреции и на



нервную систему. В этой связи заболевание, вначале вызванное изменением функции той или иной эндокринной железы, в последующем в большинстве случаев отражает нарушение деятельности ряда желез.

Нарушение гормонообразования может обуславливаться не только действием внешних факторов, вызывающих патологическое состояние эндокринных желез, но и эндогенными причинами. К числу этих причин следует отнести: прекращение или искажение активирующих и регулирующих импульсов, посылаемых прямо или опосредованно нервной системой; форму выделения и циркуляции гормона в крови – в доступной или недоступной для эффектора (связывание гормонов белками плазмы крови и пр.); степень реактивности регулируемых систем к гормонам.

В связи с тесной взаимосвязью эндокринной и нервной систем существенное значение для направленного воздействия на функции эндокринных желез приобрели средства, действующие на центральную нервную систему. К примеру, резерпин способен высвобождать катехоламины, являющиеся гормональными веществами, из окончаний симпатических нервов и тем менять функциональное состояние организма.

Большое научное и практическое значение имеют вещества, способные тормозить образование и секрецию гормонов или блокировать их физиологическую активность в эффекторных органах (так называемые антигормональные средства). Это открывает возможность медикаментозной терапии заболеваний, которые возникают вследствие избыточной продукции гормонов. Примером таких веществ являются тиоцианиды, производные тиомочевины, мерказолил, аллоксан, дитизон, хлорпроизводные дифенилэтана, аминоклотиимид, флутаминд, нафоксидин и др., обладающие ингибирующим воздействием на гормоны щитовидной железы, инсулярного аппарата поджелудочной железы, коры надпочечников.

В основе молекулярного механизма действия некоторых антигормонов лежит их конкуренция с гормонами за связывание их цитозольных рецепторов. Антигормоны обладают меньшим сродством к рецепторам, чем истинные гормоны, и поэтому оказывают действие при высоких концентрациях. На этом механизме основано действие природных антигормонов, например, эстрогенов и андрогенов. Эстрагены блокируют андрогенные рецепторы, а андрогены – эстрагонные рецепторы. На этом механизме основано лечебное применение тестостерона и эстрадиола для терапии опухолей половой сферы у лиц противоположного пола. Такие антигормоны используют для лечения гормонозависимых опухолей, при отклонении в половом поведении (например, при гиперсексуальности).

Функциональная активность эндокринной железы находится в равновесии с концентрацией ее гормонов в циркулирующей крови.

Это равновесие обеспечивается разными путями: активирующим влиянием тропного гормона гипофиза на периферическую эндокринную железу и действием гормона последней на тропную функцию гипофиза по принципу обратной связи; угнетающим действием гормонов на железу, их продуцирующую; влиянием выделившихся гормонов на высшие отделы центральной нервной системы и через них на функции эндокринных желез; существованием связи между функцией эндокринной железы и некоторыми продуктами ее метаболизма и т.д.

Деятельность некоторых эндокринных желез специализирована исключительно на продукции гормонов (аденогипофиз, щитовидная железа, околощитовидная железы, кора и мозговая часть надпочечников), тогда как другие эндокринные железы сочетают гормонообразование с неэндокринными функциями (поджелудочная железа, половые железы).

Гормоны отличаются друг от друга видом действия и избирательностью воздействия на тот или иной исполнительный орган. Некоторые гормоны, как, например, гормон щитовидной железы, обладают универсальным действием, другие имеют строго ограниченный диапазон действия: например, гормоны парашитовидной железы действуют преимущественно на костную систему и почки. Особый вид гормонов, вырабатываемых гипофизом, несет регулирующую функцию по отношению к другим эндокринным железам (щитовидной железе, надпочечникам и половым железам). Это различные тропные гормоны гипофиза. Благодаря этому гипофиз занимает особое место в системе эндокринных желез, являясь как бы главной, ведущей эндокринной железой. Ряд гормонов, оказывают непосредственное действие на некоторые основные функции организма (обмен веществ, рост, размножение и др.). Среди последних гормоны щитовидной железы обладают катаболическим действием, тогда как соматотропный гормон передней доли гипофиза, инсулин, андрогены – в основном анаболическим действием.

Гормоны надпочечников (глюкокортикоиды и катехоламины) являются «гормонами адаптации», так как повышают сопротивляемость организма к действию повреждающих факторов. Кроме того, глюкокортикоидам свойственно перmissive действие, состоящее в повышении реактивности эффекторов к действию нервных импульсов и других гормонов, что, поддерживая повышенную работоспособность эффекторных клеток, делает возможной их длительную и напряженную работу.

В регуляции основных жизненных функций участвуют, как правило, несколько гормонов. Так, в регуляции углеводного обмена участвуют инсулин, глюкагон, глюкокортикоиды, соматотропный гормон, адреналин, в регуляции минерального обмена – альдостерон, паратиреоидный гормон и тиреокальцитонин, в регуляции водного обмена – альдостерон и антидиуретический гормон.

### **15.3. Структура, метаболизм и механизм действия гормонов**

Биохимия гормонов включает в себя изучение:

- 1) химической структуры гормонов;
- 2) их метаболизма в организме;
- 3) механизма действия гормонов на организм, т.е. изучение тех биохимических процессов, при посредстве которых осуществляется действие гормонов.

Химическое строение важнейших гормонов в настоящее время выяснено. За последнее десятилетие было выделено в химически чистом виде большое число гормонов, изучено их химическое строение. Многие гормоны получены синтетически.

По химической природе различают стероидные гормоны, пептидные гормоны (иногда их именуют белковыми гормонами), гормоны – производные аминокислот и гормоны – производные жирных кислот (простагландины). Белковые гормоны в свою очередь бывают пептидные и протеидные.

Большие достижения имеются в изучении механизма действия гормонов. Показано, что гормоны участвуют в регуляции, главным образом, следующих процессов в организме: а) обмена веществ, б) морфогенеза, т.е. процесса роста и созревания, формирования конституции организма, в) полового развития и функции воспроизводства, г) защитных функций и процесса адаптации (т.е. приспособления к окружающей среде).

Большинство проявлений гормональной регуляции связано с воздействием их на функцию ферментов и других белков, количество и активность которых в клетках меняются под влиянием гормонов.

Воздействие гормонов на скорость ферментативных реакций может осуществляться посредством их влияния на:

- 1) синтез ферментов (апоферментов и коферментов) в клетке, через изменение деятельности генетического аппарата клетки;
- 2) активность ферментов, в основном, по аллостерическому механизму;
- 3) проницаемость клеточных и субклеточных мембран, что обеспечивает пространственные фермент-субстратные взаимоотношения и возможность влияния на ферментативные реакции ингибиторов, активаторов различной химической природы, субстратов и др. факторов, воздействующих на скорость ферментативных реакций.

Различают две формы гормонального регулирования ферментативной активности: срочную, реализуемую мгновенно и заключающуюся в повышении или понижении активности ферментов, и длительную, или хроническую регуляцию, выражающуюся в ускорении или замедлении синтеза ферментного белка. В последнем случае говорят об индуцирующем (т.е. способствующем)

или репрессирующем (т.е. тормозящем) синтез фермента действия того или иного гормона.

Каждый гормон регулирует биохимические ферментативные процессы в клетках организма, воздействуя на особые приспособления в клетках – рецепторы, благодаря которым клетки могут избирательно взаимодействовать с определенным гормоном. От того, какие именно рецепторы содержит та или иная клетка и зависит, какой гормон сможет оказать на нее свое регулирующее воздействие. К примеру, клетки щитовидной железы содержат рецепторы, чувствительные лишь к тиреотропному гормону гипофиза. В отличие от этого, клетки мышц, печени, жировой ткани содержат несколько типов рецепторов, что обуславливает изменение их активности под влиянием нескольких гормонов. Клетки, содержащие рецепторы для того или иного гормона, называются его клетками-мишенями.

По характеру первичного взаимодействия гормонов с клетками все гормоны можно подразделять, в основном, на две группы:

1) гормоны, пассивно проникающие через клеточные мембраны и затем взаимодействующие с компонентами внутренней среды клетки – рецепторами;

2) гормоны, первичное взаимодействие которых с клеткой происходит на клеточных мембранах, с рецепторами, «встроенными» в клеточную мембрану.

К первой группе, как считают, относятся стероидные гормоны и тироксин, ко второй – белковые и пептидные гормоны, а также катехоламины (категоричность последнего суждения не распространяется на инсулин).

Для первой группы наиболее исследованы рецепторы и механизмы рецепции эстрогенов (женских половых гормонов). Рецепторами эстрогенов служат белки с молекулярной массой 100000-300000, имеющие высокое сродство к гормонам. Эстрогены в силу своей липофильности пассивно проходят через клеточную мембрану и связываются с цитоплазматическим рецептором-белком. Затем комплекс гормон-рецептор претерпевает модификацию, заключающуюся в изменении конформации рецепторного белка, что придает указанному комплексу способность проникать в ядро. В ядре комплекс гормон-рецептор связывается со специфическим для него акцепторным участком ДНК (или, как полагают некоторые исследователи, с негистоновыми белками хроматина) и каким-то путем, механизм которого неясен, оказывает индуцирующее воздействие на гены. В результате ускоряется биосинтез белков, в том числе и ферментных. Допускается, что воздействие комплекса рецептора со стероидными гормонами на биосинтез белков может оказать и репрессирующее воздействие, а также может осуществляться не только в ядре (т.е. на стадии транскрипции в результате воздействия на синтез иРНК, тРНК и рРНК), но и в цитоплазме (на посттранскрипционных этапах).

В отличие от описанного механизма белковые и пептидные гормоны, а также катехоламины взаимодействуют с белками-рецепторами, находящимися не внутри клетки, а на клеточной мембране. Основную часть рецептора составляют мембранные белки. Полагают, что частью такого рецептора или тесно с ним связанным может быть фермент аденилатциклаза, встроенный в мембраны клеток многих тканей. В настоящее время наиболее принята трехкомпонентная структура фермента аденилатциклазы, включающая регуляторную (или узнающую – R-часть), каталитическую (C-часть) и сопрягающую (T-часть или субъединица, сцепщик или транслятор). Регуляторная R-часть (субъединица) находится на наружной стороне цитоплазматической мембраны и является составной частью мембранного гормонального рецептора. На внутренней стороне мембраны расположена каталитическая часть аденилатциклазы, являющейся собственно ферментным белком, превращающим АТФ в циклическую АМФ (ц-АМФ). Сопрягающая часть аденилатциклазы занимает промежуточное положение в липидном слое мембраны и представлена особым белком – Г-белком, поскольку этот белок в неактивной форме связан с ГДФ. Как только образовавшийся комплекс гормон-рецептор взаимодействует с Г-белком, ГДФ замещается на ГТФ и комплекс Г-белок-ГТФ выступает в качестве аллостерического активатора каталитической части аденилатциклазы. При диссоциации комплекса гормон-рецептор в Г-белке ГТФ замещается на ГДФ и комплекс Г-белок-ГДФ становится неактивным.

Активированная аденилатциклаза катализирует повышенное образование из АТФ циклической АМФ, которая выступает в качестве эффектора для ряда внутриклеточных ферментных систем, т.е. служит как бы посредником действия гормона (вторичным мессенджером).

Циклический 3',5'-АМФ образуется из АТФ под влиянием аденилатциклазы, а инактивируется фосфодиэстеразой путем гидролиза с образованием 5'-АМФ. Гормоны, влияя на активность аденилатциклазы и фосфодиэстеразы по принципу аллостерических эффекторов, тем самым способны увеличивать или уменьшать образование в клетках циклического 3',5'-АМФ.

Действие циклического АМФ в качестве эффектора ферментов заключается в основном в активации протеинкиназ. При повышении уровня циклической АМФ до некоторого предела происходит диссоциация 3',5'-АМФ-зависимой протеинкиназы на субъединицы. Появление свободной активной каталитической субъединицы протеинкиназы обуславливает фосфорилирование за счет АТФ ряда функционально важных белков (в том числе ферментов), а вслед за этим и изменение физиологической активности клетки. Фосфорилирование белков, в частности, гистонов и кислых белков хроматина, является важным звеном регулирования биосинтеза белков на стадии транскрипции. Фосфорилирование рибосомных белков является одним из путей регуляции биосинтеза белков на уровне трансляции, фосфорилирование ряда внутрикле-

точных ферментов является важным механизмом регулирования их активности. В частности, фосфорилирование фосфорилазы и триглицеридлипазы активирует ферменты, что влечет за собой усиление гликогенолиза и липолиза в организме, тогда как фосфорилирование гликогенсинтетазы – ингибирует ее активность. Поскольку реакции в клетке обратимы, уменьшение концентрации первичного эффе́ктора (т.е. гормона) во внеклеточном пространстве приводит к возвращению активности аденилатциклазы к норме. Это снижает уровень 3',5'-АМФ и он уже будет недостаточен для активации протеинкиназы. В результате происходит реассоциация протеинкиназы и скорость фосфорилирования специфических белков оказывается ниже скорости их дефосфорилирования (процесса, катализируемого одновременно другой группой ферментов – протеинфосфатазами), что обеспечивает возврат клетки к исходному физиологическому состоянию. Такая обратимость процесса, управляемого двумя группами ферментов (ферментами инициации – аденилатциклазой и протеинкиназой, с одной стороны, и ферментами терминации – фосфодиэстеразой и протеинфосфатазой, с другой) и обуславливает возможность многократного реагирования клетки на гормоны и другие эффе́кторы.

Описанный механизм действия прослежен для АКТГ, адреналина, глюкогона и др. гормонов.

Действие гормонов может, как уже говорилось, вызывать не только увеличение, но и снижение содержания циклической АМФ в тканях. Представителем таких гормонов является инсулин. Взаимодействие инсулина с его рецептором, расположенным на наружной поверхности клетки, приводит к повышению проницаемости клеточных мембран для глюкозы, аминокислот и некоторых ионов, в частности –  $\text{Ca}^{++}$ . Ионы кальция увеличивают активность растворенной в цитозоле гуанилатциклазы и синтез ц-ГМФ. Одновременно ионы кальция активируют фосфодиэстеразу, катализирующую гидролиз ц-АМФ, что приводит к падению её уровня в клетке. Всё это имеет следствием торможение гликогенолиза и липолиза, усиление гликогенеза, липогенеза и синтеза белка.

В последующие годы появились данные, свидетельствующие о возможности участия циклической АМФ в реализации влияния стероидных гормонов. Таким образом, циклическая 3',5'-АМФ оказывается как бы внутриклеточным медиатором, который обеспечивает передачу влияния различных гормонов на внутриклеточные ферменты. Установлена возможность участия в реализации действия гормонов и других циклических нуклеотидов, в частности, циклического гуанозинмонофосфата, действие которого на внутриклеточные ферменты подчас противоположно влиянию ц-АМФ. Получены также данные об участии в механизме действия гормонов ионов кальция, как их внутриклеточных посредников. Ионы кальция взаимодействуют с Са-связывающим белком (калмодулином) и этот комплекс модулирует активность чувствительных к

нему ферментов, что ведет к изменению функции клетки. Установлено в качестве посредника участие также 2',5'-олигоаденилата. Все эти посредники (ц-АМФ, ц-ГМФ,  $\text{Ca}^{++}$ , калмодулин, 2',5'-олигоаденилат) получили название вторичных мессенджеров клетки. В последние годы появились указания на участие в качестве вторичных посредников в клетке таких соединений как окись азота (NO), образуемой из аргинина, диацилглицерин и инозитолтрифосфат, образующийся из фосфоинозитидов.

На механизме действия гормонов могут, по-видимому, сказываться многие факторы. Однако в конечном итоге, все гормоны вызывают в клетке одни и те же процессы. В клетке разворачивается целый многоступенчатый каскад описанных виде процессов, первоначальным толчком к которому служит взаимодействие гормона с его рецептором. Специфичность действия гормонов обуславливается тем, что хотя процессы, запускаемые гормонами, одинаковы во всех клетках, сами клетки различны.

Каждый тип клеток содержит различные рецепторы и характерный для клетки набор специфических ферментов, обеспечивающих специализацию этих клеток и характер конечной реакции на воздействие гормонов.

Гормоны, поступившие из клеток, их синтезировавших, в кровь и далее – в органы-эффекторы, включаются в метаболизм. В процессе обмена веществ гормоны подвергаются различным превращениям: связыванию высокомолекулярными и низкомолекулярными соединениями, окислению и восстановлению, метилированию и деметилированию и т.д. Все эти процессы происходят под влиянием определенных ферментов. Окислительные ферменты участвуют в окислении кортикостероидов, катехоламинов (адреналина, норадреналина и др.), инсулина и др. Белковые гормоны (инсулин, глюкагон, гормоны гипофиза и др.) могут подвергаться протеолизу под влиянием тканевых протеаз и пептидаз. Образование парных соединений гормонов с глюкуроновой кислотой происходит с помощью активного комплекса глюкуроновой кислоты с нуклеотидами (УДФГК). Все эти превращения приводят в конечном итоге к инактивированию гормонов. В то же время продукты метаболизма некоторых гормонов обладают биологической активностью, как правило, иной, чем биологическая активность исходного гормона. Этот эффект особенно отчетливо проявляется при метаболизме адреналина и норадреналина. При превращении их по хиноидному пути возникают дегидроадреналин, адренохром и адренолютин, которые, теряя способность оказывать прессорное, гипергликемическое и гликогенолитическое действие, присущее адреналину и норадреналину, приобретают способность влиять на ферменты тканевого дыхания.

В некоторых случаях биологическую активность обнаруживают не только продукты метаболизма гормонов, но и промежуточные соединения на стадии их биосинтеза. Это особенно выражено в процессе стероидогенеза в коре надпочечников.

### **15.4. Классификация и характеристики групп гормонов**

В настоящее время известно несколько десятков гормонов и гормоноидов (более 60-ти). Хотя химическая природа большинства их выяснена, и, следовательно, каждому из них можно дать химическое наименование, предпочитают пользоваться тривиальными названиями гормонов. Это связано, прежде всего, с тем, что химическая номенклатура многих гормонов необычайно громоздка и сложна. Тривиальное же название гормона, как правило, отражает либо функцию, либо происхождение гормона и для биологов вполне приемлемо.

Такое же двойственное положение существует и в отношении классификации гормонов. Существуют различные классификации гормонов. Классификация по биологическим функциям, регулируемым гормонами, предусматривает следующие группы гормонов:

- 1) регулирующие обмен углеводов, жиров, аминокислот (инсулин, глюкагон, адреналин, глюкокортикоиды);
- 2) регулирующие водно-солевой обмен (минералокортикостероиды, антидиуретический);
- 3) регулирующие обмен кальция и фосфата (паратгормон, кальцитонин);
- 4) регулирующие репродуктивные функции (эстрадиол, прогестерон, тестостерон);
- 5) регулирующие функции эндокринных желез (кортикотропин, тиреотропин, гонадотропин).

Давно сложилась и широко применяется классификация, основанная на происхождении гормонов. Согласно этой классификации, гормоны объединяют в группы, каждая из которых получает название по имени эндокринной железы, где данная группа гормонов синтезируется. Различают в соответствии с этой классификацией следующие группы гормонов:

- 1) Тиреоидные гормоны, образующиеся в щитовидной железе: тироксин, трийодтиронин и др.
- 2) Паратиреоидный гормон, возникающий в околощитовидных железах: паратгормон.
- 3) Адренальные гормоны, синтезирующиеся в надпочечных железах: адреналин, кортикостерон, гидрокортизон, альдостерон и др.
- 4) Пankреатические гормоны, образующиеся в поджелудочной железе: инсулин, глюкагон.
- 5) Половые гормоны, продуцирующиеся в семенниках (тестикулярные – тестостерон и др) и продуцирующиеся в яичниках (овариальные – эстрадиол и др.).
- 6) Гипофизарные гормоны, вырабатываемые в гипофизе (питуитарные гормоны): окситоцин, вазопрессин, соматотропин, адренокортико-тропин, ти-



реотропин, гонадотропины (лактогенный, фолликуло-стимулирующий и др.), меланоцитостимулирующий гормон и др.).

7) Гормоны (точнее – гормоноиды) органов пищеварения, секретируемые слизистой оболочкой желудка и кишечника: гастрин, секретин и др.).

8) Гормоны эпифиза (мелатонин, адреноглюмерутропин).

9) Гормоны тимуса (тимозин).

10. Гормоны плаценты.

В последние годы выяснилось, что биосинтез некоторых гормонов не столь абсолютно локализован в эндокринных железах, как думалось ранее. В частности, половые гормоны выделены из надпочечников, а некоторые гормоны пептидной природы образуются в результате гидролиза полипептидов – предшественников не только в железистых клетках эндокринных желез, но и вне их. Показано, что механизм действия гормонов одной и той же химической природы (например, пептидных гормонов, стероидных гормонов и т.п.) независимо от места их биосинтеза сходен. В этой связи предложена химическая классификация гормонов. Согласно этой классификации различают 4 группы гормонов:

**1. Стероидные гормоны.** К этой группе принадлежат гормоны, являющиеся производными стероидов. Они синтезируются в надпочечниках, в семенниках, яичниках и некоторых других органах и тканях (печени, плаценте и т.п.). Важнейшими из них являются кортикостерон, гидрокортизон, кортизон, 11-дезоксикортикостерон, альдостерон, тестостерон, эстрадиол, прогестерон.

**2. Пептидные гормоны.** Сюда входят все гормоны, химическая структура которых представлена полипептидами той или иной молекулярной массы. Местом их биосинтеза служат околощитовидные железы, щитовидная железа, поджелудочная железа, гипофиз и слизистая оболочка органов пищеварения. Их представителями являются паратиреоидный гормон, тиреокальцитонин, инсулин, глюкагон, окситоцин, вазопрессин, соматотропный гормон, аденокортикотропин, тиреотропин, гонадотропные гормоны, меланоцитостимулирующий гормон, гастрин, секретин, панкреозимин, холецистокинин, энтерогастрон, вилликинин.

**3. Гормоны – производные аминокислот.** К ним относят гормоны, не являющиеся стероидами или полипептидами, а представляющие по своему строению производные аминокислоты тирозина. Биосинтез их осуществляется, в основном, в щитовидной железе и мозговом веществе надпочечников. Примерами гормонов этого типа являются тироксин, трийодтиронин, адреналин, норадреналин.

**4. Гормоны – производные жирных кислот.** Эти гормоны, получившие название простагландинов, представляют собой ненасыщенные жирные кислоты. В небольших количествах простагландины обнаружены во многих ор-

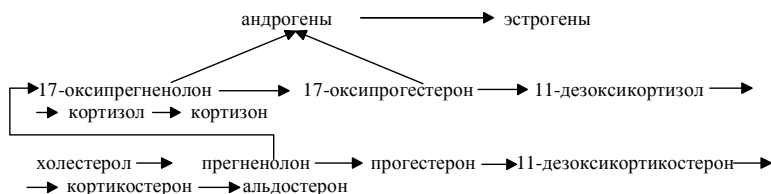
ганах и тканях, что заставляет их рассматривать скорее как гормоноиды, а не гормоны. Функция их изучена недостаточно.

Рассмотрим отдельные гормоны в соответствии с их химической классификацией и учетом их происхождения.

### 15.4.1. Стероидные гормоны

К стероидным гормонам, как уже говорилось, относятся гормоны, являющиеся производными стероидов. Стероиды в свою очередь представляют собой производные полициклических спиртов – стеролов, у которых окислена боковая цепь. Стероидные гормоны, в основном, синтезируются в коре надпочечников и половых железах (семенниках и яичниках). Биосинтез гормонов коры надпочечников (кортикоостероидов) происходит из исходного продукта – холестерина.

Согласно работам Н.А. Юдаева и сотрудников схема кортико-стероидогенеза может быть представлена в следующем виде:



Биосинтез кортикостероидов катализируется специфическими гидроксилазами и дегидрогеназами с использованием большого количества НАДФ.Н<sub>2</sub>.

Образовавшиеся кортикостероиды выделяются в кровь, где большая их часть связывается с белками плазмы. Специфически связывающим кортикостероиды белком плазмы крови является гликопротеид транскортин, относящийся к альфа-1-глобулинам плазмы. Биологической эффективностью обладает только свободная фракция гормонов. Таким образом, комплексобразующие белки обеспечивают транспорт, резервирование и своеобразную регуляцию активности кортикостероидов. Выделение кортикостероидов в течение суток контролируется аденокортикотропным гормоном гипофиза (АКТГ).

Из коры надпочечников удалось выделить более сорока различных стероидов, которые получили общее название «кортикостероиды». Все они имеют в основе тетрациклическую структуру циклопентанопергидрофенантрена. Восемь из них обладают биологической активностью и являются стероидными гормонами коры надпочечников. Общее сходство этих активных кортикостероидов состоит в том, что они имеют в кольце А двойную связь у 4-5 углеродных атомов и кетогруппу у 3-го углеродного атома.

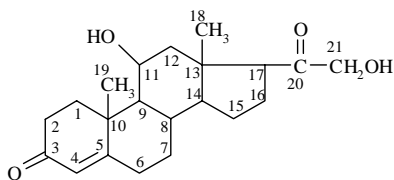
Наибольшее распространение и значение в организме имеют кортикостерон, 17-оксикортикостерон (гидрокортизон, кортизол), альдостерон, кортизон (17-окси-11-дегидрокортикостерон) и 11-дезоксикортикостерон. В сумме они составляют более 4/5 всех кортикостероидов коры надпочечников.

В зависимости от основной направленности действия кортикостероидов на обмен веществ стали различать:

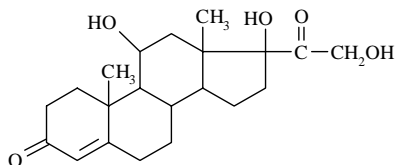
- 1) глюкокортикоиды (кортикостерон, кортизон, гидрокортизон – преимущественно влияющие на углеводный обмен);
- 2) минералкортикоиды (альдостерон, 11-дезоксикортикостерон – преимущественно влияющие на минеральный обмен).

Однако это деление кортикостероидов несколько условно. Это видно из следующей характеристики каждого из названных кортикостероидов.

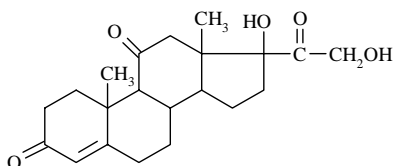
Кортикостерон – кристаллическое соединение, оптически активное. В норме в надпочечниках человека в течение суток образуется 0,84-4,0 мг кортикостерона. При недостаточном поступлении кортикостерона наступают нарушения в обмене углеводов, белков, липидов и минеральных элементов: сокращаются запасы гликогена в мышцах и печени, падает содержание глюкозы в крови, усиливается распад белков до аминокислот, растёт содержание остаточного азота в крови, усиливается распад липидов, нарушается нормальная экскреция и обратное всасывание ионов натрия в канальцах почек, происходит потеря с мочой натрия, бикарбонатов, хлора, воды. Всё это приводит к сердечной недостаточности, развитию отёков, мышечной слабости, развитию пигментации («бронзовая» или аддисонова болезнь) и другим патологическим явлениям.



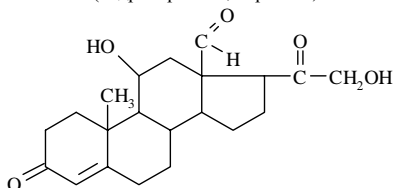
кортикостерон



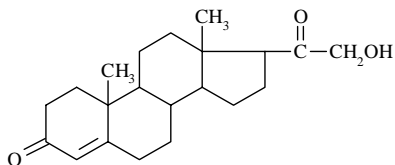
17-оксикортикостерон  
(гидрокортизон, кортизол)



17-окси-11-дегидрокортикостерон  
(кортизон)



альдостерон



11-дезоксикортикостерон

При избытке кортикостерона резко усиливаются анаболические процессы, что тоже приводит к ряду отклонений от нормы.

17-оксикортикостерон (кортизол или гидрокортизон) – кристаллическое соединение, оптически активное. В течение суток в надпочечниках синтезируется от 4,9 до 27,9 мг кортизола. При дефиците этого гормона развиваются те же нарушения обмена веществ, что и при недостаточности кортикостерона, за исключением обмена минеральных элементов, на который кортизол оказывает незначительное влияние. Наиболее резко при этом выражено нарушение обмена углеводов, вследствие чего кортизол является типичным глюкокортикоидом. Кортизол участвует в механизме поддержания артериального давления и способствует уменьшению воспалительной реакции, оказывает десенсибилизирующее и иммунодепрессивное действие. При недостаточной его продукции нарушаются все эти процессы.

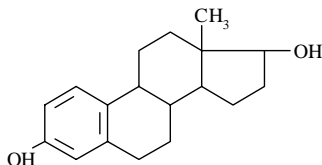
При повышенной продукции кортизола резко усиливается глюконеогенез (превращение аминокислот в углеводы), возрастает синтез гликогена и жиров, повышается содержание глюкозы в крови, что получило название «стероидный диабет». Всё это ведёт к ожирению туловища, тогда как мышцы атрофируются, скелет становится хрупким, а конечности – худыми (синдром Кушинга). Часто развивается гипокалиемия, гипохлоремия и соответственно – обменный алкалоз, а также гипертония.

Альдостерон – также кристаллическое вещество, оптически активное. В надпочечниках за сутки образуется 0,15-0,4 мг альдостерона. На его долю приходится всего 1-2% суммы кортикостероидов, тогда как на долю кортистерона и кортизола – 75%. При недостаточности альдостерона развивается пигментация покровов – «бронзовая болезнь». Однако особенно характерно при этом резкое нарушение минерального обмена: падение обратного всасывания ионов натрия в почечных канальцах и, как следствие этого, усиление задержки в организме ионов калия. Одновременно с натрием идет потеря с мочой бикарбонатов, хлора и воды. Поэтому альдостерон считают типичным минерало-кортикостероидом. Его способность повышать обратное всасывание ионов натрия в канальцах почек в 300 раз выше, чем у кортизола, являющегося типичным глюкокортикостероидом. В то же время альдостерон не оказывает почти никакого влияния на обмен углеводов.

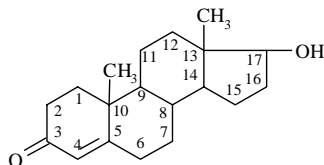
При повышенной продукции альдостерона развивается снижение уровня калия и повышение уровня натрия в плазме крови, гипертония и мышечная слабость.

К числу стероидных гормонов принадлежат также половые гормоны. В мужских и женских половых железах, а также в надпочечниках синтезируются 10 стероидов, обладающих свойствами половых гормонов: андрогены, т.е. мужские половые гормоны (андростерон, дегидроандростерон, тестостерон) и эстрогены, т.е. женские половые гормоны (эстрадиол, эстрон, эстриол), в том числе гестагены, т.е. гормоны желтого тела (прегнандиол, прогестерон).

Важнейшее значение из них имеют тестостерон (мужской половой гормон) и эстрадиол (женский половой гормон).



эстрадиол

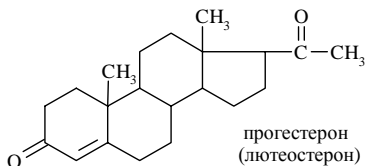


тестостерон

Тестостерон – кристаллическое соединение, оптически активное. Синтезируется в семенниках в количестве 5-7 мг в сутки. Он обуславливает нормальный рост мужских половых органов и развитие вторичных половых признаков у мужчин. При недостатке тестостерона у взрослых особей снижается биосинтез белков, развивается ожирение, утрачивается волосяной покров. Тестостерон является анаболическим стероидом, увеличивающим задержку азота в организме и усиливающим интенсивность новообразования белков. Одновременно усиливает процессы катаболизма углеводов и липидов.

Женским половым гормоном является эстрадиол. Он синтезируется в женских половых железах – яичниках в количестве 1 мг в сутки. Эстрадиол представляет из себя кристаллическое соединение, оптически активное. У развивающегося организма эстрадиол обеспечивает развитие женских половых органов и вторичных половых признаков. При недостаточности эстрадиола у взрослых нарушаются циклы менструации, происходят самопроизвольные выкидыши, развивается ожирение. Эстрадиол оказывает влияние на обмен углеводов, белков и нуклеиновых кислот, активирует ряд ферментов лимоннокислого цикла. Он обладает также анаболическим действием, но более слабым, чем андрогены, в основном, усиливает процессы катаболизма углеводов и липидов.

К числу женских половых гормонов относится и гормон желтого тела яичника, называемый лютеостероном или прогестероном. Этот гормон образуется во второй половине менструального цикла и в особенно больших количествах – во время беременности. Он необходим как для подготовки слизистой матки для закрепления в ней оплодотворенного яйца (в силу своей способности воздействовать на систему гиалуронидаза-гиалуроновая кислота), так и для развития эмбриона в первой половине беременности. Прогестерон обеспечивает доразвитие молочных желез и торможение очередного полового цикла.



Влияние стероидных гормонов осуществляется на многочисленные и разнообразные процессы. Это связано с тем, что стероидные гормоны контролируют ряд фундаментальных процессов организма. Во-первых, эти гормоны влияют на проницаемость оболочек клеток и, особенно, на проницаемость внутриклеточных мембран, в частности, митохондрий. Это связано с тем, что стероидные гормоны обладают большой степенью сродства к фосфолипидной составляющей липопротеидов, формирующих основу мембран. В результате

этого под влиянием стероидных гормонов меняется проницаемость мембран для макромолекул и метаболитов, что в свою очередь, приводит к разнообразным последствиям в течение обмена веществ. Во-вторых, стероидные гормоны принимают непосредственное участие в функционировании ансамблей окислительно-восстановительных ферментов, связанных с окислительным фосфорилированием. Так как последнее определяет уровень биосинтеза макроэргических соединений (АТФ и др.), за счет высвобождения энергии которых идут процессы синтеза в организме, вполне понятно, что стероидные гормоны тем самым стимулируют значительное число анаболических процессов.

В третьих, стероидные гормоны влияют на новообразование информационных РНК и одновременно инактивируют макромолекулы, тормозящие биосинтез и-РНК в клетке. Всё это ведет к увеличению в клетке и-РНК. Поскольку и-РНК является матрицей для биосинтеза разнообразных белков-ферментов, то это обуславливает усиление тех или иных биохимических процессов. Имеются также данные о том, что стероидные гормоны, помимо т-РНК, индуцируют синтез транспортной и рибосомальной РНК и тем оказывают влияние на образование полисом и передачу аминокислотных остатков с аминоацил-т-РНК на растущий конец полипептидной цепи в процессе белкового синтеза. По некоторым данным, влияние стероидных гормонов на РНК осуществляется через взаимодействие гормонов с ДНК, которая обладает значительным сродством к гидрофобным стероидам.

#### 15.4.2. Пептидные гормоны

Значительная часть гормонов относится к группе пептидных гормонов. Сейчас известно более 20 природных пептидных гормонов. Большинство из них получены в очищенном виде, изучен их аминокислотный состав, выяснена их первичная, вторичная, третичная и четвертичная структура и некоторые получены синтетически (примером может служить инсулин, окситоцин, вазопрессин и другие).

Местом образования пептидных гормонов служат околощитовидные железы, щитовидная железа, поджелудочная железа, гипофиз и слизистая оболочка органов пищеварения.

Как правило, пептидные гормоны возникают путем фрагментации при посредстве ферментов (пептидпептидогидролаз) из высокомолекулярных предшественников.

К примеру, меланоцитостимулирующий гормон овцы может быть получен при действии пепсина на адренкортикотропный гормон (АКТГ) путем отщепления от последнего пептидного фрагмента. Полагают, что в организме оба гормона образуются от общего предшественника.

В механизме действия пептидных гормонов много общего с таковым стероидных гормонов, поскольку и здесь затрагиваются фундаментальные свойства и процессы живого организма. Пептидные гормоны контролируют процессы передачи генетической информации при биосинтезе белков путем регуляции транскрипции (биосинтеза рибонуклеиновых кислот), выступают в качестве аллостерических активаторов и ингибиторов ферментов и, наконец, изменяют проницаемость клеточных оболочек (мембран). Рассмотрим наиболее важные пептидные гормоны.

В парашитовидной железе синтезируются паратгормон (паратиреоидный гормон, паратиреокальцитонин) – белок,  $M=9000$ , состоящий из 84 аминокислотных остатков. Первичная структура паратгормона выяснена в 1965 году Поттсом, Аурбахом и Шервудом.

Удаление четырех С-концевых аминокислот не сказывается сколько-нибудь заметно на биологической активности гормона, тогда как следующие аминокислотные остатки очень важны для осуществления гормональной функции. Полагают, что паратгормон принимает участие в регуляции транспорта ионов через мембраны путем воздействия на энергетические механизмы в митохондриях.

Паратгормон регулирует содержание кальция и анионов фосфорной и лимонной кислот в крови. При длительном дефиците солей кальция в пище или при нарушении их всасывания в кишечнике содержание кальция в крови понижается. Это ведет к повышению синтеза и выделения парашитовидными железами паратгормона, который мобилизует соли кальция (в виде цитратов и фосфатов) из костной ткани. Кроме того, поддержание нормального содержания кальция в крови достигается усиленной под влиянием действия паратгормона экскрецией фосфатов почками, в результате чего замедляется отложение фосфата кальция в костях.

Такое поддержание на одном уровне концентрации кальция крови имеет важное значение для нормальной жизнедеятельности организма. Резкое снижение содержания кальция в крови и повышение в ней фосфатов в результате ослабления или выпадения гормональной деятельности парашитовидных желез ведет к повышению нервно-мышечной возбудимости, появлению судорог (тетании) и гибели организма.

В щитовидной железе продуцируется гормон тиреокальцитонин (кальцитонин), являющийся пептидом с  $M=3600$ . Этот гормон является антагонистом паратиреоидного гормона и понижает уровень кальция и фосфата в крови. Он угнетает деминерализацию костей, с чем связан его гипокальцимирующий эффект.

Важными полипептидными гормонами поджелудочной железы являются инсулин и глюкагон.



Глюкагон синтезируется в альфа-клетках островной части поджелудочной железы. Глюкагон – пептид,  $M=4200$ , состоящий из 29 аминокислотных остатков. В 1953 году Штрауб получил глюкагон в виде гомогенного кристаллического препарата, а несколько позже была выяснена его первичная структура. Глюкагон подобно адреналину способствует превращению неактивной формы фосфоорилазы печени в активную за счет ускорения соединения двух неактивных молекул фосфоорилазы В и фосфорилирования в активный мультимер – фосфоорилазу А. Процесс этот оказался сравнительно сложным, фосфорилирование фосфоорилазы осуществляется ферментом – киназой фосфоорилазы, которая, в свою очередь, может находиться в клетке в неактивной, дефосфорилированной форме. Перевод киназы из неактивного состояния в активное, т.е. фосфорилированную форму, осуществляется еще одним ферментом, так называемой цикло-АМФ-зависимой протеинкиназой, которая активируется цикло-АМФ. Образование цикло-АМФ активируется в свою очередь аденилатциклазой из АТФ, а образование активной аденилатциклазы индуцируется гормоном глюкагоном. В результате такого каскада реакций с использованием АТФ в качестве донора фосфатной группировки происходит быстрое включение механизма расщепления гликогена, причем, на каждой стадии данного каскада ферментативных реакций происходит почти 100-кратное усиление сигнала.

Под действием фосфоорилазы А усиливается распад гликогена в печени и возрастает содержание глюкозы в крови в виде глюкозо-1-фосфата, т.е. усиливаются процессы гликогенолиза.

В бета-клетках поджелудочной железы синтезируется другой гормон – инсулин. Установлено, что вначале инсулин синтезируется в форме одной полипептидной цепи, состоящей из 84 аминокислотных остатков и получившей название проинсулина. Проинсулин биологически неактивен. Лишь в результате последующего разрыва в двух точках проинсулина из него образуется активный инсулин. В сутки синтезируется у человека около 2 мг инсулина.

Инсулин через воротную вену поступает в печень, где частично инактивируется и связывается с белками. Свободный и связанный инсулин далее поступает в кровь. Свободный инсулин поступает в ткани, где проявляет специфическое действие и метаболизируется.

Инсулин – белок, причем первый белок, первичная структура которого выяснена Санжером. Он же первый белок, полученный химическим синтезом. В настоящее время он получен и методом генной инженерии. Лабораторный синтез инсулина осуществлен и в нашей стране, что открывает в перспективе возможность терапевтического использования при сахарном диабете препаратов искусственно синтезированного инсулина.

Молекулярная масса кристаллического инсулина равна 36 тыс. Его молекула представляет собой мультимер, составленный из трех промоторов с  $M=12$  тыс. каждый и двух атомов цинка. Последние, вероятно, способствуют агрега-

цепь В      NH<sub>2</sub>—фенилаланин ————— аланин —COOH  
                              |                              |  
                              S                              S  
                              |                              |  
цепь А      NH<sub>2</sub>—глицин ————— аспарагиновая кислота —COOH

При дефиците инсулина развивается характерное заболевание, получившее название сахарный диабет. При этом заболевании недостаточность инсулина связана с недостаточной его продукцией  $\beta$ -клетками островков Лангерганса поджелудочной железы, либо нарушением действия инсулина на периферии, в тканях. Сахарный диабет характеризуется повышенным содержанием глюкозы в крови (гипергликемия) и появлением ее в моче (глюкозурия), что прежде всего обусловлено резким снижением активности гексокиназы и глюкокиназы, и повышением активности глюкозо-6-фосфатазы. Одновременно развиваются вторичные явления: понижение содержания гликогена в мышцах, замедление биосинтеза пептидов, белков и жиров, нарушение минерального обмена. Введение инсулина вызывает противоположный эффект: понижение содержания глюкозы в крови, повышение синтеза гликогена, усиление анаболических процессов (усиление синтеза белка), нормализацию минерального обмена. Инсулин оказывает свое влияние на все виды обмена веществ, воздействуя тем или иным путем на соответствующие ферменты: активирует глюкокиназу и гексокиназу (в результате образуется глюкозо-6-фосфат), активирует гликоген-синтазу (что ведет к образованию гликогена), активирует ферменты биосинтеза жира и белков, подавляет активность ферментов глюконеогенеза. Считают, что все эти явления в значительной мере определяются усилением под воздействием инсулина проницаемости клеточных оболочек и внутриклеточных мембран за счет систем активного транспорта ( $K^+/Na^+$ -насос) для глюкозы, аминокислот, жирных кислот, фосфора, калия, кальция. Повышая уровень проникновения глюкозы внутрь клетки, инсулин усиливает возможности ее использования в тех или иных тканях. Таким образом, инсулин уси-

ливают обмен углеводов, ускоряя, с одной стороны, превращение глюкозы до конечных продуктов, а с другой стороны – образование из глюкозы гликогена. Эффекты инсулина на внутриклеточный метаболизм реализуется также через внутриклеточных посредников. Инсулин облегчает транспорт внутрь клетки ионов кальция, что увеличивает активность гуанилатциклазы и синтез ц-ГМФ. Напротив, ионы кальция снижают содержание ц-АМФ, активируя фосфодиэстеразу, которая расщепляет ц-АМФ. Последнее приводит к торможению гликогенолиза, глюконеогенеза, липолиза и угнетает образование кетоновых тел.

В группу пептидных гормонов входят также гормоны гипофиза. Интимная связь гипофиза с мозгом, особенно с гипоталамусом, гормональное воздействие этой железы на деятельность других эндокринных желез ставят гипофиз в особое положение, так сказать, в положение «эндокринного мозга». Гипофиз является важным связывающим звеном в регуляции деятельности организма между внутрисекреторными железами в целом и центральной нервной системой. Показано, что различные тропные функции гипофиза (т.е. связанные с регуляцией отдельных эндокринных желез) регулируются определенными областями гипоталамуса с помощью релизинг-факторов.

Многообразная гормональная деятельность гипофиза, обеспечивается выработкой многочисленных гормонов в трех долях гипофиза: тиреотропного гормона, адренокортикотропного гормона, соматотропного гормона и гонадотропного гормонов в передней доле (аденогипофизе), окситоцина и вазопрессина в задней доле (нейрогипофизе) и меланоцитостимулирующего гормона в средней доле гипофиза.

Все гормоны гипофиза представляют собой вещества белковой или пептидной природы. Структура многих из них уже выяснена, а некоторые получены синтетическим путем.

Рассмотрим гормоны передней доли гипофиза.

Гормон роста соматотропин или соматотропный гормон, СТГ – белок, в 1948 году получен в кристаллическом состоянии. В зависимости от вида животных молекулярный вес кристаллического препарата колеблется от 25 тыс. до 46 тыс.

Соматотропный гормон человека имеет  $M=27$  тыс. и представлен одной полипептидной цепочкой, состоящей из 188-190 аминокислотных остатков.

Соматотропный гормон обладает ярко выраженным анаболическим действием и влияет на все клетки организма, повышая в них уровень биосинтетических процессов. Он усиливает биосинтез белков, ДНК, РНК, гликогена. Одновременно способствует мобилизации жиров из жировых депо и ускоряет распад высших жирных кислот и глюкозы.

Соматотропный гормон нормализует минеральный и водный обмен организма. Полагают, что ведущим в действии соматотропина является его способность усиливать синтез в ядрах клеток предшественников информационной

и рибосомальной РНК, стимулировать деятельность РНК-полимераз и полирибосомального аппарата клетки. Одновременно имеет место влияние СТГ на проницаемость клеточных мембран, что ведет к увеличению внутриклеточного фонда аминокислот и, следовательно, способствует новообразованию белков.

Описанный характер влияния СТГ на обмен веществ связан с активированием аденилатциклазы и образованием ц-АМФ. Анаболическое действие СТГ обуславливает его регулирующее влияние на рост и вес тела. Показано, что СТГ может оказывать также опосредованное влияние на периферические ткани путем образования рострегулирующих пептидов, названных соматомединами.

При патологии передней доли гипофиза у людей среднего возраста возникают различные заболевания. При разрастании ацидофильных клеток аденогипофиза, вырабатывающих повышенное количество СТГ, у взрослых развивается болезнь, называемая акромегалией, которая выражается, главным образом, в непропорциональном росте костей лица, кистей рук и стоп ног и увеличением размеров внутренних органов. При нарушении секреции СТГ в детском возрасте возникает либо задержка роста, либо чрезмерный рост (гигантизм).

Тиреотропин (тиреотропный гормон, ТТГ) – гормон, также вырабатываемый передней долей гипофиза. Это – белок, гликопротеид с  $M=80$  тыс. и содержащий 200-300 аминокислотных остатков.

При недостатке тиреотропина (гипофункция гипофиза) ослабляется деятельность щитовидной железы, она уменьшается в размерах, а содержание в крови выделяемого ею гормона – тироксина – резко сокращается. При избытке тиреотропина в клетках щитовидной железы усиливается синтез РНК (транскрипция), повышается секреция гормонов щитовидной железы, усиливается поглощение ею йода, идущего для синтеза этих гормонов, усиливается поглощение кислорода, возрастает окисление глюкозы, активируется обмен фосфолипидов. Предполагают, что механизм действия тиреотропина связан не только с воздействием на генетический аппарат клеток, но и с повышением проницаемости оболочек клеток щитовидной железы, что приводит к ускорению обменных процессов в ней, в том числе и биосинтеза гормонов.

Адренорекортикотропный гормон (кортикотропин, АКТГ), вырабатываемый передней долей гипофиза, представляет собой 39-членный пептид с  $M=45000$ . Имеется видовая специфичность АКТГ. В настоящее время получен синтетический АКТГ, состоящий из 19 и 24 аминокислотных остатков. Основная роль АКТГ сводится к регуляции биосинтеза кортикостероидов (главным образом – глюкокортикоидов) надпочечными железами, причем имеется обратная регуляторная связь образования АКТГ от количества циркулирующих кортикостероидов.

Полагают, что АКТГ стимулирует биосинтез быстро обмениваемого белка, являющегося регулятором биосинтеза кортикостероидов. Полагают также, что стимулирующий эффект АКТГ связан с воздействием на рецепторы мембран клеток коры надпочечников, что ведет к повышению образования ц-АМФ и через него запускается процесс использования эфиров холестерина для синтеза глюкокортикоидов.

АКТГ оказывает разностороннее действие: мобилизует жиры из жировых депо, усиливает гидролиз нейтральных жиров путем активирования триглицеридлипазы, понижает дыхательный коэффициент, способствует накоплению гликогена в мышцах и переходу в мышцы аминокислот, влияет на пигментобразование в коже (на образование меланина).

Выделение АКТГ повышается при травматизации организма, а также при возбуждении центральной нервной системы, воздействии токсинов и некоторых лекарственных средств, и, особенно, при воздействии гормона мозгового вещества надпочечников – адреналина. Все эти факторы стимулируют выделение АКТГ в гипофизе через гипоталамус. Глюкокортикоиды тормозят выделение АКТГ.

В передней доле гипофиза вырабатываются также гонадотропные гормоны. Различают три разных гонадотропных гормона:

1) Фоликулостимулирующий гормон (ФСГ, фоллитропин) – представляет собой белок гликопротеид. Этот гормон в мужских гонадах (т.е. семенниках) повышает сперматогенез, а у женщин в яичниках – образование фолликулов (т.е. ускоряет овоцитогенез).

2) Лютеинизирующий гормон (ЛГ, лютропин) – белок, близкий по строению к ФСГ, стимулирует у мужчин в семенниках выработку тестостерона, а у женщин – переход развитого фолликула в желтое тело. Действие лютеинизирующего гормона возможно лишь при присутствии фолликулостимулирующего гормона.

3) Пролактин или лактотропный гормон – белок с  $M=24-26$  тыс. Его физиологический механизм проявляется в двух направлениях: с одной стороны, он поддерживает функцию желтого тела и необходим для проявления действия прогестерона и сохранения беременности, с другой стороны, он стимулирует секрецию молока грудными железами. Последнее обеспечивается под влиянием пролактина разрастанием эпителия, секреторирующего молоко, и повышением в нем обменных реакций. Пролактин стимулирует синтез белков и лактозы эпителием молочных желез.

В средней доле гипофиза синтезируется меланостимулирующий гормон (интермедин, меланотропин). Это пептид, содержащий разное количество остатков аминокислот в зависимости от вида животных. У человека меланостимулирующий гормон является 22-членным пептидом.

Механизм действия меланостимулирующего гормона изучен мало. Считается, что этот гормон принимает значительное участие в регуляции пигментообразования, влияет на образование меланина в коже, радужке и пигментном эпителии сетчатки глаз, повышает активность палочек и колбочек сетчатки и улучшает адаптацию глаз к темноте. Кроме того, гормон оказывает жиромобилизирующее действие через аденилатциклазный механизм клеток.

К числу гормонов задней доли гипофиза относят окситоцин и вазопрессин. Эти гормоны образуются в нейросекреторных клетках гипоталамуса и через ножку гипофиза попадают в его заднюю долю, где и депонируются. Суммарный экстракт задней доли гипофиза называется питуитрином.

Окситоцин представляет собой циклический девятичленный пептид. Гормон получен синтетически. Кроме того, созданы его изомеры и аналоги. Размыкание дисульфидного мостика в молекуле окситоцина сопровождается полной его инактивацией. Окситоцин уже через 20-30 секунд после внутривенного введения вызывает у рожениц сокращение мышечных волокон, расположенных вокруг альвеол молочных желез. Он повышает синтез белка в молочной железе при лактации, что приводит к выделению молока. Кроме того, по мере приближения родов усиливается чувствительность к окситоцину мышц матки, сокращающихся под его воздействием. Поэтому окситоцин способствует нормальному протеканию родов, вызывая сокращение матки. Стимулирование сокращения матки связано с повышением под влиянием окситоцина внутриклеточной концентрации ионов кальция и образования ц-ГМФ.

Другой гормон задней доли гипофиза – вазопрессин также представляет собой циклический девятичленный пептид с  $M=1025$ . Гормон получен синтетически. Выявлена видовая специфичность гормона. Будучи сходен с окситоцином по структуре, вазопрессин близок к нему и по функциональной активности. Он стимулирует сокращение гладких мышц сосудов, повышая тем самым кровяное давление. Однако основное действие вазопрессина направлено на регуляцию водного обмена: он обеспечивает нормальную реабсорбцию воды в дистальных канальцах почек у высших позвоночных. Таким путем он регулирует водный баланс организма и осмотическое давление плазмы крови. В этой связи вазопрессин получил название антидиуретического гормона. По данным А.Г. Гинецинского, вазопрессин активирует гиалуронидазу в почках и, таким образом, повышая проницаемость клеточных мембран, усиливает реабсорбцию воды в почечных канальцах. По современным взглядам гормон в канальцах почек активирует аденилатциклазу и повышает уровень ц-АМФ. Последняя активирует протеинкиназы, которые фосфорилируют белки клеточных мембран, увеличивая их проницаемость для воды. При недостатке этого гормона развивается тяжелое заболевание несахарный диабет, характеризующийся неутолимой жаждой и выделением больших количеств мочи с низким удельным весом.

К группе пептидных гормонов относятся, кроме вышеперечисленных гормонов, гормоны (точнее – гормонотропы) желудочно-кишечного тракта. Среди них следует назвать секретин, панкреозимин, холецистокинин, энтерогастрин, гастрин и вилликинин. Все эти гормоны пептидной природы, но структура и механизм действия большинства из них изучены мало.

Секретин вырабатывается в слизистой оболочке тонкой кишки и усиливает секреторную функцию поджелудочной железы. Под влиянием секретина увеличивается объем панкреатического сока, но не изменяется продукция энзимов поджелудочной железы, т.е. секретин ускоряет лишь выделение жидкости, содержащей бикарбонаты и другие ионы.

В слизистой оболочке кишечника вырабатываются также панкреозимин, холецистокинин, вилликинин и энтерогастрин.

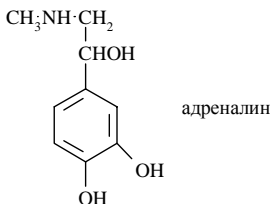
Панкреозимин усиливает выделение ферментов поджелудочной железы без значительного изменения количества выделяемого сока. Холецистокинин вызывает выделение желчи. Энтерогастрин тормозит секрецию желудочной соляной кислоты. Вилликинин вызывает сокращение кишечных ворсинок.

В слизистой оболочке пилорической части желудка вырабатывается гастрин. Гастрин – 17-членный пептид. Его первичная структура расшифрована, и он получен синтетически. Специфическая гормональная активность гастрина почти исключительно связана с наличием в его молекуле С-концевого тетрапептида (14-17-й остатки). Гастрин действует возбуждающим образом почти исключительно на образование соляной кислоты желудка и лишь в небольшой мере повышает выработку пепсина. Он способствует также выделению секрета поджелудочной железы и усиливает тонус и сокращение мышц желудка и тонкого кишечника.

#### **15.4.3. Гормоны – производные аминокислот**

Помимо гормонов пептидной и стероидной природы имеются гормоны, являющиеся по своему строению производными аминокислот. Наиболее важными представителями этой группы являются гормоны, вырабатываемые в щитовидной железе – тетраiodтиронин (тироксин) и триiodтиронин, а в мозговом веществе надпочечников – адреналин, норадреналин, дофамин, объединяемые термином катехоламины.

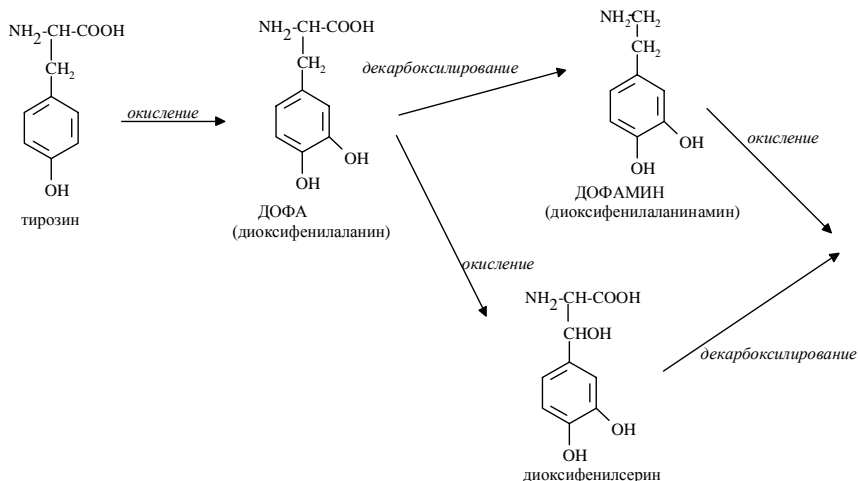
Адреналин (эпинефрин) по химической структуре является метиламиноэтанолпирокатехином.



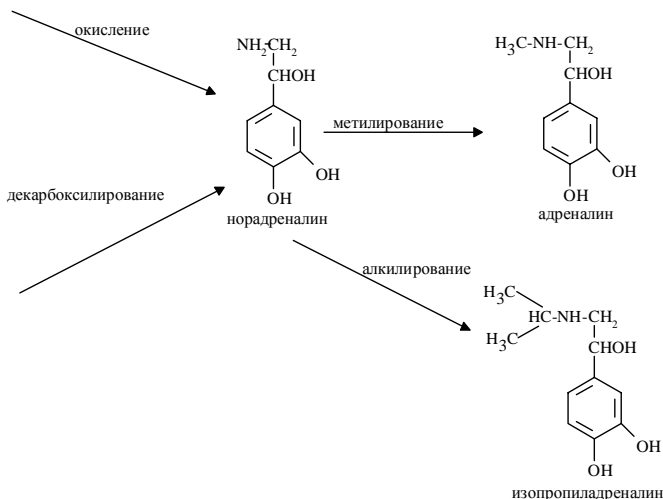
Это бесцветный кристаллический порошок с температурой плавления 215-216°C. Обладая ассиметрическим углеродным атомом, адреналин существует в виде двух оптических изомеров. Из них левовращающий по гормональному действию в 15 раз активнее правовращающего. В надпочечниках синтезируется L-адреналин. Адреналин в щелочной среде легко окисляется, образуя окрашенные в розовый цвет хиноидные производные, не обладающие биологической активностью.

В мозговом веществе надпочечников человека, кроме адреналина (5 мг) найдены его гомологи: норадреналин (0,5 мг) и изопропиладренадин (следы).

Биосинтез адреналина и его гомологов осуществляется из тирозина:





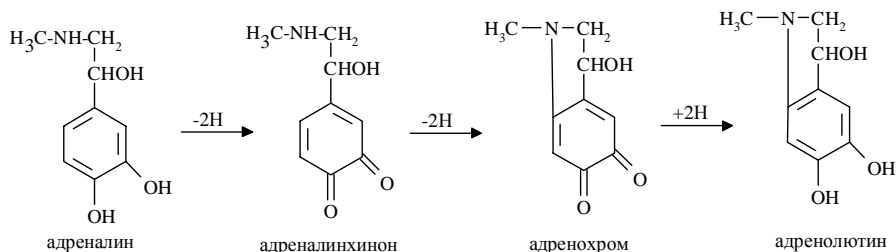


Норадреналин, являющийся медиатором, в основном синтезируется в симпатической и центральной нервной системе, адреналин же продуцируется только мозговым веществом надпочечников и хромаффинными клетками, рассеянными во многих тканях.

Поступая в кровь, катехоламины циркулируют преимущественно в связанном с белками состоянии. Биологической активностью обладают свободные, не связанные катехоламины, сохраняющие свою активность лишь в течение короткого отрезка времени, исчисляемого минутами.

Инактивация катехоламинов осуществляется в организме двумя путями: путем извлечения из кровотока и редепонирования в нервных окончаниях и хромаффинных клетках, либо путем метаболизирования. Основные пути метаболизма катехоламинов осуществляются при участии моноаминоксидазы и катехол-О-метилтрансферазы с образованием конечного продукта ванилилминдальной кислоты.

Кроме превращений по основным путям метаболизма катехоламины могут под влиянием пирокатехиноксидазы подвергаться хиноидному окислению, в процессе которого образуются биологически активные продукты адренохром и адренолютин, по характеру своего действия отличные от действия адреналина. В частности, под влиянием адренохрома развивается психотропный эффект и галлюцинации (адренохром – вещество страха). Адренолютин, в который может восстанавливаться адренохром, снимает это состояние.



Из физиологического действия адреналина, прежде всего, следует указать на его свойство повышать кровяное давление (сужение сосудов) в сосудах кожи, слизистых оболочек и в области иннервации чревного нерва. В сосудах мозга и легких кровяное давление не меняется, а артериолы сердца и скелетных мышц, наоборот, расширяются. Под влиянием адреналина сокращаются некоторые гладкие мышцы (матки, зрачка), но расслабляются мускулатура бронхов и кишечника, работа сердца повышается. Обмен веществ и потребление кислорода под влиянием адреналина повышается. При этом следует помнить, что связывание адреналина с бета-рецепторами клеток-мишеней вызывает активирование аденилатциклазы и увеличение ц-АМФ, а связывание с альфа-рецепторами – активирование гуанилатциклазы и увеличение ц-ГМФ с соответствующими изменениями внутриклеточного обмена. В этой связи адреналин, подобно глюкагону, при участии ц-АМФ усиливает распад гликогена с образованием через глюкозо-1-фосфат глюкозы-6-фосфата в печени и мышцах.

В печени, благодаря ферменту глюкозо-6-фосфатазе от глюкозо-6-фосфата отщепляется остаток фосфата и глюкоза поступает в кровь. В мышцах, где отсутствует глюкозо-6-фосфатаза, глюкозо-6-фосфат расщепляется по гликолитическому пути до молочной кислоты. При этом образуется АТФ, необходимый для мышечного сокращения. Этим объясняется увеличение под влиянием адреналина силы и продолжительности реакции поперечнополосатых мышц в ответ на раздражение. Молочная кислота поступает в кровь, а затем в печень, где из нее образуется гликоген.

Наряду с воздействием на углеводный обмен, адреналин и норадреналин вызывают повышение липолиза путем активирования липазы жировой ткани, что приводит к повышению уровня свободных жирных кислот в крови. Адреналин также активизирует окисление жирных кислот.

Таким образом, адреналин мобилизует энергетические ресурсы, активируя гликогенолиз и липолиз.

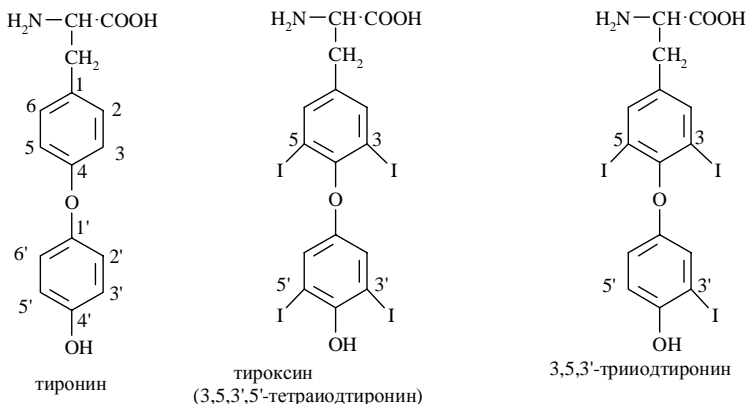
Во многих отношениях норадреналин действует подобно адреналину, но он повышает кровяное давление во всех областях кровеносных сосудов и не влияет на обмен углеводов.

Существенное влияние на организм оказывают также продукты обмена адреналина и его гомологов.

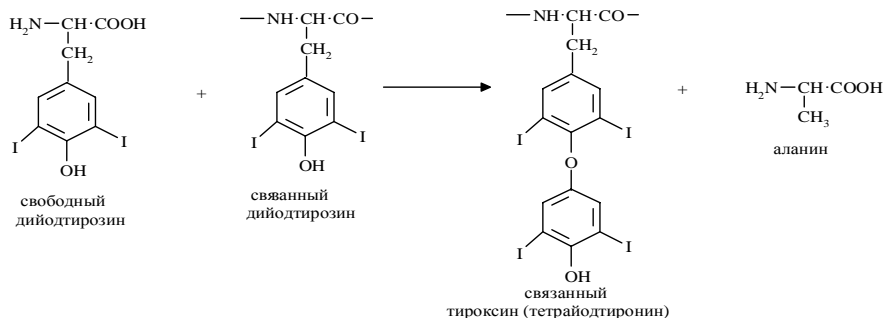
В крови животных и человека, находящихся в спокойном состоянии, содержится очень мало адреналина. Увеличение концентрации адреналина в несколько раз происходит при внезапной боли, охлаждении, физическом напряжении, при резких эмоциональных возбуждениях. Считается, что адреналин служит механизмом мобилизации сил организма в случае внезапно повышенных запросов к его деятельности (В. Кеннон), что позволило считать адреналин гормоном адаптации. Согласно Л.А. Орбели, адреналин и симпатическая нервная система усиливает работу утомленных мышц, осуществляя трофическую функцию. Таким образом, симпатoadреналовая система играет существенную роль в сохранении гомеостаза, в приспособлении физиологических и биохимических процессов организма к потребностям данного момента.

Рассмотрим другую группу гормонов – производных аминокислоты тирозина.

В щитовидной железе синтезируются иодтиронины: тироксин, являющийся по своему строению 3,5,3',5'-тетраиодтиронином, и трииодтиронин, являющийся 3,5,3'-трииодтиронином.



Биосинтез тиреоидных гормонов осуществляется в щитовидной железе путем конденсации двух молекул дийодтирозина в молекулу тетраиодтиронина в составе белка тиреоглобулина с образованием йодтиреоглобулина. Введение йода в молекулу тиреоглобулина осуществляется в специфической области щитовидной железы, получившей название «коллоид».



Здесь при посредстве особого фермента идет включение йода в радикалы тирозина, содержащиеся в полипептидной цепи субъединиц тиреоглобулина. Затем осуществляется реакция конденсации свободного дийодтирозина с радикалом связанного дийодтирозина с образованием тетраидотиронина в составе тиреоглобулина (образуется иодтиреоглобулин).

Вместе с тем возможна конденсация свободного моноидотирозина со связанным дийодтирозином. Это приводит к синтезу связанного триидотиронина. В дальнейшем в результате гидролиза иодтиреоглобулина тироксин и его производные поступают из железы в кровь.

Связываясь с  $\alpha_2$ -глобулином, который является носителем, а также альбумином и преальбумином плазмы, йодтиронины доставляются клетками тканей организма, где и проявляют свое действие. Триидотиронины связываются в 3-5 раз меньше белками плазмы, чем тетраидотиронины, и поэтому оказывают больший эффект. Поскольку гормональная активность свойственна только свободным гормонам, йодтиронины действуют на многие ткани, т.е. обладают универсальностью действия, регулируя энергетический обмен и деление и дифференцировку клеток. Механизм действия йодтиронинов связывают с действием их как через цитозольные рецепторы на хромосомы, так и через активирование аденилатциклазы с образованием повышенного количества ц-АМФ (смешанный механизм действия). Это приводит к редупликации ДНК в клетке, активированию транскрипции определенных генов, активированию гликогенолиза и липолиза. Основным эффектом этих гормонов проявляется стимулированием синтеза ферментов энергетического обмена (биологического окисления) и усиления в результате этого катаболической фазы метаболизма, особенно, тканевого дыхания. В итоге усиления окислительных процессов повышается интенсивность расщепления углеводов, жиров и белков в процессе обмена веществ с освобождением большого количества энергии. Одновременно усиливается теплопродукция, что связывают с повышенным расходом АТФ на различные синтетические процессы или разобщением окисления и фосфо-

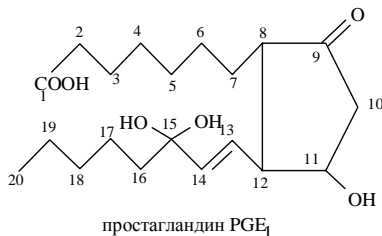
рилирования в дыхательной цепи ферментов. Воздействие на энергетический обмен йодтиронинов внешне проявляется усилением деления и дифференцировки клеток, в нормальном развитии и росте тканей и органов. При избытке тироксина и его производных (гиперфункция щитовидной железы) резко усиливается обмен веществ, повышается потребление кислорода (повышается основной обмен), учащается пульс, повышается раздражительность, падает вес, развивается пучеглазие, появляется зоб и субфебрилитет. Этот комплекс нарушений получил название Базедовой болезни (по имени врача, её описавшего).

В случае недостаточности тиреоидных гормонов (гипофункция щитовидной железы) у взрослых замедляется обмен веществ, развивается ожирение, отечность, задержка воды в тканях. Это заболевание получило название микседема. В случае недостаточности щитовидной железы у детей развивается кретинизм, выражающийся в задержке роста и умственного развития.

#### 15.4.4. Простагландины

Эйлер впервые показал, что в семенной жидкости человека и в экстрактах из семенных пузырьков барана содержатся вещества, вызывающие сосудосуживающий эффект и сокращения гладкой мускулатуры матки. Эти вещества им были названы простагландинами.

Простагландины являются гидроксигироованными продуктами превращения в организме полиненасыщенных жирных кислот. Молекулы простагландинов включают 20 атомов углерода и цикlopentanовое кольцо. Все простагландины кроме цикlopentanового кольца и двух боковых цепей имеют ещё двойную связь  $C_{13} - C_{14}$  и гидроксильную группу в положении  $C_{15}$ . Молекулам простагландинов свойственна изомерия. Впервые в химически чистом виде простагландины были получены в 1957 году Бергстромом с соавт. Простагландины в чистом виде представляют собой бесцветные порошки, хорошо растворимые в органических растворителях.



Простагландины можно рассматривать как производные простановой кислоты. Для их названия предложена женевская номенклатура, однако, ввиду её громоздкости, более часто используют тривиальные названия. Согласно тривиальной номенклатуре все простагландины в зависимости от структуры циклопентанового кольца подразделяются на четыре группы: А, В, Е, Ф, а в зависимости от числа двойных связей и заместителей в боковых цепях выделяют индивидуальные простагландины. Индивидуальные простагландины обозначают буквами с указанием цифрами числа двойных связей: ПГА<sub>1</sub> (PGA<sub>1</sub>), ПГА<sub>2</sub> (PGA<sub>2</sub>), ПГБ<sub>1</sub> (PGB<sub>1</sub>), ПГБ<sub>2</sub> (PGB<sub>2</sub>), ПГЕ<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), ПГФ<sub>2</sub> (PGF<sub>2</sub>) и др. Кроме того, в зависимости от ориентации ОН-группы и циклопентанопергидрофенантренового кольца выделяют две конфигурации – альфа и бета.

Простагландины синтезируются практически всеми тканями животного организма посредством специальной ферментной системы (простагландин-синтетазы), локализованной в мембранах эндоплазматического ретикулума с участием цитохрома P<sub>450</sub> и НАДФ.Н<sub>2</sub>. Синтез осуществляется в несколько стадий из полиненасыщенных жирных кислот через образование эндоперекисей простагландинов с включением двух молекул кислорода. При этом из эндоперекисей могут образоваться также и другие биологически активные вещества (под влиянием других ферментов, содержащихся в мембранах микросом), к примеру, тромбоксаны, лейкотриены и др. Источниками полиненасыщенных жирных кислот служат фосфолипиды мембран, триглицериды, холестериды высвобождающие свободные ненасыщенные жирные кислоты под влиянием ацилгидролаз в ответ на нейрогормональную стимуляцию. Наиболее распространенным субстратом простагландин-синтетазы является арахидоновая кислота. Наряду с природными простагландинами синтезированы их аналоги. Некоторые из них обладают большей активностью, чем их природные предшественники (например, 15-метил-ПГФ<sub>2</sub>).

Простагландины оказывают локальный эффект в той ткани, в которой они синтезируются и подвергаются различным ферментативным превращениям, приводящим к потере биологической активности. В частности, простагландины, метаболизируясь, подвергаются окислению, восстановлению, гидроксилированию.

Существует мнение о широком участии простагландинов в фундаментальных физиологических процессах и опосредовании ими действия самых различных биологически активных эндо- и экзогенных веществ (в том числе гормонов), а также о возможном их влиянии на развитие и течение различных патологических процессов (воспаления, боли, аллергии и т.д.).

В регуляторных процессах простагландины выступают в роли медиаторов или модуляторов или регуляторов отдельных биохимических реакций (в частности, обмена липидов, отдельных ферментативных систем). Предполагают, что они выполняют роль «местных» гормонов, регулирующих клеточный ме-

таболизм путем влияния на проницаемость мембран. Экспериментально показано, что простагландины (в частности, ПГЕ и ПФ) реализуют свое действие через различные циклические нуклеотиды (цикло-АМФ и цикло-ГМФ), повышая или ингибируя их синтез за счет влияния на активность циклазных ферментов (аденилатциклазы и гуанилатциклазы). Отмечено взаимообуславливающее влияние простагландинов и ряда гормонов (половых, надпочечников и др.). Имеются данные, что простагландины могут влиять на клеточные процессы не только через аденилатциклазу, но и  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-АТФ-азу}$ , что в их механизме действия существенное место принадлежит ионам кальция. Показано, что простагландины принимают участие в передаче нервных импульсов в различных отделах нервной системы, оказывая модулирующее влияние на синаптические процессы.

Физиологическое действие на организм простагландинов различно. Некоторые простагландины стимулируют сокращения матки, вызывают родовые схватки, прерывают беременность, ингибируют свертывание крови, подавляют желудочную секрецию и выделение соляной кислоты и пепсина, стимулируют сокращения кишечника, понижают кровяное давление, что получило применение в практической медицине. При введении в организм простагландинов различных видов можно получить широкий спектр фармакологических эффектов при краткосрочности действия. Наиболее активны простагландины групп Е, Ф и А.

Известны ингибиторы простагландинов, к числу которых принадлежат вещества группы салициловой кислоты (салицилат натрия, бутадион, индометацин), а также фенбуфен, пара-бифенилуксусная кислота, феноксиацетамиды, морфин, хлорохин, хинин, прокаин, кломипрамин. Препараты стероидных гормонов уменьшают высвобождение простагландинов, снижая доступность субстрата простагландинов для реакции циклизации.

Следует сказать, что в настоящее время проблеме изучения и практического использования простагландинов в медицине придается большое значение. Для медицинского применения простагландины и их производные получают чаще синтетическим путем, а также из природных источников (в частности, из кораллов). В современной медицинской практике в мире используют уже более 20 препаратов, являющихся производными или аналогами природных простагландинов и простациклина. Практическое значение в качестве лекарственного средства приобрел простагландин ПФ<sub>2</sub>, применяемый в акушерстве для стимулирования родовой деятельности и искусственного прерывания беременности. Препарат получил название динопрост. Препарат простагландина ПГЕ<sub>2</sub> (динопростон) применяют для купирования приступов бронхиальной астмы, при гипертонии, язвенной болезни.

В настоящее время активно изучаются и некоторые другие аспекты клинического применения простагландинов (как сосудорасширяющее средство, угнетающее агрегацию тромбоцитов и др.).

#### **15.4.5. Гормоны как лекарственные препараты**

Широкий диапазон влияния, способность регулировать основные, определяющие процессы в жизнедеятельности организма, обусловили широкое использование гормонов и гормоноидов в практической медицине не только при заболеваниях, вызванных гормональной недостаточностью (заместительная терапия), но и при заболеваниях, связанных с различными нарушениями обмена веществ различной этиологии. Для лечения этих заболеваний выпускается масса гормональных препаратов и их синтетических аналогов.

В лечебной практике используется тироксин в виде препарата тиреоидина и трииодтиронина гидрохлорида при гипопункции щитовидной железы. Как антигипотиреоидный препарат применяют мерказолил при гиперфункции щитовидной железы (при диффузионном токсическом зобе).

При сахарном диабете с успехом применяется инсулин для инъекций, а также его препараты пролонгированного действия: суспензия цинк-инсулина аморфного, протамин-цинк-инсулина и др. Применяют также суинсулин, инсулин Б.

Для предупреждения тетании, обусловленной гипокальциемией при гипопаратиреозе используют препарат паращитовидных желез – паратиреоидин для инъекций. При ряде системных заболеваний применяют гипокальциемический гормон тиреокальцитонин в виде препарата кальцитрина.

Стероидные гормоны, в основном, глюкокортикоиды – кортизон и гидрокортизон (и их синтетические аналоги – преднизон, преднизолон, метилпреднизолон, дексаметазон, синаflan, сеналар и др.) с успехом применяют для лечения различных аллергических и аутоиммунных заболеваний (ревматизма, дерматозов и др.), а также коллагенозов – заболеваний, связанных с поражением соединительной ткани, ожогов, глазных заболеваний, где требуется использовать их противовоспалительные, десенсибилизирующие, противоаллергические, иммунодепрессивные свойства. Их иммунодепрессивное действие используется для профилактики отторжения пересаженных органов. Из минералокортикостероидов применяют дезоксикортикостеронаацетат (при болезни Аддисона, а также астении, мышечной слабости и т.п.).

Мужской половой гормон, а также его синтетические аналоги – метилтестостерон, тестостерона пропионат и др., используются при половой слабости у мужчин и при злокачественных опухолях грудной железы у женщин, женские половые гормоны в виде препаратов эстрогена, эстрадиола и др. и их синтетические аналоги (синестрол, метилэстрадиол, диэтилстильбэстрол) исполь-



зуются при заболеваниях, связанных с недостаточной функцией яичников у женщин и при гипертрофии и раке предстательной железы у мужчин.

В данном случае эстрогены и андрогены выступают как природные антигормоны, конкурирующие за связывание с рецепторами противоположного гормона: эстрогены блокируют андрогенные рецепторы, а андрогены – эстрогенные.

Гормоны желтого тела (прогестерон, прегнин и др.), получаемые синтетическим путём, используют при патологических состояниях, связанных с недостаточностью желтого тела при маточных кровотечениях, выкидышах и др.

Кроме влияния на функции половой сферы, мужские половые гормоны стимулируют процессы синтеза белков. Это послужило основанием для создания ряда синтетических препаратов с выраженным влиянием на синтез белка при незначительном гонадотропном влиянии. Эти препараты (анаболические стероиды) – феноболлин, ретаболил, силаболин и др. применяются в медицине при различных формах истощения и белкового голодания.

Адренокортикотропный гормон (АКТГ или кортикотропин) и кортизон благоприятно действуют при острой лейкемии (раке крови). АКТГ применяют при вторичной гипопункции коры надпочечников, используют также как противоаллергическое и противовоспалительное средство. АКТГ для усиления и удлинения срока действия применяют в виде препарата суспензия цинк-кортикотропина.

Из гормонов передней доли гипофиза в лечебной практике применяют также тиреотропин (при недостаточности функции щитовидной железы), соматотропин (при гипофизарной карликовости и др.), адипозин (при ожирении).

Кроме того, из гормонов передней доли гипофиза в медицинской практике применяют гонадотропин и пролактин. Гонадотропин хорионический и менопаузный назначают при нарушении половой функции у женщин и мужчин, а пролактин (под названием лактин) – при недостаточной секреции молока у женщин в послеродовом периоде.

Из препаратов средней и задней доли гипофиза в медицинской практике используют интермедин, окситоцин, дезаминоокситоцин, гифотоцин, маммофизин, питуитрин и адиуректин. Окситоцин, дезаминоокситоцин, гифотоцин и питуитрин применяют в акушерской практике для усиления сокращения матки. Маммофизин назначают при послеродовых маточных кровотечениях и для стимулирования лактации, адиурекрин – при несахарном мочеизнурении и ночном недержании мочи как антидиуретик. В качестве препарата нашел применение и соматостатин-пептид – регулятор гипоталамуса. Он используется для лечения сахарного диабета, так как ингибирует (тормозит) действие эндогенного соматотропина гипофиза на образование и секрецию глюкагона поджелудочной железы. Для повышения активности иммунной системы применяют препараты гормонов тимуса (тимозин и др.).

Гормоноиды (серотонин, гистамин) и вещества, влияющие на их биосинтез, наряду с тиреотропными гормонами и инсулином, находят применение при лечении психических заболеваний.

Наконец, применяют антигистаминные препараты (ингибиторы гормоноидов): димедрол, супрастин, дипразин, диазолин и др.

## 16. Особенности обмена веществ в отдельных органах и тканях

В отдельных органах и тканях организма прослеживаются некоторые особенности обмена веществ, обусловленные набором ферментов в клетках этих органов, что ведет к разделению биохимических функций между ними.

### 16.1. Биохимия печени

Исключительно важная роль в жизнедеятельности организма принадлежит печени. Эта исключительная роль печени связана с выполняемыми ею функциями, прежде всего с функцией по обеспечению постоянства концентрации пищевых веществ в крови, поскольку печень выступает как промежуточная станция между портальным кругом кровообращения, несущим всосавшиеся вещества из кишечника, и общим кровообращением организма. Более 70% крови в печень человека поступает через воротную вену, остальная часть крови попадает в печень через печеночную артерию. Кровь воротной вены оттекает от кишечника и в результате большая часть всосавшихся в кишечнике веществ пищи (за исключение липидов, транспорт которых, в основном, осуществляется через лимфатическую систему) проходит через печень. Печень обеспечивает также постоянство состава плазмы крови, поскольку в печени образуются основные компоненты плазмы – альбумины, большинство глобулинов плазмы, факторы свертывающей системы и антисвертывающей системы крови, липопротеиды, фосфатиды плазмы, большая часть холестерина, углеводные компоненты. В печени происходит обезвреживание чужеродных веществ и продуктов собственного обмена (детоксикационная функция), путем их превращения в составные части мочи, а также путем экскреции вместе с желчью чужеродных веществ, конечных продуктов порфиринового обмена, холестерина и желчных кислот. Печень играет исключительно важную роль в обмене веществ целостного организма (центральная биохимическая лаборатория организма). Многие центральные процессы обмена углеводов, липидов, белков совершаются в печени.

Основная роль печени в углеводном обмене заключается, прежде всего, в обеспечении постоянства концентрации глюкозы в крови. Печень захватывает глюкозу, приносимую из кишечника кровью по портальной системе кровообращения, синтезирует из нее гликоген и накапливает его, выполняя роль центрального углеводного депо организма. Говоря об утилизации глюкозы печенью, необходимо указать на важную роль, наряду с гексокиназой, фермента глюкокиназы, который, подобно гексокиназе, катализирует фосфорилирование глюкозы с образованием глюкозо-6-фосфата, но почти в 10 раз активнее. После приема пищи содержание глюкозы в крови воротной вены и в печени резко

возрастает, что вызывает увеличение активности глюкокиназы и гексокиназы и автоматически увеличивает поглощение глюкозы печенью. Образовавшийся глюкозо-6-фосфат либо через глюкозо-1-фосфат включается в синтез гликогена, либо расщепляется.

По мере потребности организма в глюкозе в печени происходит расщепление гликогена с переходом образующейся свободной глюкозы в большой круг кровообращения. При этом катаболизм гликогена происходит как фосфоролитическим, так и гидролитическим (амилолитическим) путем. При фосфоролизе из гликогена образуется глюкозо-1-фосфат, превращающийся затем в глюкозо-6-фосфат, который расщепляется присутствующей только в печени глюкозо-6-фосфатазой на фосфорную кислоту и глюкозу, которая может затем поступать в кровь. Частично глюкозо-6-фосфат может расщепляться в печени дихотомическим и апотомическим путем.

Образование в печени глюкозы может происходить также из других моносахаридов (фруктозы, галактозы, маннозы) и ряда веществ (молочной кислоты, глицерина, аминокислот и др.) – путем глюконеогенеза.

Для обеспечения собственных энергетических потребностей печень использует сравнительно небольшое количество глюкозы. Считается, что основная роль расщепления глюкозы в печени сводится к образованию метаболитов-предшественников, необходимых для биосинтеза жирных кислот, холестерина и глицерина (т.е. ацетил-КоА, фосфодиоксиацетона). В меньшей степени происходит окисление глюкозы до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  с выделением энергии.

С помощью пентозофосфатного пути в печени в процессе прямого окисления глюкозо-6-фосфата образуется НАДФ. $\text{H}_2$ , используемый для восстановительных реакций в процессах синтеза жирных кислот, холестерина и других стеридов. Кроме того, в ходе пентозофосфатного пути образуются пентозофосфаты, необходимые для синтеза нуклеиновых кислот. Ферментативные системы печени способны катализировать все или подавляющее большинство реакций метаболизма липидов:

- 1) гидролиз и синтез триглицеридов;
- 2) окисление и синтез жирных кислот;
- 3) распад и синтез фосфолипидов;
- 4) распад и синтез холестерина и его эфиров (за сутки в печени человека синтезируется до 2-4 г холестерина);
- 5) образование из холестерина желчных кислот.

Печень является главным местом образования плазменных пре- $\beta$ -липопротеидов (ЛПОНП) и  $\alpha$ -липопротеидов (ЛПВП). Здесь образуются ацетоновые тела – важные энергетические вещества. Образование ацетоновых тел происходит в ходе так называемого  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарил-КоА-пути. Из печени кетоновые тела с кровью поступают в другие ткани и органы, где и

окисляются (в основном, в мышцах, мозге, почках). В самой печени кетоновые тела не окисляются. Последнее, равно как и обеспечение тканей организма глюкозой и НЭЖК, демонстрирует центральную роль печени в снабжении тканей и органов источниками энергии.

Как уже говорилось выше, в печени происходит интенсивный распад и синтез фосфолипидов. Лимитирующим фактором синтеза фосфолипидов является холин или соединения, которые являются источниками метильных групп и участвуют в образовании холина. Эти соединения получили название липотропных веществ. При недостаточном образовании или недостаточном поступлении холина (липотропных веществ) в печень синтез фосфолипидов из компонентов нейтрального жира – глицерина и жирных кислот становится либо невозможным, либо резко снижается, и, в основном, образуется нейтральный жир, который отлагается в печени. Последнее ведет к жировой инфильтрации печени, которая может перейти в ее жировую дистрофию. Для предотвращения жировой инфильтрации печени при заболеваниях и токсических поражениях печени назначают в качестве лекарственных средств липотропные вещества, в частности холина хлорид, метионин, кальция пангамат.

Печень играет центральную роль как в межклеточном обмене аминокислот, так и в обмене белков. В печени совершается взаимопревращение аминокислот, образование заменимых аминокислот из незаменимых аминокислот, а также превращение их в другие соединения путем реакций переаминирования и дезаминирования, синтез креатина, синтез специфических белков плазмы крови (всех альбуминов, до 90%  $\alpha$ -глобулинов, до 50%  $\beta$ -глобулинов) и многих ферментов (холинэстеразы, ферментов крови). В печени синтезируются такие важные для организма белки как протромбин, фибриноген и другие белковые факторы свертывающей системы крови и ряд других важных белков, например, транспортных белков (транскортина, трансферина и др.).

Печень служит центральным местом обезвреживания аммиака путем синтеза мочевины, здесь также происходит образование мочевой кислоты – конечного продукта окисления пуриновых оснований у человека и некоторых животных.

Печень активно участвует в метаболизме гормонов, в частности, в образовании катехоламинов, благодаря тому, что в гепатоцитах из фенилаланина образуется тирозин – предшественник этих гормонов.

Печень принимает активное участие в инактивации различных гормонов, попадающих в печень с током крови. Так, стероидные гормоны, подвергаясь микросомальному окислению, инактивируются, под влиянием аминоксидаз в печени окисляются катехоламины.

Печень принимает участие в обмене витаминов. Роль печени в обмене витаминов сводится:

1) к участию во всасывании (путем выделения с желчью желчных кислот, необходимых для всасывания, в первую очередь жирорастворимых витаминов);

2) к участию в синтезе ряда витаминов (витамина А из каротина, витамина Д из холестерина, никотиновой кислоты, холина);

3) к участию в образовании биологически активных форм витаминов – коферментов (пиридоксальфосфата, тетрагидрофолиевой кислоты, ЦДФ-хилина и др.).

4) к участию в депонировании и выведении витаминов из организма (витаминов А, Д, РР, Е, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>с</sub>, В<sub>12</sub> и др.).

Тесно связан с печенью и обмен микроэлементов: железа, меди, цинка, марганца, молибдена и др. Здесь они откладываются и включаются в метаболические реакции. Имеются данные, что печень также задерживает ионы Na, K, Cl, Ca и воду и выделяет их в кровь и таким образом принимает участие в поддержании водно-солевого равновесия.

Печень занимает ведущую роль в метаболизме и обезвреживании токсических и чужеродных веществ, в том числе многих лекарственных соединений. Ряд токсических соединений образуется в процессе обмена в тканях и в результате гнилостных процессов в кишечнике. Обезвреживание происходит путем окисления, восстановления, гидролиза и конъюгации, в основном, с помощью ферментов в печени.

Частным примером этих процессов является образование в печени из бензойной кислоты и глицина гиппуровой кислоты, как проявления аминокислотной конъюгации. В клинической практике довольно часто используют определение гиппуровой кислоты в моче после нагрузки (приема) бензоата натрия для изучения антиоксидантной функции печени (проба Квика).

Центральная роль печени в метаболизме белков, жиров, углеводов и др. веществ, в обезвреживании токсических веществ приводит к многосторонним нарушениям в обмене веществ при заболеваниях печени, которые можно выявить биохимическими методами определения в крови тех веществ, которые поступают из печени в кровь (глюкозы, холестерина, мочевины, мочевой кислоты, фосфолипидов, витаминов, альбуминов, протромбина, холинэстеразы, билирубина и др.). Наибольшее значение в диагностике заболеваний печени имеет определение в крови внутриклеточных ферментов (аспартат- и аланинаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы и ее изоферментов и др.), и, особенно, печеночноспецифических ферментов (орнитинкарбамилтрансферазы, сорбитдегидрогеназы, фруктозо-1,6-дифосфатазы).

### 16.2. Биохимия почек

Одним из важнейших органов, функции которого направлены на поддержание постоянства внутренней среды организма (гомеостаза) являются почки. Сложные физиологические процессы в почечной ткани протекают с постоянным потреблением большого количества энергии, получаемой в ходе метаболических реакций. Потребление энергии на единицу массы в почках больше, чем в любом другом органе. Почки относятся к органам, наиболее богатым ферментами. Причем, среди них имеются и ферменты, в значительной мере специфичные для почечной ткани, например, глицил-аминотрансфераза (трансамидиназа), катализирующая переход амидиновой группы с L-аргинина на глицин с образованием L-орнитина и гликоциамина. Ткань почек относится к типу тканей с высокой активностью изоферментов лактатдегидрогеназы. Патология почек сопровождается выделением в мочу повышенных количеств ферментов, что используется в диагностических целях.

Почки участвуют в регуляции:

- 1) водно-электролитного баланса;
- 2) поддержании кислотно-щелочного равновесия;
- 3) в поддержании осмотического давления жидкостей организма;
- 4) в выделении конечных продуктов обмена веществ.

Эти основные функции почек реализуются через образование мочи и выделение её из организма. Механизм образования мочи складывается из трех процессов:

- 1) фильтрация в клубочках почечных нефронов плазмы крови с образованием так называемой первичной мочи, практически не содержащей белка;
- 2) реабсорбция составных частей (Na, Cl, K, гидрокарбонатов, глюкозы, аминокислот и др.), особенно воды, из первичной мочи обратно в кровь в почечных канальцах;
- 3) секреции в канальцах ионов калия, аммония, водорода и др.

В результате реабсорбции и секреции в канальцах нефрона почек из первичной мочи образуется вторичная (или окончательная) моча, которая затем поступает в почечные чашечки, лоханку и по мочеточникам попадает в мочевой пузырь. За сутки в норме у взрослых людей выделяется от 1 до 2 л мочи.

Образование мочи в почках требует значительных затрат энергии, так как выделение многих веществ идет против осмотических сил. С этим связан наблюдаемый в почках высокий уровень окислительных процессов и других метаболических процессов.

С мочой выделяются из организма такие продукты обмена как мочевина (конечный продукт белкового обмена), мочевая кислота (конечный продукт обмена пуриновых оснований), эфирно-серные парные глюкуроновые кислоты,

гиппуровая кислота (как продукты обезвреживания в печени ядовитых веществ).

В моче также содержатся в небольшом количестве аминокислоты, ферменты, некоторые гормоны и витамины, различные метаболиты (креатин, пептиды, индикан и др.) и неорганические компоненты (натрий, калий, кальций, магний, хлор, бикарбонаты, фосфаты, сульфаты, аммонийные соли и др.). Всего в моче обнаружено свыше 150 химических ингредиентов. Их определение, особенно определение органических веществ, может служить целям диагностики заболеваний.

Большая часть органических веществ мочи приходится на мочевины. В среднем за сутки с мочой взрослого человека выводится около 30 г мочевины (от 12 до 36) из примерно 40 г органических веществ суточной мочи.

Общее количество азота, выделяемого с мочой за сутки, колеблется от 10 до 18 г, из них при смешанной пище на долю азота мочевины приходится 80-90%.

Большое значение в клинических исследованиях, в диагностике заболеваний придается так называемым патологическим компонентам мочи – веществам, которые в нормальной моче не встречаются в аналитически определяемых количествах. Это прежде всего белок, сахар (глюкоза), ацетоновые (кетонные) тела, желчные и кровяные пигменты.

Появление большого количества белка в моче (протеинурия) наблюдается наиболее часто при болезнях почек (при нефрозах в моче определяется до 26 г/л белка). Внепочечные протеинурии связаны с поражением мочевых путей или предстательной железы.

При патологических состояниях в моче появляется также сахар – глюкоза (глюкозурия), иногда и другие углеводы (фруктоза, галактоза, пентозы). Значительная глюкозурия имеет место при сахарном диабете (количество глюкозы в суточной моче достигает нескольких десятков граммов).

При ряде заболеваний в моче резко увеличивается количество ацетоновых тел – развивается кетонурия. Например, при сахарном диабете в сутки с мочой выделяется до 150 г кетонных тел.

Из числа желчных и кровяных пигментов, появляющихся в моче в повышенных количествах при патологических состояниях, следует указать на конъюгированный билирубин, уробилин, порфирины. Выделение билирубина в мочу сильно меняется при закупорке желчного протока (камень, опухоль) и заболеваниях паренхимы печени. Количество уробилина резко возрастает в моче при гемолитической и паренхиматозной желтухах. Наконец, увеличение в моче порфиринов имеет место при заболеваниях печени и пернициозной анемии.



### 16.3. Биохимия крови

Исключительное место в биохимических процессах организма занимает кровь. Эта жидкая ткань осуществляет в организме транспорт метаболитов, химических, в том числе газообразных, веществ, благодаря чему происходит интеграция биохимических процессов, протекающих в различных клетках и межклеточных пространствах, в единую систему.

С кровью к органам и тканям доставляются питательные вещества, всосавшиеся в желудочно-кишечном тракте, транспортируется кислород, поступивший в легкие, и удаляется углекислота и различные продукты обмена веществ. Кровью осуществляется транспорт различных гормонов и биологически активных веществ. Отсюда следует, что важнейшими биохимическими функциями крови являются: транспортная и дыхательная функции. Кроме того, кровь выполняет защитную, регуляторную, терморегуляторную и др. функции.

Дыхательная функция крови обеспечивает в конечном итоге нормальное течение окислительных процессов в клетках (тканевое дыхание) – главного источника энергии в организме. Дыхательная функция крови осуществляется с помощью содержащегося в эритроцитах особого хромопротеида – гемоглобина. Гемоглобин при высоком парциальном давлении кислорода в среде поглощает его, превращаясь в оксигемоглобин, что имеет место в капиллярах легких. В капиллярах тканей и органов, где парциальное давление кислорода понижено, происходит диссоциация оксигемоглобина и освобождение кислорода, обеспечивающего дыхание тканей. Образовавшаяся в тканях углекислота переносится от тканей к легким в виде бикарбонатов натрия (в плазме) и калия – (в эритроцитах). В легких, благодаря подкислению среды за счет оксигемоглобина, происходит превращение бикарбоната калия ( $\text{KHCO}_3$ ) в недиссоциированную  $\text{H}_2\text{CO}_3$  (угольная кислота). Последняя расщепляется в эритроцитах карбангидразой на  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{CO}_2$ . Угольный ангидрид (диоксид углерода) удаляется с выдыхаемым воздухом. Полагают, что функцию переноса углекислоты из тканей выполняет также гемоглобин. Фиксация  $\text{CO}_2$  в отличие от  $\text{O}_2$ , происходит не на геме, а на глобине за счет присоединения  $\text{CO}_2$  к свободным аминок группам:



Особое значение имеет тесная взаимосвязь крови со всеми тканями организма, что обеспечивает ее интегративную функцию в обмене веществ. Исследования химического состава крови позволяет обнаруживать патологические изменения в организме, следить за развитием патологического процесса и судить об эффективности терапевтических мероприятий.

Химический состав крови у здорового человека относительно постоянен благодаря наличию в организме мощных регулирующих механизмов и характеризуется некоторыми константами. В частности, удельный вес крови равен 1,05-1,06, активная реакция близка к нейтральной ( $\text{pH}=7,4$ ), осмотическое давление составляет 7,7-8,1 атм, содержание общего белка сыворотки крови колеблется в пределах 65-85 г/л, общих липидов 4-8 г/л, сахара (глюкозы) крови – 3,32-5,55 ммоль/л, холестерина 3,9-6,5 ммоль/л. При патологических процессах отмечаются более или менее резкие сдвиги в химическом составе крови, что исследуется с целью диагностики заболеваний.

В биохимии крови большое значение придается белкам плазмы крови, составляющим основную часть сухого остатка крови.

Белки плазмы играют большую физиологическую роль:

- 1) поддерживают коллоидно-осмотическое (онкотическое) давление и тем самым постоянный объем крови;
- 2) принимают участие в свертывании крови, являясь основными компонентами системы свертывания крови;
- 3) определяют вязкость крови, что имеет большое значение в поддержании гемодинамических отношений в кровеносной системе;
- 4) участвуют в поддержании постоянного  $\text{pH}$  крови, так как является буферной системой;
- 5) выполняют транспортную функцию, связываясь с рядом веществ (билирубином, липидами, различными катионами, гормонами, лекарственными веществами и др.) и перенося их в ткани;
- 6) участвуют в процессах иммунитета (иммуноглобулины);
- 7) служат резервом аминокислот.

С помощью физико-химических методов (электрофорез, иммуноэлектрофорез, ультрацентрифугирование и др.) в настоящее время открыто и описано около 100 различных белковых компонентов плазмы крови. Среди белков плазмы выделяют три основные группы: альбумины, глобулины и фибриноген. Нормальное содержание альбуминов в плазме крови составляет 40-50 г/л, глобулинов – 20-30 г/л, фибриногена – 2-4 г/л. Плазма крови, лишенная фибриногена, называется сывороткой.

С помощью электрофореза на бумаге белки сыворотки можно разделить на фракции: альбумины,  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -глобулины. Альбумины выполняют важную функцию по транспортировке многих биологически активных веществ, в том числе – гормонов, холестерина, желчных пигментов, кальция и др.

$\alpha$ - и  $\beta$ -глобулиновые фракции содержат липопротеиды и гликопротеиды, а также металлопротеиды. Большая часть антител (иммуноглобулинов) находится во фракции  $\gamma$ -глобулинов.

При ряде патологических состояний человека наблюдается изменение как общего количества белков плазмы крови, так и процентного содержания отдельных белковых фракций. К примеру, увеличение общего содержания белков плазмы (гиперпротеинемия) наблюдается при диарее у детей, при обширных ожогах и др. Уменьшение общего количества белка (гипопротеинемия) наблюдается при заболеваниях почек, токсических поражениях печени и др. При этом гиперпротеинемия, как правило, связана с гиперглобулинемией, а гипопротеинемия – с гипоальбуминемией. При многих заболеваниях отмечается диспротеинемия, когда изменяется процентное соотношение белковых фракций без существенных отклонений в общем количестве белка в сыворотке крови.

Большое значение в клинике придают определению липопротеидов и гликопротеидов. Это связано с тем, что изменение их содержания в плазме или сыворотке может служить диагностическим признаком при ряде заболеваний. В частности, повышение содержания гликопротеидов в плазме или сыворотке крови наблюдается при туберкулезе, пневмониях, диабете, инфаркте миокарда и др. заболеваниях.

Важную роль в диагностике атеросклероза придают определению липопротеидов. Напомним, что в плазме человека выделяют несколько классов липопротеидов:

- 1)  $\alpha$ -липопротеиды (или липопротеиды высокой плотности);
- 2)  $\beta$ -липопротеиды (или липопротеиды низкой плотности);
- 3) пре- $\beta$ -липопротеиды (или липопротеиды очень низкой плотности);
- 4) хиломикроны.

При атеросклерозе часто развивается гиперлипопротинемия, которая характеризуется повышенным содержанием  $\beta$ -липопротеидов, иногда сочетающаяся с увеличением и пре- $\beta$ -липопротеидов. Отклонения липопротеидного спектра от нормы имеет место, кроме того при ксантоматозе, диабете, ожирении, ишемической болезни сердца.

Значительный интерес представляет ряд отдельных индивидуальных белков крови, изменения в содержании которых помогает выявить некоторые патологические или физиологические состояния. Это, в частности, иммуноглобулины, гаптоглобулин, ингибиторы трипсина, трансферин, церулоплазмин, С-реактивный белок, криоглобулин, интерферон, лизоцим, комплемент. Некоторые из них обозначаются как белки острой фазы (С-реактивный белок), другие – как белки патологии (криоглобулины и др.).

Большую роль придают ферментным белкам крови. Ферменты, обнаруживаемые в плазме крови, подразделяют на:

1. плазмоспецифичные (лецитин-холин-ацилтрансфераза, липопроотеидлипаза, холинэстераза, ренин, белковые факторы системы свертывания крови и др.);

2. органоспецифичные (индикаторные) ферменты (аланин- и аспартатаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы и их изоформы, альдолаза, гексокиназа, кислая и щелочная фосфатаза, орнитинкарбамилтрансфераза, сорбитдегидрогеназа и др.).

Физиологическая функция плазмоспецифичных ферментов реализуется непосредственно в плазме крови, куда они секретируются преимущественно печенью. Диагностическое значение имеет обычно уменьшение их активности, что служит признаком нарушения функции продуцирующего их органа (главным образом печени), а также может явиться пусковым механизмом патологического процесса, например, нарушения свертывания крови.

Органоспецифичные (индикаторные) ферменты выполняют свою физиологическую функцию в клетках различных органов, при повреждении которых они в больших количествах переходят в кровяное русло и определяются в плазме крови. Поэтому диагностическое значение имеет увеличение активности этих ферментов в крови – гиперферментемия, указывающая на патологию определенных органов и тканей (разрушение клеток или повышение проницаемости мембран).

Кроме белков, особое место занимают среди компонентов крови полипептиды – кининовая система, представленная полипептидами брадикинином (полипептид из 9 аминокислот), каллидином (полипептид из 10 аминокислот), метионил-лизил-брадикинином (полипептид из 11 аминокислот). Кинины характеризуются широким спектром биологического действия, почему их иногда называют местными гормонами. Кинины действуют кратковременно (период полураспада 30 с.) и регулируют, главным образом, гемодинамику (скорость кровотока, кровяное давление, проницаемость капилляров). Они воздействуют на тонус гладкой мускулатуры сосудов и капиллярных мембран, вызывая гипотензивное действие. Повышают проницаемость капилляров, стимулируют сокращение сердца, а также бронхов, матки, кишечника и влияют на внутриклеточное давление. Образуются кинины из нативных предшественников под влиянием протеолитических ферментов – кининогеназ, к которым относят калликреины плазмы и тканей. Разрушаются кинины плазмы ферментами кининазами. В физиологических условиях системы образования и инактивации кининов уравновешены. При патологии, например, при повышении образования кининов, возникает нарушение кровообращения и местный воспалительный процесс.

Кроме белков и полипептидов в состав плазмы крови входят небелковые азотсодержащие и безазотистые органические и минеральные вещества. Азот-

содержащие небелковые компоненты плазмы крови образованы метаболитами и конечными продуктами обмена простых и сложных белков: мочевиной (азот мочевины составляет 50% от общего количества небелкового азота), аминокислотами (25%), мочевой кислотой (4%), креатином (5%), креатинином (2,5%), аммиаком, нуклеотидами, нуклеозидами, глутатионом, билирубином, холином, гистамином и др.

Азотсодержащие небелковые компоненты плазмы крови составляют небелковый или остаточный азот, количество которого в цельной крови и плазме (сыворотке) почти одинаково и равно 15-25 ммоль/л (0,2-0,4 г/л). У здоровых людей остаточный азот плазмы – величина относительно постоянная. При некоторых заболеваниях уровень остаточного азота повышается – развивается азотемия. По своему характеру последняя может быть: а) абсолютной азотемией, связанной с действительным накоплением в крови остаточного азота в результате нарушения выделительной способности почек (ретенционная азотемия) или усиленным образованием азотистых шлаков (продукционная азотемия) и б) относительной (дегидратационной), обусловленной обезвоживанием организма.

Как уже говорилось выше, остаточный азот наполовину образован азотом мочевины. У здоровых людей содержание мочевины в сыворотке крови составляет 3,3- 6,6 ммоль/л. Повышение уровня мочевины в сыворотке наблюдается прежде всего при почечной патологии, а также при новообразованиях мочевыводящих путей, болезни Аддисона, брюшном тифе, холере, непроходимости кишечника, ожогах и др. Напротив, при тяжелом поражении печени (паренхиматозной желтухе, острой дистрофии печени, циррозе) содержание мочевины в сыворотке крови уменьшается.

К важным безбелковым азотистым веществам крови относятся также мочевая кислота, содержание которой в сыворотке крови равно 0,2-0,5 ммоль/л. Повышение содержания мочевой кислоты в крови (гиперурикемия) – главный симптом подагры. При подагре уровень мочевой кислоты в сыворотке крови может возрасти до 1,1 ммоль/л.

К группе безазотистых органических веществ относятся углеводы, жиры, липоиды, органические кислоты и некоторые другие вещества. Все эти вещества являются продуктами промежуточного обмена углеводов и липидов или являются питательными веществами. Определение их количества в цельной крови или сыворотке, позволяет судить о жизнедеятельности организма и облегчает диагностику ряда заболеваний. В частности, широкое распространение в клинике получило определение глюкозы в крови («сахара крови»), используемое для диагностики таких заболеваний как сахарный диабет, некоторые эндокринные заболевания, новообразования мозга, поджелудочной железы, надпочечников и др. У здоровых людей концентрация глюкозы в крови составляет 3,32-5,55 ммоль/л. Известную диагностическую ценность представля-

ет также определение молочной и пировиноградной кислот, активности ряда ферментов углеводного обмена.

Широко используются в клинике методы определения холестерина, триглицеридов, фосфолипидов, как показатели, позволяющие диагностировать патологию липидного обмена.

Важными составными компонентами плазмы крови служат различные минеральные вещества. Из катионов плазмы крови первое место по количеству занимает натрий (93% от катионов плазмы), из анионов – хлор и затем бикарбонат. Кроме того в плазме крови содержатся калий, магний, кальций, фосфор, железо, медь и др., которым, как и натрию и хлору среди других электролитов крови, уделяют основное внимание при изучении минерального обмена в диагностике заболеваний.

Биохимические особенности клеток крови (эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов) исследуются в клинике меньше, чем плазмы и сыворотки.

Следует отметить, что в эритроцитах, выполняющих важную роль в транспорте газов крови, интенсивно протекают гликолиз и пентозофосфатный путь катаболизма углеводов.

Среди лейкоцитов лимфоциты выполняют функцию образования иммуноглобулинов и в них интенсивно протекает биосинтез белка.

Моноциты и гранулоциты участвуют в фагоцитозе и аллергических реакциях.

Тромбоциты участвуют в процессе свертывания крови. Во всех этих клетках крови активно протекает гликолиз, а аэробный механизм образования энергии мало продуктивен. Кроме того следует сказать, что клетки крови участвуют в образовании ряда гормоноидов, регулирующих обмен веществ и функции органов и тканей. В базофилах образуются гепарин и гистамин, в эозинофилах – гистамин и серотонин, в тромбоцитах – серотонин. Гистамин и серотонин вызывают местные изменения проницаемости капилляров, сократимости гладких мышц сосудов, развитие аллергических реакций. Гепарин участвует в регуляции липидного обмена и свертывании крови.

Сложный состав крови позволил использовать кровь доноров, плацентарную кровь и кровь убойного скота для получения целого ряда лекарственных препаратов, таких как:

- 1) плазмол, применяемый в качестве специфического десенсебилизирующего и обезболивающего средства;
- 2) полибиолин, применяемый как биостимулирующее и противовоспалительное средство;
- 3) солкосерил, применяемый для улучшения обменных процессов и ускорения регенерации тканей;
- 4) гематоген, применяемый при анемии и упадке питания.

Из крови получают также гамма-глобулин, препараты иммуноглобулинов, интерферон, антигемофильную плазму, тромбин, фибриноген, альбумин, протеин и др. препараты, обладающие разнообразным действием (иммунологически активным, гемостатическим, комплексным и др.).

#### **16.4. Биохимия мышц**

В организме человека мышцы представляют почти половину массы тела. Подвижность организма обеспечивается функцией мышц. Поперечно-полосатые скелетные мышцы – сокращаются произвольно. Поперечно-полосатая сердечная мышца, сокращается непроизвольно. Гладкие мышцы, сокращаются непроизвольно. Сокращение происходит за счет энергии АТФ, стимулируется нервным импульсом.

Мышца содержит волокна, состоящие из мышечных клеток. При незначительной толщине мышечной клетки (до 100 мкм) ее длина достигает длины мышцы. Мышечная клетка окружена мембраной (сарколеммой), а в цитоплазме находятся многочисленные ядра, митохондрии и другие органеллы.

В мышечной ткани животных и человека содержится до 80% воды. Остальное приходится на долю сухого остатка, главным образом, белков. Помимо белков, в состав сухого остатка входят гликоген, фосфолипиды, холестерин, экстрактивные азотсодержащие вещества (креатин, креатин фосфат, креатинин, АТФ, карнозин, карнитин, ансерин), а также соли органических и неорганических кислот и другие химические соединения. В мышечной клетке имеются миофибриллы – это пучки белков, располагающиеся вдоль клетки. Миофибриллы состоят из белковых нитей двух типов: тонких и толстых.

Основным белком толстых нитей является миозин, а тонких – актин. К группе миофибрилярных белков также относятся актомиозины. Белки растворимы в солевых растворах с высокой ионной силой. Имеются также так называемые регуляторные белки: тропомиозин, тропонин,  $\alpha$ - и  $\beta$ -актинин, образующие в мышце с актомиозином единый комплекс. Перечисленные миофибрилярные белки тесно связаны с сократительной функцией мышц.

Миозиновые и актиновые нити – главный компонент всех сократительных систем. В электронном микроскопе обнаружено строгое чередование миозиновых и актиновых нитей в миофибрилле.

Функциональной единицей миофибриллы является саркомер. Это участок миофибриллы между двумя z-пластинками. Саркомер включает миозиновые нити, прикрепляющиеся серединой к М-пластинке (М-линия), а пучки актиновых нитей прикрепляются к z-пластинке. Сотни саркомеров образуют миофибриллу. Чередование в миофибрилле толстых и тонких нитей (А-диски и I-диски) создает поперечную полосатость мышцы. Сокращение происходит

путем скольжения толстых и тонких нитей навстречу друг другу. Саркомер при этом значительно укорачивается.

Нити миозина образованы белком миозином, который составляет половину всех белков скелетной мышцы. Молекула миозина содержит две одинаковых тяжелых полипептидных цепи (молекулярная масса 200000) и четыре легких цепи (молекулярная масса 20000). Каждая тяжелая цепь имеет конформацию  $\alpha$ -спирали, обе спирали скручены друг с другом. Противоположные концы цепи имеют глобулярную форму (форму головки). К каждой из головок нековалентно присоединены две легкие цепи. Миозин играет роль фермента при гидролизе АТФ, причем, каталитически активный центр локализован в головках молекулы миозина. Энергия гидролиза используется для сокращения мышцы.

Палочкообразные «хвосты» молекулы миозина соединяются друг с другом продольно, образуя пучки. Головки выступают на поверхность пучка. В области М-линии пучки стыкуются «хвост к хвосту». Так образуются миозиновые нити саркомера, каждая из которых содержит до 400 молекул миозина.

В состав нитей актина входят белки актин, тропомиозин, тропонин. Основу нити составляют молекулы актина. Молекула актина имеет шарообразную форму с диаметром 5 нм. Такая форма называется G-актином, который может нековалентно соединяться, образуя фибриллярный актин (F-актин). К F-актину присоединяются головки миозина. В результате такого взаимодействия АТФ-азная активность миозина увеличивается в сотни раз. Соединение актина с миозином называется актомиозином. Он имеет важное значение в процессе сокращения мышцы.

Другой белок актиновых нитей – тропомиозин – имеет форму палочек длиной 40 нм. Они располагаются вдоль желобков спиральной ленты F-актина.

Третий белок актиновых нитей – тропонин – имеет глобулярную форму и построен из трех разных субъединиц. Он нековалентно связан с тропомиозином и актином. Одна из субъединиц тропонина содержит Са-связывающий центры.

Тонкие нити прикреплены к z-пластинкам, которые представлены белковыми структурами. Содержание миозина, актина, тропомиозина и тропонина в миофибриллах примерно равно 55, 25, 15 и 5% соответственно.

Сокращение мышцы есть результат укорочения каждого ее саркомера. Последнее происходит путем вдвигания актиновых нитей между миозиновыми в направлении М-линии. Максимальное укорочение саркомера наблюдается тогда, когда z-пластинки, к которым прикреплены актиновые нити, максимально приближаются к местам прикрепления миозиновых нитей.

Движение актиновых нитей есть результат взаимодействия основных белков миофибрилл: актина, миозина, тропомиозина, тропонина. Сокращение сопровождается гидролизом АТФ и регулируется ионами кальция. В момент со-



кращения миозиновые и актиновые нити выполняют различные функции. В миозиновых нитях функционирует активный центр гидролазы АТФ. В них находится система превращения энергии АТФ в механическую энергию, а также имеется механизм сцепления с актиновыми нитями и система восприятия регуляторных сигналов актиновых нитей. Актиновые нити выполняют следующие функции:

- 1) сцепление с миозиновыми нитями;
- 2) регуляция сокращения и расслабления саркомера.

АТФ-азные центры миозиновых головок отличаются высоким сродством к АТФ и содержат в большом количестве связанную АТФ. В присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на мономерах актина открываются центры связывания с головками миозина.  $\text{Ca}^{2+}$  в этот момент связывается с Са-связывающей субъединицей тропонина.

Миозиновая головка присоединяется к мономеру актина с открытым центром связывания. Так происходит сцепление актиновых и миозиновых нитей. Присоединение миозиновой головки к актину также приводит к активации АТФ-азного центра миозина. В результате АТФ гидролизует на АДФ и фосфат, которые выходят из миозиновой головки. В результате возникают конформационные изменения миозина. Возникает конформационное напряжение, стремящееся уменьшить угол ( $\alpha$ ) между головкой и хвостом миозиновой нити. Так как головка прикреплена к актиновой нити, она, наклоняясь, смещает и актиновую нить в сторону М-линии. Теперь АТФ-азный центр на головке может принять новую молекулу АТФ. Присоединение АТФ уменьшает сродство миозиновой головки с актином. Миозиновая головка отсоединяется. Начинается новый цикл взаимодействия с актином. В новом цикле эта же головка присоединяется к другому мономеру актина, который расположен ближе к z-пластинке, поскольку вся актиновая нить переместилась.

Сила сокращения зависит от количества включенных в работу миозиновых головок. Множество миозиновых головок работают одновременно и вытягивают актиновую нить.

Покоящаяся мышца эластична, легко растягивается. Сокращенная, наоборот, ригидна, ее растяжению препятствуют связи между актиновыми и миозиновыми нитями. Ригидность возникает при значительном снижении концентрации АТФ в мышце. В таком состоянии большое число миозиновых головок остается связанными с актином, так как для выхода из этого состояния требуется АТФ.

В мышцах обнаружены почти все минеральные вещества, которые есть в других тканях. Их количество составляет от 1 до 4,5% сырой массы.

Из катионов в мышцах присутствуют катионы  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , а также небольшое количество  $Cu^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  и др., из анионов больше всего анионов фосфорной и соляной кислот.

Различные ионы вызывают определенное специфическое влияние. Например, ионы натрия повышают возбудимость мышц, а ионы калия, кальция, магния нужны для процессов сокращения и расслабления мышц. Некоторые ионы двухвалентных металлов соединены с миозином и актином. Так, 60% кальция в мышцах связано с актином, 35% – с миозином и только 5% – со стромой. Магний поровну распределен между актином и миозином. Полагают, что соединенные с белками ионы взаимодействуют с АТФ, изменяют ее конфигурацию и облегчают в дальнейшем контакт этого макроэрга с АТФ-азным активным центром молекулы миозина. Возможно, ионы одновалентных металлов образуют комплексы, имеющие хелатные связи и создают условия для переноса энергии макроэргической связи на кольцо пуринов. Вероятно, в таком комплексе магний является тем местом, по которому электроны из фосфата перемещаются на пуриновое кольцо АТФ. Вследствие такой миграции магний ослабляет связи в молекуле АТФ между фосфором и кислородом и тем самым способствует гидролизу АТФ с высвобождением энергии для работы мышц.

Сигналом для сокращения мышц служит электрический импульс, приходящий из двигательного нерва. Этот импульс передается мышечной клетке и быстро распространяется по всей сарколемме. По обе стороны сарколеммы поддерживается разность потенциалов, причем, с наружной стороны имеется избыточный положительный заряд, примерно на 60 мВ больше, чем внутри. При распространении импульса разность потенциалов моментально исчезает. Это явление называется деполяризацией. Деполяризация является следствием внезапного повышения проницаемости некоторых катионов, как  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ , причем, направление потоков этих ионов таково, что происходит разряд трансмембранного потенциала.

К белкам саркоплазмы относятся: миоген, миоглобин, глобулин X и миоальбумин.

Миоглобин, как наиболее функционально и количественно значимый, принадлежит к хромопротеидам. Он, как и гемоглобин, соединяется с кислородом и в значительной степени обеспечивает процесс дыхания мышц. У некоторых животных миоглобин содержит до 47% кислорода, поступающего в организм. Миоглобин сосредоточен, главным образом, во внутренней части мышечной ткани, там, где давление кислорода очень низкое. Но так как миоглобин активно соединяется с кислородом (его сродство к кислороду в 5 раз выше, чем у гемоглобина), в мышечной ткани создается значительный резерв кислорода. Во время диастолы миоглобин сердечной мышцы превращается в

оксимиоглобин. Во время систолы оксимиоглобин расщепляется, освобождая кислород, который используется для тканевого дыхания.

Экстрактивными веществами мышц называются низкомолекулярные органические вещества, легко экстрагирующиеся из мышц в виде растворов. К ним относятся азотистые и безазотистые органические соединения. К азотистым экстрактивным веществам относятся различные аминокислоты и амины, нуклеотидфосфаты (АТФ, УТФ, ГТФ, ЦТФ), а также креатин, креатинфосфат, креатинин, карнозин, ансерин, карнитин и ряд других. Все вместе они составляют 0,3-0,5%. Наибольшее значение для функций мышц имеют АТФ, АДФ и креатинфосфат. Большая часть креатина в мышцах содержится в виде креатинфосфата. Во время работы мышц фосфат с креатинфосфата может переноситься на АДФ, в результате чего синтезируется АТФ. Креатин при этом превращается в креатинин. Таким образом, превращение креатинфосфата в креатинин является одним из источников синтеза АТФ в мышцах.

Содержание карнозина (бета-аланилгистидина) и ансерина (метилкарнозина) значительно увеличивается в мышцах в процессе тренировок. Трудоспособность мышц в определенной степени связана с наличием в них карнозина и ансерина. Вероятно, карнозин и ансерин принимают участие в окислительном фосфорилировании в мышцах.

Карнитин – триметилпроизводное  $\gamma$ -амино- $\beta$ -оксисампной кислоты, характеризуется высоким содержанием метильных групп. Карнитин является переносчиком ацилов через мембрану митохондрий мышечных клеток.

Глутаминовая кислота и глутамин также содержатся в мышечной ткани (до 200 мг%). Благодаря образованию глутамина связывается и обезвреживается аммиак, который образуется в мышцах во время работы.

К безазотистым экстрактивным веществам мышц относятся, в основном, углеводы и продукты их обмена. Больше всего в мышцах гликогена (у человека от 0,1 до 3,0%). Его количество увеличивается под воздействием тренировок. В мышцах всегда есть гексозофосфорные и триозофосфорные эфиры, молочная кислота и другие продукты гликолиза и аэробного обмена углеводов.

В настоящее время установлено, что энергопроцессом, связанным с работающим механизмом мышечного волокна, является распад АТФ с образованием АДФ и неорганического фосфата. Каким же образом мышечная клетка обеспечивает свой сократительный аппарат энергией? Каким образом в процессе мышечной деятельности происходит непрерывный ресинтез АТФ?

Прежде всего, ресинтез АТФ обеспечивается трансфосфорилированием АДФ с креатинфосфатом. Реакция катализируется креатинкиназой.

Такой путь ресинтеза АТФ является очень быстрым и максимально эффективным. Кроме креатинкиназного пути ресинтеза АТФ может синтезироваться в ходе аденилатциклазной реакции:



Запасы креатинфосфата в мышце невелики, поэтому расход креатинфосфата должен возмещаться синтезом АТФ в процессе метаболизма. Известны два фундаментальных биохимических процесса, в ходе которых регенерируются богатые энергией фосфорные соединения. Один из них – гликолиз. Другой – окислительное фосфорилирование. Наиболее эффективным является последний. При достаточном снабжении кислородом мышца, несмотря на анаэробный механизм сокращения, в основном, работает за счет энергии окисления цикла Кребса.

Креатинфосфат в мышечной ткани не только выполняет роль депо макроэргических фосфатных групп, но и играет транспортную роль для макроэргических фосфатных связей, образующихся в процессе тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования.

При работе умеренной интенсивности мышца может покрывать свои энергетические затраты за счет аэробного метаболизма. Однако при больших нагрузках, когда снабжение кислородом отстает от потребности в нем, мышца использует гликолитический путь снабжения энергией.

При интенсивной мышечной работе скорость расщепления гликогена или глюкозы с образованием молочной кислоты увеличивается в сотни раз. Последняя с током крови поступает в печень, где ресинтезируется в глюкозу или гликоген.

Перечисленные механизмы ресинтеза АТФ при мышечной деятельности включаются в строго определенной последовательности. Наиболее экстренным является креатинкиназный механизм и лишь через 20 секунд интенсивной работы начинается усиление гликолиза. При более длительной работе и менее интенсивной, все большее значение приобретает аэробный путь ресинтеза АТФ.

Общим для большинства заболеваний мышц (в том числе мышечные дистрофии, атрофии мышц в результате их денервации) является резкое снижение в мышцах содержания миофибриллярных белков, возрастание концентрации белков стромы и некоторых белков саркоплазмы (миоальбумина). Наряду с этим наблюдается снижение концентрации АТФ и креатинфосфата.

При прогрессирующих мышечных дистрофиях, связанных с распадом мышечной ткани, отмечается сдвиг в фосфолипидном составе мышц: снижается уровень фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина и повышается концентрация сфингомиелина и лизофосфатидилхолина. Наблюдается также нарушение метаболизма креатина и его усиленное выделение с мочой (креатинурия).

Мышечная дистрофия и атрофия проявляется в постепенной гибели мышечных клеток и замене их соединительной тканью. Это происходит в результате действия кислых гидролаз, особенно, протеиназ, освобождающихся из лизосом. Усиленный распад мышечных белков (атрофия мышц) наблюдается при денервации мышц, сопровождающейся иммобилизацией мышц, Е-авитаминозом.

Е-авитаминоз, наблюдаемый при атрофии мышц, связан, по-видимому, с повреждением мембран мышечных лизосом продуктами перекисного окисления липидов, которое в отсутствии антиоксиданта (витамина Е) происходит более активно.

### **16.5. Биохимия нервной системы**

Нервная ткань имеет общие черты, присущие клеткам любой ткани, а с другой стороны, ее специфичность определяется характером выполняемых функций.

Нервная ткань состоит из трехклеточных элементов:

- 1) нейронов (нервных клеток);
- 2) нейроглии – системы клеток, окружающих нейроны в головном и спинном мозге;
- 3) мезенхимных элементов.

Нейрон состоит из тела клетки, множества ветвящихся коротких отростков – дендритов, и одного длинного отростка – аксона, длина которого достигает нескольких десятков сантиметров.

Большее половины поверхности нейрона занята синапсами. Дендриты и аксоны служат для проведения нервного импульса. Работа мозга сводится к расшифровке информирующих афферентных импульсов и созданию управляемых эфферентных импульсов.

Межмолекулярные механизмы возникновения и проведения нервного импульса лежат в основе интегральных функций мозга.

Структурной основой нервной клетки является субстанция Ниссля, которая построена из рибонуклеиновых кислот и белков. В цитоплазме нейронов обнаружена тонкая сеть нейрофибрилл – линейно ориентированных белковых молекул.

Аксоны нервных клеток образуют нервные волокна. Последние могут быть миелиновыми и безмиелиновыми. Проводниковая часть нервной системы и ЦНС состоят из миелиновых волокон. Они функционально более совершенны и обладают высокой скоростью проведения нервных импульсов.

Миелин (или миелиновые вещества) – это наслаивающиеся на нервные отростки мембраны клеток нейроглии. По химическому составу это сложный белково-липидный комплекс.

Серое вещество головного мозга состоит из нейронов, а белое вещество – из аксонов. Эти отделы мозга отличаются и по химическому составу. В сером веществе белки составляют половину плотных веществ, а в белом – одну треть. Липиды в белом веществе составляют половину, а в сером – 30%.

В нервной ткани содержатся как простые, так и сложные белки. К простым белкам относятся нейроальбумины и нейроглобулины, а также нейросклеропротеины и некоторое количество гистонов. Нейроальбумины входят в состав фосфопротеидов нервной ткани и находятся, как правило, в связанном состоянии с липидами, углеводами, нуклеиновыми кислотами.

Нейросклеропротеины – это структурно-опорные белки, локализованные, в основном, в периферической нервной системе и в белом веществе мозга.

Сложные белки нервной ткани представлены липопротеидами, нуклеопротеидами, фосфопротеидами и гликопротеидами. В ткани мозга содержатся особые надмолекулярные образования: липогликонуклеопротеиновые комплексы, а также липогликопротеины и липонуклеопротеины.

В ткани мозга обнаружено большое количество ферментов, которые катализируют обмен белков, липидов и углеводов. В кристаллическом виде выделены креатинкиназа, ацетилхолинэстераза. Некоторые ферменты нервной ткани существуют в нескольких изоферментных формах. Например, альдолаза, лактатдегидрогеназа, гексокиназа.

Минеральные вещества (Na, K, Cu, Fe, Ca, Mn, Mg) равномерно распределены между серым и белым веществом. Количественное соотношение неорганических катионов и анионов в мозговой ткани свидетельствует о дефиците анионов, который, возможно, покрывается за счет липидов. Предполагают, что участие липидов в ионном балансе – это одна из функций липидов в деятельности головного мозга.

Возникновение и проведение нервного импульса в эксперименте наблюдали в изолированном аксоне кальмара. Основной механизм мембраны аксона, создающей нервный импульс – это натриевый насос (иначе – Na, K-АТФаза), а также два типа проводящих каналов – натриевые каналы и калиевые каналы. Все три структуры построены из специальных белков и функционально связаны друг с другом.

В состоянии покоя внутренняя сторона клеточной мембраны нервной клетки заряжена электроотрицательно по отношению к наружной поверхности. Объясняется это тем, что количество ионов натрия, выкачиваемое натриевым насосом, не вполне уравнивается поступлением в клетку ионов калия. При этом часть ионов натрия удерживается слоем антиионов (анионов) на наружной поверхности клеточной мембраны.

Таким образом, если электрохимический трансмембранный градиент равен нулю, то распределение зарядов неравномерно: внутри аксона образуется избыток электроотрицательных зарядов, а снаружи – избыток положительных,

т.е. возникают трансмембранная разность электрических потенциалов – т.н. «потенциал покоя».

Раздражение нерва тем или иным агентом селективно изменяет проницаемость нервной клетки (аксона), увеличивается проницаемость (в 500 раз) для ионов натрия и остается без изменений для ионов калия. В результате ионы натрия устремляются внутрь клетки. Компенсирующий поток калия наружу из клетки несколько запаздывает. Это приводит к возникновению отрицательного заряда на наружной поверхности клеточной мембраны и возникает потенциал действия (или Спайк). Продолжительность спайка не превышает 1 мс. Спайк имеет восходящую фазу, пик и нисходящую фазу. Падение потенциала в период нисходящей фазы связан с усиленным выходом ионов калия над поступлением ионов натрия. В это время мембранный потенциал возвращается к норме (происходит деполяризация нейрона). После проведения импульса в клетке восстанавливается состояние покоя. Ионы натрия, вошедшие в нейрон при возбуждении, заменяются на ионы калия. Переход ионов натрия происходит против градиента концентрации и осуществляется с помощью натриевого насоса и требует затраты энергии АТФ. Восстанавливается концентрация ионов натрия и калия в клетке. Нерв снова готов для получения следующего импульса возбуждения,

Другим важным вопросом является синаптическая передача нервного импульса от одной нервной клетки к другой или воздействие на клетки эффекторного органа. Потенциал действия, возникнув в одном участке аксона вследствие диффузии ионов из этого участка вдоль волокна, снижает потенциал покоя в соседнем участке и вызывает здесь развитие потенциала действия.

Потенциал действия, возникнув в одном месте, проходит весь аксон и достигает воспринимающей клетки. Потенциал действия в таком качестве называется нервным импульсом.

Связь множества нейронов в высших отделах центральной нервной системы осуществляется посредством медиаторов. Наиболее классическими медиаторами являются ацетилхолин и норадреналин. Содержащие их нервы соответственно называются холинэргическими и адренэргическими, а эфферентные системы делят на холинорецепторы и адренорецепторы.

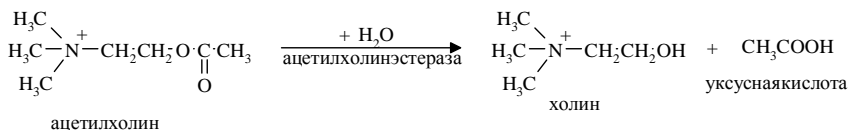
В синапсах нервных окончаний имеются пузырьки (везикулы), которые содержат медиаторы. При возбуждении выход медиатора из пузырька происходит «квантами», т.е. до полного опорожнения пузырька. Количество медиатора в 200 квантов достаточно для возбуждения «потенциала действия» в постсинаптическом нейроне.

Схема синаптической передачи следующая. Деполяризация мембраны вызывает быстрый ток ионов кальция в клетку. Увеличение внутриклеточной концентрации ионов кальция стимулирует слипание синаптических пузырьков с плазматической мембраной. Так запускается процесс высвобождения их со-

держимого. Для выброса содержимого одного пузырька требуется примерно 4 иона кальция.

Белок-хеморецептор в составе постсинаптической мембраны взаимодействует с выделившимся в синаптическую щель медиатором – ацетилхолином. В результате резко увеличивается пропускная способность мембраны для ионов натрия. Таким образом, взаимодействие между рецептором и медиатором стимулирует целый ряд реакций, заставляющих постсинаптическую нервную клетку или клетку эффектора исполнять свою специфическую функцию.

После выделения медиатора (ацетилхолина) следует этап его быстрого удаления и инактивирования, что подготавливает синапс к восприятию нового импульса. Инактивация ацетилхолина происходит ферментативным гидролизом. Фермент – ацетилхолинэстераза:



Второй путь инактивации – это активный транспорт ацетилхолина в нейрон, где он накапливается для повторного использования.

В адренорецепторах существует два вида рецепторов для норадреналина:  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренергические рецепторы. Они отличаются по специфическим реакциям, которые вызывают, и агентам, которые способны блокировать данные реакции.

$\beta$ -адренергические рецепторы включают эффекторную клетку с помощью цикл-АМФ, а  $\alpha$ -адренергические рецепторы – цикл-ГМФ, которые, в свою очередь, оказывают влияние на последующий метаболизм клетки.

В метаболизме катехоламинов (норадреналин, серотонин, адреналин, дофамин) особая роль принадлежит ферменту моноаминоксидазе (МАО), который удаляет аминогруппы и тем самым инактивирует вышеперечисленные медиаторы.

Есть и другой механизм их инактивации в результате вторичного поглощения синаптическими нервами. Медиатор при этом теряет способность воздействовать на постсинаптические клетки.

Адренергическая и холинэргическая система головного мозга взаимодействуют с другими системами мозга, использующими серотонин в качестве медиатора.

Серотонин взаимодействует со специфическими рецепторами и, как предполагают, влияют на процессы сна.

Другим важным нейромедиатором является ГАМК. Ее количество во много раз выше, чем других нейромедиаторов.



Медиаторные функции в синапсах нейронов выполняют также специфические пептиды мозга. Известно несколько десятков пептидов мозга. Иногда они совмещают медиаторные и гормональные функции, т.е. передают информацию через циркулирующие жидкости организма. Энкефалины и эндорфины имеются в спинном мозге, в нейронах, воспринимающих боль, регулирующих эмоции. Они образуются в результате гидролиза белка пропiomеланокортина. Известны две формы холецистокинина. Один построен из 33 аминокислот, другой – из 8-ми. Холецистокинин имеется в ткани как мозга, так и в ткани кишечника.

Вещество Р (содержит 11 аминокислот) находится в сенсорных нейронах спинного мозга, где функционирует как медиатор. В ткани кишечника он выполняет функции местного гормона.

Ангиотензин II (содержит 8 аминокислот) регулирует водно-солевой обмен и объем циркулирующей жидкости. Он оказывает прямое вазопрессорное действие, регулирует кровяное давление.

Либерины и статины секретируются в гипоталамусе, проходят небольшой путь до гипофиза, стимулируют или ингибируют секрецию гормонов гипофизарными клетками.

Каналы, соединяющие гипоталамус с гипофизом, можно рассматривать как растянутые синапсы, а либерины и статины – как медиаторы в этих синапсах.

Память – это свойство всего мозга в целом. Субстратом ее являются нейроны. Память нельзя рассматривать в отрыве от деятельности человека. В эксперименте показано, что обучение животных новым навыкам связано с изменением химизма клеток мозга (нейронов): меняется степень фосфорилирования ядерных белков, степень метилирования ДНК. Применение веществ, стимулирующих синтез РНК, облегчает обучение. Запоминание информации сопровождается изменением антигенного состава мозговой ткани. Память – это цепь процессов, в которой рибонуклеопотеиды играют существенную роль. Биохимической основой генетической памяти являются ДНК-клетки.

Система нейрологической памяти включает в себя кратковременную память и долговременную память.

Афферентная импульсация, приходящая в нейроны во время обучения, вызывает активацию синтеза РНК и белка, что приводит к установлению новых синаптических связей. Вновь синтезированные молекулы нуклеиновых кислот являются хранилищем информации.

## 17. Фармацевтическая биохимия

### 17.1. Общая характеристика

Развитие фармации тесно связано с познанием фундаментальных биохимических процессов в организме и разработкой биохимических методов изучения его жизнедеятельности и реакций на воздействие лекарственных средств.

Фармация активно использует достижения, методологию и методы современной биохимии.

Биохимические исследования используются при решении таких вопросов технологии лекарств как биологическое обоснование эффективности различных лекарственных форм лечебного средства или комбинации средств, их эффективности действия; таких вопросов фармацевтической химии как разработка биохимических методов стандартизации и контроля качества лекарств, анализа производства лекарственных веществ; таких вопросов фармакологии и токсикологической химии как поиск новых лекарственных средств, оценка эффективности и токсичности лекарств и ядов, изучение механизма их действия на основе исследования их превращения и влияния на биохимические процессы в организме.

Вся эта совокупность биохимических знаний, необходимых для решения фармацевтических задач, объединяется специальной областью биохимии – фармацевтической биохимией.

Биохимические исследования широко используются государственной системой контроля качества лекарств для оценки специфической активности, побочного действия и клинической эффективности аутобиогенных лекарств, относящихся к группе природных биорегуляторов (гормоны, гормонотиды, витамины, ферменты, биогенные амины и т.д.). Биологические и биохимические методы используются, если физико-химические анализы оказываются недостаточно точными. Для ряда препаратов, например, белково-пептидных гормонов, ферментов, приемлема только биологическая стандартизация, поскольку содержание этих белков в образцах препаратов, определенное любыми химическими методами анализа, не позволяет оценить их биологическую активность. Это объясняется тем, что активны только нативные белки, а при выделении, приготовлении лекарственных препаратов, при их длительном хранении нативность может быть утрачена, что приводит к потере биологической активности при том же содержании белка.

В этой связи стандартизация, к примеру, инсулина, проводится по снижению им содержания глюкозы в крови, кальцитонина – по снижению содержания кальция в крови, паратгормона – по повышению кальция в крови, корти-

котропина – по снижению количества аскорбиновой кислоты и холестерина в надпочечниках и т.д.

Методы эти длительны и сложны. Так, определение активности инсулина проводят на кроликах, которых предварительно в течение двух недель выдерживают на специальной сбалансированной диете, затем дважды, с интервалом в 7-8 дней, проводят пробу на чувствительность к инсулину: после 18-часового голодания вводят препарат подкожно (0,4 ЕД/кг) и определяют сахар в крови через 1 и 2,5 часа. Из дальнейших опытов исключаются животные с исходной концентрацией сахара в крови ниже 75 мг% и выше 120 мг%, а также реагирующие на указанную дозу инсулина судорогами или дающие снижение концентрации сахара менее чем на 15%. Оставшихся животных методом случайного выбора разбивают на две группы (не менее 9) и не ранее, чем через 8 дней после испытания на чувствительность, проводят определение биологической активности. Для этого вводят под кожу по 0,5 ЕД/кг инсулина: одной группе животных стандартный препарат, другой – испытуемый, затем определяют сахар в крови. Через 5 дней проводят повторные испытания, но уже первой группе вводят испытуемый препарат, а второй – стандартный. Рассчитывают среднюю величину снижения сахара на стандартный (% S) и испытуемый (% T) препараты, определяют коэффициент  $R = \frac{\% S}{\% T}$  и рассчитывают активность

испытуемого препарата. Определение проводят не менее двух раз с каждым испытуемым образцом. Таким образом, на определение биологической активности инсулина уходит не менее месяца.

Последние достижения в области энзимологии, развитие методов иммуноферментного и радиоиммунологического анализов позволили существенно усовершенствовать биохимические методы стандартизации и контроля качества лекарственных веществ. Для определения в крови и моче ряда природных лекарственных веществ (например, гормонов) и лекарств – чужеродных веществ (кодеина, морфина, барбитуратов и др) стали, к примеру, с успехом использовать иммуноферментный и радиоиммунологический методы, основанные на анализе взаимодействия антиген-антитело. Оба метода обеспечивают высокую специфичность и чувствительность анализа.

Развитие прикладных областей биохимии, молекулярной биологии и биологии клетки, молекулярной генетики, существенно изменило способы получения целого ряда лекарственных препаратов, обеспечило бурное развитие фармацевтической биотехнологии. В фармацевтической биотехнологии достигнуты ощутимые успехи в области микробного синтеза лекарственных веществ, получения и применения ферментов для медицинских целей и в фармацевтической промышленности, в области генно-инженерной биотехнологии лекарственных средств.

В настоящее время широкое применение для лечения и профилактики различных заболеваний находят препараты ферментов и их ингибиторов. Внедрение энзимотерапии в медицинскую практику обеспечили успехи в разработке совершенных методов препаративного выделения высокоочищенных препаратов ферментов и их ингибиторов, пригодных для медицинских целей. Ферментные препараты используют:

- 1) в качестве неспецифических лечебных средств, преимущественно для удаления нежизнеспособных тканей;
- 2) с целью тромболитической терапии при парентеральном применении, а также при неспецифической противовоспалительной терапии;
- 3) в качестве заместительной терапии, направленной на возмещение дефицита какого-либо фермента, возникающего при некоторых заболеваниях;
- 4) наконец, используют ингибиторы ферментов, при этом наиболее часто используют тканевые ингибиторы протеаз (трасилол, инипрол, контрикал и др.). Ингибиторы используют, в частности, при фибринолитических кровотечениях.

В фармации контроль качества ферментных препаратов осуществляется путем определения единиц каталитической активности, содержащихся в единице массы ферментного препарата. Об активности фермента судят по количеству превращенного субстрата или образовавшегося продукта реакции за определенный промежуток времени. При этом определение активности фермента следует вести в стандартных условиях, т.е. при насыщающих концентрациях субстрата, оптимуме pH среды и постоянной температуре, которые должны поддерживаться в течение всего периода наблюдения. Измерять активность фермента нужно только в начальный отрезок времени, когда реакция протекает линейно.

Наряду с энзимотерапией, ферменты используют как аналитические реагенты.

В фармацевтической промышленности в качестве аналитических реагентов часто применяют иммобилизованные ферменты. Иммобилизованные ферменты входят как ведущий рабочий компонент в автоматические проточные анализаторы и специальные ферментные электроды, которые используются для анализа лекарственных веществ в процессе их производства. С помощью таких систем налажено автоматическое определение этанола, мочевины, глюкозы, пенициллина, некоторых токсических веществ.

Иммобилизованные ферменты все более широко применяются в фармацевтической промышленности для синтеза лекарственных веществ. В частности, для получения полусинтетических пенициллинов используют иммобилизованную пенициллинамидазу, для получения стероидных гормонов кортизо-

ла, преднизолона – иммобилизованные стероидгидроксилазу и стероиддегидрогеназу.

Одним из направлений фармацевтической биотехнологии является микробный синтез лекарственных веществ. Изучение многочисленных биохимических реакций, присущих микроорганизмам, обеспечило выделение из клеток бактерий и грибов вторичных метаболитов, на основе которых созданы гипотензивные, противовоспалительные и противопаразитарные средства. Следует отметить, что микроорганизмы являются наиболее богатыми источниками ингибиторов ферментов, потенциально пригодных для фармакологических целей. Среди них получен, в частности, мевалонил, на основе которого создан препарат мисклерон – противоатеросклеротический препарат, являющийся конкурентным ингибитором  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарил-КоА-редуктазы печени.

Среди фармакологически активных соединений, синтез которых осуществляется микробными клетками, особо следует отметить антибиотики, а также противогрибковые агенты, противоопухолевые препараты и алкалоиды.

Важнейшим направлением получения лекарственных средств является генно-инженерная биотехнология, основывающаяся на методах рекомбинантных ДНК.

Согласно определению ЮНЕСКО, рекомбинантными ДНК называются молекулы ДНК, полученные *in vitro* путем соединения природных или синтетических фрагментов ДНК с молекулами ДНК, способными реплицироваться в клетке. Основу эксперимента составляет встраивание природной или чужеродной ДНК в вектор, который представляет собой бактериальную плазмиду или геном вируса. Затем с помощью вектора рекомбинантную ДНК вводят в клетку (чаще всего в *E. Coli*), где она реплицируется. Бактериальная клетка, содержащая такую ДНК, размножается, образуя клон трансформированных клеток, способных образовывать специфические белки (закодированные в ДНК) в больших количествах, которые и используются в качестве источника для получения лечебного средства. В настоящее время с помощью генно-инженерной технологии осуществляется производство инсулина, соматостатина, соматотропина, интерферона и др.

Биохимические исследования также лежат в основе создания новых эффективных лекарственных форм лечебных средств, в основе разработки способов повышения биодоступности лекарств. В последнее время все большее распространение приобретает получение и применение препаратов, представляющих собой иммобилизованные ферменты на биологически совместимых деградирующих в тканях полимерах. Такие лекарственные формы успешно применяются в качестве противоопухолевых, антиоксидантных, иммуномодулирующих, фибринолитических препаратов.

Большие перспективы открываются в разработке и использовании лекарственных форм с направленным транспортом в зону поражения, в ткани-мишени. С этой целью используют связывание лекарственного вещества с растворимым полимером высокой молекулярной массы, что приводит к накоплению лекарства в почечных канальцах. Используют связывание лекарственного вещества с системой, высвобождающей лекарство в зоне с кислой рН и повышенной температурой, что свойственно очагу воспаления. Используют лекарственную форму с магнитонаправленным транспортом. Используют связывание лекарственного вещества с молекулами-векторами, для которых определённый орган или клетки являются естественной мишенью, т.е. с гормонами, ферментами, гликолипидами, гликопротеидами и, особенно, иммуноглобулинами (т.е. антителами против компонентов – антигенов органа-мишени).

Наконец, используют включение лекарственных веществ (в том числе – ферментов) в микроконтейнеры – микрокапсулы, «тени» клеток, липосомы с последующей иммобилизацией векторных молекул на наружной поверхности микроконтейнера, что повышает адресность таких микроконтейнеров.

Наиболее многообещающими по сравнению с другими возможными носителями представляются липосомы, поскольку они легко метаболизируются в организме, а также обладают большим разнообразием механизмов взаимодействия с биологическими объектами, поскольку возможно огромное разнообразие их состава, размеров и других структурно-функциональных параметров. Их легко изготовить, что также немаловажно.

Липосомы представляют собой микроскопические пузырьки, стенки которых образованы бислоями полярных амфифильных липидов: глицерофосфолипидов, сфингомиелинов и др. Лекарственные вещества могут взаимодействовать и связываться несколькими областями липосом. Высоко полярные небольшие молекулы растворенных лекарственных веществ включаются во внутреннее водное пространство липосом. Неполярные молекулы включаются внутрь фосфолипидного бислоя. Амфипатические лекарства связываются углеводородными остатками оболочки липосом. Макромолекулы, особенно белки, часто ассоциируют с поверхностью липосом. Взаимодействие липосом с клетками – процесс сложный, еще недостаточно изученный. Доказано в опытах на культуре клеток, что липосомы могут адсорбироваться на поверхности клеток, включаться внутрь клеток путем эндоцитоза, сливаться с плазматической мембраной.

При внутрисосудистом введении мультимеллярных липосом *in vivo*, они захватываются, в основном, клетками ретикуло-эндотелиальной системы селезенки и печени, в меньшей мере – клетками легких, практически не поступая в другие клетки, так как не способны преодолевать сосудистые барьеры. Малые мономеллярные липосомы способны пересекать стенки капилляров кровеносной и лимфатической систем. Словом, место включения липосом за-

висит от их строения (т.е. заряда, размера, состава) и способа их введения (перорального, внутривенного или подкожного).

Для повышения избирательности, адресности действия препаратов, помещаемых в липосомы, в липидную оболочку липосом встраивают векторные молекулы (к примеру – антигены к антителам определенных тканей).

Применение липосом в настоящее время в медицине осуществляется для заместительной ферментотерапии (в частности, для лечения лизосомальных заболеваний), для химиотерапии рака, для лечения некоторых паразитарных заболеваний, для внутрисуставного ревматоидного артрита и др. Список лекарств, которые так или иначе связаны с липосомами, включает более 300 наименований, что свидетельствует о перспективности этой лекарственной формы.

При создании новых лекарственных препаратов, для изучения их фармакологических и токсикологических свойств обязательно применяются разнообразные биохимические методы в экспериментах на нормальных животных и животных с экспериментальными моделями различных патологий. При этом оказалось, что экспериментальные исследования не могут предоставить полную информацию о новых лекарственных средствах, гарантирующих отсутствие нежелательных биохимических реакций при последующем применении этих средств у больных людей. Это связано в ряде случаев со значительными различиями в чувствительности рецепторов к лекарственному веществу и в различии метаболизма лекарств у человека и животных. Последнее повлекло необходимость проведения клинко-биохимических исследований на людях – добровольцах при испытании лекарственных средств, что позволяет уточнить многие экспериментальные биохимические данные и выявить специфические для человека метаболические эффекты лекарственных веществ.

Для проведения испытаний лекарственных средств создаются специальные биохимические программы, которые предусматривают несколько этапов исследований.

Таким образом, биохимия служит фундаментом биофармации – этой теоретической основы технологии лекарств. Биофармация призвана раскрывать взаимосвязь между лекарственным веществом, его лекарственной формой и лечебным эффектом.

Лекарственное вещество, поступившее в организм, проходит в организме сложный путь для того, чтобы осуществился лечебный эффект. Вначале на стадии введения лекарство должно быть освобождено из лекарственной формы, в которую оно облечено (таблетки, мази и т.д.) и пройти путь до намеченного места всасывания. Затем лекарственное вещество всасывается, т.е. транспортируется через биомембраны, подчиняясь законам диффузии, фильтрации, активного транспорта. При этом на кинетику диффузии и фильтрации оказывает влияние как фармацевтические факторы (например, сопровождающие

поверхностноактивные вещества, механическая прочность таблеток и т.д.), так и биохимические факторы, такие как состояние клеточных мембран, ферментативная активность клеток и т.д. Еще большая роль биохимических факторов проявляется на последующих стадиях, когда лекарственное вещество распределяется в жидкостях и тканях, взаимодействуя с рецепторами, подвергается превращению и выведению из организма.

Знания биохимических основ всасывания лекарственных веществ, их распределения в организме, превращения и выделения из организма, необходимые для биофармации, и служат предметом для всестороннего изучения фармацевтической биохимией.

Разбор вопросов фармацевтической биохимии начнем с указания, что все лекарства делятся по отношению к организму человека на аутобиогенные и чужеродные (ксенобиотики).

Действие и превращения аутобиогенных препаратов полностью включается в реакции межклеточного обмена веществ и поэтому подробно говорить об этом нет необходимости. Остановимся в основном, на судьбе лекарств – ксенобиотиков.

Ксенобиотиками или чужеродными веществами называются природные или синтетические вещества, не используемые в организме как источники энергии и структурные компоненты тканей.

### ***17.2. Лекарства как чужеродные соединения, их судьба в организме***

К чужеродным соединениям или ксенобиотикам относятся инсектициды, пестициды, консерванты, отходы промышленных предприятий, продукты бытовой химии и другие вещества, которые могут попасть в организм человека с пищей или другими путями. К их числу относятся также многие лекарственные вещества, так как большинство лекарственных веществ синтетического происхождения, многие лекарственные вещества растительного происхождения и некоторые вещества минерального происхождения являются для организма чужеродными.

Являясь чужеродными для нормальных метаболических путей и обладая зачастую в то же время биологической активностью, эти вещества могут изменять и нарушать нормальное течение обменных процессов, вызывать отравление и смерть, а в условиях патологии при нарушении обмена веществ некоторые из них в ряде случаев могут нормализовать метаболизм и тем самым обусловить выздоровление больного. Последнюю группу ксенобиотиков относят к лекарственным веществам.

Организм обладает защитными биохимическими механизмами, которые способны в определённой мере нейтрализовать активность чужеродных со-



единений в процессе их метаболизма путем дезинтоксикации, инактивации и ускорить их выведение из организма. Дезинтоксикация, инактивация происходят, главным образом, в печени (частично – в легких, желудочно-кишечном тракте, почках и коже). Инактивация осуществляется с помощью разнообразных ферментативных реакций превращения веществ, приводящих к образованию менее токсичных и более растворимых в воде соединений, что облегчает последующее выведение их из организма с мочой.

Во взаимодействии лекарств с организмом, в судьбе лекарственных веществ, поступивших тем или иным путем в организм (через желудочно-кишечный тракт, через дыхательные пути, через кожу и др.) следует различать несколько этапов:

- 1) всасывание, т.е. транспорт через биологические мембраны;
- 2) перенос с кровью;
- 3) распределение в жидкостях и тканях;
- 4) связывание с белками;
- 5) метаболизм;
- 6) взаимодействие с рецепторами;
- 7) выведение из организма.

### **17.3. Всасывание лекарственных веществ**

Характер первого этапа взаимодействия лекарственных веществ с организмом (всасывания) определяется в значительной мере способом введения и характером лекарственных форм. В частности, быстрое поступление лекарства в кровь происходит при парентеральном способе введения его водных растворов. При приеме лекарства внутрь всасывание происходит более медленно по сравнению с парентеральным. При всасывании лекарственных веществ из прямой кишки и ротовой полости отсутствует их взаимодействие с желудочным и кишечным соками и вещества поступают в кровоток частично минуя печень. Следует заметить, что последний способ введения используется при назначении препаратов быстро инактивирующихся в печени (например, таблетки дезоксикортикостерона ацетата и др.).

Процесс всасывания лекарственных веществ представляет собой их транспорт из места введения во внутренние среды организма, ограниченные барьерными мембранами.

Прежде чем достигнуть своего рецептора, лекарственное вещество должно проникнуть через различные биологические мембраны: желудочно-кишечные, почечно-канальцевые, кожные, эпителиальные, клеточные и субклеточные. Эти биологические мембраны могут быть представлены несколькими слоями клеток (кожа, плацента), одним слоем клеток (кишечный эпителий, печеночная паренхима), молекулярными слоями (клеточные и субклеточные

мембраны). В зависимости от числа и характера клеточных и молекулярных слоев биологические мембраны имеют различную проницаемость для лекарственных веществ. При этом перенос в одном направлении обозначается как всасывание, а в противоположном – как выделение. В основном, лекарственным веществам приходится преодолевать клеточные мембраны.

Основу клеточных мембран составляют бимолекулярный липидный слой с ориентированными в обе стороны полярными группами, на поверхности которых и между слоями липидов находятся белковые молекулы. Мембрану в целом можно рассматривать как липопротеиновую структуру, поддерживаемую за счёт гидрофобных и полярных связей. Общая толщина клеточных мембран составляет 6,0-10,0 нм и состоит примерно на 60% из белка и 40% липидов. Мембрана пронизана порами диаметром 0,35-0,4 нм. В состав мембран входят также вода, молекулы которой заполняют мембранные поры и могут занимать пространство между слоями белка и липидов. Как поверхность мембраны, так и входы в поры несут заряд. Особенности строения биологических мембран имеют большое значение для транспорта лекарственных веществ через мембраны.

Установлены четыре механизма транспорта веществ через биологические мембраны:

- 1) пиноцитоз,
- 2) активный транспорт,
- 3) простая диффузия,
- 4) облегченная диффузия,
- 5) фильтрация.

Пиноцитоз заключается в поглощении частиц транспортируемого вещества (диаметром не более 750 нм) путем инвагинации (впячивания) поверхности биомембраны с последующим образованием везикулы (вакуоли) вокруг вещества как при фагоцитозе. Содержимое везикулы высвобождается затем в плазму или внутриклеточное пространство.

Активный транспорт представляет собой перенос соединений через мембраны с помощью специфических носителей (переносчиков), ферментативной природы, локализующихся в клеточных оболочках и требующих затраты энергии, черпаемой из процессов окислительного фосфорилирования. Носители обладают избирательным сродством преимущественно к нормальным метаболитам и ионам, присущих данному организму. Перенос может осуществляться против градиента химической концентрации вещества, т.е. может идти из среды с низкой концентрацией переносимого вещества в среду с более высоким его содержанием.

Простая диффузия и фильтрация иногда объединяются общим понятием: пассивный транспорт. В этом случае перемещение веществ происходит за счет

простой диффузии через липидную основу мембраны под действием осмотических сил, т.е. градиента концентрации веществ при растворении веществ в липидах или путем фильтрации через поры оболочек при растворении их в воде. Путем фильтрации транспортируются небольшие гидрофильные молекулы диаметром менее 0,4 нм, поэтому через поры проникает вода, некоторые ионы (хлор и др.), а также мелкие гидрофильные молекулы, например, мочевины. Пассивный транспорт происходит без расхода энергии и осуществляется в направлении градиента концентрации (т.е. в сторону среды с меньшим содержанием транспортируемого вещества) и продолжается до полного выравнивания концентраций вещества по обе стороны мембраны, т.е. достижения термодинамического равновесия.

Для подавляющего большинства лекарственных веществ основным механизмом переноса через мембрану служит простая диффузия.

Скорость простой диффузии прямо пропорциональна разности концентраций вещества между клеткой и окружающей средой ( $C_1 - C_2$ ), площади поверхности переноса ( $A$ ), коэффициенту диффузии ( $K$ ) транспортируемого вещества и обратно пропорциональна толщине мембраны ( $\alpha$ ). Это соотношение, обозначаемое как закон Фика, можно выразить формулой:

$$V \text{ (скорость диффузии)} = K \frac{A(C_1 - C_2)}{\alpha}$$

Коэффициент диффузии переносимого вещества зависит от его молекулярной массы, пространственной конфигурации, степени ионизации и растворимости в липидах.

Установлено, что с помощью простой диффузии через мембраны легко проникают только жирорастворимые, не ионизированные молекулы. Поэтому ксенобиотики – неэлектролиты транспортируются через мембраны в соответствии с их растворимостью в липидах, а электролиты – в соответствии со степенью их ионизации и растворимости в липидах их неионизированных молекул. Через мембрану путем простой диффузии проникают также малые биомолекулы: вода,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ , некоторые ионы, глюкоза и, возможно, другие биомолекулы. Помимо простой диффузии различают облегченную диффузию, отличающуюся тем, что она происходит с подвижным переносчиком, который локализован в мембране. Полагают, что путем облегченной диффузии проникают чужеродные для организма вещества полярной природы по градиенту их концентрации без затраты энергии.

Нерастворимые в липидах полярные молекулы ксенобиотиков могут проникать внутрь клетки только в случае, если они смогут пройти через узкие поры клеточной мембраны путем фильтрации или путем активного транспорта (с помощью транспортных ферментных систем). Крупные липидонерастворимые

молекулы могут оказать действие в межклеточном пространстве и на клеточные мембраны.

Большинство лекарственных веществ представляют собой слабые кислоты (ацетилсалициловая кислота, сульфаниламиды, снотворные и др.) или основания (эфедрин, теofilлин и др. алкалоиды) и при физиологических значениях pH лишь слабо ионизированы. Ионизированные формы лекарственных веществ хорошо растворимы в воде и плохо – в липидах, поэтому они практически не переходят через мембраны путем диффузии. Напротив, неионизированные формы лекарственных веществ хорошо растворимы в липидах и плохо – в воде, поэтому они легко проникают через мембраны путем диффузии. Степень ионизации и перенос лекарственных веществ во многом зависит от различий в величине pH среды по обеим сторонам мембраны. Так, в кислой среде желудка алкалоиды – слабые основания – находятся в ионизированной форме, тогда как в крови (pH=7,4) они находятся преимущественно в неионизированной форме. Поэтому всасывание эфедрина, теofilлина и др. алкалоидов – слабых оснований – в желудке не происходит, а даже наблюдается некоторое их диффундирование из крови через слизистую оболочку желудка в желудочный сок. Однако, перейдя в кишечник с его средой, близкой к нейтральной реакции, эти вещества становятся слабо ионизированными и легко всасываются.

Сравнительно небольшое число лекарственных веществ относится к сильным основаниям или кислотам, к примеру – курареподобные средства, некоторые ганглиолитики, антибиотики и др. Эти вещества при физиологических значениях pH полностью ионизированы и поэтому практически не всасываются путем диффузии, а переносятся путем активного транспорта, облегченной диффузии или фильтрации. Липотропные неэлектролиты (алкоголи, диэтиловый эфир, хлороформ и др.) легко проникают через липопротеиновые мембраны. Нерастворимые в липидах неэлектролиты проникают через мембраны путем медленной фильтрации с водой через мембранные поры или путем активного транспорта (например, глюкоза).

Описанные закономерности справедливы для транспорта через биологические мембраны для большинства лекарственных веществ и имеют большое значение для всасывания и распределения их в организме.

Особо следует остановиться на всасывании лекарственных веществ из желудочно-кишечного тракта. Слизистая оболочка кишечника является специализированным органом всасывания. Всасывание лекарственных веществ происходит, главным образом, в тонком и толстом кишечнике. Водорастворимые лекарственные вещества всасываются в кровь воротной вены, затем поступают в печень, а оттуда в общий ток кровообращения. Жирорастворимые лекарственные вещества всасываются в лимфатические сосуды, проходят лимфатические узлы, поступают в общий лимфатический проток, а затем в

общую систему кровообращения, минуя, в основном, печень. При этом в процессе всасывания осуществляются процессы фильтрации, диффузии и активного транспорта. Вещества, не растворимые в жирах и воде, не всасываются. Некоторые нерастворимые частицы могут проникать в лимфатическую систему из кишечника путем пиноцитоза. В слизистой оболочке кишечника происходит частичная метаболизация некоторых лекарственных веществ (к примеру, сульфаниламидов).

Всасываемость лекарственных веществ в желудочно-кишечном тракте зависит от ряда факторов:

- 1) физических (степени дисперсности препарата и его растворимости, температуры);
- 2) химических (наличие или отсутствие в молекуле вещества заряда – полярные или нейтральные молекулы);
- 3) физиологических (уровень перистальтики кишечника, скорость кровотока в стенке желудочно-кишечного тракта, характер секреции, наличие пищевых масс);
- 4) патологических (запор, высокая температура, воспалительный процесс и др.).

В полости желудочно-кишечного тракта лекарственные вещества могут подвергаться разрушительному воздействию пищеварительных ферментов, а также взаимодействовать с компонентами пищи и пищеварительных секретов, что может задерживать их всасывание.

Из вышеизложенного следует, что для всасывания лекарственных средств, их транспорта через биологические мембраны, наиболее благоприятной является средняя степень их растворимости в воде и липидах. Достаточная водорастворимость лекарственных веществ имеет первостепенное значение для доставки его к месту действия с кровью и межклеточной жидкостью, а липидорастворимость – для быстрого прохождения через биомембраны.

#### **17.4. Распределение и выведение лекарственных веществ**

Различные низкомолекулярные лекарственные вещества распространяются в организме, достигая места своего действия и органов выделения с помощью кровотока. По мере всасывания в кровь и переноса с кровью по органам лекарственное вещество проходит через стенку капилляров в межклеточную жидкость и через клеточные оболочки внутрь клеток. Постепенно устанавливается равновесие между концентрацией вещества в тканях и жидкостях организма. В крови часть лекарственного вещества циркулирует в свободной форме, а часть вступает в обратимую связь с белками плазмы, в основном, с альбуминами, реже – с глобулинами, а также с эритроцитами, образуя комплекс,

который не проникает через сосудистые и тканевые мембраны и не участвует в фармакологическом эффекте.

Свободная форма вещества фармакологически активна и поэтому факторы, вызывающие быстрый переход связанной формы в свободную, могут приводить к интоксикации этим веществом.

Функция свободного (не связанного) лекарственного вещества в плазме крови через определенный промежуток времени после его введения относительно исходной дозы представляет собой биодоступность лекарственного вещества. При внутривенном введении лекарственного вещества его биодоступность равна единице. Депонирование лекарственных веществ может происходить в липидах (для жирорастворимых веществ), а также путем связывания с нуклеиновыми кислотами и белками. Например, хлорпромазин (аминазин) и его метаболиты локализуются в мозге (частично, в его коре), богатом липидами. Салицилазосульфопиридин обладает сродством к эластину и коллагену и вместе со своими метаболитами локализуется в брюшной, плевральной и синовиальной жидкостях. С белками связываются тяжелые металлы (ртуть, мышьяк) и препараты металлоорганических соединений. Большое значение для распределения вещества в организме имеет его липидорастворимость, что выражается коэффициентом распределения между липидами и водой:

$$K = \frac{C - \text{липоид}}{C - \text{вода}} = \frac{S - \text{липоид}}{S - \text{вода}} = \text{const},$$

где  $K$  – коэффициент распределения;  
 $C$ -липоид и  $C$ -воды – концентрации вещества в липоидной и водной фазах при установлении равновесия;  
 $S$ -липоид и  $S$ -вода – растворимость вещества в липоидах и воде;  
 $\text{Const}$  – означает, что этот коэффициент является постоянным для различной концентрации.

Чем больше коэффициент распределения, тем выше содержание лекарственного вещества в тканях, богатых липидами, и наоборот.

Лекарственные вещества, проникая в ткани и проходя в конце-концов через последнюю мембрану, окружающую рецептор, вступают во взаимодействие с этим рецептором, вызывая реализацию своего фармакологического действия. Рецептор представляет собой макромолекулы, которые, кроме белка и нуклеиновых кислот могут включать в свой состав липиды, углеводы, металлы и различные кофакторы.

Клеточные рецепторы различаются по своей локализации и подвижности. Большинство рецепторов локализованы в плазматической мембране и имеют различную степень фиксации: они могут быть прочно связаны со структурными белками мембран, а могут свободно передвигаться в латеральном направлении и при связывании с лекарственным веществом образовывать группиров-

ки или кластеры. Для липофильных лекарственных веществ обнаружены цитоплазматические, митохондриальные и ядерные рецепторы. Лекарственное вещество вступает с рецептором в химические реакции, образуя ковалентные, ионные, водородные и гидрофобные связи. При этом происходят конформационные изменения в полимерных молекулах рецепторов, что приводит к изменению проницаемости клеточных мембран, меняются мембранный транспорт и активность ряда ферментов и осуществляется фармакологический эффект.

Избирательность эффектов лекарственных веществ обеспечивается специфичностью рецепторов, а также особенностями вторичных посредников (циклических нуклеотидов, ионов, фосфоинозитидов), участвующих в реализации активирования рецепторов и формировании эффекта в определенных типах клеток.

Длительность этого действия зависит от того, как долго поддерживается концентрация лекарственного вещества, достаточная для насыщения значительного числа рецепторов. Устанавливается динамическое равновесие между количеством лекарственного вещества, фиксированного в тканях во взаимодействии с рецепторами, фракцией вещества, связанного в неактивном комплексе и свободной фракцией вещества.

В организме происходит постоянная метаболизация вещества, приводящая к его инаktivации, а также происходит выведение вещества и продуктов его превращения из организма, поэтому количество лекарственного вещества в организме постепенно снижается параллельно во всех трех указанных равновесных фракциях.

При понижении концентрации вещества в плазме крови происходит его обратное перемещение в кровь из клеток и тканей и выведение из организма, главным образом, с мочой и желчью. Кроме того, лекарственные вещества могут выводиться с выдыхаемым воздухом, с секретом бронхиальных желез, с молоком, потом, слюной, путем секреции в различные отделы желудочно-кишечного тракта и выделения в последующем с калом.

Лекарственные вещества проникают из крови в мочу преимущественно в неионизированном виде. Липоидорастворимые молекулы их легче выделяются в клубочках почек. Характер и степень прохождения веществ через почечные мембраны зависят от величины pH по обеим сторонам мембран. Обычно кислая реакция мочи способствует экскреции лекарств-оснований (например, алкалоидов), так как их неионизированная форма легко проходит из крови в мочу через гематоренальный барьер, а их ионизация в моче затрудняет обратный переход. Эпителиальные клетки канальцев почек имеют, кроме того, два механизма активного транспорта лекарственных веществ: один для кислот, другой – для оснований. Этим путем экскретируются липоидонерастворимые вещества, находящиеся в крови в ионизированной форме (например, пенициллин). Большой экскреторной способностью обладают клетки печени, распола-

гающие механизмами не только пассивного, но и активного транспорта и выводящие лекарственные вещества с желчью в кишечник. Высокомолекулярные лекарственные вещества ( $M > 300$ ) выделяются в желчь путём активного транспорта.

### **17.5. Метаболизм лекарственных веществ**

Концентрация лекарства в организме существенно зависит от метаболизма лекарственных веществ. Большинство из них подвергаются в организме либо частичному, либо почти полному превращению. Только немногие вещества покидают организм в неизменном виде (к числу их относятся окись углерода, закись азота, в значительной части хлороформ и этиловый эфир и др.).

Во многих случаях, однако, метаболическая инертность только относительна и применение более чувствительных методов анализа обнаруживает, что метаболизм всё же совершается в незначительной степени. Так, веронал, введенный в организм, примерно на 5% метаболизируется, а 95% его выделяется с мочой в неизменном виде.

Большинство лекарственных веществ претерпевает в организме различные превращения, причем, образующиеся при этом соединения могут иметь, по сравнению с первоначальной, меньшую или большую фармакологическую активность. Например, уротропин не обладает антибактериальной активностью, но, попав в желудок, в кислой среде расщепляется, выделяя формальдегид, который оказывает антибактериальное действие. Растительные слабительные, содержащие антраценгликозиды, увеличивают свою активность после отщепления от них агликонов в кишечнике. Новарменол и миарсенол превращаются в тканях в арсеноксид, который обладает более сильным спирохетоацидным эффектом.

В ряде случаев превращение вещества в организме может привести к появлению токсичности. Так, малотоксичный сам по себе метиловый спирт окисляется в организме в ядовитые формальдегид и муравьиную кислоту. Однако в большинстве случаев трансформация этих веществ в организме приводит к их инактивации. Например, ацетилсалициловая кислота первоначально подвергается гидролизу, а образовавшаяся из нее салициловая кислота инактивируется либо путем конъюгации с глюкуроновой или серной кислотой, либо путем гидроксилирования с образованием гентизиновой, 2,3-диокси- и 2,3,5-триоксибензойной кислот.

Структурные превращения лекарственных веществ, поступивших в организм, могут идти как по пути разрушения (упрощения структуры молекулы вещества), так и в направлении ее усложнения в результате конъюгации (связывания с эндогенными веществами). Зачастую превращение вещества включает обе эти фазы и лекарство претерпевает в первой фазе трансформацию своей молекулы путем окисления, восстановления, гидролиза, а затем, во вто-



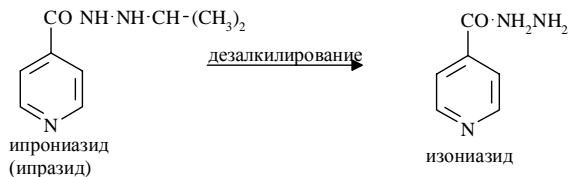
рой фазе, подвергается конъюгации. В процессе этих реакций молекула лекарственного вещества вначале, в первой фазе, приобретает новые функциональные группы ( $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{SH}$  и др.), повышающие ее полярность и одновременно влекущие за собой изменение, повышение или понижение активности (токсичности) вещества. В последующем, при конъюгации лекарственное вещество или его метаболиты соединяются с эндогенными молекулами или группировками (глюкуроновой кислотой, серной кислотой, уксусной кислотой, аминокислотами, метильными или другими алкильными группировками), происходит блокирование функциональных групп (например,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{SH}$  и др.) и дезактивация молекулы.

Некоторые лекарственные вещества метаболизируются в течение одной фазы конъюгации, если обладают функциональными группами, способными связываться с эндогенными веществами.

В процессе метаболизма лекарств в организме, наряду со структурой, меняется и их фармакологическая активность: она может усиливаться, изменять характер, может появляться токсичность, но, в основном, лекарство дезактивируется. Так, в качестве примера усиления активности вещества в процессе его метаболизма можно привести образование из имипрамина дезметилимипрамина, обладающего выраженной способностью ослаблять депрессивные состояния при психических заболеваниях.

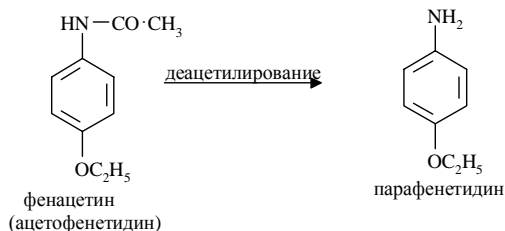


В качестве примера изменения характера активности вещества можно привести метаболизм ипрониазида – антидепрессанта, который в результате дезалкилирования превращается в изониазид, обладающий противотуберкулезным действием:

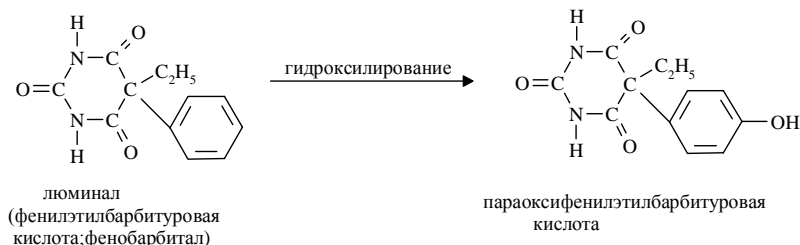


В качестве примера усиления токсичности при метаболизме лекарственного вещества может служить образование из фенаcetина (жаропонижающее,

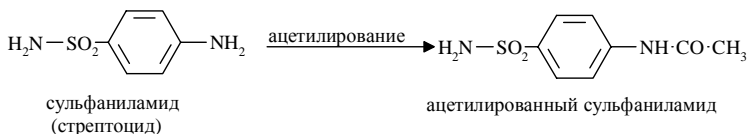
болеутоляющее и противовоспалительное средство) парафенетидина, вызывающего гипоксию за счет образования метгемоглобина:



В основном, метаболизация приводит к детоксикации, дезактивации лекарственного вещества, происходящего путем различных химических превращений. В качестве примера дезактивации путем гидроксилирования можно привести превращения люминала (фенобарбитала):



В качестве примера дезактивации лекарственного вещества путем конъюгации с уксусной кислотой (в виде ацетил-КоА) можно привести превращение сульфаниламидов:



В конечном итоге в результате метаболизации лекарственных веществ имеет место падение или исчезновение липидорастворимости и фармакологической активности, возрастание полярности их молекул, повышение растворимости в воде и, как следствие этого, ускорение их выведения из организма с мочой.

В организме не существует биохимической системы или органа, предназначенного только для метаболизма лекарств, этот процесс происходит во всех

тканях, имеющих молекулярные механизмы, компенсирующие повреждающие действия химических веществ и тем самым обеспечивающих поддержание и сохранение гомеостаза в организме.

В основном метаболизация и инаktivация лекарственных веществ осуществляется в печени с участием ферментов, локализованных в эндоплазматическом ретикулуME (микросомах). В метаболизации лекарств участвуют также микросомальные ферменты почек, легких, кожи, желудочно-кишечного тракта и др. тканей. Микросомальные ферменты не метаболизуют (за редким исключением) эндогенные соединения, а в основном метаболизуют чужеродные химические вещества, в том числе лекарственные. Вне эндоплазматического ретикулуMA биотрансформация лекарственных веществ происходит в лизосомах, митохондриях, пероксисомах и в цитозоле клеток. Превращение лекарств может происходить также во внеклеточных жидкостях (крови, лимфе, ликворе, межклеточной жидкости) и в полости желудочно-кишечного тракта, в основном путем гидролиза. Ряд лекарственных веществ может также метаболизироваться некоторыми немикросомальными ферментами межклеточного обмена (такими как алкогольдегидрогеназа, альдегиддегидрогеназа, ксантиноксидаза, эстеразы и др.). К числу этих лекарственных веществ относятся гормоны, витамины, моноамины (серотонин, гистамин, ацетилхолин, адреналин и др), жирные кислоты (линетол и др.), простагландины, пуриновые и пиримидиновые основания (аденин и др.), нуклеозиды и др. препараты, являющиеся метаболитами и субстратами нормального межклеточного обмена.

Учитывая существенную роль ферментов эндоплазматического ретикулуMA в инаktivации чужеродных веществ, метаболические превращения лекарственных веществ подразделяют на превращения, которые катализируются микросомальными ферментами печени (и, возможно, других тканей) и на превращения, которые катализируются ферментами, локализованными в других частях клетки (немикросомальными).

Напомним, что эндоплазматический ретикулум (эндоплазматическая сеть) клеток печени и других тканей представляет собой липопотеиноую канальцевую сеть, обнаруженную в середине сороковых годов нашего столетия благодаря применению электронного микроскопа. Название было введено в 1953 году Портером. Эндоплазматический ретикулум распространяется от стенки клетки через всю цитоплазму. Полагают, что наружная мембрана оболочки ядра клетки во многих местах переходит в мембрану эндоплазматической сети. Сеть тесно связана с выпячиванием клеточной оболочки в цитоплазму, сообщается с аппаратами Гольджи, окружает митохондрии. Из этого следует, что эндоплазматическая сеть является общей внутриклеточной системой, объединяющей все клеточные органеллы в единой целое, является динамическим скелетом клетки (А.И. Арчаков, 1975). При гомогенизации тканей эндоплазматический ретикулум распадается на отдельные фрагменты, образуя частички,

получившие название микросомы. Различают шероховатый эндоплазматический ретикулум (гранулярная сеть), поверхность которого покрыта рибосомами, в которых синтезируются ферментные белки, и гладкий эндоплазматический ретикулум (агранулярная сеть), который не имеет рибосом. Наивысшая ферментативная активность, обеспечивающая метаболизм чужеродных соединений, связана с гладкой сетью. Предполагают, что синтез происходит в гранулярной сети, но при насыщении ферментами она лишается своих рибосом и превращается в агранулярную сеть.

Ферменты тесно связаны с липопротеиновой мембраной эндоплазматической сети и выделить их представляет большие трудности, так как к тому же эти ферменты быстро разрушаются.

В состав микросомальных ферментов входят оксидазы со смешанными функциями (их еще называют микросомальными монооксигеназами или ферментами свободного окисления), а также различные эстеразы (глюкозо-6-фосфатаза, Mg-зависимые нуклеозид-фосфатазы, неспецифические эстеразы), ферменты синтеза белков, липидов, фосфолипидов, гликопротеидов, желчных кислот, наконец, ферменты, катализирующие реакции конъюгации. Из их числа в механизмах детоксикации ксенобиотиков (и в том числе лекарств) участвуют оксидазы со смешанными функциями, эстеразы и ферменты конъюгации, т.е. в основном, микросомальные ферменты осуществляют окисление, восстановление, гидролиз и конъюгацию ксенобиотиков (в том числе – лекарств).

Микросомальные монооксигеназы катализируют биотрансформацию преимущественно липотропных ксенобиотиков, а также эндогенных стероидов, ненасыщенных жирных кислот, простагландинов. Эти монооксигеназы, участвуя в метаболизме липотропных ядов и лекарственных веществ, катализируют такие реакции окисления как С-гидроксилирование в алифатической цепи, в ароматическом и алициклических кольцах и в алкильных боковых цепях, N-гидроксилирование, О-, N, S-деалкилирование, окислительное дезаминирование, десульфирование и эпоксидирование.

Помимо окислительных превращений, эти ферменты катализируют реакции восстановления ароматических нитро- и азосоединений, реакции восстановительного дегалогенирования. В результате этих реакций ксенобиотики приобретают реактивные группы -ОН, -COOH, -NH<sub>2</sub>, -SH и др. Образующиеся таким путем метаболиты легко вступают в реакции конъюгации с образованием малотоксичных соединений, которые затем выводятся из организма в основном с мочой, желчью и калом.

Микросомальные монооксигеназы представляют собой полиферментный комплекс, локализованный на гладком эндоплазматическом ретикулуме, и связанный с двумя внемитохондриальными цепями переноса электронов, генерирующих восстановленные формы НАДФ и НАД. Источником НАДФ.Н<sub>2</sub> служит пентозофосфатный цикл, а НАД.Н<sub>2</sub> – гликолиз. Общим самоокисляющим-

ся (аутооксидабельным) звеном этих зависимых от НАДФ. $\text{H}_2$  и НАД. $\text{H}_2$  путей транспорта электронов является цитохром  $\text{P}_{450}$ . В состав этого комплекса входят также цитохром  $\text{B}_5$ , НАДФ.Н-цитохром- $\text{P}_{450}$ -редуктаза и НАД.Н-цитохром  $\text{B}_5$ -редуктаза.

Цитохром  $\text{P}_{450}$  представляет собой гемсодержащий белок, широко распространенный в тканях животных и растений. Он локализован в глубоких слоях мембран эндоплазматической сети. При взаимодействии с СО восстановленный цитохром образует карбонильный комплекс, характеризующийся полосой поглощения на 450 нм, что и определило название фермента. Цитохрому  $\text{P}_{450}$  присуще многообразие изоформ и широта субстратной специфичности. Эту широту специфичности характеризуют как специфичность к гидрофобности веществ. Белок цитохрома  $\text{P}_{450}$  синтезируется на рибосомах шероховатых мембран эндоплазматического ретикулаума гепатоцитов, причем, белок различных изоформ цитохрома  $\text{P}_{450}$  возникает в результате синтеза *ad novo* различных белков. Последнее позволяет монооксигеназным системам осуществлять биотрансформацию разных липотропных ксенобиотиков. Ключевым ферментом синтеза гема цитохрома  $\text{P}_{450}$  является синтетаза  $\delta$ -аминолевулиновой кислоты. Катаболизм цитохрома  $\text{P}_{450}$  начинается с ферментативного или аутооксидабельного превращения его в неактивную форму – цитохром  $\text{P}_{420}$ , который катаболируется по известным путям биотрансформации геминовых структур.

Цитохром  $\text{P}_{450}$  является важнейшим компонентом микросомальной монооксигеназной системы, ответственным за активацию молекулярного кислорода (путем переноса на него электронов) и за связывание субстрата (как бы подготавливая этот субстрат для атаки активированным кислородом). Цитохром  $\text{P}_{450}$  использует активированный кислород для окисления субстрата и образования воды.

Другой компонент микросомальной монооксигеназной системы НАДФ.Н-цитохром  $\text{P}_{450}$ -редуктаза (ФП-1) служит переносчиком электронов с восстановленного НАДФ на цитохром  $\text{P}_{450}$ . Этот флавопротеид (содержащий ФАД и ФМН) связан с фракцией поверхностных мембранных белков эндоплазматического ретикулаума. Этот фермент способен переносить электроны не только на цитохром  $\text{P}_{450}$ , но и на другой акцептор (в частности, на цитохром С, цитохром  $\text{B}_5$ ).

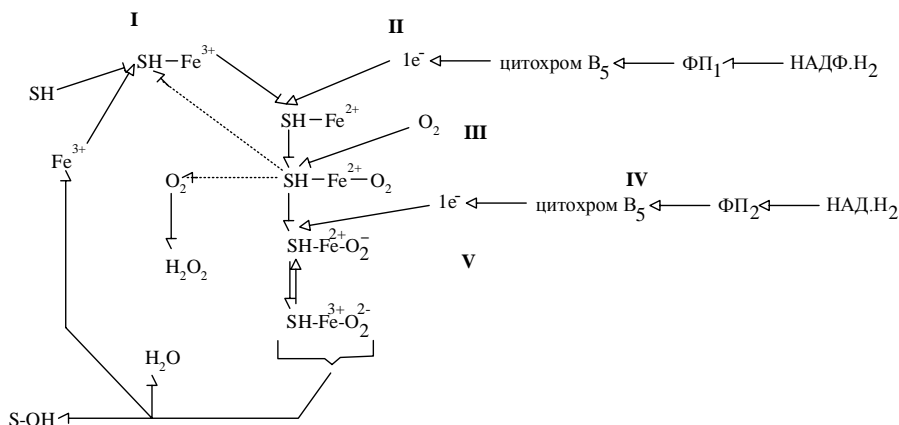
Цитохром  $\text{B}_5$  представляет собой гемопротеид, который в отличие от цитохрома  $\text{P}_{450}$  локализован на поверхности мембран эндоплазматической сети. Цитохром  $\text{B}_5$  способен получать электроны не только от восстановленной формы НАДФ, но и от НАД. $\text{H}_2$ , участвуя в функционировании НАД. $\text{H}_2$ -зависимой цепи транспорта электронов. В состав этой цепи входит также фермент НАД.Н-цитохром- $\text{B}_5$ -редуктаза (ФП $_2$ ). Этот фермент, также как и цитохром  $\text{B}_5$  не фиксирован строго на определенных участках мембран эндоплаз-

матической сети, а способен менять свою локализацию, передавая электроны с НАД.Н<sub>2</sub> на цитохром В<sub>5</sub>.

В процессе метаболизма ксенобиотиков, где ведущую роль играют НАДФ.Н-зависимые реакции, имеет место взаимодействие НАДФ.Н и НАД.Н-зависимых цепей. Установлена тесная функциональная связь цитохромов Р<sub>450</sub> и В<sub>5</sub>. Они могут образовывать сложные гемопротеидные комплексы, что обеспечивает высокую скорость катализируемых ими реакций превращения ксенобиотиков.

Среди схем биотрансформации ксенобиотиков под воздействием монооксигеназ, наиболее широкое распространение получила схема Эстабрука, Гильденбранта и Барона. Согласно этой схеме предполагается, что вещество-SH (в том числе лекарство) на первой стадии взаимодействует с окисленной формой цитохрома Р<sub>450</sub> (Fe<sup>3+</sup>) с образованием фермент-субстратного комплекса (SH-Fe<sup>3+</sup>). На второй стадии фермент-субстратный комплекс восстанавливается электроном, поступающим из НАДФ.Н<sub>2</sub>-зависимой цепи переноса от НАДФ.Н<sub>2</sub>. Посредством НАДФ.Н-цитохром Р<sub>450</sub>-редуктазы (ФП<sub>1</sub>) при возможном участии цитохрома В<sub>5</sub> образуется восстановленный фермент-субстратный комплекс SH-Fe<sup>2+</sup>. Третья стадия характеризуется взаимодействием восстановленного фермент-субстратного комплекса с кислородом с образованием трехкомпонентного комплекса SH-Fe<sup>2+</sup>-O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Присоединение кислорода осуществляется с большой скоростью. На четвертой стадии тройной фермент-субстрат-кислородный комплекс восстанавливается вторым электроном, который, по-видимому, поступает из НАД.Н<sub>2</sub>-специфической цепи переноса, включающей НАД.Н-цитохром В<sub>5</sub>-редуктазу (ФП<sub>2</sub>) и, возможно, цитохром В<sub>5</sub>. Образуется восстановленный тройной фермент-субстрат-кислородный комплекс SH-Fe<sup>2+</sup>-O<sub>2</sub>. Пятая стадия характеризуется внутримолекулярными превращениями восстановленного тройного фермент-субстрат-кислородного комплекса (SH-Fe<sup>2+</sup>-O<sub>2</sub><sup>-</sup> ↔ SH-Fe<sup>3+</sup>-O<sub>2</sub><sup>2-</sup>) и его распадом с освобождением воды и гидроксильного субстрата. При этом цитохром Р<sub>450</sub> переходит в исходную окисленную форму, готовую к взаимодействию со следующей молекулой субстрата. При функционировании монооксигеназ генерируются активные радикалы, в первую очередь супероксидный анион (O<sub>2</sub><sup>-</sup>): тройной фермент-субстрат-кислородный комплекс до восстановления вторым электроном может вступить в обратимую реакцию превращения в окисленный фермент-субстратный комплекс и при этом генерируется супероксидный анион O<sub>2</sub><sup>-</sup>.

Схему Эстабрука, Гильденбранта и Барона можно представить следующим образом.



Из схемы действия микросомальных монооксигеназ следует, что при биотрансформации ксенобиотиков (в том числе лекарственных веществ) один атом кислорода используется для окисления субстрата (путем гидроксирования), а второй атом – восстанавливается до воды (за счет восстановительного эквивалента от НАДФ.Н<sub>2</sub> или НАД.Н<sub>2</sub>). Это позволило дать ферментным системам, обеспечивающим данный процесс, название оксидаз со смешанными функциями. Использование для окисления субстрата лишь одного атома кислорода оксидазами со смешанными функциями явилось основанием для того, чтобы отнести их к монооксигеназным системам.

В отличие от митохондриальной дыхательной цепи, в которой молекулярный кислород, являющийся непосредственным акцептором электронов на последнем участке цепи, идет только на образование воды, в микросомальной монооксигеназной системе, наряду с образованием воды (на которое расходуется один атом кислорода), осуществляется при посредстве цитохрома Р<sub>450</sub> непосредственное присоединение кислорода (его второго атома) к окисляемому субстрату (лекарственному веществу) и происходит его гидроксирование. Кроме того, в отличие от митохондриальной цепи, где энергия, освобождающаяся в процессе переноса электронов, реализуется в виде АТФ на трех участках дыхательной цепи благодаря сопряжению окисления с фосфорилированием, в микросомальной цепи энергия окисления реализуется в последней, цитохром Р<sub>450</sub>-оксигеназной (гидроксилазной) реакции. Предполагают даже, что в микросомальной цепи переноса электронов энергия окисления вообще не освобождается, а используется лишь редуцирующие эквиваленты НАДФ.Н<sub>2</sub>, необходимые для восстановления кислорода до воды. Поэтому окислительное

гидроксилирование рассматривают как свободное (т.е. не сопровождаемое образованием АТФ) окисление.

Установленные закономерности функционирования микросомальных монооксигеназных систем получены преимущественно при исследовании печеночной ткани. Печень является самым крупным органом, участвующим в биотрансформации ксенобиотиков и в том числе – лекарственных веществ. В ней метаболизируется примерно 2/3 от общего количества экзогенных химических веществ, поступающих в организм. Однако, несмотря на важную роль печени в процессе метаболизма химических веществ, нельзя недооценивать значение и других органов. Микросомальные монооксигеназы обнаружены в коже, легких, тонком кишечнике, почках, надпочечниках, гонадах и плаценте. В мозговой и мышечной тканях микросомальное окисление не обнаружено. Из всех органов следует выделить кожу, легкие и кишечник, которые служат первыми барьерами для токсических веществ, а также для лекарственных веществ – ксенобиотиков, проникающих в организм кожным, ингаляционным и пероральным путем.

Как уже говорилось, микросомальные монооксигеназные системы катализируют различные реакции окислительного превращения липотропных ксенобиотиков, в том числе лекарств.

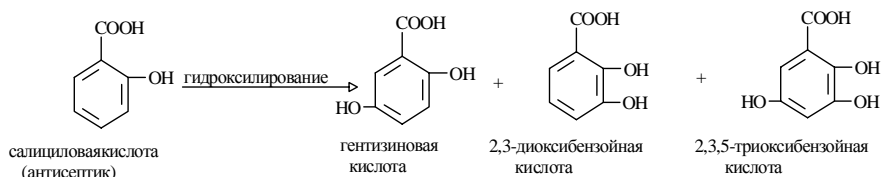
Наибольшее значение придается следующим окислительным реакциям превращения лекарственных веществ:

- 1) гидроксилированию ароматических соединений (салициловая кислота и др.);
- 2) гидроксилированию алифатических соединений (мепробамат и др.);
- 3) окислительному дезаминированию (фенамин и др.);
- 4) S-дезалкилированию (6-метилтиопурин и др.);
- 5) O-дезалкилированию (фенацетин и др.);
- 6) N-дезалкилированию (ипрониазид и др.);
- 7) сульфоокислению (тиобарбитал и др.);
- 8) N-окислению (диметиланилин и др.).

Рассмотрим эти реакции более подробно, приводя соответствующие примеры.

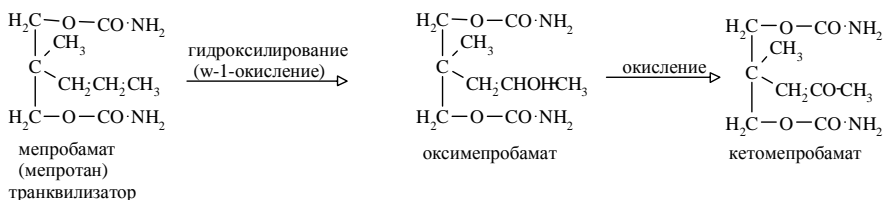
В качестве примера гидроксилирования ароматических соединений можно привести метаболизацию салициловой кислоты:





Антисептическое средство салициловая кислота, являющаяся феноловым производным, метаболизируется у людей, как по пути конъюгации (40%), так и частично путем гидроксилирования с образованием гентизиновой кислоты (1-5%) и следов 2,3-дигидроксибензойной кислоты и 2,3,5-тригидроксибензойной кислоты, а около 60% выделяется без изменений. Установлено гидроксилирование и других ароматических соединений: ацетилсалициловой кислоты, циамина, ацетанилида, нафталиндифенила и др.

Гидроксилирование алифатических соединений может быть иллюстрировано превращением мепробамата:

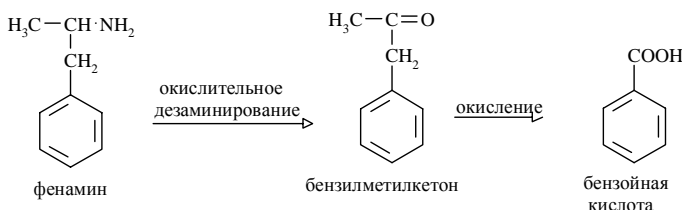


Транквилизатор мепробамат (2-метил-2-пропил-1,3-пропан-диолдикарбамат) метаболизируется в основном посредством w- и w-1-окисления Н-пропиловой боковой цепи и глюкуранидной конъюгации. Кроме того, 1-2% препарата подвергается гидролизу по карбаматной сложноэфирной связи.

Снотворное средство барбитал (веронал, 5,5-диэтилбарбитуровая кислота) у человека выделяется с мочой в основном в неизменном виде. В небольшой степени происходит метаболизм препарата путем гидроксилирования боковой цепи, дезалкилирования и конъюгации с образованием 5-этил-5-β-оксиэтилбарбитуровой кислоты и ее глюкуронидного конъюгата (3%) и 5-этилбарбитуровой кислоты (2,5%). Аналогичным путем могут гидроксилироваться и другие барбитураты.

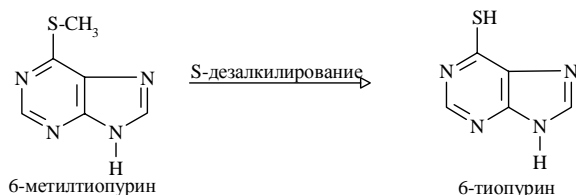


В качестве примера окислительного дезаминирования можно привести превращения фенамина:

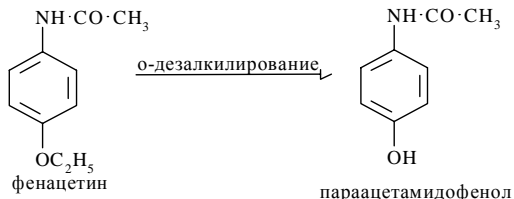


Антидепрессант фенамин (амфетамин, 1-фенил-2-аминопропан) в основном метаболизируется путем гидроксилирования ароматического кольца с образованием параоксиамфетамина и окислительного дезаминирования с образованием бензилметилкетона с последующим окислением в бензойную кислоту. У человека основными метаболитами амфетамина служат бензойная кислота (20%), бензилметилкетон (3%) и параоксиамфетамин (3%), а 30% препарата выделяется в неизменном виде. Окислительному дезаминированию в печени подвергаются также серотонин, гистамин, адреналин, эфедрин и др.

S-деалкилированием подвергаются метаболизации метилтиопурин, метилмеркаптан, S-метилцистеин, S-метилтиобензтиазол, метитурал и др.



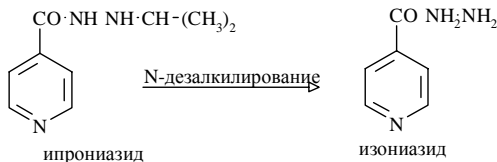
О-дезалкилированием метаболизируется фенацетин:



Анальгезирующее и жаропонижающее средство фенацетин (1-этокси-4-ацетаминобензол) метаболизируется, главным образом, посредством дезалкилирования в парацетамидофенол, который выделяется в виде глюкуронидных и сульфатных конъюгатов, и в меньшей степени преобразуется дезалкилированием в парафенетидин и гидроксигруппированием в 2-оксифенацетин.

Следует заметить, что анальгезирующее и жаропонижающее действие фенацетина определяется его превращением в парацетамидофенол. Последний в настоящее время применяется как самостоятельный препарат под названием парацетамол. О-дезалкилированию подвергаются также папаверин, колхицин, мескалин и др.

Н-дезалкилированием частично превращается ипрониазид:

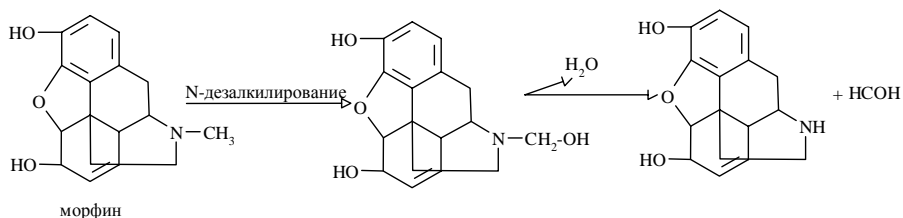


Антидепрессант (т.е. стимулятор центральной нервной системы) ипрониазид (N-изопропилизоникотиновый гидразид) метаболизируется в основном посредством гидролиза в изоникотиновую кислоту и изопропилгидразин, а частично – путем N-дезалкилирования в изониазид и ацетон. Психотропный препарат имипрамин также метаболизируется путем N-дезалкилирования и гидроксигруппирования в одном из ароматических колец. В результате N-дезалкилирования образуется дезметилимипрамин, который используется в клинике как самостоятельный препарат, оказывающий выраженное антидепрессантное действие.

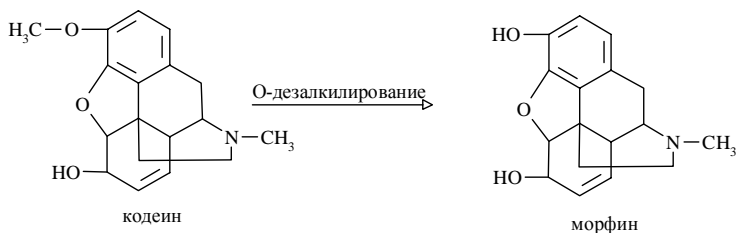
N-дезалкилированию подвергаются многие лекарственные средства, в том числе производные морфина, антипирин, фенотиазина, барбитуровой кислоты и другие.

О- и N-дезалкилирование наиболее подробно изучено у наркотических веществ. Дезалкилированию могут подвергаться морфин, диацетилморфин (героин), кодеин и др. вещества. Ферментативную реакцию N-дезалкилирова-

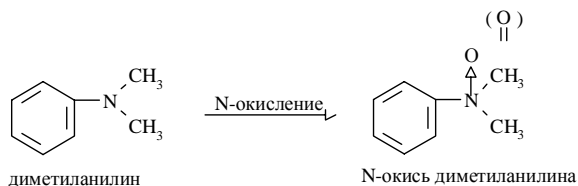
ния морфина с образованием норпроизводного и формальдегида можно представить следующим образом:



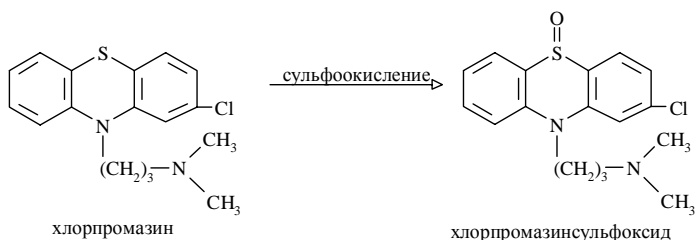
Установлено, что обезболивающее действие кодеина обусловлено его превращением при деалкилировании в морфин:



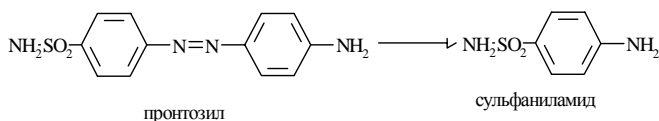
N-окислению подвергается большое количество фармакологически активных веществ, содержащих в своем составе атом азота (хлорпромазин, имипрамин, никотинамид и др.), что сопровождается изменением их эффективности. Основными продуктами N-окисления служат N-окиси и гидроксиламины.



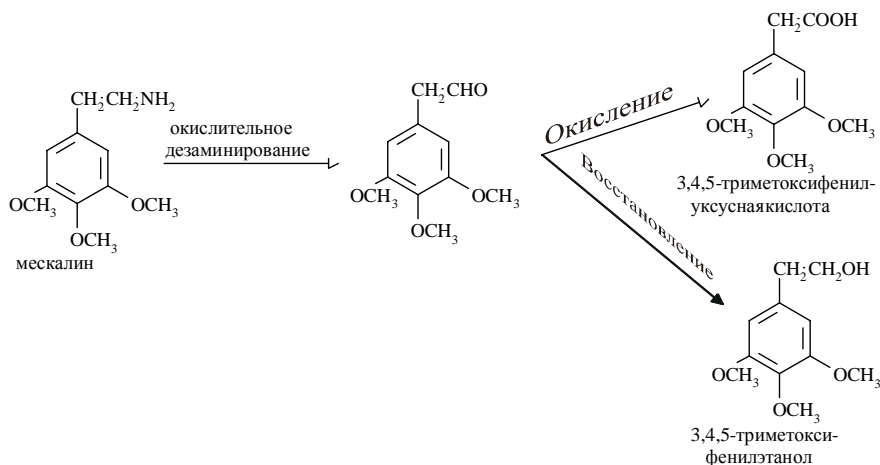
Сульфокисление может быть проиллюстрировано превращениями тиобарбитала и хлорпромазина:



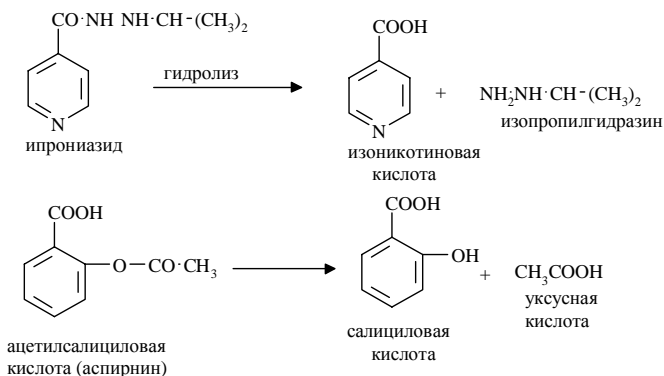
Помимо окислительных ферментных систем эндоплазматический ретикулум печени содержит восстановительные ферменты. Эти ферменты катализируют восстановление ароматических нитро- и азосоединений в амины. По химической природе восстановительные ферменты являются флавопротеидами, у которых простетической группой является ФАД. Предполагается, что в этой системе за счет НАДФ.Н<sub>2</sub> или НАД.Н<sub>2</sub> восстанавливается ФАД в ФАД.Н<sub>2</sub>, а последний неферментативным путем восстанавливает чужеродные субстраты. Восстановление сравнительно редкий путь превращения лекарственных веществ. В качестве примера восстановительных реакций можно привести восстановление прontosила в сульфаниламид:



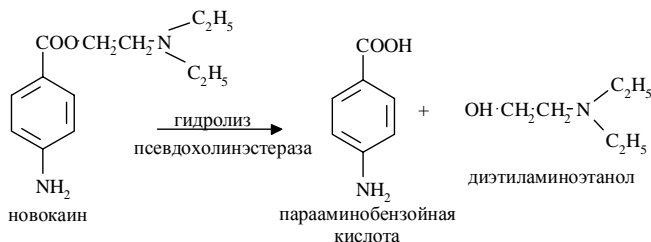
Другим примером этой реакции может служить метаболизм мескалина. Галлюциногенный препарат мескалин (3,4,5- триметоксифенилэтиламин) у человека после дезаминирования частично метаболизируется в 3,4,5- триметоксифенилуксусную кислоту, а в меньшей мере – в 3,4,5-триметоксифенил-этанол, как продукт восстановления промежуточного соединения:



Микросомальные ферменты печени принимают участие также в реакциях гидролиза лекарственных веществ (сложных эфиров и амидов). Гидролиз, очень важный путь инактивации многих препаратов. В частности, кокаин гидролизуется на экгонин, бензойную кислоту и метанол, атропин – на тропин и троповую кислоту, аспирин – на салициловую кислоту и уксусную кислоту. При гидролизе происходит расщепление сложноэфирной связи с присоединением воды. Эстеразы, катализирующие этот процесс, имеют более или менее выраженную специфичность. В качестве примера может служить превращение ацетилсалициловой кислоты (сложный эфир) и ипрониазида (амид), метаболизирующихся в основном путем гидролиза.



В плазме крови найдены ферменты (аминоксидазы и эстеразы), которые метаболизируют чужеродные соединения. Примером такого рода реакций является гидролиз новокаина псевдохолинэстеразой плазмы:



Следует заметить, что существуют метаболические превращения чужеродных веществ, для которых ферменты и их локализация все еще не известны. Ряд гетероциклических соединений может метаболизироваться путем разрыва кольца. С другой стороны, некоторые соединения подвергаются циклизации и др. превращениям.

Конъюгация, являясь второй фазой биотрансформации лекарств, представляет собой биосинтез, при котором лекарственные вещества и их метаболиты соединяются с эндогенными соединениями, такими как глюкуроновая кислота, сульфат, ацетил, метил, глицин и др. Различные лекарственные веще-

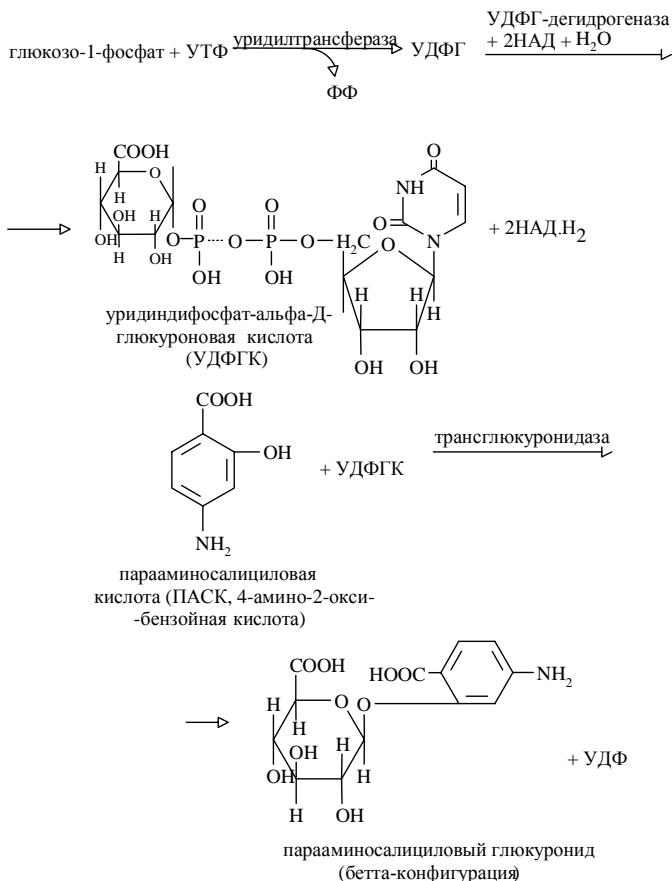
ства конъюгируют с различными соединениями. Так, сульфаниламиды конъюгируют с остатком уксусной кислоты; ароматические спирта, кислоты конъюгируют с глюкуроновой кислотой, с глицином, глутамином. Многие ароматические соединения, тяжелые металлы, металлоиды образуют ковалентную связь с сульфгидрильными группами цистеина. Путем конъюгации у человека метаболизируются салицилаты, алкалоиды опия, барбитураты, амидопирин, глюкокортикоиды и другие препараты. Присоединение эндогенных соединений происходит к функциональной группе лекарственных веществ или его метаболита (гидроксильной, аминной, карбоксильной группе, атому галогена и др.), что приводит к повышению его полярности и растворимости в воде и снижению липидорастворимости и токсичности. Все это облегчает выделение конъюгатов из организма. При образовании конъюгатов эндогенные соединения, переносимые с помощью специфических ферментов на лекарственные вещества, значительно реже – сами лекарственные вещества, предварительно активируются за счет взаимодействия с коферментами, участвующими в межклеточном обмене, т.е. активируются за счет макроэргических связей АТФ, УТФ, коэнзимом А и т.д. Иначе говоря, реакции конъюгации идут с затратой энергии, поставляемой с помощью указанных макроэргических связей.

Значительная часть реакций конъюгации протекает на мембранах эндоплазматической сети, непосредственно в месте образования высокореактивных метаболитов при действии монооксигеназ. Это позволяет свести до минимума при определенных условиях токсическое действие продуктов биотрансформации ксенобиотиков. Реакции конъюгации протекают и на других внутриклеточных структурах (митохондриях, лизосомах) и в цитозоле, что позволяет связывать токсические продукты, появляющиеся в клетке вне эндоплазматической сети. Внутриклеточная локализация наиболее важных систем конъюгации может быть представлена следующим образом:

Типы конъюгации	Внутриклеточная локализация реакции конъюгации	Донор макроэргов
Глюкуронидная конъюгация	Эндоплазматическая сеть	УДФГК
Сульфатная конъюгация	Цитозоль	ФАФС
Метильная конъюгация (метилирование)	Цитозоль и эндоплазматическая сеть	S-аденозилметионин
Глутатионовая конъюгация	Цитозоль и эндоплазматическая сеть	Ацетил-КоА
Пептидная конъюгация (аминокислотная)	Митохондрии, эндоплазматическая сеть, возможно, лизосомы	КоА
Ацетильная конъюгация (ацетилирование)	Цитозоль	Ацетил-КоА



Наиболее изучены глюкуронидная, сульфатная, метильная, ацетильная, глутатионовая и аминокислотная конъюгации, идущие с участием соответственно уридинфосфатных коферментов (УДФГ и УДФГК), аденозиновых коферментов (ФАФС и S-аденозилметионин), коэнзима А (ацетил-КоА).



Уридиндифосфатные коферменты участвуют в образовании глюкуронидных и гликозидных (редко) конъюгатов.

С помощью уридиндифосфатглюкозы (УДФГ) образуются гликозиды. С помощью уридиндифосфатглюкуроновой кислоты (УДФГК) происходит образование глюкуронидов. Следует подчеркнуть, что конъюгация с глюкуроно-

вой кислотой, является, по-видимому, наиболее важным механизмом конъюгации у человека и включает два основных этапа: биосинтез коферментного комплекса глюкуроновой кислоты и перенос с этого комплекса глюкуронидной части на инактивируемое вещество. В качестве примера можно привести конъюгацию парааминосалициловой кислоты (ПАСК) – противотуберкулезного препарата.

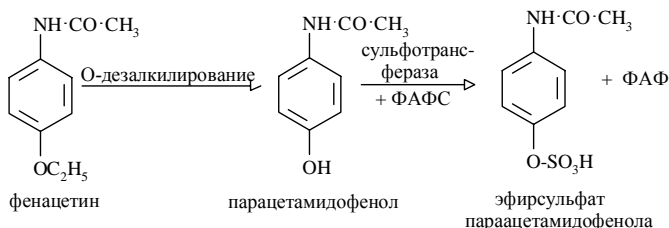
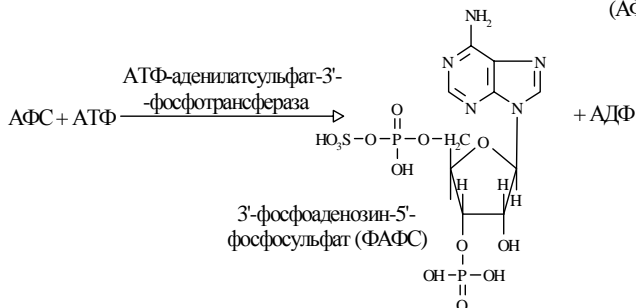
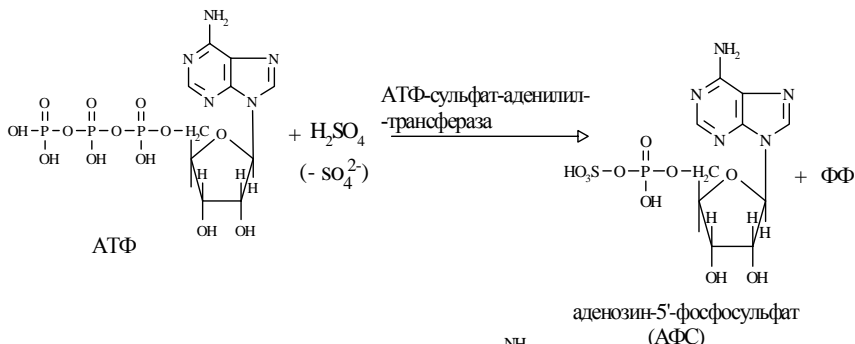
Синтез УДФ – глюкуроновой кислоты происходит из глюкозы-1-фосфата, основным источником которого служит гликоген печени.

Образование глюкуронидов, в основном осуществляется в печени и в меньшей степени в почках, тонком кишечнике, коже, легких, селезенке, надпочечниках.

Ферменты, катализирующие образование уридиндифосфатглюкуроновой кислоты, локализуются в растворимой фракции цитоплазмы, а трансглюкуронидаза – в микросомальной фракции. Различают O-, N- и S-глюкурониды. Путем образования глюкуронидов обезвреживаются фенолсодержащие соединения, спирты, карбоновые кислоты, камфора, хлоралгидрат, ароматические кислоты, ариламины, дитиокарбоновые кислоты, фенилбутазон и др. Иначе говоря, глюкуронидной конъюгации подвергаются ксенобиотики, которые имеют в структуре свободные -ОН, -COOH, -NH<sub>2</sub> и -SH-группы.

Аденозинкоферменты (ФАФС, S-аденозилметионин) участвуют в сульфатной конъюгации и метилировании соответственно.

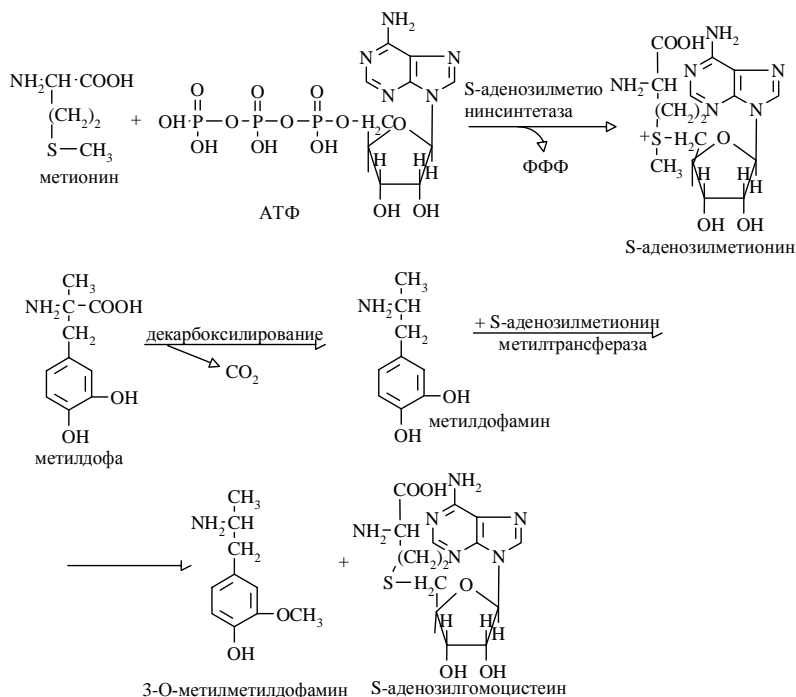
Образование конъюгатов в виде сложных эфиров серной кислоты (сульфатная конъюгация) происходит в основном в печени, являющейся одновременно основным местом синтеза коферментного комплекса ФАФС. Эта конъюгация, как и конъюгация с глюкуроновой кислотой, характерна для многих указанных выше лекарственных средств, но преимущественно подвергаются конъюгации структуры, имеющие свободные HO- и NH<sub>2</sub>-группы. Конъюгация включает два основных этапа: образование коферментного комплекса и образование непосредственно конъюгата. В качестве примера подобной конъюгации может служить конечный этап метаболизма фенаcetина.



Сульфатная конъюгация начинается с образования активной формы сульфата. Источником неорганического сульфата могут служить процессы окислительного превращения цистеина. Существенную роль играют характер питания, содержание серы в пище. Сульфатная конъюгация совершается в цитозоле клеток. Сульфатная конъюгация относится к эволюционно наиболее древним и примитивным видам детоксикации. О ее несовершенстве свидетельствуют факты, говорящие о том, что в отдельных случаях сульфатная конъюгация не приводит к образованию нетоксичных продуктов.

Метилированию подвергаются ксенобиотики, в том числе лекарственные вещества, содержащие гидроксильные, сульфгидрильные и аминогруппы. Метилирование совершается в две стадии. Источником метильных групп в организме является аминокислота метионин, а также в ряде случаев 5-метилтетрагидрофолиевая кислота. После образования из метионина и АТФ S-аденозилметионина (I стадия) происходит перенос метильной группы от кофермента S-аденозилметионина на амины, фенолы и тиоловые соединения (II стадия) с образованием N-, O- и S-метильных конъюгатов. Процесс этот также наиболее интенсивно совершается в печени, а также наблюдается в почках, селезенке, кишечнике, коже, ЦНС, гипофизе и др. В отличие от других реакций конъюгации при метилировании не всегда изменяется растворимость и токсичность исходного соединения. Метильная конъюгация совершается как на мембранах эндоплазматического ретикулума, так и в цитозоле клеток.

В качестве примера O-метилирования лекарства можно привести один из этапов метаболизма метилдофа – вещества, нарушающего образование адренергического медиатора и применяемого как гипотензивное средство.



Метильная конъюгация совершается как на мембранах эндоплазматического ретикулула, так и в цитозоле клеток.

Коэнзим-А принимает участие в ацетильных, аминокислотных и глутатионовых конъюгациях. При ацетильной конъюгации с помощью ацетил-коэнзима-А осуществляется ацетилирование некоторых лекарственных веществ и ксенобиотиков, содержащих преимущественно свободные аминогруппы (ароматические и алифатические амины, сульфаниламиды, гидразины, гидразиды). Ацетилированию предшествует синтез макроэргического коферментного комплекса-ацетил-КоА. Его генерация осуществляется в основном в процессе пируватдегидрогеназной реакции (окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты). Собственно ацетилирование, т.е. перенос от ацетил-КоА ацетила на ксенобиотик, катализируется трансферазами. Ацетилирование локализовано в цитозоле клеток печени, легких, кишечника, почек, селезенки, мозга, гонад, панкреас, эритроцитах и др.

Как пример инактивации лекарственных веществ с помощью ацетил-КоА можно привести реакцию ацетилирования сульфаниламидов.



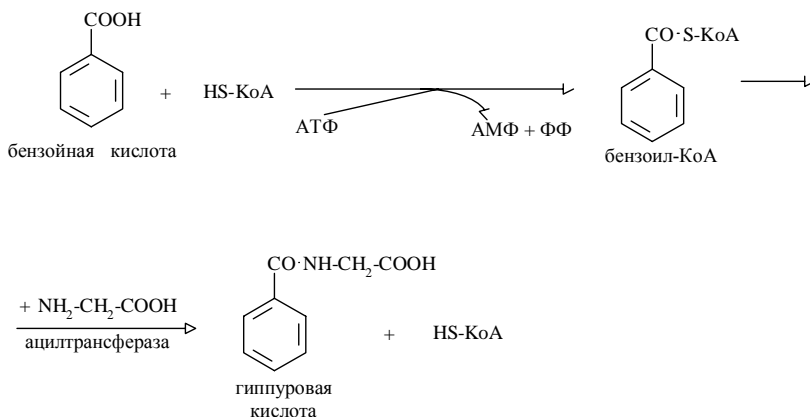
Следует отметить, что при ацетилировании сульфаниламидов образуются плохо растворимые соединения и появляется угроза их конденсации в мочевыводящих путях. В связи с этим ацетилирование сульфаниламидов нельзя полностью считать процессом детоксикации (Лакин К.М., Крылов Ю.Ф., 1984).

По способности к ацетилированию ксенобиотиков особи одного вида, а также люди, могут существенно различаться. Различают «быстрых» и «медленных» ацетиляторов, что необходимо учитывать при химиотерапии больных, так как «медленные» ацетиляторы менее устойчивы к токсическому действию ксенобиотиков, подвергающихся детоксикации путем ацетилирования. Скорость ацетилирования генетически детерминирована активностью ацетилтрансферазы.

Пептидная (аминокислотная) конъюгация также является характерным путем инактивации лекарственных веществ. Конъюгация с аминокислотами, в частности, с глицином, наблюдается при метаболизме в организме ароматических и гетероциклических карбоновых кислот, которые предварительно связываются с коэнзимом-А, образуя коэнзим-А-производные чужеродных кар-

боновых кислот, т.е. происходит активация чужеродного вещества, а не эндогенного вещества как при других конъюгациях. Глициновые конъюгаты обозначаются как «гиппуровые кислоты». Помимо глицина, в пептидной конъюгации наиболее часто используются также глутамин и таурин. Пептидная конъюгация используется также для детоксикации эндогенных продуктов, в первую очередь желчных кислот.

Механизм пептидной конъюгации, заключающийся в образовании коэнзим-А-производных чужеродных карбоновых кислот (первый этап) и с помощью реакций с глицином (второй этап), можно проследить на примере образования гиппуровой кислоты в процессе метаболизма бензойной кислоты, являющейся метаболитом некоторых лекарственных веществ (к примеру, фенамина).



Следует заметить, что инактивация бензойной кислоты с образованием гиппуровой кислоты используется как тест в клинической практике. По скорости образования и выделения гиппуровой кислоты с мочой после приема бензойной кислоты (бензоата натрия) судят о функциональном состоянии печени. Этот тест получил название «проба Квика». При заболеваниях печени у человека интенсивность процесса конъюгации с глицином снижается. Однако информативная ценность данного теста относительно невелика, так как образование глициновых конъюгатов связано в основном с функционированием митохондриальных ферментных систем. В то же время подавляющее большинство реакций конъюгации в гепатоцитах обеспечивается микросомальными или цитозольными ферментами.

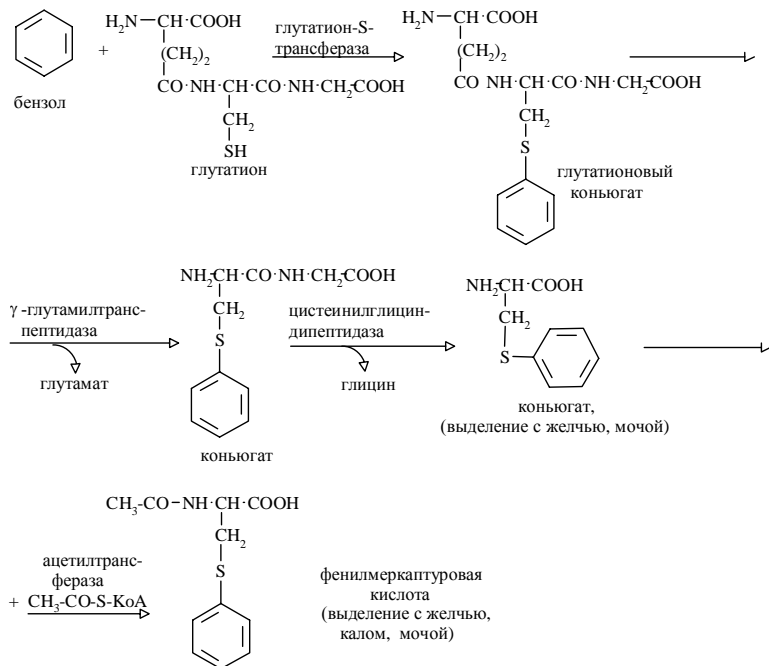
Важным типом конъюгации, протекающей с участием Ко-А, является глутатионовая конъюгация. С глутатионом могут связываться большое число разнообразных алифатических и ароматических чужеродных соединений с обра-

зованием глутатионовых конъюгатов и меркаптуровых кислот. К числу таких соединений относятся эпоксиды, альдегиды, нитриты, нитрофураны, триазоны и др. Известно более 40 различных типов химических соединений, способных образовывать глутатионовые конъюгаты.

На первом этапе ксенобиотики или их метаболиты взаимодействуют с глутатионом. Реакцию катализируют ферменты, объединенные в группу глутатион-S-трансфераз, обладающих низкой специфичностью. Наибольшая активность этих ферментов регистрируется в печени, почках, слизистой тонкого кишечника. Всего описано более 10 различных глутатион-S-трансфераз, составляющих около 10% всех растворимых белков печени и локализирующихся преимущественно в цитоплазме клетки. Однако 4–6% их суммарной активности приходится на долю эндоплазматического ретикулула. На втором этапе глутатионовой конъюгации комплекс глутатион-субстрат под воздействием фермента  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы теряет остаток глутаминовой кислоты. Этот фермент – мембраносвязанный и наибольшая его активность определяется в почках. На третьем этапе глутатионовой конъюгации под влиянием фермента цистеинилглициндипептидазы от комплекса отщепляется остаток глицина, в результате чего конъюгат превращается в комплекс ксенобиотика с цистеином. Такой конъюгат может выводиться из организма. Однако чаще наступает четвертый, заключительный этап, заключающийся в ацелировании под воздействием фермента ацетилтрансферазы по аминокислоте с образованием соответствующей меркаптуровой кислоты. Ацетилтрансфераза, как и цистеинилглициндипептидаза, присутствует как в цитозоле, так и в мембранах эндоплазматического ретикулула. Высокая активность цистеинилглициндипептидазы регистрируется в печени, почках, слизистой кишечника. Конечный продукт глутатионовой конъюгации – различные меркаптуровые кислоты выделяются с желчью, калом и мочой. В качестве примера глутатионовой конъюгации можно привести биотрансформацию в организме бензола, нафталина и др.

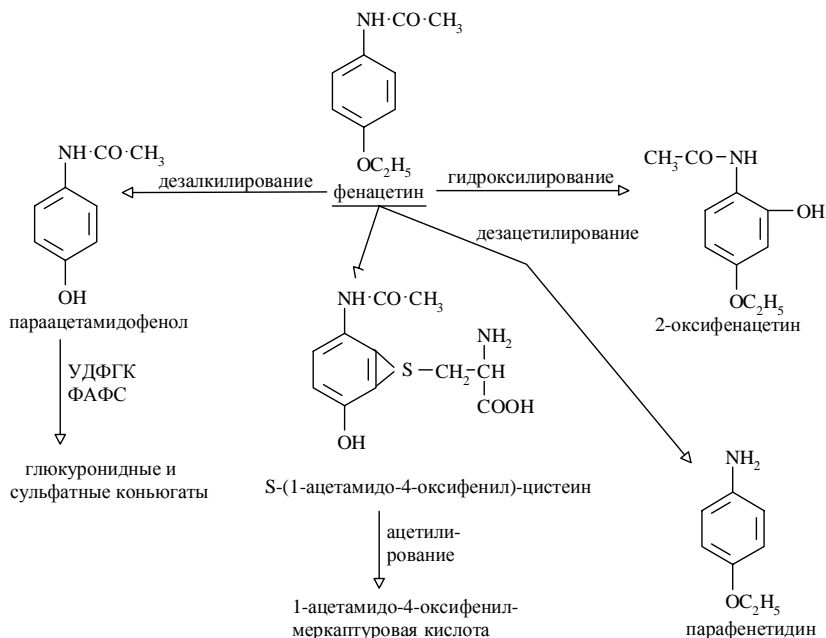
Следует подчеркнуть, что система глутатиона, наряду с глюкуронидной и сульфатной конъюгацией, составляет основу биохимических механизмов поддержания гомеостаза при действии на организм лекарственных веществ.

Кроме рассмотренных конъюгационных механизмов, существуют и другие, как например, фосфатная конъюгация, конъюгация с глицилтаурином, формлом, однако, они мало изучены.



При рассмотрении биотрансформации лекарственных веществ следует иметь в виду, что обычно лекарства одновременно метаболизируются несколькими различными путями, образуя множество метаболитов. Так, к примеру, фенацетин, обладающий жаропонижающим, болеутоляющим и противовоспалительным действием, метаболизируется по нескольким путям; в основном, посредством дезалкилирования в параацетидамофенол, который выделяется из организма в виде глюкуронидных и сульфатных конъюгатов, частично – деацетилированием в парафенетидин, гидроксированием в 2-оксифенацетин и путем конъюгации с глутатионом и ацетилирования – в ацетидамо-оксифенилмеркаптуровую кислоту.





Процесс метаболизма лекарственного вещества может проходить несколько стадий в различных участках клетки под влиянием различных ферментов. К примеру, толуол микросомальными ферментами клетки окисляется в бензиловый спирт, а затем в цитоплазме последний окисляется в бензойную кислоту, которая в митохондриях соединяется с аминокислотой глицином, образуя гиппуровую кислоту. Гиппуровая кислота переходит из клетки в кровь и затем выводится из нее почками с мочой.

Скорость каждой из реакций, по которой метаболизируется то или иное лекарственное вещество, зависит от многих факторов. Эти факторы подразделяются на генетические, физиологические и связанные с окружающей средой. В последние годы установлена высокая степень зависимости превращений лекарственных веществ от генетического контроля. Своеобразие фармакологических и токсических свойств лекарственных веществ, обнаруживаемых в организме человека и животных, объясняется гетерогенностью (разнородностью) ряда ферментных систем у различных видов животных организмов. Так, прослежены различия в метаболизме противовоспалительного препарата тиа-

мида хлоралгидрата у мышей, крыс, собак, обезьян и человека, выразившееся в величине периода полувыведения вещества, составе метаболитов, связывании его с белками.

Особое значение имеет установленный генетический полиморфизм (т.е. существование нормальных вариантов) некоторых ферментов в человеческих популяциях, что приводит к индивидуальным различиям в метаболизме ряда препаратов и в реакциях на препараты.

Изучение индивидуальной вариабельности скоростей метаболизма лекарств привело к возникновению нового направления медицинской биохимии и молекулярной генетики – фармакогенетики. Первым крупным достижением фармакогенетики можно считать установление факта полиморфизма N-ацетилтрансферазы – фермента ацетильной конъюгации ариламинов. Было показано, что разная скорость метаболизма у разных людей (впервые это было установлено для противотуберкулезного препарата изониазида, а затем – для новокаинамида, апрессина, пенициламина, сульфаниламидов и др.) связана с различной активностью у людей N-ацетилтрансферазы. Людей подразделили на медленных и быстрых ацетиляторов. Это бимодальное распределение скорости метаболизма определяется генетическими факторами: активность N-ацетилтрансферазы контролируется двумя аллелями одного локуса. Наследование медленного ацетилирования осуществляется по рецессивному механизму. Соотношение быстрых и медленных ацетиляторов различно в этнических группах. В европеоидной и негроидной популяциях соотношение быстрых и медленных ацетиляторов примерно равное, у египтян преобладают медленные ацетиляторы, в то время как у эскимосов и японцев медленные ацетиляторы составляют 10-12%. Различия в фенотипических группах медленных и быстрых ацетиляторов существенно сказываются на эффективности фармакотерапии, например, при приеме апрессина. У быстрых ацетиляторов доля ацетилконъюгированных метаболитов апрессина составляет примерно 30%, а у медленных ацетиляторов в 2,5 раза меньше. Так как гипотензивные свойства апрессина определяются самим препаратом, а его метаболиты не снижают артериального давления, назначение апрессина внутрь в стандартной дозе без учета фенотипа приводит к тому, что для значительной части пациентов (быстрых ацетиляторов) лечение окажется неэффективным. В то же время у многих медленных ацетиляторов при курсовом приеме апрессина возникает риск побочных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы вследствие высокого уровня неметаболизированного препарата, а при длительном приеме – риск возникновения синдрома лекарственной красной волчанки.

Последующие многочисленные исследования показали, что, наряду с ацетилированием, индивидуальная вариабельность свойственна метаболическому окислению препаратов. Показано, что окислительный метаболизм, катализируемый микросомальной монооксигеназной системой, находится под поли-

генным контролем, что затрудняет разделение людей на фенотипические группы по скорости окисления какого-либо препарата. Несмотря на это, в настоящий момент четко показано, что у людей существует тримодальность в распределении исходной активности окислительных ферментов. Эта тримодальность образуется вследствие деления популяции на три фенотипические группы: на «медленных окислителей» (гомозиготы по рецессивному гену), на «быстрых окислителей» (гомозиготы по доминантному гену) и на «средних окислителей» (гетерозиготы).

Интересно, что «медленные окислители» могут быть «быстрыми ацетиляторами» и наоборот, т.е. происходит как бы компенсация: те, кто не могут быстро ацетилировать ксенобиотики, обладают способностью их быстро окислять.

Таким образом, значение фармакогенетических исследований велико, так как только выявление фенотипа скорости метаболизма лекарств может способствовать индивидуализации дозирования препаратов, правильной оценке индивидуального риска канцерогенеза, правильной оценке профпригодности обследуемых лиц. Учитывая фенотип, можно устанавливать оптимальную дозировку лекарства и избегать риска токсического осложнения от приема препарата. Установлено также, что ряд отклонений в обычных реакциях метаболизма лекарств может быть генетически обусловлен дефектами ферментов, катализирующих эти реакции (ферментопатиями). К примеру, пролонгированная апния (угнетение дыхания) при введении мышечного релаксанта дитилина связана с врожденной аномалией псевдохолинэстеразы, которая в этом случае не способна гидролизовать дитилин с обычной скоростью.

К числу физиологических факторов, которые влияют на метаболизм лекарственных веществ, относят вид организма, возраст, пол, состояние питания, беременность, состояние гормональной системы и различные заболевания. Так, было показано, что многие лекарственные вещества у самцов крыс метаболизируются быстрее, чем у самок. Стероидные гормоны надпочечников активируют микросомальные ферменты, метаболизирующие лекарства, тогда как тироксин, норадrenalин снижают их активность.

У новорожденных и малолетних детей, у стариков активность микросомальных ферментов снижена. У беременных она также часто понижается, что приводит к повышенной чувствительности к лекарствам.

Действие лекарственных веществ резко возрастает при заболеваниях органов, обеспечивающих их метаболизм, особенно, печени, а также органов, обеспечивающих выведение лекарств и их метаболитов из организма, особенно, почек. Инфекционные заболевания, диабет, хронический гепатит, алкогольные поражения печени снижают метаболизм лекарств, что создает предпосылки к передозировке лекарств. Нередко действие лекарств проявляется только при патологии (сердечные гликозиды, антипиретики и др.).

Существенное влияние на метаболизм лекарственных веществ в организме оказывают факторы окружающей среды, такие как световой режим, температура окружающей среды, состав пищи, стресс, ионизирующая радиация, и, особенно, различные химические вещества – ксенобиотики, в том числе и сами лекарственные вещества. В наблюдениях на добровольцах показано, что голодание, гиповитаминоз и малобелковая пища приводит к замедлению метаболизма лекарств, тогда как переход на диету с высоким содержанием белка и низким – углеводов ускоряет метаболизм лекарств. Употребление в пищу сыра, масла, печени, пива и др. продуктов, богатых аминами, одновременно с приемом ингибиторов моноаминоксидазы (ниаламида, нуредала и др.) могут вызвать гипертонические кризы вплоть до инсультов. Употребление богатых витамином К продуктов (шпината, бело-качанной капусты и т.д.) одновременно с антикоагулянтами (дикумарином, синкумарином и др.) снижает эффект этих препаратов. Алкоголь, ускоряющий всасывание лекарственных веществ, может вызвать появление токсического их влияния (например, при приеме транквилизаторов, аспирина).

Наиболее выраженное действие на функционирование биохимических систем, ответственных за процессы детоксикации ксенобиотиков, оказывают химические вещества, которые можно подразделить на две группы: индукторов и ингибиторов микросомальных монооксигеназ.

В настоящее время описано более 250 химических соединений, вызывающих увеличение активности микросомальных ферментов. К числу индукторов относятся инсектициды (ДДТ, алдрин, гексахлорциклогексан) и многочисленные медикаментозные препараты: анальгетики (амидопирин), снотворные (барбитураты), транквилизаторы и нейролептики (мепротон, сибазон, аминазин), противовоспалительные средства (бутадион), гипогликемические препараты (букарбан), антигистаминные средства (димедрол), антитуберкулезные средства (рифампицин), стероиды (тестостерон, метилтестостерон, гидрокортизон, преднизолон). Несмотря на разнообразие химического строения, все индукторы имеют ряд общих признаков. Все они относятся к числу липидорастворимых соединений и характеризуются тропизмом к мембранам эндоплазматического ретикулума. Индукторы являются субстратами микросомальных ферментов. Наиболее мощные индукторы характеризуются длительным периодом полувыведения. Все вещества, вызывающие активацию микросомальных монооксигеназ, могут быть подразделены на индукторы широкого спектра действия (барбитураты, хлорированные углеводороды) и индукторы узкого круга действия, избирательно активирующие биотрансформацию отдельных соединений. Степень выраженности индуцирующего действия веществ зависит от их химического строения, дозы и режима введения, от индивидуальных особенностей организма, имеет определенную органную направленность и возрастную особенность. Следует заметить, что свойства бар-

битуратов индуцировать микросомальные ферменты оказались полезными при передозировке антикоагулянтов, позволяя ускорить их биотрансформацию и к тому же замедлить их всасывание в желудочно-кишечном тракте. Индукторы оказывают на метаболизм лекарств стимулирующий эффект путем увеличения скорости синтеза микросомальных ферментов, в том числе цитохрома P-450 и НАДФ.Н-цитохром-P<sub>450</sub>-редуктазы. Предполагается, что в основе индуцирования синтеза может лежать дерепрессия гена-оператора генетических систем, ведающих синтезом микросомальных ферментов, аналогично механизму действия гормонов.

Наряду с веществами, стимулирующими метаболизм лекарственных веществ, известен ряд соединений, которые подавляют микросомальный метаболизм лекарств и таким путем продлевают (продлонгируют) их действие.

К числу ингибиторов микросомальных монооксигеназ относятся многочисленные соединения различной химической природы, которые условно можно разделить на несколько групп:

- 1) обратимые ингибиторы прямого действия (эфир, спирты, фенолы, хиноны, производные пиридина и др.);
- 2) обратимые ингибиторы непрямого действия, воздействующие через продукты своего метаболизма (производные бензола, алкиламины, ароматические амины и др.);
- 3) необратимые ингибиторы, разрушающие цитохром P<sub>450</sub> (четырёххлористый углерод, серусодержащие соединения и др.);
- 4) ингибиторы, тормозящие синтез и (или) ускоряющие распад цитохрома P<sub>450</sub> (ионы металлов, антибиотики, ингибирующие белковый синтез и др.).

В основе ингибирования микросомальных ферментов лежат различные механизмы: конкуренция за активный центр фермента, разобщение окислительного механизма, изменение проницаемости липопротеиновых мембран, влияние на синтез монооксигеназ и др.

Надо сказать, что деление химических веществ на индукторы и ингибиторы микросомального окисления является условным. В зависимости от вида животных, путей введения, применяемых доз, некоторые вещества могут выступать либо в роли индукторов, либо ингибиторов микросомальных монооксигеназ. Следует иметь в виду, что ингибирующий и стимулирующий эффекты лекарственных веществ на метаболизм других лекарственных веществ зачастую приводит к изменению фармакологической активности, что можно наблюдать при множественной химиотерапии.

Ускоренный метаболизм лекарственного вещества при повторных его приемах за счет его индуцирующего воздействия на микросомальные ферменты может служить причиной развития толерантности к данному лекарству. Та-

кая способность лекарств ускорять свой собственный метаболизм имеет место в отношении фенobarбитала, фенилбутона, мепробамата и др.

Таким образом, знание основных закономерностей метаболизма лекарственных веществ в организме необходимо для характеристики лечебных и токсических свойств лекарства, для правильного проведения фармакотерапии и служит основанием для создания и внедрения новых фармакологических препаратов и лекарственных форм с заданными свойствами.

## Рекомендуемая литература

### Основная:

Березов, Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – М.: Медицина, 2002.

Биохимия / Под ред. С.Е. Северина. – Учебник. – М., 2003.

Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами / Под ред. С.Е. Северина. – Учебное пособие. – М., 2001.

Николаев, А.Я. Биологическая химия / А.Я. Николаев. – М.: Высшая школа, 1998.

Практикум по биологической химии / Под ред. С.Е. Северина и Г.А. Соловьевой. – М.: МГУ, 1989.

Строев, Е.А. Биологическая химия / Е.А. Строев. – М.: Высшая школа, 1986.

Строев, Е.А. Практикум по биологической химии для студентов фармацевтических вузов и факультетов / Е.А. Строев, В.Г. Макарова. – М.: Высшая школа, 1986.

### Дополнительная:

Василенко, Ю.К. Биохимические основы фармации. Метаболизм лекарств / Ю.К. Василенко. – Пятигорск, 2001.

Василенко, Ю.К. Основные понятия и термины биохимии / Ю.К. Василенко, Е.Г. Доркина, Л.М. Фролова. – Пятигорск, 2003.

Комов, В.П. Фармацевтическая биохимия / В.П. Комов, В.И. Фирсова. – Учебное пособие. – СПб.: СИХФИ, 1993.

Ленинджер, А. Биохимия / А. Ленинджер. – М.: Мир, 1985.

Скулачев, В.П. Биоэнергетика / В.П. Скулачев. – М, 1990.

Спирин, А.С. Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот / А.С. Спирин. – М: Высшая школа, 1990.

Страйер, Л. Биохимия / Л. Страйер. – Т. 1-3. – М.: Мир, 1984.

Уайт, А. Основы биохимии / Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э. и др. – Т. 1-3. – М.: Мир, 1981.

## Оглавление

<b>Предисловие.....</b>	<b>3</b>
<b>Введение .....</b>	<b>4</b>
<b>1. Химия белков.....</b>	<b>16</b>
1.1. Общая характеристика белковых веществ.....	16
1.2. Физико-химические свойства белков.....	17
1.3. Химический состав белков .....	23
1.4. Структура белков и их функции.....	35
1.5. Денатурация белка .....	42
1.6. Классификация белковых веществ.....	43
1.6.1. <i>Протеины</i> .....	44
1.6.2. <i>Протеиды</i> .....	45
<b>2. Химия нуклеиновых кислот .....</b>	<b>60</b>
2.1. Общая характеристика.....	60
2.2. Свойства и функции нуклеиновых кислот.....	71
<b>3. Витамины .....</b>	<b>73</b>
3.1. Общая характеристика.....	73
3.2. Классификация витаминов .....	76
3.3. Нарушение баланса витаминов в организме.....	78
3.4. Характеристика индивидуальных витаминов.....	80
<b>4. Ферменты .....</b>	<b>101</b>
4.1. Общее понятие о ферментах.....	101
4.2. Выделение ферментов и определение их активности.....	104
4.3. Химическое строение ферментов.....	106
4.4. Механизм действия ферментов .....	114
4.5. Свойства ферментов .....	117
4.6. Номенклатура и классификация ферментов .....	123
4.7. Ферменты как лекарственные препараты и диагностические средства.....	134
<b>5. Введение в обмен веществ. Энергетика обмена веществ .....</b>	<b>137</b>
5.1. Общие понятия об обмене веществ и энергии.....	137
5.2. Энергетика обмена веществ.....	138
5.3. Общая характеристика промежуточного обмена веществ .....	143



<b>6. Биологическое окисление.....</b>	<b>149</b>
6.1. Общая характеристика.....	149
6.2. Лимоннокислый цикл и окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты.....	152
6.3. Дыхательная цепь ферментов.....	162
6.4. Окислительное фосфорилирование.....	167
6.5. Оксигеназное и свободнорадикальное окисление .....	176
<b>7. Обмен углеводов.....</b>	<b>180</b>
7.1. Общая характеристика обмена углеводов. Переваривание углеводов.....	180
7.2. Катаболизм углеводов в тканях.....	183
7.3. Биосинтез углеводов .....	196
7.4. Нейрогуморальная регуляция углеводного обмена. Роль печени в углеводном обмене .....	199
7.5. Фотосинтез .....	202
<b>8. Обмен липидов.....</b>	<b>206</b>
8.1. Общая характеристика. Переваривание жиров. ресинтез липидов в кишечном эпителии .....	206
8.2. Катаболизм липидов в тканях .....	212
8.3. Окисление жирных кислот .....	213
8.4. Синтез жирных кислот.....	220
8.5. Синтез липидов .....	224
8.6. Обмен стеридов и холестерина.....	226
8.7. Превращение углеводов в жиры.....	229
8.8. Нейро-гуморальная регуляция липидного обмена .....	230
8.9. Нарушение обмена липидов .....	232
<b>9. Обмен белков.....</b>	<b>237</b>
9.1. Общая характеристика. Переваривание белков .....	237
9.2. Катаболизм белков и аминокислот в тканях.....	243
9.3. Обезвреживание аммиака. Орнитиновый цикл.....	259
9.4. Синтез аминокислот .....	263
9.5. Аминокислоты как лекарственные вещества.....	266
<b>10. Обмен сложных белков.....</b>	<b>269</b>
10.1. Обмен хромопротеидов .....	269
10.2. Обмен нуклеопротеидов. Катаболизм нуклеиновых кислот ...	271

<b>11. Синтез нуклеиновых кислот и их роль в хранении и передаче наследственных свойств организма .....</b>	<b>277</b>
<b>12. Синтез белков .....</b>	<b>287</b>
<b>13. Молекулярные механизмы изменчивости. Молекулярная патология .....</b>	<b>299</b>
<b>14. Полиморфизм белков. Иммуноглобулины .....</b>	<b>301</b>
<b>15. Интеграция и регуляция обмена веществ. Гормоны .....</b>	<b>307</b>
15.1. Интеграция обмена веществ .....	307
15.2. Нейрогуморальная регуляция обмена веществ, роль гормонов .....	308
15.3. Структура, метаболизм и механизм действия гормонов .....	314
15.4. Классификация и характеристики групп гормонов .....	319
15.4.1. <i>Стероидные гормоны</i> .....	321
15.4.2. <i>Пептидные гормоны</i> .....	326
15.4.3. <i>Гормоны – производные аминокислот</i> .....	334
15.4.4. <i>Простагландины</i> .....	340
15.4.5. <i>Гормоны как лекарственные препараты</i> .....	343
<b>16. Особенности обмена веществ в отдельных органах и тканях</b>	<b>346</b>
16.1. Биохимия печени .....	346
16.2. Биохимия почек .....	350
16.3. Биохимия крови .....	352
16.4. Биохимия мышц .....	358
16.5. Биохимия нервной системы .....	364
<b>17. Фармацевтическая биохимия .....</b>	<b>369</b>
17.1. Общая характеристика .....	369
17.2. Лекарства как чужеродные соединения, их судьба в организме .....	375
17.3. Всасывание лекарственных веществ .....	376
17.4. Распределение и выведение лекарственных веществ .....	380
17.5. Метаболизм лекарственных веществ .....	383
17.6. Факторы, влияющие на метаболизм лекарств .....	408
<b>Рекомендуемая литература .....</b>	<b>414</b>

**Учебное пособие**  
***Василенко Юрий Киприанович***  
**Биологическая химия**

**Подготовка оригинал-макета выполнена А.В. Смирновым.**

**Тираж 1000 экз.**